

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

VŨ LÊ LỢI

**TÍNH TOÁN TẦN SUẤT HAPLOTYPE HỆ 17 Y-STR
PHỤC VỤ CÔNG TÁC GIÁM ĐỊNH TẠI
VIỆN KHOA HỌC HÌNH SỰ**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC SINH HỌC

Hà Nội, tháng 11-2013

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

VŨ LÊ LỢI

**TÍNH TOÁN TẦN SUẤT HAPLOTYPE HỆ 17 Y-STR
PHỤC VỤ CÔNG TÁC GIÁM ĐỊNH TẠI
VIỆN KHOA HỌC HÌNH SỰ**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60.42.30

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC SINH HỌC

Người hướng dẫn: PGS.TS Nguyễn Văn Hà

Hà Nội, tháng 11-2013

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành đề tài nghiên cứu này, trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

PGS.TS Thượng tá Nguyễn Văn Hà, Phó giám đốc Trung tâm giám định Sinh học pháp lý, Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an.

là người đã quan tâm hướng dẫn tận tình và luôn tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian làm luận án.

*Đồng thời, tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới **Lãnh đạo, tập thể cán bộ Trung tâm giám định sinh học pháp lý, Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an** đã giúp đỡ và động viên tôi hoàn thành đề tài nghiên cứu này.*

Hà Nội, tháng 11 năm 2013

Vũ Lê Lợi

MỤC LỤC	Trang
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG I TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Sơ lược về người Việt (Kinh)	3
1.2 Cấu trúc nhiễm sắc thể Y	4
1.3 Các chỉ thị di truyền trong phân tích nhiễm sắc thể Y	5
1.4 Các kit thương mại phân tích nhiễm sắc thể Y	8
1.5 Dữ liệu YSTR Haplotype.....	9
1.6 Ý nghĩa thống kê của phân tích nhiễm sắc thể Y trong hình sự	11
1.7 Ứng dụng của phân tích ADN trên nhiễm sắc thể Y	12
1.8 vấn đề sử dụng Y-STR trong phân tích AND phục vụ giám định pháp lý	14
CHƯƠNG II VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	16
2.1 Vật liệu	16
2.1.1 Đối tượng nghiên cứu.....	16
2.1.2 Hóa chất.....	17
2.1.3 Thiết bị máy móc và dụng cụ.....	17
2.2 Phương pháp nghiên cứu.....	17
2.2.1 Phân tích AND	17
2.2.2 Phân tích dữ liệu AND	22
CHƯƠNG III KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	24
3.1. Kết quả tách chiết ADN bằng phương pháp vô cơ sử dụng chelex 100....	24
3.2. Kết quả	PCR25
3.3. Phân tích alen và tính toán tần suất Y-STR haplotype	25
3.4. Kết quả sử dụng công cụ trực tuyến YHRD để tính khoảng cách di truyền giữa quần thể nghiên cứu và các quần thể có sẵn trong cơ sở dữ liệu	29

KẾT LUẬN	33
KIẾN NGHỊ	34
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

- STR Short Tandem Repeat
- Y-STR Y- chromosome Short Tandem Repeat
- DNA Deoxyribonucleic Acid
- PCR Polymerase Chain Reaction
- AMPS Ammonium Persulfate
- dNTPs Deoxy Nucleotide Tri Phosphates
- EDTA Ethylene Diamine Tetra Acetic Di-Sodium Salt
- FDL Forensic DNA Laboratory
- DC Discrimination Capacity
- HD Haplotype Diversity
- GD Gene Diversity
- bp base pairs
- PCR Polymerase Chain Reaction
- YHRD Y-Chromosome Haplotype Reference Database
- SWGDAM Scientific Working Group on DNA Analysis Methods
- NRY Non-recombining Y-chromosome
- SNP Single Nucleotide Polymorphism
- mtDNA Mitochondrial DNA
- PAR Pseudo-Autosomal Region

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1: Các chỉ thị di truyền Y-STR chọn lọc

Bảng 1.2: Tóm tắt các kit Y-STR thương mại

Bảng 1.3: các cơ sở dữ liệu gen Y-STR trên thế giới

Bảng 1.4: Các ứng dụng và thuận lợi khi phân tích Y-STR trong hình sự

Bảng 2.1: Các thành phần hóa chất sử dụng để điện di mao quản

Bảng 3.1: Kết quả định lượng ADN từ 10 mẫu nghiên cứu ngẫu nhiên

Bảng 3.2: Bảng đa hình các alen quan sát được khi nghiên cứu

Bảng 3.3: Tần suất alen 17 locus Y-STR phân tích từ 80 người nghiên cứu

Bảng 3.4: Bảng giá trị của Φ_{st} và P giữa quần thể Việt đã nghiên cứu và dữ liệu có sẵn trên YHRD

Bảng 3.5: Bảng giá trị Φ_{st} và P giữa quần thể người Việt (Kinh) đã nghiên cứu và quần thể các nước lân cận

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1: Sơ đồ 2 nhiễm sắc thể giới tính X và Y:

Hình 1.2: Trường hợp 2 alen ở locus DYS385a/b

Hình 1.3: Hình ảnh khuếch đại ở locus DYS389I/II

Hình 1.4: Kết quả điện di của kit Y-PLEXTM6

Hình 1.5: Hình ảnh pic khi phân tích Y-STR và STR trên NST thường trong mẫu lần thành phần nam/nữ

Hình 1.6: Hình ảnh cây phả hệ

Hình 3.1: Hình ảnh pic 17 locus Y-STR sau điện di huỳnh quang

Hình 3.2: Đồ thị mô tả chỉ số đa dạng locus gen hệ 17 Y-STR

MỞ ĐẦU

Ở Việt Nam, tại Viện Khoa học hình sự, phòng thí nghiệm ADN đã được triển khai từ năm 1999 với trang thiết bị hiện đại và đội ngũ giám định viên được đào tạo chuyên sâu [9]. Lĩnh vực giám định gen được triển khai với 3 mảng lớn là: Giám định ADN trên nhiễm sắc thể thường; giám định gen trên nhiễm sắc thể giới tính và giám định ADN ti thể. Phân tích ADN trên nhiễm sắc thể giới tính, đặc biệt là trên nhiễm sắc thể Y đã đóng góp được những thành tích nhất định như: bổ sung vào bảng locus gen cùng với các locus gen trong phân tích ADN trên nhiễm sắc thể thường, phân tích quan hệ huyết thống cha con, phân tích phả hệ theo dòng bố và đặc biệt hữu ích trong các vụ án dấu vết ít, khó phát hiện như các vụ án hiếp dâm (lấn thành phần thấp tế bào nam trong thành phần cao tế bào nữ hoặc nhiều đối tượng tham gia vụ án), các vụ án dấu vết bị nhiễm, bị lẩn.

Giám định ADN trên nhiễm sắc thể Y là phân tích và so sánh các chỉ thị di truyền là các đoạn lặp ngắn STR (Short Tandem Repeat) trên nhiễm sắc thể Y giữa mẫu cần giám định và mẫu so sánh. Những người có giới tính nam trong cùng một phả hệ theo dòng bố sẽ có cùng một kiểu gen đơn bội trên nhiễm sắc thể Y (gọi là Haplotype), kiểu gen này rất ổn định ngoại trừ đột biến. Do vậy phân tích hệ Y-STR trong giám định gen không có tính truy nguyên cá thể như trên nhiễm sắc thể thường, mà chỉ có tính chất loại trừ trong một số trường hợp. Tuy nhiên phân tích này lại rất hữu ích trong các trường hợp với dấu vết ít, khó phát hiện mà phân tích trên nhiễm sắc thể thường không có tác dụng và một điều quan trọng là trong phần lớn các vụ án bạo lực, hiếp dâm thì đối tượng luôn là nam giới. Nên triển khai giám định ADN trên nhiễm sắc thể Y là một công việc rất ý nghĩa. Sự phát triển của Sinh học phân tử và khoa học thống kê, giúp giám định gen trở thành công cụ

sắc bén trong nghiên cứu ADN nói chung và khoa học hình sự nói riêng. Tuy vậy, ở Việt Nam chưa có nhiều công trình nghiên cứu chi tiết về lĩnh vực này. Hiện nay, tại Viện Khoa học hình sự mới có các công trình về tần suất của các chỉ thị di truyền STR trên nhiễm sắc thể thường (người Kinh, Mường...), còn về tần suất Haplotype chưa có thống kê nào cụ thể.

Trong phạm vi nghiên cứu, đề tài sẽ phân tích các alen thuộc hệ Y-STR trên nhiễm sắc thể Y của 80 người đàn ông Việt (Kinh) khỏe mạnh, không quen biết nhau trước ở các vùng miền của Việt Nam. Sau đó liệt kê được bảng đa hình các alen cho từng locus và xác định số Haplotype hệ Y-STR có thể quan sát được bằng phương pháp đếm. Từ đó tính toán tần suất Haplotype và tính toán chỉ số Haplotype và chỉ số các locus gen.

Đề tài nghiên cứu “ Tính toán tần suất Haplotype hệ Y-STR phục vụ công tác giám định ADN tại Viện Khoa học hình sự” được tiến hành là hết sức cần thiết và có ý nghĩa cả về khoa học và thực tiễn.