

THIẾT KẾ VÀ TỐI ƯU HÓA PHẦN ỨNG PCR KHUẾCH ĐẠI TOÀN BỘ GEN *CPT1A* PHỤC VỤ CHẨN ĐOÁN THIẾU HỤT CARNITINE PALMITOYLTRANSFERASE 1A TẠI VIỆT NAM

Tạ Văn Thao^{1,✉}, Trần Thị Chi Mai¹, Đặng Thị Thanh Mai²
Nguyễn Diệu Thùy¹, Nguyễn Thị Phương Thúy¹, Trịnh Thị Phương Dung¹

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Châm cứu Trung ương

Thiếu hụt Carnitine palmitoyltransferase 1A (*CPT1A* deficiency) là rối loạn chuyển hóa bẩm sinh hiếm gặp, gây suy giảm năng lượng do khiếm khuyết vận chuyển acid béo chuỗi dài vào ty thể. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu về đặc điểm gen *CPT1A*. Nghiên cứu này thiết kế 19 cặp mồi đặc hiệu khuếch đại toàn bộ exon gen *CPT1A* và tối ưu hóa phần ứng PCR (nồng độ mồi 0,5 μ M, nhiệt độ gắn mồi 55°C) bằng giải trình tự Sanger. Kết quả cho thấy tất cả 19 exon được khuếch đại thành công, kết quả điện di sản phẩm PCR cho kết quả sắc nét, đúng kích thước (228 - 458bp). Kết quả giải trình tự thế hệ mới (NGS) của một mẫu bệnh phẩm cho thấy trình tự gen thu được trùng khớp hoàn toàn với gen *CPT1A* (NC_000011.9). Nghiên cứu đặt nền tảng cho chẩn đoán di truyền *CPT1A* deficiency tại Việt Nam, hỗ trợ sàng lọc sớm và tư vấn di truyền, mở đường cho ứng dụng lâm sàng và tích hợp kỹ thuật NGS.

Từ khóa: Thiếu hụt *CPT1A*, gen *CPT1A*, PCR, chẩn đoán di truyền, sàng lọc sơ sinh, NGS.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn chuyển hóa acid béo (Fatty Acid Oxidation Disorders - FAODs) là nhóm bệnh di truyền bẩm sinh do khiếm khuyết trong quá trình β -oxy hóa acid béo tại ty thể hoặc vận chuyển acid béo qua con đường carnitine, dẫn đến suy giảm sản xuất năng lượng. Theo Marsden et al. (2021), tỷ lệ mắc FAODs ước tính khoảng 1/5.000 - 1/10.000 trẻ sơ sinh.¹ Thiếu hụt enzyme carnitine palmitoyltransferase 1A (*CPT1A* deficiency), một dạng FAOD, là rối loạn di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường, gây suy giảm chuyển hóa acyl-CoA chuỗi dài thành acylcarnitine, dẫn đến rối loạn oxy hóa acid béo.² Gen *CPT1A* có cấu trúc 19 exon, với các biến thể gây bệnh phổ biến như p.Gly710Glu ở quần thể Hutterite (tỷ lệ mang 1/16) và quần thể

Alaska (tỷ lệ mắc 1/780), thường liên quan đến vùng exon 18-19.^{3,4} Việc thiết kế mồi bao phủ toàn bộ exon sẽ hỗ trợ hiệu quả cho bước xác định biến thể gây bệnh.^{3,4}

Biểu hiện lâm sàng của thiếu hụt *CPT1A* thường xuất hiện khi cơ thể chịu stress chuyển hóa (như đói hoặc nhiễm trùng), với các triệu chứng bao gồm hạ đường huyết, co giật, hôn mê, gan to, và tăng ammoniac máu. Nếu không được chẩn đoán và can thiệp kịp thời, bệnh có thể gây tử vong, với tỷ lệ tử vong trong các đợt cấp vượt 60% ở trẻ em.⁵ Chẩn đoán thường dựa trên sàng lọc sơ sinh, xét nghiệm sinh hóa, và phân tích acylcarnitine máu, nhưng cần kỹ thuật sinh học phân tử như giải trình tự Sanger hoặc Next Generation Sequencing (NGS) để xác định chính xác đột biến gen *CPT1A* và phân biệt với các rối loạn khác như *CPT2* hay CACT.⁶

Tại Việt Nam, chẩn đoán di truyền thiếu hụt *CPT1A* cần các công cụ cơ bản như hệ thống

Tác giả liên hệ: Tạ Văn Thao

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tavanthao@gmail.com

Ngày nhận: 29/09/2025

Ngày được chấp nhận: 15/10/2025

mỗi PCR đặc hiệu. Các nghiên cứu quốc tế đã phát triển cặp mỗi đặc hiệu và tối ưu hóa PCR cho gen *CPT1A*, nhưng chưa có công bố nào tại Việt Nam thiết kế hệ thống mỗi bao phủ toàn bộ exon gen này để phục vụ giải trình tự Sanger. Do đó, nghiên cứu này nhằm:

(1) Thiết kế các cặp mỗi đặc hiệu để khuếch đại toàn bộ exon của gen *CPT1A*;

(2) Tối ưu hóa điều kiện phản ứng PCR, đặt nền tảng cho giải trình tự Sanger trong các nghiên cứu tiếp theo, góp phần xây dựng công cụ chẩn đoán di truyền và tư vấn di truyền tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Mẫu DNA chứng không mang các đột biến trên gen *CPT1A* (xác nhận bằng Sanger), được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Chemedic Việt Nam.

2. Phương pháp

Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại Phòng Nghiên cứu, Công ty Cổ phần Chemedic Việt Nam, Hà Nội.

Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 08/2024 - 05/2025.

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, chọn mẫu thuận tiện và nghiên cứu thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

Trang Thiết Bị và Hóa Chất

Trang thiết bị: Máy ly tâm (ThermoFisher, Mỹ), máy lắc vortex (Velp, Ý), máy quang phổ UV/Vis (Nabi, Hàn Quốc), máy RT-PCR DT-96 (DNA-Technology, Nga), hệ thống điện di nanoPAC-300 (Cleaver Scientific, Anh).

Hóa chất: MasterMix 2X PCR (Intron, Hàn Quốc), dung dịch đệm TAE 50X (Norgen Biotek,

Canada), agarose (Cleaver Scientific, Anh), chất nhuộm DNA RedSafe 20.000X, thang chuẩn DNA 100 bp, kit tách chiết DNA G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit.

Vật liệu: 03 mẫu DNA chứng (không chứa biến đổi, do Chemedic cung cấp).

Cặp mỗi: 19 cặp mỗi đặc hiệu khuếch đại gen *CPT1A* (8 cặp thiết kế mới, 11 cặp tham khảo), bao phủ toàn bộ exon. Trình tự được tổng hợp tại Phusangenomics (Việt Nam)

Quy trình nghiên cứu

Thiết kế mỗi: Sử dụng phần mềm Ugene và trình tự gen *CPT1A* từ GenBank (NC_000011.9). Tiêu chuẩn: Độ dài 18 - 27bp, Tm 50 - 65°C, GC% 40 - 60%, hạn chế tự bổ sung (hairpin/dimer).

Phản ứng PCR: Thành phần: 10µl MasterMix 2X, 5µl mỗi xuôi/ngược (0,5µM), 5µl DNA khuôn, tổng thể tích 20µl. Chu trình nhiệt: Biến tính 95°C (5 phút); 45 chu kỳ: 95°C (30 giây), gắn mỗi 55°C (30 giây), kéo dài 72°C (30 giây); kéo dài cuối 72°C (5 phút). Tối ưu hóa: Khảo sát nồng độ mỗi (0,1 - 1µM) và nhiệt độ gắn mỗi (53 - 57°C).

Điện di và phân tích: Gel agarose 1-2%, chạy điện di 130V, 300mA, 30 phút; soi UV, chụp ảnh.

Tinh sạch sản phẩm PCR: Cắt băng gel, ủ với BNL Buffer/Plus, ly tâm qua cột lọc, thu DNA với Elution Buffer.

Xác nhận bằng NGS: 01 mẫu được phân tích bằng giải trình tự thế hệ mới (NGS) trên hệ thống Nanopore (Oxford, Anh).

Xử lý số liệu

Dữ liệu PCR nhập vào Excel để phân tích thống kê.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm thiết kế và tối ưu hóa các bộ mỗi ứng dụng xác định biến

đổi gen *CPT1A* gây bệnh thiếu hụt CPT1 giúp chẩn đoán để điều trị sớm cho bệnh nhân. Các thông tin thu thập được trong nghiên cứu này chỉ nhằm mục đích khoa học và phục vụ khám chữa

bệnh mà không vì mục đích nào khác.

III. KẾT QUẢ

1. Thiết kế cặp mồi đặc hiệu

Bảng 1. Mồi cho phản ứng PCR trong khuếch đại toàn bộ exon trên gen *CPT1A*

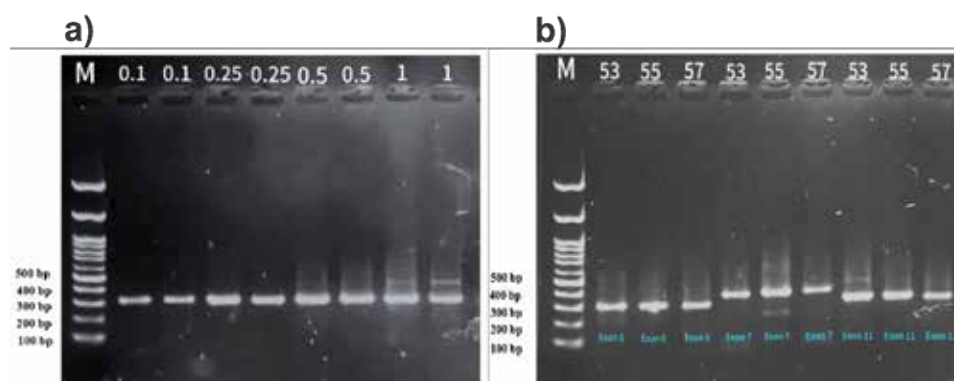
TT	Mồi	Trình tự mồi	Kích thước sản phẩm (bp)	%GC	Tm	TLTK
1	F1	AGTTTCCCTCCCCTCCTAGC	458	60	60,3	Mồi mới
	R1	AGCCCCGGCCTCTTTCT	458	64,71	60,2	
2	F2	AGTGTCTGGTCACACGTTCC	281	55	59,9	[7]
	R2	ACCTCAATAGCAGCCAGAGC	281	55	59,8	
3	F3	TGGGTTGTGGGAGGACACC	228	63,16	61,5	Mồi mới
	R3	GGTAACTTCCCAGACAATTGG	228	47,62	56,5	
4	F4	TCCCTTGTCTGGGTCTGTCT	272	55	59,8	Mồi mới
	R4	CTTCCGCAGGGGTGTCCTT	272	63,16	61,9	
5	F5	CTTCGGATCTTTAACATAGCC	383	42,86	54,2	[7]
	R5	CCTACCAGGCACACCGC	383	70,59	60,1	
6	F6	AAGGCACAAGTGAGGCAAAC	302	50	59,2	Mồi mới
	R6	TTTCAGCCCTGTTATCCCTG	302	50	57,2	
7	F7	CTAGTTAGGACTGCGTTCCC	364	55	57,4	[7]
	R7	AGGAGCATGAGCCAATCC	364	55,56	56,7	
8	F8	GAACGTGTGCAGGATGTGC	357	57,89	59,1	[7]
	R8	TAACCTCAGATGATCCGCC	357	52,63	56,3	
9	F9	TACTGACCTCGTGATCCGC	297	57,89	58,9	Mồi mới
	R9	TGACACTTCCTAATTCTGAGC	297	42,86	55,3	
10	F10	AGAGTCAGGGTACGGTCG	379	61,11	57,7	[7]
	R10	AGTCCCGTGCCAGGATTCC	379	63,16	61,7	
11	F11	CCATCGCTGCAGGTCGG	301	70,59	60,6	[7]
	R11	CAACGGGTATTTCTTCCAAGC	301	47,62	56,9	
12	F12	TGAAGCAGAGAGGTGCAATG	260	50	58,2	Mồi mới
	R12	TGTGCGCCACTGCGCCT	260	70,59	65,6	

TT	Mỗi	Trình tự mỗi	Kích thước sản phẩm (bp)	%GC	Tm	TLTK
13	F13	GCCTTAACAGCTGTGATTCAAACCTT	371	40	60,5	[7]
	R13	CTTTCAGCCTCAGTGGTCTTCAACT	371	48	62,9	
14	F14	TTGTGTACTTCCCAGTACCG	353	50	56,8	[7]
	R14	CAGTCTTGGGCAGGTGTAGG	353	60	60,0	
15	F15	GAAGTCCACGTCTCCTTGC	314	57,89	58,2	[7]
	R15	AGAAGCTGGAGTGATGGCC	314	57,89	59,4	
16	F16	CGGTGGCTAACTTAGATCCG	359	55	57,9	[7]
	R16	CAGCTACACCCACAGACCC	359	63,16	59,7	
17	F17	GTCTTCCCAAAGCGACTCC	243	57,89	58,2	[7]
	R17	CATTACCCATCCCATCACC	243	52,63	55,0	
18	F18	CGCCAGTGTTGCATTAGAA	324	45	57,0	Mỗi mới
	R18	TCCATTTATGTGAAAATCCCG	324	36,36	55,1	
19	F19	CTTAGAAATGCAGTGTGAATGTAGG	399	40	58,2	Mỗi mới
	R19	GCTATTTCTTTACAGCAATGTGAG	399	37,5	56,7	

Mười chín cặp mỗi (8 cặp mới: 1, 3, 4, 6, 9, 12, 18, 19; 11 cặp tham khảo từ [7]) được thiết kế và tham khảo, bao phủ toàn bộ exon gen *CPT1A*, với kích thước sản phẩm PCR từ 228 - 458bp. Giá trị %GC dao động 36,36 - 70,59%

(chủ yếu 40 - 60%), Tm từ 54,19 - 65,57°C, chênh lệch Tm giữa mỗi xuôi/ngược < 5°C. Chỉ số tự bổ sung (2 - 8) và tự bổ sung đầu 3' (0 - 5) đảm bảo hạn chế hairpin/primer dimer.

2. Tối ưu hóa phản ứng PCR



Hình 1. Hình ảnh điện di của các sản phẩm PCR ở các điều kiện được khảo sát

- a) khuếch đại exon 11 với nồng độ primer thay đổi (0,1; 0,25; 0,5 và 1,0 μ M),
b) khuếch đại các exon 6, 7 và 11 tại nhiệt độ gắn mỗi (Ta) 53°C; 55°C và 57°C

Hình 1a là kết quả khảo sát phản ứng PCR khuếch đại exon 11 với nồng độ mỗi khác nhau. Khi thay đổi nồng độ mỗi từ 0,1 đến 1 μM cho thấy băng DNA rõ nét ở kích thước $\sim 301\text{bp}$. Nồng độ 0,5 μM được xác định là tối ưu nhờ tạo sản phẩm sắc nét, và không xuất hiện sản phẩm phụ.

Hình 1b là kết quả khảo sát phản ứng PCR

khuếch đại exon 6, 7 và 11 ở các nhiệt độ gắn mỗi (T_a) 53°C, 55°C và 57°C cho thấy băng DNA rõ nét và không có sản phẩm phụ. Nhiệt độ 55°C được chọn là tối ưu do đảm bảo hiệu quả khuếch đại ổn định và phù hợp với kích thước sản phẩm dự đoán (~ 302 , 364 và 301, tương ứng).

3. Khuếch đại 19 exon gen *CPT1A*



Hình 2. Kết quả điện di 19 exon gen *CPT1A* tại nồng độ mỗi 0,5 μM , nhiệt độ gắn mỗi 55°C

Hình 2 là hình ảnh điện di sản phẩm PCR của 19 exon trên gen *CPT1A* sử dụng nồng độ mỗi 0,5 μM và nhiệt độ gắn mỗi 55°C. Hình ảnh cho thấy 19 băng rõ ràng, không xuất hiện các băng phụ, có kích thước phù hợp với tính toán lý thuyết (228 - 458bp). Kết quả xác nhận 19 exon được khuếch đại thành công trên tất cả 3 mẫu, với độ đặc hiệu cao. Giải trình tự NGS 01 cho thấy trình tự khớp 100% với RefSeq NC_000011.9, không có biến thể.

IV. BÀN LUẬN

Thiếu hụt carnitine palmitoyltransferase 1A (*CPT1A* deficiency) là một rối loạn chuyển hóa acid béo bẩm sinh hiếm gặp, được đặc trưng bởi sự suy giảm vận chuyển acid béo chuỗi dài vào ty thể, dẫn đến các biểu hiện lâm sàng nghiêm trọng như hạ đường huyết, tăng ammoniac máu, và nguy cơ tử vong cao nếu không được can thiệp kịp thời.^{2,5} Nghiên cứu hiện tại tập trung vào việc thiết kế và tối ưu hóa

hệ thống khuếch đại gen *CPT1A*, đặt nền tảng cho chẩn đoán di truyền tại Việt Nam, nơi các kỹ thuật phân tích gen vẫn còn hạn chế. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự thành công trong việc phát triển 19 cặp mỗi đặc hiệu, tối ưu hóa điều kiện PCR, và khuếch đại toàn bộ exon của gen *CPT1A*, mở ra triển vọng cho các nghiên cứu tiếp theo sử dụng giải trình tự Sanger hoặc NGS, đồng thời và ứng dụng trong chẩn đoán sơ sinh, sàng lọc di truyền gia đình để giảm tỷ lệ tử vong.

Hệ thống 19 cặp mỗi được thiết kế và tham khảo trong nghiên cứu này bao phủ toàn bộ exon gen *CPT1A*, với kích thước sản phẩm PCR dao động từ 228 đến 458bp, phù hợp với các phản ứng PCR tiêu chuẩn.⁷ Giá trị %GC (36,36 - 70,59%) và nhiệt độ nóng chảy (T_m) (54,2 - 65,6°C) được duy trì trong khoảng lý tưởng, với chênh lệch T_m giữa mỗi xuôi và ngược dưới 5°C, đảm bảo tính đặc hiệu và hiệu quả khuếch đại.⁷ So sánh với nghiên cứu

của Gobin et al (2002), các cặp mồi mới được thiết kế trong nghiên cứu này (bao gồm cặp 1, 3, 4, 6, 9, 12, 18, 19) bổ sung và tối ưu hóa phạm vi bao phủ, khắc phục hạn chế của các cặp mồi tham khảo trong việc khuếch đại một số exon có %GC cao hoặc vùng trình tự phức tạp. Điều này đặc biệt quan trọng trong bối cảnh gen *CPT1A* có sự biến động lớn về thành phần nucleotide, đòi hỏi thiết kế mồi linh hoạt để tránh hiện tượng hairpin hoặc primer dimer, vốn được kiểm soát tốt với chỉ số tự bổ sung (2 - 8) và tự bổ sung đầu 3' (0 - 5).^{7,9}

Nghiên cứu của Bernhardt et al (2022) cũng báo cáo thành công trong thiết kế mồi cho gen *CPT1A* trong sàng lọc sơ sinh, nhưng tập trung vào các quần thể Thái Bình Dương với biến thể p.Gly710Glu phổ biến, trong khi nghiên cứu này nhắm đến ứng dụng chung tại Việt Nam, nơi chưa có dữ liệu di truyền cụ thể. Sự khác biệt này làm tăng giá trị của hệ thống mồi hiện tại, cung cấp một công cụ linh hoạt để nghiên cứu thêm các đột biến đặc trưng tại địa phương trong tương lai.⁸

Kết quả tối ưu hóa phản ứng PCR cho thấy nồng độ mồi 0,5μM là điều kiện lý tưởng để khuếch đại exon 11, với băng DNA rõ nét ở kích thước 301 bp và không có sản phẩm phụ, phù hợp với các khuyến nghị của Bonnefont et al (2004) về tối ưu hóa nồng độ primer để tránh hiện tượng nhòe do dư thừa.⁹ **Hình 1a** xác nhận hiệu quả khuếch đại cao nhất tại 0,5μM, trong khi nồng độ 1,0μM dẫn đến hiện tượng nhòe, có thể do sự cạnh tranh không đặc hiệu giữa các phân tử primer.⁹ Về nhiệt độ gắn mồi, **Hình 1b** chỉ ra rằng nhiệt độ 55°C mang lại kết quả ổn định cho khuếch đại exon 6, 7 và 11 (kích thước dự đoán ~302, 364 và 301bp), phù hợp với phạm vi Tm (54,2 - 65,6°C) của các cặp mồi. So sánh với nghiên cứu của Tein et al (1989), việc chọn nhiệt độ 55°C đảm bảo tránh hiện tượng không đặc hiệu ở các vùng trình tự

giàu GC, vốn là thách thức trong khuếch đại gen *CPT1A*.¹⁰

Hình 2 chứng minh sự thành công trong khuếch đại 19 exon gen *CPT1A* với nồng độ mồi 0,5 μM và nhiệt độ 55°C, với 19 băng DNA rõ ràng, không có băng phụ, và kích thước khớp với tính toán lý thuyết (228 - 458bp). Kết quả này khẳng định độ đặc hiệu cao của hệ thống mồi, tạo điều kiện thuận lợi cho các bước tiếp theo như giải trình tự Sanger. So với nghiên cứu của Baruteau, et al (2013), nơi tỷ lệ tử vong trong các đợt cấp của FAODs vượt 60%, việc phát triển công cụ chẩn đoán sớm dựa trên khuếch đại gen *CPT1A* có tiềm năng giảm đáng kể gánh nặng lâm sàng, đặc biệt ở trẻ sơ sinh tại Việt Nam.⁵ Marsden, et al (2021) cũng nhấn mạnh vai trò của sàng lọc sơ sinh trong cải thiện tiên lượng FAODs, và nghiên cứu này cung cấp nền tảng quan trọng để tích hợp vào chương trình sàng lọc tại địa phương.¹

Tại Việt Nam, nơi các kỹ thuật như NGS vẫn chưa phổ biến do chi phí cao và cơ sở hạ tầng hạn chế, giải pháp dựa trên PCR và giải trình tự Sanger với hệ thống mồi này mang lại lợi thế kinh tế và khả thi. Hơn nữa, việc xác định đột biến gen *CPT1A* thông qua Sanger có thể hỗ trợ tư vấn di truyền, giúp gia đình hiểu rõ nguy cơ di truyền và lập kế hoạch sinh sản, một khía cạnh còn thiếu trong hệ thống y tế hiện tại.²

Nghiên cứu vẫn còn một số hạn chế như: hiệu suất khuếch đại có thể khác nhau do %GC biến động (36,36 - 70,59%); và chưa thực hiện Sanger để xác nhận đột biến. Các bước tiếp theo bao gồm: (1) Giải trình tự Sanger để xác định đột biến Việt Nam; (2) Thử nghiệm trên mẫu bệnh nhân để đánh giá độ nhạy. Những bước này sẽ tăng cường giá trị nghiên cứu và năng lực chẩn đoán di truyền.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết kế và tối ưu hóa thành

công 19 cặp mỗi đặc hiệu khuếch đại gen *CPT1A*, với nồng độ mỗi 0,5µM và nhiệt độ gắn mỗi 55°C, đảm bảo khuếch đại hiệu quả toàn bộ exon. Kết quả bước đầu cung cấp công cụ chẩn đoán di truyền thiếu hụt *CPT1A* tại Việt Nam, hỗ trợ sàng lọc sớm và tư vấn di truyền. Các bước tiếp theo bao gồm giải trình tự Sanger và ứng dụng lâm sàng để cải thiện quản lý bệnh nhân.

Dữ liệu bổ sung: Dữ liệu chi tiết về kết quả khuếch đại PCR (hình ảnh điện di) và kết quả giải trình tự NGS của 01 mẫu được lưu trữ tại Phòng Nghiên cứu, Công ty Cổ phần Chemedic Việt Nam. Dữ liệu giải trình tự thế hệ mới (NGS) của gen *CPT1A* có thể được cung cấp theo yêu cầu, bao gồm thông tin trình tự toàn bộ exon và vùng intron lân cận, nhằm hỗ trợ phân tích sâu hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Marsden D, Bedrosian CL, Vockley J. Impact of newborn screening on the reported incidence and clinical outcomes associated with medium- and long-chain fatty acid oxidation disorders. *Genet Med*. 2021; 23(5): 816-829. doi:10.1038/s41436-020-01070-0.
2. Lee K, Pritchard A, Ahmad A. Carnitine Palmitoyltransferase 1A Deficiency. In: *GeneReviews®* [Internet]. University of Washington, Seattle; 2025. Accessed April 18, 2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1527/>.
3. Gillingham MB, Hirschfeld M, Lowe S, et al. Impaired fasting tolerance among Alaska native children with a common carnitine palmitoyltransferase 1A sequence variant. *Mol Genet Metab*. 2011; 104(3): 261-264. doi:10.1016/j.ymgme.2011.06.017.
4. Brown NF, Mullur RS, Subramanian I, et al. Molecular characterization of L-CPT I deficiency in six patients: insights into function of the native enzyme. *J Lipid Res*. 2001; 42(7): 1134-1142.
5. Baruteau J, Sachs P, Broué P, et al. Clinical and biological features at diagnosis in mitochondrial fatty acid beta-oxidation defects: a French pediatric study of 187 patients. *J Inherit Metab Dis*. 2013; 36(5): 795-803. doi:10.1007/s10545-012-9542-6.
6. Merritt JL, Norris M, Kanungo S. Fatty acid oxidation disorders. *Ann Transl Med*. 2018; 6(24): 473. doi:10.21037/atm.2018.10.57.
7. Gobin S, Bonnefont JP, Prip-Buus C, Mugnier C, Ferrec M, Demaugre F, Saudubray JM, Rostane H, Djouadi F, Wilcox W, Cederbaum S, Haas R, Nyhan WL, Green A, Gray G, Girard J, Thuillier L. Organization of the human liver carnitine palmitoyltransferase 1 gene (*CPT1A*) and identification of novel mutations in hypoketotic hypoglycaemia. *Hum Genet*. 2002; 111(2): 179-189. doi:10.1007/s00439-002-0752-0.
8. Bernhardt I, Glamuzina E, Dowsett LK, et al. Genotype-phenotype correlations in *CPT1A* deficiency detected by newborn screening in Pacific populations. *JIMD Rep*. 2022; 63(4): 322-329. doi:10.1002/jmd2.12271.
9. Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med*. 2004; 25(5-6): 495-520. doi:10.1016/j.mam.2004.06.004.
10. Tein I, Demaugre F, Bonnefont JP, Saudubray JM. Normal muscle CPT1 and CPT2 activities in hepatic presentation patients with CPT1 deficiency in fibroblasts. *J Neurol Sci*. 1989; 92(2-3): 229-245. doi:10.1016/0022-510x(89)90139-1.

Summary

PRIMER DESIGN AND PCR OPTIMIZATION FOR FULL-EXON AMPLIFICATION OF THE CPT1A GENE TO SUPPORT GENETIC DIAGNOSIS OF CARNITINE PALMITOYLTRANSFERASE 1A DEFICIENCY IN VIETNAM

Characterization of Carnitine Palmitoyltransferase 1A gene by Sanger sequencing. Carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A) deficiency is a rare inherited metabolic disorder causing energy deficiency due to impaired transport of long-chain fatty acids into mitochondria. In Vietnam, no study on CPT1A gene characteristics have been published. This study designed 19 specific primer pairs to amplify all exons of the CPT1A gene and optimized PCR conditions (primer concentration 0.5 $\mu\text{mol/L}$, annealing temperature 55°C) for Sanger sequencing. Results showed successful amplification of all 19 exons, with cycle threshold (Ct) values ranging from 16.105 to 23.441 and clear PCR products (228 – 458bp). This study establishes a foundation for genetic diagnosis of CPT1A deficiency in Vietnam, supporting early screening and genetic counseling, and paving the way for clinical applications and integration with Sanger or Next Generation Sequencing (NGS).

Keywords: CPT1A deficiency; CPT1A gene; primer design; PCR optimization; Sanger sequencing; NGS.