

ASSESSMENT OF DNA QUALITY UNDER DIFFERENT STORAGE CONDITIONS IN DRIED BLOOD SPOT SAMPLES

Nguyen Thi Phuong Thuy^{1*}, Nguyen Le Hiep², Hoang Minh Tho³, Luong Trung Son¹

¹Hanoi Medical University - No. 1 Ton Tat Tung, Kim Lien Ward, Hanoi City, Vietnam

²Central Ear, Nose and Throat Hospital - No. 78 Giai Phong, Kim Lien Ward, Hanoi City, Vietnam

³Hanoi University of Science and Technology - No. 1 Dai Co Viet, Bach Mai Ward, Hanoi City, Vietnam

Received: 08/09/2025

Revised: 25/09/2025; Accepted: 21/10/2025

ABSTRACT

Background: Dried blood spot (DBS) samples were originally used for metabolic screening in newborns but are now increasingly applied in molecular diagnostics, such as PCR and gene sequencing due to their convenience in collection and storage.

Objective: To evaluate the effects of storage time and temperature on the quality of DNA extracted from DBS samples.

Methods: Peripheral blood from a healthy volunteer was spotted onto specialized filter paper. These samples were then stored under three temperature conditions (25°C, 2–8°C, and –20°C) and for different periods of time (1 week, 1 month, and 3 months). DNA was extracted using the G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit. To assess DNA quality, spectrophotometric analysis (OD260/280), agarose gel electrophoresis, and PCR amplification of exon 6 of the CACT gene (233 bp) were performed.

Results: DNA extracted within 24 hours showed the highest concentration (32.7 ng/μl; OD260/280 = 1.81). A clear downward trend was observed over time, with concentrations decreasing to 19.6 ng/μl, 18.1 ng/μl, and 7.2 ng/μl after 1 week, 1 month, and 3 months, respectively. Regarding storage temperature, samples kept at 25°C yielded the highest DNA concentration (19.3 ng/μl), followed by those stored at –20°C (14.5 ng/μl) and 2–8°C (11.1 ng/μl).

Conclusion: The quality of DNA extracted from dried blood samples tends to decrease over time but still remains sufficient for PCR.

Keywords: DNA extraction from dried blood spots, dried blood spot storage, PCR.

*Corresponding author

Email: phuongthuy@hmu.edu.vn **Phone:** (+84) 983406880 **Https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD19.3540**

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN BẢO QUẢN ĐẾN CHẤT LƯỢNG DNA TRÊN MẪU MÁU THẤM KHÔ

Nguyễn Thị Phương Thuý^{1*}, Nguyễn Lê Hiệp², Hoàng Minh Thor³, Lương Trung Sơn¹

¹Trường Đại học Y Hà Nội - Số 1 Tôn Thất Tùng, P. Kim Liên, Tp. Hà Nội, Việt Nam

²Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương - Số 78 Giải Phóng, P. Kim Liên, Tp. Hà Nội, Việt Nam

³Đại học Bách Khoa Hà Nội - Số 1 Đại Cồ Việt, P. Bạch Mai, Tp. Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận: 08/09/2025

Ngày sửa: 25/09/2025; Ngày đăng: 21/10/2025

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ bảo quản đến chất lượng DNA tách chiết từ mẫu máu thấm khô (DBS).

Đối tượng và phương pháp: Máu ngoại vi của một tình nguyện viên khỏe mạnh được nhỏ lên giấy thấm chuyên dụng, bảo quản ở ba điều kiện nhiệt độ (25°C, 2–8°C và –20°C) trong 1 tuần, 1 tháng và 3 tháng. DNA được tách chiết bằng bộ kit G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit. Chất lượng DNA được đánh giá bằng đo quang phổ (OD260/280), điện di agarose và PCR khuếch đại đoạn exon 6 trên gen CACT (233 bp).

Kết quả: DNA tách trong vòng 24h có nồng độ trung bình 32,7 ng/μl, độ tinh sạch 1,81. Sau 1 tuần và 1 tháng, nồng độ giảm còn 19,6 ng/μl và 18,1 ng/μl; sau 3 tháng giảm rõ rệt còn 7,2 ng/μl. Trong các điều kiện bảo quản, mẫu ở 25°C cho nồng độ DNA trung bình cao nhất (19,3 ng/μl), tiếp theo là –20°C (14,5 ng/μl), thấp nhất ở 2–8°C (11,1 ng/μl).

Kết luận: Chất lượng DNA tách từ mẫu máu khô có xu hướng giảm theo thời gian nhưng vẫn đảm bảo chất lượng cho PCR.

Từ khóa: Tách DNA từ mẫu máu thấm khô, bảo quản mẫu máu thấm khô, PCR,

Từ viết tắt: Mẫu máu thấm khô (DBS), phản ứng khuếch đại chuỗi (PCR), Carnitin-acylcarnitin translocase (CACT).

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, việc lấy máu gót chân trẻ sơ sinh (mẫu máu thấm khô – DBS) được áp dụng rộng rãi trong sàng lọc và chẩn đoán các bệnh lý bẩm sinh. Ngoài các xét nghiệm chuyển hóa, mẫu DBS còn được sử dụng cho các kỹ thuật sinh học phân tử như PCR và giải trình tự gen nhờ tính thuận tiện trong thu thập và bảo quản dù không phải mẫu lý tưởng để tách chiết DNA, RNA[1,2].

Ở Việt Nam, đã có rất nhiều nghiên cứu tối ưu hóa quy trình tách chiết cũng như khảo sát điều kiện bảo quản DNA, RNA sau tách chiết để thu được mẫu nguyên liệu di truyền có chất lượng cao nhưng chưa có nhiều nghiên cứu khảo sát điều kiện bảo quản mẫu tế bào dùng để tách chiết DNA cho các xét nghiệm sinh học phân tử, đặc biệt là mẫu máu thấm khô.

Do đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ bảo quản

đến chất lượng DNA tách chiết từ mẫu máu thấm khô (DBS).

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Máu ngoại vi của một tình nguyện viên khỏe mạnh được nhỏ lên giấy thấm chuyên dụng, bảo quản ở ba mức nhiệt (25°C, 2–8°C và –20°C) trong 1 tuần, 1 tháng và 3 tháng để tạo thành các mẫu máu khô sử dụng trong nghiên cứu.

2.2. Phương pháp và các chỉ tiêu nghiên cứu

- Nghiên cứu thực nghiệm tiến cứu trong phòng thí nghiệm: DNA được tách từ các mẫu máu khô trên bằng bộ kit G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit (Quiagent) và đánh giá bằng đo quang phổ

*Tác giả liên hệ

Email: phuongthuy@hmu.edu.vn Điện thoại: (+84) 983406880 <https://doi.org/10.52163/yhc.v66iCD19.3540>

(OD260/280), điện di agarose và PCR khuếch đại exon 6 của gen CACT.

Chỉ tiêu nghiên cứu: chất lượng DNA được đánh giá thông qua nồng độ và độ tinh sạch (tỉ lệ OD260/OD280) bằng phương pháp đo quang.

2.3. Thời gian, địa điểm và đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu được tiến hành tại khoa Kỹ thuật y học, trường đại học Y Hà Nội từ tháng 1/2025 đến tháng 5/2025.

- Đạo đức nghiên cứu: nghiên cứu hoàn toàn không ảnh hưởng đến sức khỏe của tình nguyện viên. Thông tin cá nhân của tình nguyện viên được giữ bí mật hoàn toàn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Độ tinh sạch và nồng độ của DNA tách từ các mẫu máu khô theo thời gian và nhiệt độ bảo quản mẫu máu

Thời gian bảo quản			
Nhiệt độ bảo quản	Độ tinh sạch (OD260/OD280)	Nồng độ DNA (ng/μl)	Mã mẫu
Tách ngay trong 24h			
Bảo quản ở 25°C	1,81	33,5	P ₀
Bảo quản ở 2-8°C	1,75	32,1	T ₀
Bảo quản ở -20°C	1,76	32,4	A ₀
Bảo quản 1 tuần			
Bảo quản ở 25°C	0,82	24,7	P _{1w}
Bảo quản ở 2-8°C	0,73	15,2	T _{1w}
Bảo quản ở -20°C	0,82	18,9	A _{1w}
Bảo quản 1 tháng			
Bảo quản ở 25°C	0,78	24,5	P _{1m}
Bảo quản ở 2-8°C	0,78	12,2	T _{1m}
Bảo quản ở -20°C	0,78	17,7	A _{1m}
Bảo quản 3 tháng			
Bảo quản ở 25°C	0,88	8,7	P _{3m}
Bảo quản ở 2-8°C	0,92	5,9	T _{3m}
Bảo quản ở -20°C	0,85	7,0	A _{3m}

P₀; T₀; A₀ là mẫu DNA được tách chiết trong vòng 24h sau khi thu thập từ 3 mẫu máu sẽ dùng để làm thực nghiệm; P_{1w}; T_{1w}; A_{1w} là mẫu DNA được tách chiết từ 3 mẫu máu khô được bảo quản 1 tuần ở các mức nhiệt độ lần lượt: 25°C; 2-8°C; -20°C; P_{1m};

T_{1m}; A_{1m} là mẫu DNA được tách chiết từ 3 mẫu máu khô được bảo quản 1 tháng ở các mức nhiệt độ lần lượt: 25°C; 2-8°C; -20°C; P_{3m}; T_{3m}; A_{3m} là mẫu DNA được tách chiết từ 3 mẫu máu khô được bảo quản 3 tháng ở các mức nhiệt độ lần lượt: 25°C; 2-8°C; -20°C.

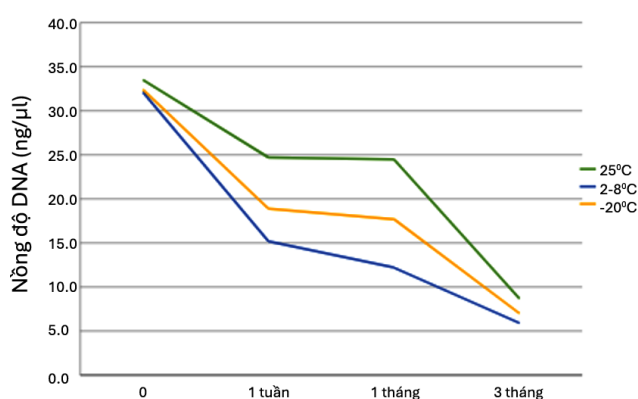
Nhận xét: Các mẫu DNA được tách chiết trong vòng 24h sau khi thu thập từ 3 mẫu máu sẽ dùng để làm thực nghiệm đều có độ tinh sạch cao và tương đồng giữa các mẫu, nồng độ DNA trên 3 mẫu tương đồng với nhau.

Tất cả các mẫu DNA tách từ các mẫu máu khô đã qua bảo quản có độ tinh sạch (giá trị OD260/OD280) khá tương đồng nhưng đều ở mức thấp (độ tinh sạch chưa cao).

Ở các điều kiện bảo quản 25°C; 2-8°C; -20°C: Nồng độ DNA tách tại thời điểm 1 tuần có giá trị cao nhất (P_{1w}; T_{1w}; A_{1w}), sau giảm dần tại thời điểm 1 tháng (P_{1m}; T_{1m}; A_{1m}) và giảm thấp hơn rất nhiều tại thời điểm 3 tháng (P_{3m}; T_{3m}; A_{3m}).

Tại tất cả các thời điểm tách chiết: Nồng độ DNA tách từ mẫu máu khô bảo quản tại nhiệt độ 25°C có nồng độ cao nhất, sau đó giảm dần tới mẫu bảo quản tại -20°C và thấp nhất ở mẫu bảo quản tại 2-8°C.

3.1. Nồng độ DNA theo thời gian bảo quản

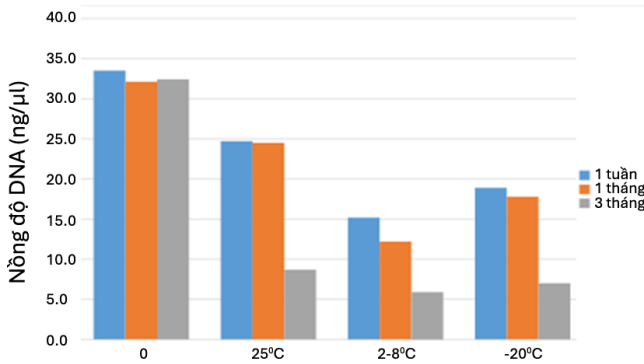


Biểu đồ 1. Nồng độ của DNA thu được theo thời gian bảo quản mẫu máu khô

Nhận xét: Nồng độ DNA tách chiết từ 3 mẫu máu khô tại thời điểm ngay sau khi lấy mẫu 24h có giá trị tương đương nhau.

Ở cả 3 mức nhiệt độ bảo quản giấy thấm, nồng độ DNA thu được có xu hướng giảm theo thời gian, đặc biệt có sự giảm rõ rệt tại thời điểm sau 1 tuần và sau 3 tháng bảo quản.

3.2. Nồng độ DNA theo nhiệt độ bảo quản



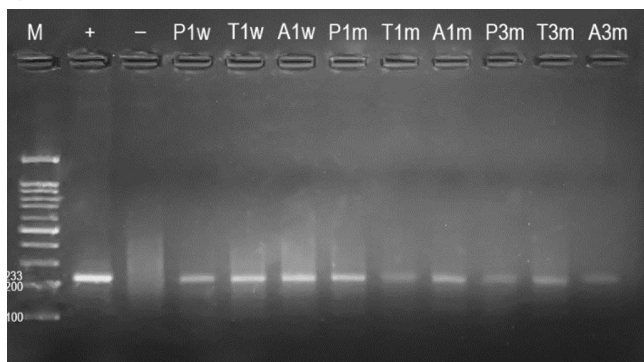
Biểu đồ 2. Nồng độ DNA thu được theo nhiệt độ bảo quản mẫu máu khô

Nhận xét: Nồng độ DNA tách chiết từ 3 mẫu máu khô tại thời điểm ngay sau khi lấy mẫu 24h có giá trị tương đương nhau.

Tại cả 3 mốc thời gian bảo quản, mẫu DNA tách từ mẫu máu khô được bảo quản ở 25°C có nồng độ cao nhất; mẫu DNA tách từ mẫu máu khô được bảo quản ở 2 - 8°C có nồng độ thấp nhất. Không nhận thấy có sự tuyến tính giữa nồng độ DNA với sự giảm nhiệt độ bảo quản các mẫu máu khô từ 25°C về -20°C.

3.3. Kết quả PCR khuếch đại exon 6 của gen CACT

Sử dụng các mẫu DNA thu được trong nghiên cứu làm DNA khuôn trong phản ứng khuếch đại exon thứ 6 của gen CACT (có kích thước 233 bp) thu được kết quả như sau:



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại exon 6 của gen CACT

M: Marker; (+): Chứng dương; (-): Chứng âm; P_{1w}: T_{1w}; A_{1w}; P_{1m}: T_{1m}; A_{1m}; P_{3m}: T_{3m}; A_{3m}: mẫu nghiên cứu với các điều kiện thời gian và nhiệt độ bảo quản khác nhau (như chú thích của Bảng 1)

Nhận xét:

Tại thời điểm 1 tuần: Cả 3 nhiệt độ mức nhiệt độ bảo quản mẫu máu khô đều thu được sản phẩm điện di là các băng sáng sắc nét có kích thước 233 bp.

Tại thời điểm 1 tháng: mức nhiệt độ bảo quản mẫu

máu khô ở 25°C và -20°C thu được băng sáng sắc nét; ở nhiệt độ bảo quản 2 - 8°C cho băng mờ hơn. Cả 3 mẫu DNA đều cho sản phẩm PCR đúng kích thước 233bp.

Tại thời điểm 3 tháng: Cả 3 nhiệt độ mức nhiệt độ bảo quản mẫu máu khô đều thu được sản phẩm điện di là các băng mờ, không rõ nét và đều có kích thước 233 bp.

4. BÀN LUẬN

4.1. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản đến chất lượng DNA trên mẫu máu thấm khô

Bảng 1 và biểu đồ 1 cho thấy, nồng độ DNA được tách chiết từ các mẫu máu thấm khô có giá trị từ 5,9 ng/μl – 24,7 ng/μl và có xu hướng giảm dần theo thời gian bảo quản, đặc biệt có sự sụt giảm rõ rệt tại thời điểm 3 tháng ở tất cả các mức nhiệt độ bảo quản. Tất cả các mẫu DNA được tách trong vòng 24h sau khi thu thập máu đều có độ tinh sạch (giá trị OD260/OD280) cao. Ở tất cả các mẫu nghiên cứu qua thời gian bảo quản, độ tinh sạch (giá trị OD260/OD280) khá tương đồng nhưng đều ở mức thấp (độ tinh sạch chưa cao). Điều này có thể do các tế bào bạch cầu trên các mẫu máu khô bị bám chặt vào cấu trúc xơ của giấy trong quá trình bảo quản (làm khô) gây ra sự giảm số lượng bạch cầu thu được cũng như lẫn xơ giấy khi chuyển lại dạng từ mẫu máu khô sang dạng dung dịch trong quá trình tách DNA. Nhận định này càng có cơ sở khi so sánh kết quả tách DNA trong vòng 24h sau khi lấy mẫu (nồng độ từ 32,1 ng/μl - 33,5 ng/μl, độ tinh sạch từ 1,75 – 1,81) với các mẫu đã qua thời gian bảo quản (nồng độ từ 5,9 ng/μl – 24,7 ng/μl; độ tinh sạch từ 0,73 – 0,92) tại bảng 1 nhận thấy chất lượng của DNA tách trong vòng 24h sau khi lấy mẫu cao hơn hẳn so với các mẫu đã qua thời gian bảo quản. Kết quả tách DNA từ máu thấm khô trong nghiên cứu này hoàn toàn tương tự với công bố năm 2019 của tác giả Barsa.P và cộng sự. Cụ thể, trong nghiên cứu của Barsa.P, DNA tách từ máu thấm khô có nồng độ từ 14 - 72 ng/μl với độ tinh sạch trong khoảng 1,51 - 1,85 theo phương pháp Chelex và có nồng độ từ 9 - 50 ng/μl với độ tinh sạch trong khoảng 1,68 - 2,1 theo phương pháp TE[3].

So sánh đậm độ sáng của các băng điện di trong hình 1 có thể nhận thấy các băng cũng có xu hướng giảm dần độ sáng theo thời gian bảo quản, cụ thể các băng sáng và sắc nét nhất tại mốc thời gian bảo quản 1 tuần và mờ nhất tại mốc thời gian bảo quản 3 tháng. Kết quả này hoàn toàn tương ứng với nồng độ DNA khuôn được tách chiết từ các mẫu máu khô có thời gian bảo quản khác nhau trong nghiên cứu này tại bảng 1. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu này cũng giống như công bố của tác giả Alanna.S và cộng sự (2015), PCR có độ nhạy với khoảng nồng độ DNA khuôn khá lớn nên dù nồng độ DNA có thể bị giảm theo thời gian bảo quản mẫu máu thấm khô vẫn có

thể khuếch đại thành công PCR4.

Như vậy mặc dù máu thấm khô có thể bị giảm nồng độ DNA trong quá trình bảo quản theo thời gian nhưng nếu chọn phương pháp tách chiết phù hợp vẫn cho phép thu hồi được lượng DNA làm nguyên liệu cho PCR trong các xét nghiệm sinh học phân tử.

4.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ bảo quản đến chất lượng DNA trên mẫu máu thấm khô

Trong bảng 1 và biểu đồ 2 thấy nồng độ DNA tách từ mẫu máu khô bảo quản tại nhiệt độ 25°C có nồng độ cao nhất, sau đó giảm dần tới mẫu bảo quản tại -20°C và thấp nhất ở mẫu bảo quản tại 2-8°C. Kết quả này chưa cho thấy sự tuyến tính giữa nồng độ DNA với sự giảm nhiệt độ bảo quản mẫu máu thấm khô. Kết quả như vậy có thể do thời gian khảo sát trong nghiên cứu này chưa đủ dài để thấy được vai trò của nhiệt độ bảo quản mẫu máu thấm khô. Nghiên cứu của tác giả Eun-Hye Choi và CS (2014) đã ghi nhận chất lượng DNA tách từ mẫu máu thấm khô bảo quản tại -20°C trong vòng 2 năm có chất lượng ổn định hoàn toàn có thể sử dụng được trong PCR[5].

Hình 1 là kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại exon 6 của gen CACT sử dụng các DNA khuôn được tách chiết từ các mẫu máu khô trong nghiên cứu. Kết quả cho thấy tất cả các mẫu DNA khuôn được tách chiết từ các mẫu máu khô đều cho sản phẩm PCR là các băng sáng có kích thước 233 bp. Như vậy có thể thấy DNA tách chiết từ mẫu máu khô dù có nồng độ DNA thấp (thấp nhất là 5,9 ng/μl) vẫn có thể làm khuôn cho PCR một cách đặc hiệu. So sánh đậm độ sáng của các băng điện di trong hình 1 có thể nhận thấy tại thời điểm 1 tháng: mức nhiệt độ bảo quản mẫu máu khô ở 25°C và -20°C thu được băng sáng sắc nét; ở nhiệt độ bảo quản 2 - 8°C cho băng mờ hơn. Cả 3 mẫu DNA đều cho sản phẩm PCR đúng kích thước 233bp. Tại thời điểm 3 tháng: Cả 3 nhiệt độ mức nhiệt độ bảo quản mẫu máu khô đều thu được sản phẩm điện di là các băng mờ, không rõ nét và đều có kích thước 233 bp. Có thể thấy hiệu suất PCR còn phụ thuộc vào nồng độ DNA khuôn và kết quả PCR khuếch đại exon 6 của gen CACT trong nghiên này hoàn toàn tương thích với kết quả đo mật độ quang đánh giá chất lượng DNA khuôn ở bảng 1. Tuy nồng độ DNA khuôn trong nghiên cứu này có sự khác biệt nhưng vẫn khuếch đại thành công gen

exon 6 của gen CACT bằng PCR. Điều này có thể giải thích vì độ nhạy của nồng độ DNA khuôn trong PCR có khoảng giá trị khá lớn. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với tác giả Alanna.S và cộng sự (2015) khi khảo sát độ nhạy của nồng độ DNA khuôn tách chiết từ máu thấm khô trong PCR[1,2,4].

Như vậy qua nghiên cứu này cho thấy bảo quản mẫu máu khô trong vòng 3 tháng ở bất cứ mức nhiệt nào trong khoảng từ -20°C đến 25°C đều tách được DNA có chất lượng ổn định có thể sử dụng trong xét nghiệm sinh học phân tử.

5. KẾT LUẬN

Chất lượng DNA thu được tỷ lệ nghịch với thời gian bảo quản mẫu máu thấm khô. Tách DNA trong vòng 24h sau khi lấy máu vào giấy thấm cho chất lượng DNA tốt nhất.

Có thể bảo quản mẫu máu khô trong thời gian 3 tháng ở bất cứ mức nhiệt độ nào trong khoảng từ -20°C đến 25°C đều tách được DNA có chất lượng ổn định có thể sử dụng trong PCR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Tạ Thành Văn (2010). PCR và một số kỹ thuật y sinh học phân tử, Nhà xuất bản Y học.
- [2] Trần Văn Khánh. Bài giảng Y sinh học phân tử, NXB Y học, 2023.
- [3] Barsa B., Nitika P., Rupenangshu K.H. (2019). Comparative analysis of three methods from dried blood spots for expeditious DNA extraction from mosquitoes; suitable for PCR based techniques, Molecular Biology Reports, 151-160.
- [4] Alanna S., Amrish B., Philip J. et al (2015). The Effect of Storage and Extraction Methods on Amplification of Plasmodium falciparum DNA from Dried Blood Spots, Am J Trop Med Hyg, 92(5), 922-5.
- [5] Choi, E.H., Lee S.K., Ihm C. et al. (2014). Rapid DNA extraction from dried blood spots on filter paper: potential applications in bio-banking, Osong Public Health Res Perspect, 5(6), 351-7.