

Phương pháp nghiên cứu

## TỐI ƯU QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE *LIPC* rs2070895 SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP NHÂN GEN VỚI MỖI ĐẶC HIỆU ALLEN

Bùi Thị Khánh Thuận<sup>1</sup>, Bùi Thị Thúy Nga<sup>2</sup>, Bùi Phương Anh<sup>3</sup>,  
Trần Quang Bình<sup>2,✉</sup>

<sup>1</sup> Trường Đại học Điều dưỡng Nam Định

<sup>2</sup> Viện Dinh dưỡng, Hà Nội

<sup>3</sup> Trường Đại học Y tế Công cộng

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xây dựng quy trình phân tích kiểu gene của đa hình đơn nucleotide (SNP) *LIPC* rs2070895 bằng phương pháp nhân gene có mỗi đặc hiệu allele (AS-PCR) trên mẫu ADN được tách từ máu toàn phần ở người từ 40-64 tuổi.

**Phương pháp:** Sử dụng phần mềm để thiết kế mỗi đặc hiệu allele và các kỹ thuật sinh học phân tử để tối ưu hoá các cặp mỗi, chu trình nhiệt thích hợp. Phương pháp giải trình tự Sanger được sử dụng để xác định kiểu gene chuẩn của đa hình đơn nucleotide này. Các thí nghiệm được thực hiện trên 16 mẫu ADN của người Việt Nam.

**Kết quả:** Đã xây dựng và tối ưu hóa quy trình phân tích kiểu gene của SNP *LIPC* rs2070895 bằng phương pháp AS-PCR với kết quả chính xác.

**Kết luận:** Quy trình AS-PCR để phân tích SNP *LIPC* rs2070895 có độ chính xác cao, cho kết quả nhanh, chi phí phù hợp và có thể lặp lại trên quần thể mẫu lớn hơn cũng như ở các quần thể khác nhau nhằm tiến tới thực hiện nghiên cứu mối liên quan của đa hình này với bệnh rối loạn lipid máu ở người Việt Nam.

**Từ khóa:** AS-PCR, gen *LIPC*, rs2070895, rối loạn lipid máu.

## OPTIMAL PROTOCOL FOR GENOTYPING THE *LIPC* RS2070895 POLYMORPHISM USING THE ALLELE-SPECIFIC PRIMER METHOD

### ABSTRACT

**Aims:** To develop a protocol for genotyping the *LIPC* rs2070895 single nucleotide polymorphism (SNP), using the allele-specific primer (AS-PCR) method.

**Methods:** Allele-specific primers were designed and molecular biology techniques were used to optimize primer pairs and appropriate thermal cycles. Sanger sequencing method was used to determine the standard genotypes of the SNP. The experiments were applied on 16 DNA samples of Vietnamese people.

**Results:** A protocol for genotyping the rs2070895 has been developed and optimized using the AS-PCR method with accurate results.

**Conclusion:** The AS-PCR protocol for analyzing rs2070895 polymorphism has high accuracy, fast results, low cost and it can be applied on larger sample samples in different populations to conduct research on the association of this polymorphism with dyslipidemia in Vietnamese people.

**Keywords:** AS-PCR, *LIPC* gene, rs2070895, dyslipidemia.

✉ Tác giả liên hệ: Trần Quang Bình  
Email: tranquangbinh@dinhduong.org.vn  
DOI: 10.56283/1859-0381/788.

Nhận bài: 29/9/2024    Chính sửa: 14/10/2024  
Chấp nhận đăng: 27/10/2024  
Công bố online: 28/10/2024

## I. GIỚI THIỆU

Rối loạn lipid máu (RLLPM) là tình trạng tăng cholesterol, triglyceride (TG) huyết tương hoặc cả hai, hoặc giảm nồng độ lipoprotein phân tử lượng cao (HDL), tăng nồng độ lipoprotein phân tử lượng thấp (LDL) làm gia tăng quá trình xơ vữa động mạch [1]. Tại Việt Nam, có đến gần 50% người trưởng thành sống tại thành thị bị mỡ máu cao. Đây thực sự là gánh nặng không chỉ riêng cho người bệnh, gia đình mà cho toàn xã hội [2]. Nguyên nhân gây RLLPM bao gồm: chế độ dinh dưỡng không hợp lý, tình trạng ít vận động, béo phì, rối loạn chức năng một số tuyến nội tiết và yếu tố di truyền [3]. Đã có nhiều nghiên cứu về gene chỉ ra tính di truyền có liên quan đến tình trạng cholesterol, HDL, LDL, TG và các biến thể di truyền đa hình đơn nucleotide trên các gene *APOA5*, *ABCA1*, *CETP*, *LDLR*, *LIPC*, *LPL*,... đã được chứng minh có liên quan đến mức HDL, TG, LDL [4] [5]. Hepatic type (*LIPC*) được tìm thấy trên nhiễm sắc thể 15 (15q21.3) gồm 9 exon và 8 intron mã hóa một loại enzyme gọi là lipaza (HL), enzyme này giúp chuyển đổi các lipoprotein mật độ rất thấp (very low-density lipoproteins-VLDL) và lipoprotein mật độ trung bình (intermediate-density lipoproteins- IDL) thành lipoprotein mật độ thấp (low-density lipoproteins- LDL); hỗ trợ vận chuyển lipoprotein mật độ cao (high-density lipoproteins- HDL) mang cholesterol và chất béo trung tính từ máu đến gan. Nghiên cứu của Kobayasi (2015) đã chỉ ra rằng ở những con chuột thiếu enzyme HL, nồng độ cholesterol toàn phần trong huyết tương tăng khoảng 30% so với ở những con chuột sống hoang dã; cùng nhóm này, các nhà nghiên cứu cũng tạo ra sự biểu hiện quá mức HL để làm rõ hơn vai trò của HL trong quá trình chuyển hóa lipid và lipoprotein trong cơ thể sống,

họ phát hiện ra rằng ở những con chuột đó, có sự giảm đáng kể lipid trong các phân đoạn IDL, LDL và HDL [6].

Đa hình đơn nucleotide rs2070895 nằm ở vị trí nhiễm sắc thể 15: 58,431,690 ở vùng khởi động của gene *LIPC* tại vị trí liên kết yếu tố phiên mã Pbx1b, điều này đã giải thích được một phần tác động của rs2070895 đến sự giảm hoạt động của *LIPC* ở những người mang allele và lipid huyết tương tăng tương ứng [7]. Các nghiên cứu cho thấy người mang kiểu gene AA, AG có mức cholesterol, LDL, TG cao hơn người mang kiểu gene GG [8, 9, 10]. Do đó, việc xác định kiểu gene của đa hình rs2070895 có vai trò quan trọng trong việc phát hiện sớm, dự phòng, điều trị và ngăn ngừa các biến chứng của bệnh rối loạn lipid máu cho cá nhân, góp phần nâng cao sức khỏe cho cộng đồng và giảm gánh nặng kinh tế do bệnh tật cho xã hội. Hiện nay ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào được thực hiện để xây dựng quy trình phân tích đa hình đơn nucleotide rs2070895 từ ADN máu ngoại vi của người. Vì vậy, chúng tôi thực hiện xây dựng quy trình này với mục tiêu: Tối ưu hóa quy trình phân tích đa hình đơn *LIPC*rs2070895 liên quan đến RLLPM bằng phương pháp môi đặc hiệu allele ((Allele-Specific Polymerase Chain Reaction : AS-PCR) để áp dụng được quy trình này trên quần thể người Việt Nam trong độ tuổi từ 40-64 tại Hà Nam.

Phương pháp phản ứng chuỗi polymerase đặc hiệu allele (Allele-Specific Polymerase Chain Reaction : AS-PCR) được thực hiện dựa trên hai phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) song song và riêng biệt, mỗi phản ứng sử dụng một cặp môi đặc hiệu tại đầu 3' để nhận biết một allele trên đoạn ADN. Sự xuất hiện của allele được nhận biết bởi sự hiện diện của băng đã biết kích thước trên

hình ảnh điện di. Bằng cách sử dụng hai cặp mồi để khuếch đại amplicon; cặp thứ nhất là cặp mồi xuôi bình thường (Wildtype Forward Primer-Fg) và mồi ngược bình thường (Common Reverse Primer- R), và cặp thứ hai là cặp mồi xuôi đột biến (Mutant Forward Primer- Fa) với

mồi ngược bình thường (Common Reverse Primer-R). Các đoạn mồi được chọn với độ dài lý tưởng từ 18 đến 20 nucleotide, hàm lượng G và C từ 40% đến 60%. Điều này đảm bảo nhiệt độ nóng chảy của các đoạn mồi khoảng 50°C đến 65°C [11].

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 16 mẫu ADN của người trong độ tuổi từ 40-64 sống tại tỉnh Hà Nam. Lấy 5ml máu tĩnh mạch của đối tượng nghiên cứu vào buổi sáng, sau đó được ly tâm ngay, khối tế bào máu được lưu vào các ống eppendorf và được lưu trữ ở từ -20°C hoặc -80°C cho đến khi tiến hành phân tích mẫu.

ADN sau khi được tách từ bạch cầu máu ngoại vi bằng bộ kit Wizard® Geneomic ADN Purification Kit

(Promega, Hoa Kỳ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Sản phẩm ADN toàn phần được đo nồng độ và kiểm tra độ tinh sạch bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang (OD: Optical Density) trên máy Nanodrop 2000. Kết quả OD260nm của mẫu ADN được coi là đạt khi nồng độ từ 20ng/μl trở lên. Độ tinh sạch của ADN được đo bằng tỷ số A260/A280 và mẫu ADN tinh sạch khi tỷ số này từ 1,8-2,0.

### 2.2. Xây dựng và tối ưu quy trình

#### 2.2.1. Xác định điểm đa hình gen *LIPC*rs2070895

Sử dụng thông tin từ cơ sở dữ liệu của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia – NCBI của Mỹ. Trích xuất ra đoạn trình tự gene quan tâm trên bộ gene người phiên bản GRCh38.p14 (NC\_000015.10), từ đó thiết kế các cặp

đoạn mồi chứa các biến thể rs2070895 trên gene *LIPC*. Đa hình đơn nucleotide rs2070895 nằm ở vị trí nhiễm sắc thể 15: 58,431,690 ở vùng khởi động của gene *LIPC*.

#### 2.2.2. Thiết kế mồi (primer) cho điểm đa hình gene *LIPC*rs2070895

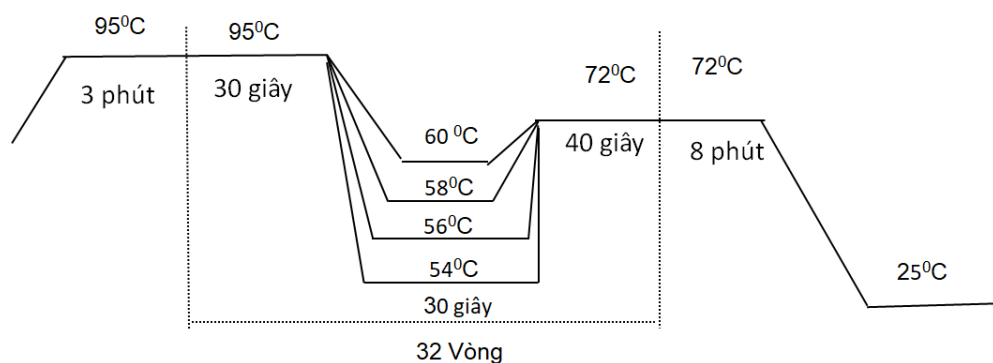
Ba đoạn mồi được thiết kế bằng các công cụ trực tuyến Primer3 (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) và

trang web: <http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html>.

**Bảng 1.** Mồi xác định cho điểm đa hình gene *LIPC* rs2070895

Tên mồi	Trình tự mồi 5'-3'	Chiều dài	Tm
<i>LIPC</i> _rs2070895Fg	CCAAACACAACACAGTAGCTTTACG	25 bp	62°C
<i>LIPC</i> _rs2070895Fa	CCAAACACAACACAGTAGCTTTACA	25 bp	60°C
<i>LIPC</i> _rs2070895R	ACACAACACAGTAGCTTTACG	20 bp	54°C

## 2.2.3. Tối ưu phản ứng AS-PCR

**Hình 1.** Lựa chọn chu trình nhiệt tối ưu cho phản ứng AS-PCR.**Bảng 2.** Thành phần cho phản ứng PCR nhận biết alen G

Thành phần	Lượng cần/phản ứng
Water, nuclease-free	4,5 µl
PCR Master mix	4,0 µl
<i>LIPC</i> rs2070895 Fg	0,75 µl
<i>LIPC</i> rs2070895 R	0,75 µl
ADN mẫu	2,0 µl
Tổng	12 µl

**Bảng 3.** Thành phần cho phản ứng PCR nhận biết alen A

Thành phần	Lượng cần/phản ứng
Water, nuclease-free	4.5 µl
PCR Master mix	4.0 µl
<i>LIPC</i> rs2070895 Fa	0.75 µl
<i>LIPC</i> rs2070895 R	0.75 µl
ADN mẫu	2.0 µl
Tổng	12 µl

Trước khi chuẩn hóa quy trình cho phản ứng AS-PCR cần chuẩn hóa điều kiện PCR cho từng cặp môi đồng thời để kiểm tra mỗi cặp môi thiết kế có khuếch đại đặc hiệu bằng lên đúng kích thước như thiết kế. Sau đó, 12 mẫu ADN được tiến hành chạy gradient nhiệt độ gần mỗi cho từng cặp môi với các mức khác nhau

gồm 54°C, 56°C, 58°C, 60°C với chu trình nhiệt: 95°C trong 3 phút và 32 chu kỳ biến tính gồm 95°C trong 30 giây, gắn kết môi ở 54°C, 56°C, 58°C, 60°C trong 30 giây, kéo dài ở 72°C trong 40 giây; và bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 8 phút, sau đó mẫu PCR được bảo quản ở 25°C (Hình 1). Thành phần và điều kiện

phản ứng được thực hiện như trong Bảng 2 và Bảng 3. Sản phẩm phản ứng được điện di trên gel agarose 1,5%, quan sát và

chụp ảnh trên hệ thống camera gel Geldoc-It™ để phân tích kết quả.

### 2.3. Kiểm tra kết quả bằng giải trình tự

Chọn 3 mẫu ADN có kiểu gene khác nhau đã được xác định để giải trình tự nhằm xác nhận tính chính xác của phương pháp AS-PCR, trong trường hợp trình tự

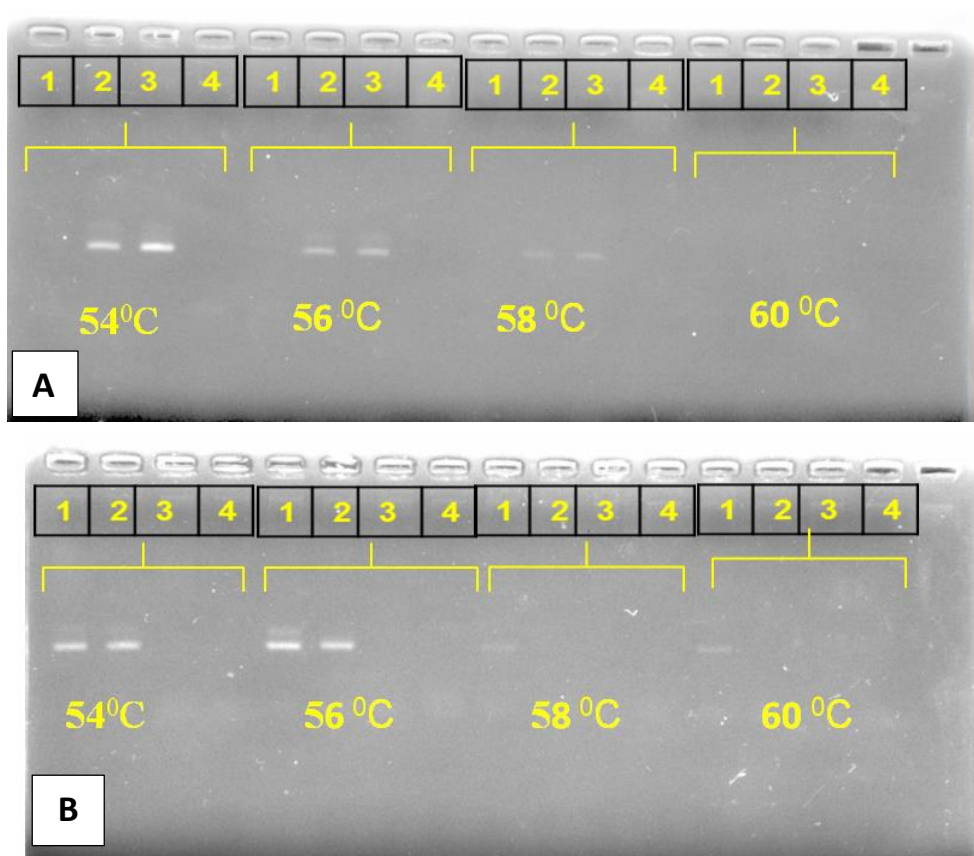
chứa SNP sau giải trình tự giống với trình tự của đoạn ADN của gene *LIPC* điều này chứng tỏ các kiểu gene đã được xác định chính xác bằng phương pháp AS-PCR.

## III. KẾT QUẢ

### 3.1. Lựa chọn nhiệt độ bắt mồi

Kết quả điện di 10  $\mu$ l sản phẩm PCR của 12 mẫu nghiên cứu ở 4 giải nhiệt độ bắt mồi khác nhau trên gel agarose sử dụng đệm TBE0,5X trong 30 phút, 100V cho ra các dải băng (Hình 2). Kết quả từ hình ảnh điện di sản phẩm PCR cho thấy có sự khác nhau ở những nhiệt độ bắt mồi khác nhau. Ở nhiệt độ bắt mồi 56°C,

58°C, 60°C băng điện di không rõ, gây ảnh hưởng đến việc nhận định kết quả. Ở nhiệt độ bắt mồi 54°C, các băng điện di sản phẩm PCR lên rõ nét và không có sản phẩm phụ. Do vậy, nhiệt độ bắt mồi 54°C được chọn để sử dụng xây dựng quy trình phân tích gene.



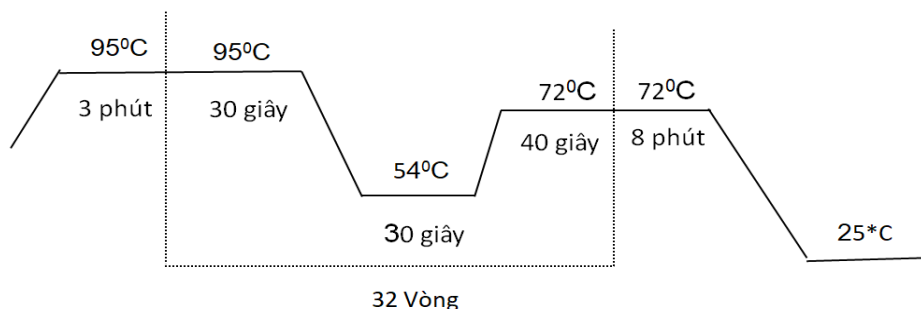
**Hình 2.** Hình ảnh điện di sản phẩm PCR ở các giải nhiệt độ bắt mồi.



### 3.2. Tối ưu hoá quy trình AS-PCR

Kết quả điện di 16 sản phẩm PCR sau khi đã lựa chọn được nhiệt độ gắn mồi với chu trình nhiệt cho phản ứng PCR gồm 3 giai đoạn : biến tính ban đầu 95°C trong

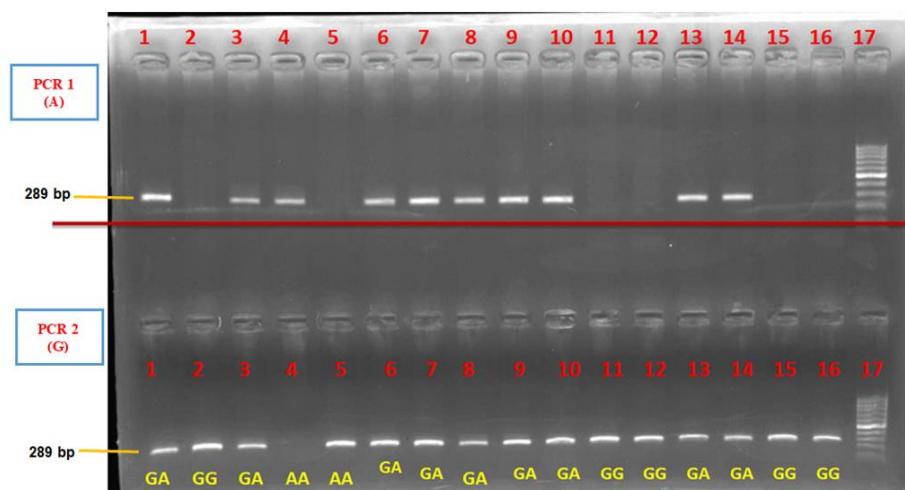
3 phút; 32 chu kỳ: 95°C trong 30 giây, gắn mồi ở 54°C trong 30 giây, 72°C trong 40 giây; thời gian kéo dài cuối 72°C C trong 3 phút, bảo quản ở 25°C (Hình 3).



**Hình 3.** Chu trình nhiệt của phản ứng AS-PCR

Các băng trên gel aragose có thể xác định được kiểu gene khi thực hiện phân tích đa hình rs2070895 bằng phương pháp AS-PCR, kiểu gene GG khi ở phản ứng nhận biết allele G có băng và phản ứng nhận biết allele A không có băng, kiểu

gene GA khi có băng ở cả hai phản ứng nhận biết allele G và A, kiểu gene AA chỉ có băng ở phản ứng nhận biết allele A và không có băng ở phản ứng nhận biết allele G; kích thước sản phẩm sau điện di đều có kích thước là 289bp (Hình 4)



**Hình 4.** Sản phẩm PCR của SNP rs2070895 (A/G) trên điện di gel agarose 1,5%.

PCR 1 (A) nhận diện allele A, PCR(2) nhận diện allele G. Từ trái sang phải có tất cả 16 mẫu với 16 giếng tương ứng trong đó có 03 mẫu đã biết kiểu gene để

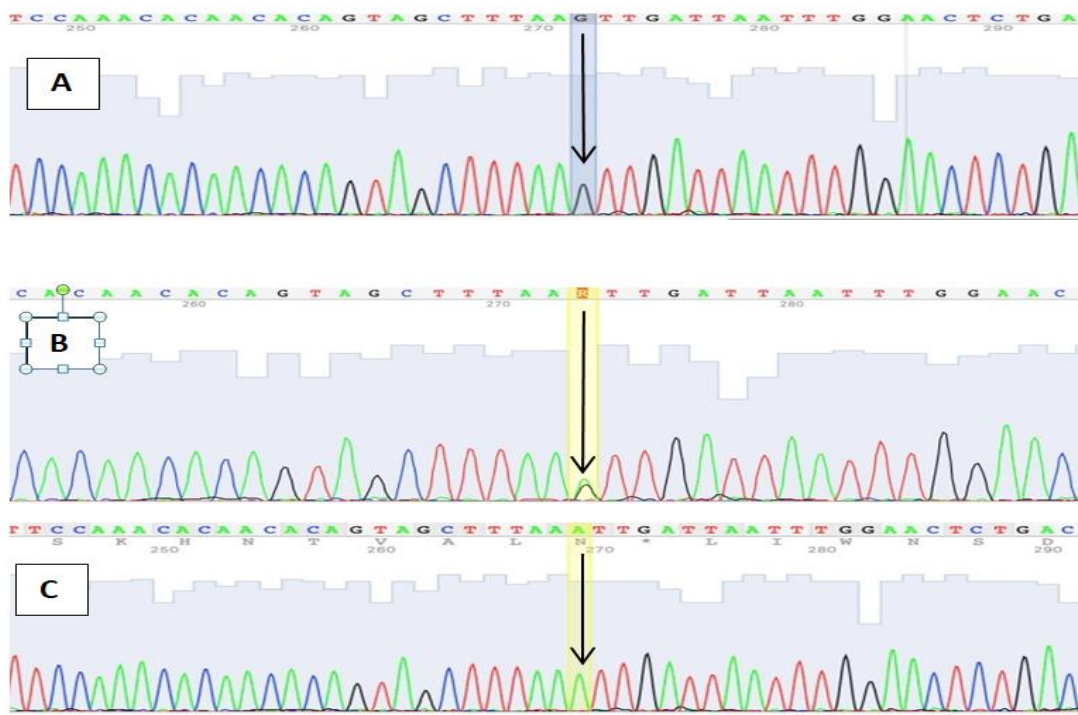
kiểm chứng gồm kiểu gene GG ở giếng số 2, kiểu gene GA ở giếng số 3 và kiểu gene AA ở giếng số 4. Giếng 17 là thang chỉ thị.

### 3.3. Giải trình tự xác định kiểu gene

Dựa vào kết quả giải trình tự mẫu PCR đã tinh sạch, xác định được các kiểu gene đồng hợp GG, AA và dị hợp GA. (Hình 5). Trình tự SNP: AGCTTTAA[G/A]TTGATTAATTT. Đối chiếu với kết quả AS-PCR và phương pháp giải trình tự gene Sanger, kết quả

cho thấy, hai phương pháp có độ tương đồng khi phân tích kiểu gene.

Như vậy, quy trình AS-PCR phân tích đa hình đơn nucleotide *LIPC* rs2070895 cho kết quả đảm bảo độ tin cậy với mục tiêu phân tích các kiểu gene trên đối tượng nghiên cứu.



**Hình 5.** Kết quả giải trình tự phân tích kiểu gene của rs2070895.

(A) Kiểu gene đồng hợp tử GG có một đỉnh G duy nhất; (C) đồng hợp tử AA có một đỉnh A duy nhất. (B) Kiểu gene dị hợp tử GA có hai đỉnh nucleotide G và A lồng vào nhau.

## IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu về gene liên quan đến bệnh đã được thực hiện trong những năm gần đây. Các nghiên cứu di truyền có thể giúp đưa ra cá thể hóa các phương pháp điều trị với sự hiểu biết chính xác về những người có nguy cơ đối với các bệnh nhất là các bệnh đang có xu hướng gia tăng và để lại những hậu quả nặng nề cho cá nhân và xã hội như bệnh đái tháo đường, cao huyết áp, ung thư, tim mạch....

Điều này mang lại phương pháp tiếp cận có hệ thống để chữa bệnh, giúp phát hiện bệnh nhanh chóng ở giai đoạn đầu, xác định chính xác đặc điểm của bệnh và chỉ định các biện pháp phòng ngừa cần thiết. Ngoài ra, việc phát hiện kịp thời và tìm ra sự liên kết của các biến thể di truyền với các bệnh sẽ giúp cá nhân hóa điều trị theo cấu tạo di truyền. [5] [12]

Hiện nay, có nhiều phương pháp để phân tích đa hình đơn gene ở người gồm: phương pháp phản ứng chuỗi trùng lặp (PCR); phương pháp sử dụng mỗi đặc hiệu allele (AS-PCR); phương pháp đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn (RFLP-PCR); phương pháp SNP array; phương pháp tổng hợp chuỗi định lượng (Real time PCR); Phương pháp thiết kế hai mỗi đặc hiệu (Confronting-PCR); phương pháp giải trình tự gene. Mỗi phương pháp đều có những ưu điểm và hạn chế nhất định, việc lựa chọn phương pháp nào tùy thuộc vào điều kiện, yêu cầu cụ thể của từng nghiên cứu. Phương pháp thiết kế hai mỗi đặc hiệu (Confronting-PCR) thực hiện khá đơn giản, tiết kiệm chi phí, tiết kiệm thời gian vì chỉ cần thực hiện một phản ứng PCR và một lần điện di đã có thể cho kết quả. Tuy nhiên, việc thiết kế mỗi cho phương pháp này đòi hỏi sự nghiên cứu kỹ lưỡng và việc tối ưu hóa quy trình cũng là vấn đề cần nhắc đến. Trong khi phương pháp giải trình tự gene mang lại kết quả chính xác nhưng chi phí cao. Phương pháp RFLP-PCR là phương pháp khuếch đại một đoạn ADN mục tiêu bằng phản ứng PCR và sử dụng enzyme cắt giới hạn để nhận biết SNP. Đây là phương pháp cho kết quả chính xác, tuy nhiên chi phí có thể tốn kém do việc sử dụng enzyme cắt giới hạn trong thực hiện phản ứng. Phương pháp AS-PCR là một phương pháp có nhiều ưu điểm, thiết kế cặp mỗi không phức tạp, cho kết quả tương đối chính xác, ít tốn kém, không cần các trang thiết bị đắt tiền, do đó phương pháp này là sự lựa chọn phù hợp cho các nghiên cứu và được nhiều phòng thí nghiệm sử dụng.

Đa hình đơn rs2070895 trên gene *LIPC* đã được chứng minh có liên quan đến RLLPM [4]. Một nghiên cứu bệnh-chứng được thực hiện ở Ấn Độ trên 477

người về đa hình đơn nucleotide rs2070895 và nguy cơ mắc bệnh mạch vành (CAD). Kết quả nghiên cứu cho thấy tần số kiểu gene GG, GA và AA ở nhóm CAD lần lượt là 80,69%, 15,45% và 3,86%; ở nhóm chứng, tần số tương ứng lần lượt là 90,16%, 9,02% và 0,82%, sự khác biệt có ý nghĩa về phân bố kiểu gene (*LIPC*-250G/A) giữa hai nhóm có ý nghĩa thống kê. Bên cạnh đó có sự gia tăng đáng kể mức cholesterol, triglyceride, LDL ở đối tượng nghiên cứu có kiểu gene GA, AA so với GG ở nhóm CAD [8]. Kết quả nghiên cứu về đa hình rs2070895 ở người Trung Quốc đã chỉ ra biến thể này ảnh hưởng đến mức lipid máu, mức HDL ở người mang kiểu gene GA và AA cao hơn đáng kể so với mức HDL ở người mang kiểu gene GG [9]. Kết quả nghiên cứu khác cũng cho thấy đa hình rs2070895 có ảnh hưởng đến sự khác biệt về HD và LDL giữa quần thể người Bai Ku Yao ở Trung Quốc theo mô hình trội (AA+GA so với GG) [13]. Như vậy, có mối liên hệ đáng kể giữa đa hình đơn rs2070895 trên gene *LIPC* với bệnh RLLPM.

Kiểu gene của đa hình rs2070895 được xác định bằng phương pháp AS-PCR, với quy trình đã được tối ưu hóa bằng việc sử dụng mỗi được thiết kế đặc hiệu để nhận biết allele, có kết quả tương đồng với kết quả giải trình tự bằng phương pháp Sanger, điều đó chứng tỏ quy trình AS-PCR này cho kết quả chính xác và tin cậy, do đó có thể sử dụng kết quả của nghiên cứu này thực hiện trên cỡ mẫu nghiên cứu lớn hơn để phân tích di truyền và đánh giá mối liên quan giữa đa hình rs2070895 và RLLPM cũng như các bệnh khác.



## V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xây dựng thành công quy trình AS-PCR để xác định đa hình *LIPC* rs2070895 với việc thực hiện thiết kế mồi tối ưu, lựa chọn nhiệt độ phù hợp, xây dựng chu trình nhiệt của phản ứng PCR tối ưu, kết quả thực hiện phản ứng AS-PCR cho đa hình rs2070895 được đối sánh với kết quả giải trình tự của đa hình này. Đây là quy trình có nhiều ưu điểm với thiết kế đơn giản, ít tốn kém,

không cần các trang thiết bị đắt tiền, cho kết quả chính xác và có thể thiết lập ở các phòng thí nghiệm. Quy trình kỹ thuật này nên được áp dụng để xác định kiểu gene của đa hình rs2070895 trên *LIPC* trong các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn nhằm xác định mối liên quan giữa đa hình này và bệnh rối loạn lipid máu cũng như các bệnh khác ở người Việt Nam.

## Tài liệu tham khảo

1. Trương Quang Bình. Rối Loạn Lipid Máu Trong Thực Hành Lâm Sàng. Nxb Y học, 2018.
2. Báo động thực trạng thừa cholesterol: Hệ lụy và giải pháp - Tin liên quan - Cổng thông tin Bộ Y tế. Accessed September 22, 2024. <https://moh.gov.vn>
3. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh rối loạn chuyển hóa, nội tiết. Published online 2015.
4. L. N, Chandran Pillai ALP. Dyslipidemia: Genetics and Role in the Metabolic Syndrome. In: Kelishadi R, ed. *Dyslipidemia - From Prevention to Treatment*. InTech; 2012. doi:10.5772/28188
5. Opap K, Mulder N. Recent advances in predicting gene–disease associations. *F1000Res*. 2017;6:578. doi:10.12688/f1000research.10788.1
6. Antamarina-Fojo S, Dugi KA. Structure, function and role of lipoprotein lipase in lipoprotein metabolism: *Current Opinion in Lipidology*. 1994;5(2):117-125.
7. Kobayashi J, Miyashita K, Nakajima K, Mabuchi H. Hepatic Lipase: a Comprehensive View of its Role on Plasma Lipid and Lipoprotein Metabolism. *J Atheroscler Thromb*. 2015;22(10):1001-1011. doi:10.5551/jat.31617
8. Wei W, Hu T, Luo H, et al. The cross-sectional study of hepatic lipase SNPs and plasma lipid levels. *Food Science & Nutrition*. 2020;8(2):1162-1172.
9. Verma P. The rs2070895 (-250G/A) Single Nucleotide Polymorphism in Hepatic Lipase (HL) Gene and the Risk of Coronary Artery Disease in North Indian Population: A Case-Control Study. *Journal of Clinical and Diagnosis Research*. 2016;10. doi:10.7860/JCDR/2016/20496.8378
10. Zhao S, Xie X, Nie S. The -250G→A polymorphism in the human hepatic lipase gene promoter affects blood lipids in Chinese. *Clinica Chimica Acta*. 2006;365(1-2):149-152. doi:10.1016/j.cca.2005.08.013
11. De Andrade F, Silveira F, Arsand M, et al. Association between -250G/A polymorphism of the hepatic lipase gene promoter and coronary artery disease and HDL-C levels in a Southern Brazilian population. *Clinical Genetics*. 2004;65(5):390-395. doi:10.1111/j.0009-9163.2004.00243.x
12. Wangkumhang P, Chaichoompu K, Ngamphiw C, et al. WASP: a Web-based Allele-Specific PCR assay designing tool for detecting SNPs and mutations. *BMC Genomics*. 2007;8(1):275. doi:10.1186/1471-2164-8-275
13. Ahmed Z, Zeeshan S, Mendhe D, Dong X. Human gene and disease associations for clinical-genomics and precision medicine research. *Clinical & Translational Med*. 2020;10(1):297-318. doi:10.1002/ctm2.28
14. Meng L, Ruixing Y, Yiyang L, et al. Association of *LIPC* -250G>A polymorphism and several environmental factors with serum lipid levels in the Guangxi Bai Ku Yao and Han populations. *Lipids Health Dis*. 2010;9(1):28. doi: 10.1186/1476-511X-9-28.