BƯỚC ĐẦU THIẾT LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ QUY TRÌNH GIẢI TRÌNH TỰ THẾ HỆ MỚI GEN VWF TẠI VIỆN HUYẾT HỌC - TRUYỀN MÁU TRUNG ƯƠNG

Dương Quốc Chính[3], Nguyễn Thanh Ngọc Bình[1,2], Ngô Thu Hằng[1], Dương Tố Uyên[1], Trần Huy Thịnh[2]

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Phân tích gen *VWF* hỗ trợ xác định nguyên nhân phân tử và tư vấn di truyền trong bệnh von Willebrand. Tuy nhiên, vùng exon 23–34 tương đồng cao với giả gen *VWFP1*, làm tăng nguy cơ căn chỉnh sai và gọi biến thể không chính xác.

Mục tiêu: Đánh giá chất lượng, hiệu năng kỹ thuật và mức độ phù hợp của quy trình NGS gen *VWF* trong phát hiện SNV và Indel nhỏ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trên 34 mẫu DNA người bệnh VWD bẩm sinh. Toàn bộ 52 exon và vùng tiếp giáp exon–intron của *VWF* được làm giàu bằng panel xGen, giải trình tự MiSeq v3 cấu hình đọc 2 đầu 2 × 150 bp và phân tích bằng VarSome Clinical. Kết quả biến thể được đối chiếu với một quy trình NGS độc lập.

Kết quả: Trung bình mỗi mẫu thu được 137.848 đoạn đọc; tỷ lệ on-target 63,54%, ánh xạ duy nhất 92,62%, trùng lặp 1,51% và độ sâu trung bình 195,5X. Tỷ lệ nucleotide vùng đích đạt ≥30X là 99,17%. Tại exon 23–34, MAPQ trung bình đạt 51,23 ± 0,71; có 225/2.875 bp (7,83%) có MAPQ dưới 30, tập trung ở exon 24, 26 và 34. Cả 42 biến thể đối chiếu đều phù hợp giữa hai cơ sở.

Kết luận: Quy trình đạt độ sâu, độ bao phủ và mức độ phù hợp cao trong phát hiện SNV, Indel nhỏ. Exon 26 và các đoạn MAPQ thấp tại exon 24, 34 cần xác nhận bổ sung.

Từ khóa: Bệnh von Willebrand, *VWF*, NGS, lai bắt giữ.

SUMMARY

ESTABLISHMENT AND PRELIMINARY EVALUATION OF A NEXT-GENERATION SEQUENCING WORKFLOW FOR *VWF* AT THE NATIONAL INSTITUTE OF HEMATOLOGY AND BLOOD TRANSFUSION

Background: *VWF* genetic analysis supports molecular diagnosis and genetic counseling in von Willebrand disease. However, high homology between *VWF* exons 23–34 and the *VWFP1* pseudogene increases the risk of read misalignment and inaccurate variant calling.

Objective: To evaluate the quality, technical performance, and concordance of a *VWF* next-generation sequencing workflow for detecting SNVs and small Indels.

Materials and Methods: This laboratory study included 34 DNA samples from patients with inherited VWD. All 52 *VWF* exons and flanking regions were enriched using an xGen capture panel, sequenced on MiSeq v3 with 2 × 150-bp paired-end reads, and analyzed using VarSome Clinical. Variant calls were compared with an independent NGS workflow.

Results: The mean reads per sample were 137,848; on-target, uniquely mapped, and duplicate read rates were 63.54%, 92.62%, and 1.51%, respectively. Mean depth was 195.5X, and 99.17% of target nucleotides reached ≥30X. Across exons 23–34, mean MAPQ was 51.23 ± 0.71; 225/2,875 bp (7.83%) had MAPQ <30, involving exons 24, 26, and 34. All 42 variants were concordant between laboratories.

Conclusion: The workflow achieved high depth, coverage, and concordance for SNVs and small Indels. Exon 26 and low-MAPQ segments in exons 24 and 34 require supplementary confirmation.

Keywords: Von Willebrand disease, *VWF*, next-generation sequencing, hybrid capture.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh von Willebrand (VWD) là rối loạn chảy máu di truyền do giảm số lượng hoặc bất thường chức năng của VWF, protein kết dính tiểu cầu, bảo vệ yếu tố VIII. Chẩn đoán dựa trên biểu hiện chảy máu, tiền sử gia đình và xét nghiệm VWF. Do nồng độ VWF biến thiên và các thể bệnh chồng lấp, phân tích *VWF* hỗ trợ chẩn đoán phân tử, phân loại và tư vấn di truyền [3,4].

Gen *VWF* nằm tại vị trí 12p13.31, dài khoảng 178 kb và gồm 52 exon. Kích thước gen lớn khiến giải trình tự Sanger toàn bộ vùng mã hóa cần nhiều thời

[1]*Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương*
[2]*Đại học Y Hà Nội*
[3]*Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội*
Tác giả chịu trách nhiệm chính: Dương Quốc Chính
Email: chinhdq.ump@vnu.edu.vn
Mã bài: HHTM-35
Ngày nhận bài: 20/8/2026
Ngày phản biện khoa học: 18/8/2026
Ngày duyệt bài: 5/10/2026

gian và nguồn lực. Ngoài ra, gen giả *VWFP1* tại vị trí 22q11.1 có mức độ tương đồng khoảng 97% với exon 23–34 của *VWF*, có thể gây bắt giữ chéo, căn chỉnh sai locus và gọi biến thể dương tính hoặc âm tính giả [5,6].

Công nghệ giải trình tự thế hệ mới (next-generation sequencing – NGS) cho phép khảo sát đồng thời toàn bộ vùng mã hóa và vùng tiếp giáp exon–intron của *VWF* trên nhiều mẫu, giúp tăng năng suất so với giải trình tự Sanger. Tính khả thi của NGS trong chẩn đoán phân tử VWD đã được chứng minh, trong đó thiết kế làm giàu đặc hiệu locus đặc biệt quan trọng đối với vùng tương đồng với *VWFP1* [1].

Tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương, kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới đang được ứng dụng nhằm nâng cao năng lực chẩn đoán di truyền bệnh von Willebrand bẩm sinh. Tuy nhiên, quy trình chưa có đánh giá một cách hệ thống về hiệu năng kỹ thuật và mức độ phù hợp trong phát hiện biến thể. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá chất lượng của quy trình NGS phân tích gen *VWF*, làm cơ sở cho việc tiếp tục chuẩn hóa và ứng dụng xét nghiệm. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: *Đánh giá các chỉ số chất lượng và hiệu năng kỹ thuật quy trình giải trình tự gen VWF.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 34 mẫu máu ngoại vi của người bệnh được chẩn đoán bệnh von Willebrand bẩm sinh tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả kết hợp thực nghiệm phòng xét nghiệm.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 2 năm 2025 đến tháng 2 năm 2026 tại Khoa Di truyền – Sinh học phân tử, Viện Huyết học – Truyền máu Trung ương.

Xét nghiệm đối chiếu được thực hiện tại Viện Di truyền Y học, Thành phố Hồ Chí Minh.

Quy trình giải trình tự gen *VWF*

Phạm vi khảo sát

Panel lai bắt giữ tùy chỉnh khảo sát bảy gen liên quan đến yếu tố von Willebrand, gồm *VWF, STAB2, TC2N, GP1BA, CLEC4M, STXBP5* và *SCARA5*. Panel có 454 probe dài 120 nucleotide, trong đó 101 probe dành cho *VWF*. Phạm vi *VWF* gồm vùng mã hóa của 52 exon, 5′UTR, 3′UTR và 20 bp hai bên ranh giới exon–intron, nhằm phát hiện các SNV và Indel nhỏ.

Giải trình tự gen *VWF*

DNA được tách từ máu ngoại vi bằng QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, Đức), tạo thư viện bằng xGen DNA Library Prep EZ Kit (Integrated DNA Technologies, Hoa Kỳ) và làm giàu bằng xGen Hybridization Capture Panel (Integrated DNA Technologies, Hoa Kỳ). Thư viện được giải trình tự trên hệ thống Illumina MiSeq (Illumina, Hoa Kỳ) bằng MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, Hoa Kỳ), với cấu hình paired-end 2 × 150 bp, khảo sát 52 exon của *VWF*.

Dữ liệu được phân tích bằng VarSome Clinical 13.14.3 (Saphetor SA, Thụy Sĩ). Đoạn đọc được căn chỉnh theo GRCh38; SNV và Indel nhỏ được phát hiện, lọc và chú giải. Biến thể *VWF* được mô tả theo NM_000552.5 và danh pháp HGVS. Chất lượng được đánh giá dựa trên độ sâu, chất lượng căn chỉnh, số đoạn đọc mang alen thay thế và cân bằng alen. Vị trí nghi ngờ được kiểm tra trên IGV và xác nhận bằng Sanger khi cần. Vùng báo cáo phải đạt độ sâu tối thiểu 30X; vị trí không đạt ngưỡng được ghi nhận là hạn chế kỹ thuật và không kết luận âm tính nếu chưa kiểm tra bổ sung. Biến thể được phân loại theo ACMG/AMP 2015 và ClinGen VWF VCEP theo năm mức từ gây bệnh đến lành tính.

2.3. Đối chiếu kết quả NGS

Toàn bộ 34 mẫu được thực hiện NGS độc lập tại hai cơ sở. Phân tích chỉ bao gồm biến thể nằm trong vùng khảo sát chung của *VWF*, được phân loại gây bệnh, có khả năng gây bệnh hoặc không rõ chức năng. Kết quả chỉ phù hợp khi hai cơ sở phát hiện cùng biến thể và trạng thái hợp tử. Mọi khác biệt về biến thể hoặc trạng thái hợp tử được kiểm tra lại trên dữ liệu giải trình tự.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Excel và SPSS 20.0. Biến định lượng trình bày bằng trung bình và độ lệch chuẩn hoặc trung vị, khoảng tứ phân vị; biến

phân loại bằng số lượng, tỷ lệ. KTC 95% tính theo Clopper–Pearson.

2.5. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu thuộc đề tài "Đặc điểm biến thể di truyền và kiểu hình bệnh von Willebrand", đã được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Hà Nội phê duyệt theo giấy chấp thuận số 1111/BB-HDDD ngày 14/03/2024.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

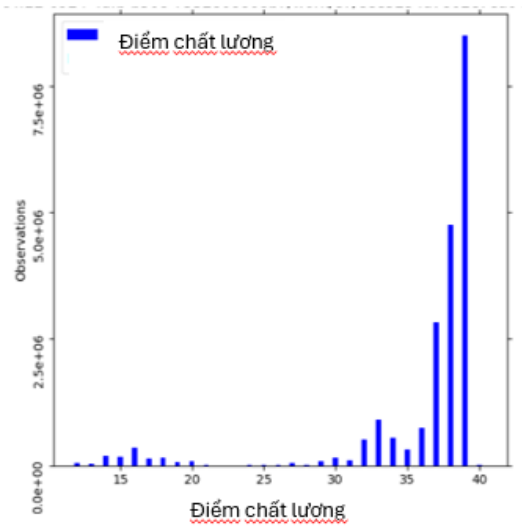
3.1. Đánh giá các chỉ số chất lượng và hiệu năng kĩ thuật quy trình NGS phân tích gen *VWF.*

Các chỉ số chất lượng và hiệu năng kỹ thuật quy trình NGS phân tích gen VWF

34 mẫu được thực hiện giải trình tự NGS panel gen *VWF*. Đặc điểm phân nhóm bệnh được thể hiện trong Bảng 3.1. Phân bố điểm chất lượng của mẻ giải trình tự tập trung chủ yếu ở vùng chất lượng cao. Phần lớn các vị trí có điểm chất lượng trên Q30, trong đó nhiều vùng đạt đỉnh phân bố tiệm cận Q40. Kết quả chứng tỏ giải trình tự có chất lượng đọc tốt và dữ liệu phù hợp để tiếp tục căn chỉnh cũng như gọi biến thể. (Hình 3.1)

Bảng 3.1. Đặc điểm phân nhóm VWD bệnh nhân của các mẫu DNA

Đặc điểm		Số lượng bệnh nhân (%)
Thể bệnh	VWD type 1	7 (20,6)
	VWD type 2	14 (41,2)
	VWD type 3	13 (38,2)
Tổng		34



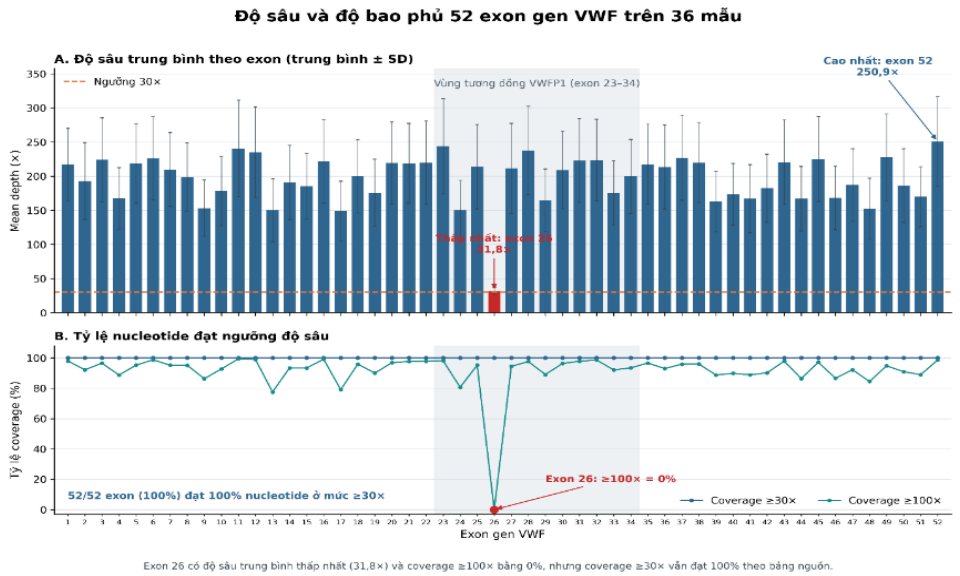
Hình 3.1. Phân bố điểm chất lượng giải trình tự NGS panel gen VWF

Giải trình tự cho hiệu suất trung bình 137.848 đoạn đọc/mẫu, dao động từ 61.314 đến 187.076 đoạn đọc. Tỷ lệ đoạn đọc on-target đạt trung bình 63,54%, trong khi tỷ lệ đoạn đọc ánh xạ duy nhất cao và tương đối ổn định. Tỷ lệ đoạn đọc trùng lặp thấp, trung bình 1,51%, và tỷ lệ đoạn đọc không đạt ngưỡng chất lượng chỉ chiếm 3,45%. Độ sâu trung bình đạt 195,5X theo nucleotide và 187,7X theo vùng đích, mặc dù có sự dao động giữa các mẫu, lần lượt từ 83–287X và 81–275X. Các kết quả này được tóm tắt trong Bảng 3.2. về đặc điểm các chỉ số chất lượng giải trình tự của cả panel chung bao gồm gen *VWF* và 6 gen còn lại.

Bảng 3.2. Đặc điểm các chỉ số chất lượng giải trình tự NGS của panel gen VWF trên 34 mẫu

Chỉ số	Trung bình	Trung vị	Nhỏ nhất	Lớn nhất
Tổng đoạn đọc	137,848	140,940	61,314	187,076
On-target (%)	63,54%	68,46%	45,52%	71,05%
Trùng lặp (%)	1,51%	1,57%	0,68%	2,53%
Ánh xạ duy nhất (%)	92,62%	92,91%	90,40%	93,75%
Đoạn đọc dưới mức chất lượng tối thiểu (%)	3,45%	3,22%	2,71%	5,21%
Độ sâu TB / vị trí (X)	195,5	209,5	83	287
Độ sâu TB / vùng (X)	187,7	200,0	81	275

Khi đánh giá riêng trên gen *VWF*, độ sâu giải trình tự nhìn chung cao trên toàn bộ 52 exon của gen *VWF*, phần lớn dao động khoảng 150–250X. Exon 52 có độ sâu trung bình cao nhất, đạt 250,9X, trong khi exon 26 thấp nhất, chỉ đạt 31,8X và nằm sát ngưỡng tối thiểu 30X. Trong vùng exon 23–34, hầu hết các exon vẫn có độ sâu tương đương các vùng còn lại trừ exon 26 có độ sâu giảm mạnh. Theo độ bao phủ, tỷ lệ nucleotide đạt ≥30X được ghi nhận là trên 100% tại cả 52 exon. Ngược lại, tỷ lệ nucleotide đạt ≥100X có sự khác biệt giữa các exon, phần lớn ở mức trên 90% nhưng giảm tại một số exon. Đặc biệt, exon 26 không có nucleotide nào đạt độ sâu ≥100X. Các thông tin được minh họa ở Hình 3.2.



Hình 3.2. Độ sâu và độ bao phủ 52 exon gen VWF

Vùng exon 23-34 được phân tích riêng nhằm đánh giá độ tin cậy của quy trình. Phân tích 34 mẫu tại vùng exon 23–34 của gen *VWF* ghi nhận tổng cộng 218.222 đoạn đọc sơ cấp, đạt tiêu chuẩn chất lượng và không trùng lặp. MAPQ trung bình theo mẫu đạt 51,23 ± 0,71. Tỷ lệ đoạn đọc có MAPQ ≥30 đạt trung bình 87,77 ± 1,23% gần tương đương với tỷ lệ tính gộp 87,78%, cho thấy chất lượng căn chỉnh tương đối ổn định giữa các mẫu. Toàn bộ 2.875 nucleotide thuộc vùng khảo sát đều có đoạn đọc bao phủ ở tất cả các mẫu. Tuy nhiên, khoảng 12,22% đoạn đọc có MAPQ dưới 30 và 9,54% đoạn đọc có MAPQ bằng 0 (Bảng 3.3.).

Bảng 3.3. Các chỉ số chất lượng căn chỉnh trình tự tại vùng exon 23–34 của gen VWF (n = 34)

Chỉ số	Số lượng
Số mẫu duy nhất	34
Tổng số đoạn đọc không trùng lặp tại exon 23–34	218.222
MAPQ trung bình theo mẫu	51,23 ± 0,71 (49,01–52,25)
Tỷ lệ MAPQ ≥20 trung bình theo mẫu	89,72 ± 1,14% (86,11–91,36%)
Tỷ lệ MAPQ ≥30 trung bình theo mẫu	87,77 ± 1,23% (84,06–89,65%)
Tỷ lệ MAPQ ≥30 tính gộp	87,78%
Tỷ lệ MAPQ = 60 tính gộp	72,12%
Tỷ lệ MAPQ = 0 tính gộp	9,54%
Vị trí không có độ sâu ở bất kỳ mẫu nào	0/2.875 bp

Chú thích: Các chỉ số được tính trên đoạn đọc sơ cấp, đã căn chỉnh, đạt tiêu chuẩn chất lượng và không trùng lặp. MAPQ ≥30 được sử dụng làm ngưỡng quy ước cho đoạn đọc có độ tin cậy căn chỉnh cao.

Trong vùng exon 23–34 của *VWF*, ba đoạn tại exon 24, 26 và 34 có MAPQ trung bình <30, với tổng chiều dài 225 bp (7,83%). Exon 26 bị ảnh hưởng nhiều nhất: toàn bộ 159 bp có MAPQ 2,20–2,45 và 96,31–96,93% đoạn đọc có MAPQ <30. Đoạn MAPQ thấp tại exon 24 dài 60 bp, với MAPQ 20,39–29,92 và 44,12–59,27% đoạn đọc có MAPQ <30; exon 34 chỉ có đoạn 6 bp với MAPQ 29,24–29,92 (Bảng 3.4).

Bảng 3.4. Đặc điểm các đoạn có MAPQ trung bình dưới 30 tại vùng exon 23–34 của gen VWF

Exon	Vị trí GRCh38, 1-based	Chiều dài	Đặc điểm
24	chr12:6.025.634–6.025.693	60 bp	MAPQ trung bình 20,39–29,92; tỷ lệ đoạn đọc MAPQ <30 từ 44,12–59,27%
26	chr12:6.022.740–6.022.898	159 bp	Toàn bộ exon có MAPQ trung bình 2,20–2,45; 96,31–96,93% đoạn đọc có MAPQ <30
34	chr12:6.011.789–6.011.794	6 bp	MAPQ trung bình 29,24–29,92; 45,60–46,63% đoạn đọc có MAPQ <30

3.2. Đánh giá mức độ phù hợp của quy trình giải trình tự gen *VWF* trong phát hiện SNV và Indel nhỏ bằng đối chiếu với quy trình NGS độc lập.

Hai quy trình NGS phát hiện phù hợp toàn bộ 42 biến thể độc nhất được đưa vào đối chiếu, bao gồm 32 SNV và 10 Indel nhỏ. Không ghi nhận biến thể chỉ được phát hiện tại một trong hai đơn vị; trạng thái hợp tử của các biến thể cũng hoàn toàn thống nhất. Tỷ lệ phù hợp dương tính đạt 100% đối với cả SNV và Indel nhỏ. Cả 14 biến thể nằm trong vùng exon 23–34 đều được phát hiện phù hợp (Bảng 3.5).

Bảng 3.5. Mức độ phù hợp giữa kết quả xét nghiệm giải trình tự gen VWF thực hiện tại Viện Huyết học – Truyền máu Trung Ương và Viện Di truyền Y học Thành phố Hồ Chí Minh (đối với các biến thể có ý nghĩa lâm sàng).

Cấp độ	Nhóm	Phù hợp	Tỷ lệ phù hợp, % (KTC 95%)
Cấp độ biến thể	SNV	32/32	100% (89,11 - 100%)
	Indel nhỏ	10/10	100% (69,15 - 100%)
	Exon 23–34	14/14	100% (76,84 - 100%)
	Ngoài exon 23–34	28/28	100% (87,66 - 100%)
	Tổng	42/42	100% (91,59 - 100%)
Cấp độ mẫu	Mẫu phát hiện biến thể	32/32	100% (89,11 - 100%)
	Mẫu không phát hiện biến thể	2/2	100% (15,81 - 100%)
	Tổng	34/34	100% (89,72 - 100%)

IV. BÀN LUẬN

Quy trình NGS sử dụng kỹ thuật lai bắt giữ đạt các chỉ số chất lượng đọc, độ sâu và độ bao phủ tốt trên phần lớn vùng khảo sát của gen *VWF*, đồng thời phát hiện được cả SNV và Indel nhỏ. Toàn bộ 42 biến thể được đối chiếu đều cho kết quả thống nhất giữa hai cơ sở về sự hiện diện của biến thể và trạng thái hợp tử. Tuy nhiên, do cỡ mẫu nghiên cứu và số lượng Indel nhỏ còn hạn chế, tỷ lệ phù hợp dương tính 100% không thể được diễn giải tương đương với độ nhạy và độ đặc hiệu 100%. Bên cạnh

đó, các đoạn có chất lượng căn chỉnh thấp vẫn được ghi nhận tại exon 24, 26 và 34.

Mặc dù tỷ lệ đoạn đọc on-target dao động từ 45,52% đến 71,05%, quy trình vẫn bảo đảm độ sâu cần thiết cho phân tích, với tỷ lệ bao phủ ≥30X trung bình đạt 99,17% theo nucleotide và 99,47% theo vùng đích. Do tỷ lệ on-target chịu ảnh hưởng của thiết kế panel, hiệu quả làm giàu và số lượng mẫu được gộp trong mỗi lần giải trình tự, các tiêu chuẩn kiểm soát chất lượng cần được xác lập phù hợp với mục đích sử dụng của xét nghiệm [2,7]. Đồng thời, độ sâu trung bình cao không thể thay thế việc đánh giá chất lượng tại từng nucleotide, bao gồm độ sâu cục bộ, chất lượng base và độ tin cậy của vị trí căn chỉnh.

MAPQ phản ánh mức độ tin cậy khi định vị đoạn đọc vào hệ gen tham chiếu và có ý nghĩa khác với độ sâu giải trình tự. Mặc dù exon 26 vẫn có đoạn đọc bao phủ, hơn 96% đoạn đọc có MAPQ <30, cho thấy phần lớn đoạn đọc không thể được định vị chắc chắn vào locus *VWF*. Việc hiện tượng này lặp lại ở nhiều mẫu gợi ý đây là hạn chế có tính hệ thống, liên quan đến mức độ tương đồng cao giữa *VWF* và giả gen *VWFP1* [1,6]. Vì vậy, exon 26 và các đoạn có MAPQ thấp tại exon 24 và 34 không nên được đưa vào phạm vi kết luận âm tính nếu chưa có kiểm tra bổ sung. Các vùng này cần được đánh giá trực quan trên IGV tại cả locus *VWF* và *VWFP1*, sau đó xác nhận bằng PCR đặc hiệu locus kết hợp giải trình tự Sanger.

Khuếch đại đặc hiệu locus trước giải trình tự là một giải pháp có thể cải thiện khả năng phân biệt *VWF* với *VWFP1*. Corrales và cộng sự đã thiết kế mồi long-range PCR dựa trên các nucleotide khác biệt giữa hai locus, mặc dù việc chuẩn hóa phản ứng và khuếch đại các vùng giàu GC vẫn gặp khó khăn [1]. Ngoài ra, kết hợp long-range PCR với giải trình tự đọc dài có thể hỗ trợ xác định pha alen và phát hiện các biến thể cấu trúc phức tạp [8]. Tuy nhiên, phương pháp này cần được thẩm định độc lập trước khi áp dụng trong xét nghiệm thường quy.

Một hạn chế khác của nghiên cứu là chưa đánh giá biến thể số lượng bản sao và các biến thể cấu trúc, vốn có ý nghĩa đặc biệt ở người bệnh VWD type 3. Mặc dù một số pipeline NGS có thể phát hiện CNV dựa trên độ sâu đoạn đọc, hiệu năng phụ thuộc vào thiết kế panel và thuật toán phân tích; phương pháp này cần được thẩm định riêng và không thể phát hiện tất cả biến thể cấu trúc. Do đó, các trường hợp VWD type 3 không phát hiện biến thể hoặc chỉ phát hiện một alen gây bệnh cần được khảo sát bổ sung bằng MLPA hoặc phương pháp định lượng số bản sao đã được thẩm định.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bước đầu thiết lập được quy trình NGS để khảo sát khảo sát 52 exon và vùng tiếp giáp exon–intron của *VWF* đạt chất lượng tốt, cho phép phát hiện SNV và Indel nhỏ tại các vùng đạt tiêu chuẩn. Vùng exon 26 và các dạng biến thể ngoài phạm vi thẩm định như CNV cần được khảo sát bằng phương pháp bổ sung như Sanger và MLPA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Corrales I, Catarino S, Ayats J, et al.** High-throughput molecular diagnosis of von Willebrand disease by next generation sequencing methods. *Haematologica*. 2012;97(7):1003–1007.
2. **Marshall CR, Chowdhury S, Taft RJ, et al.** Best practices for the analytical validation of clinical whole-genome sequencing intended for the diagnosis of germline disease. *NPJ Genom Med*. 2020; 5:47.
3. **James PD, Connell NT, Ameer B, et al.** ASH ISTH NHF WFH 2021 guidelines on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood Advances*. 2021;5(1):280–300.
4. **Seidizadeh O, Baronciani L, Lillicrap D, Peyvandi F.** Application of genetic testing for the diagnosis of von Willebrand disease. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2024;22(8):2115–2128.
5. **Seidizadeh O, Zieger B, Baronciani L, et al.** Population-based prevalence and mutational landscape of von Willebrand disease using large-scale genetic databases. *npj Genomic Medicine*. 2023; 8:31.
6. **Seidizadeh O, Baronciani L, Peyvandi F.** Challenges and considerations of genetic testing in von Willebrand disease. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2025;9(1):102686.
7. **Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, et al.** ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genetics in Medicine*. 2013;15(9):733–747.
8. **Ye S, et al.** Genetic analysis using long-read sequencing to overcome the difficulties in *VWF* gene. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2025; 9:102888.