

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ
CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

ĐỖ HOÀI NAM

**NGHIÊN CỨU TẦN SUẤT CÁC ALEN
CỦA 15 LOCUS GEN HỆ IDENTIFILER THUỘC
QUẦN THỂ NGƯỜI DÂN TỘC TÀY ỨNG DỤNG
TRONG GIÁM ĐỊNH GEN NHÂN TẾ BÀO**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ
CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

ĐỖ HOÀI NAM

Đề tài:

**NGHIÊN CỨU TẦN SUẤT CÁC ALEN
CỦA 15 LOCUS GEN HỆ IDENTIFILER THUỘC
QUẦN THỂ NGƯỜI DÂN TỘC TÀY ỨNG DỤNG
TRONG GIÁM ĐỊNH GEN NHÂN TẾ BÀO**

Học viên: Đỗ Hoài Nam

Chuyên ngành: Hóa Sinh

Mã số: 60.42.01.14

Người hướng dẫn: Đại tá. PGS. TS. Nguyễn Văn Hà

LỜI CẢM ƠN

Trước hết tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới thầy giáo Đại Tá.PGS.TS Nguyễn Văn Hà, PGĐ Trung tâm Giám định Sinh học pháp lý - Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an, người đã nhiệt tình trực tiếp hướng dẫn, giúp đỡ tôi hoàn thành luận văn này.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo và cán bộ của Viện Hàn lâm khoa học Việt Nam nói chung, Viện Tài nguyên sinh vật nói riêng đã tham gia tổ chức, quản lý, giảng dạy lớp cao học K16 hướng dẫn, trang bị kiến thức cho tôi, là cơ sở, tạo tiền đề giúp tôi hoàn thành bản luận văn này.

Cuối cùng tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới gia đình và bạn bè đồng nghiệp đã giúp đỡ động viên tôi rất nhiều trong quá trình thực hiện luận văn cũng như hai năm học cao học để tôi có kết quả của ngày hôm nay.

Hà Nội, ngày tháng năm 2014

Học viên

Đỗ Hoài Nam

DANH MỤC BẢNG VIẾT TẮT TRONG LUẬN VĂN

A	Adenine
AFLP	Amplified fragment length polymorphism
C	Cytosine
dNTP	Deoxyribo Nucleotide Triphosphate
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Disodium ethylenediaminetetraacetate dehydrate
G	Guanine
H _{ex}	Tần số dị hợp tử lý thuyết
H _{ob}	Tần số dị hợp tử quan sát
KHHS	Khoa học hình sự
PCR	Polymerase Chain Reaction
Pd	Power of Discrimination
RFLP	Restriction fragment length polymorphisms
STR	Sort tandem repeats
SSR	Simple sequence repeats
T	Thymin
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris Bric EDTA
VNTR	Variable number of tandem repeats

DANH MỤC HÌNH VÀ BẢNG BIỂU TRONG LUẬN VĂN

Bảng 1.1. Các bộ kit thương mại và marker STR phổ biến.....	19
Bảng 1.2. Vị trí các locus STR thuộc bộ kit AmpF1STR® Identifiler® trên NST và Dye lable tương ứng	22
Bảng 2.1. Thành phần của một phản ứng PCR.....	30
Bảng 2.2. Chu kỳ nhiệt của một phản ứng PCR	30
Bảng 2.3. Đặc điểm của các chất nhuộm màu huỳnh quang	31
sử dụng trong bộ kit Identifiler	31
Bảng 2.4. Thành phần trong một giếng điện di.....	32
Hình 2.1. Minh họa peak alen khi alen là đồng hoặc dị hợp	33
Hình 3.1. Hình minh họa kiểu gen của một mẫu có giới tính nam (male) và một mẫu có giới tính nữ (female) khi phân tích trên máy 3130XL.	37
Bảng 3.1. Kiểu gen minh họa của 15 locus STR theo hình 3.1 Female.	40
Bảng 3.2. Tần suất xuất hiện của các alen trên 15 locus gen hệ Identifiler của người dân tộc Tày.....	41
Bảng 3.3. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D8S1179.	43
Bảng 3.4. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D21S11.	44
Bảng 3.5. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D7S820.	46
Bảng 3.6. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus CSF1PO.	47
Bảng 3.7. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D3S1358.	48
Bảng 3.8. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus TH01.	49
Bảng 3.9. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D13S317.	50
Bảng 3.10. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D16S539.	51
Bảng 3.11. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D2S1338.	52
Bảng 3.12. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D19S433.	53
Bảng 3.13. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus vWA.....	55

Bảng 3.14. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus TPOX.....	56
Bảng 3.15. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D18S51.	57
Bảng 3.16. Tần suất xuất hiện của các alen trên locus D5S818.	58
Bảng 3.17. So sánh tần suất xuất hiện của các alen trên locus FGA.	59
Bảng 3.18. Bảng tổng hợp so sánh khả năng phân biệt của 15 locus trong quần thể người dân tộc Tày với các quần thể dân tộc khác.	61

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	5
1. Các phương pháp truy nguyên cá thể dùng trong Khoa học hình sự.....	5
1.1. Các phương pháp truyền thống trong nhận dạng pháp y và khoa học hình sự. ..	5
1.2. Phương pháp giám định DNA để truy nguyên cá thể và xác định huyết thống. .	5
1.2.1. Khái niệm về giám định DNA và lịch sử phát triển.....	5
1.2.2. Cơ sở khoa học của giám định DNA.	7
1.2.2.1. Cấu trúc, chức năng của phân tử DNA.....	7
1.2.2.2. Cơ chế phân ly độc lập và tổ hợp tự do trong sinh sản hữu tính.	8
1.2.2.3. Khái niệm về Locus, Gen và Alen.	9
1.2.2.4. Khái niệm về đa hình trong cấu trúc DNA.....	10
1.2.3. Các phương pháp phân tích DNA trong khoa học hình sự.	11
1.2.3.1. Phương pháp lai DNA – DNA.....	11
1.2.3.2. Phương pháp RFLP.....	12
1.2.3.3. Phương pháp phân tích DNA dựa trên kỹ thuật PCR - Phương pháp AFLP.	13
1.2.4. Các locus STR sử dụng giám định DNA hình sự.	14
1.2.4.1. Khái niệm VNTR, STR và Mini STR.	14
1.2.4.2. Danh pháp đối với marker DNA.....	17
1.2.4.3. Một số locus STR được dùng trong giám định DNA hình sự.	17
1.2.4.4. Các bộ kit thương mại sử dụng locus STR trong nhận dạng cá thể người. .	18
1.2.4.5. Bộ kit nhận dạng AmpFISTR®Identifler™ PCR Amplification Kit.....	21
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU, PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH NGHIÊN CỨU	24
1. Vật liệu nghiên cứu.	24
2. Hóa chất.	24

3. Thiết bị và dụng cụ	25
4. Phương pháp nghiên cứu	25
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	36
1. Xác định kiểu gen của các locus STR.....	36
2. So sánh tần suất tương đối của các alen trong quần thể người dân tộc Tày với một số dân tộc khác	40
2.1. Tần suất xuất hiện của các alen trên 15 locus gen hệ Identifiler của người dân tộc Tày.....	41
2.2. So sánh tần suất xuất hiện của các alen trên mỗi locus với các dân tộc khác....	43
2.2.1. Locus D8S1179.....	43
2.2.2. Locus D21S11.....	44
2.2.3. Locus D7S820.....	46
2.2.4. Locus CSF1PO.....	47
2.2.5 Locus D3S1358.....	48
2.5.6. Locus TH01.....	49
2.2.7. Locus D13S317.....	50
2.2.8. Locus D16S539.....	51
2.2.9. Locus D2S1338.....	52
2.2.10. Locus D19S433.....	53
2.2.11. Locus vWA.....	55
2.2.12. Locus TPOX.....	56
2.2.13. Locus D18S51	57
2.2.14. Locus D5S818.....	58
2.2.15. Locus FGA.....	59
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	64
1. Kết luận	64
2. Kiến nghị	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	66

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Để truy nguyên cá thể con người hay xác định huyết thống có nhiều phương pháp, trong đó giám định DNA hiện nay là một phương pháp đặc lực và có hiệu quả nhất. Đặc biệt là trong lĩnh vực giám định hình sự, vì nó có khả năng truy nguyên tuyệt đối và đa dạng về nguồn mẫu vật để có thể thực hiện giám định. Điều đó giúp công tác điều tra hình sự xác định chính xác tội phạm, truy tìm tung tích nạn nhân trong các vụ việc cũng như xác định huyết thống trong các trường hợp cụ thể.

Giám định DNA sẽ truy nguyên được cá thể người, xác định được quan hệ huyết thống cha – con, mẹ - con hay quan hệ huyết thống theo dòng bố, dòng mẹ. Giám định DNA có độ tin cậy cao bởi trong DNA tế bào của người có chứa rất nhiều gen, các gen lại có tính đa alen, mỗi alen chỉ xuất hiện trong quần thể với tần số rất thấp. Xét về cấu trúc di truyền, mỗi cơ thể người có cấu trúc di truyền riêng (trừ các trường hợp sinh ra từ cùng một trứng), mặt khác mỗi một quần thể người khác nhau có những đặc điểm di truyền đặc trưng thể hiện bằng sự phân bố tần suất alen (còn gọi là tần suất gen) trong mỗi quần thể. Do vậy, trong giám định DNA những gen có tính đa alen cao được khảo sát tần suất phân bố các alen thể hiện trong quần thể, từ đó làm cơ sở để phân tích, đánh giá và kết luận giám định. Các gen được sử dụng trong giám định phải có tính bảo thủ cao, đa hình, mức độ dị hợp tử cao được di truyền qua các thế hệ và mang tính đặc trưng cá thể.

Để đánh giá sự sai khác trong tần suất xuất hiện các alen ở mỗi quần thể người khác nhau cần có các nghiên cứu thống kê cụ thể về tần suất alen, tần suất dị hợp tử của từng locus, sử dụng phép phân tích có tính chính xác cũng như độ tin cậy cao. Đặc biệt là trong những trường hợp vụ việc cụ thể, DNA thu được bị đứt gãy hoặc biến tính dẫn đến không thể nhân bội tất cả 15 locus STR, khi đó độ chính xác của xét nghiệm và đưa ra kết luận được tính dựa trên các locus xuất hiện. Vì

vậy việc thống kê tần suất alen, tần suất dị hợp tử, khả năng phân biệt của từng locus STR có vai trò quan trọng giúp đánh giá đúng mức độ tin cậy của phép phân tích và đưa ra kết luận giám định

Trên bình diện quốc tế, nhiều quốc gia đã cơ bản hoàn thành việc khảo sát đánh giá và kết luận về tần suất xuất hiện các alen thuộc các locus STR thể hiện trong quần thể như Mỹ, Anh....

Ở Việt Nam do khoa học và công nghệ chưa phát triển kịp thế giới, cộng đồng người đa dạng về nguồn gốc, 54 dân tộc trải rộng, địa bàn phức tạp, kinh phí còn hạn hẹp do vậy công việc khảo sát này mới đang ở giai đoạn khởi đầu. Mới có một số công trình nghiên cứu chưa thực sự hoàn chỉnh về tần suất các alen thuộc các locus STR trên cộng đồng người dân tộc Kinh, người dân tộc Mông... Nhằm tiếp tục công tác nghiên cứu khảo sát để có những tổng kết, đánh giá về tần suất các alen, sự xuất hiện hay không của các alen hiếm, những đặc điểm riêng và khác biệt trên cả 54 dân tộc và trong mỗi dân tộc trên các địa bàn phân bố khác nhau phục vụ công tác giám định hình sự và truy nguyên cá thể là hết sức cần thiết.

2. Đối tượng nghiên cứu của đề tài.

Trong cộng đồng 54 dân tộc sinh sống tại Việt Nam, người Tày có mặt từ rất sớm, có thể từ nửa cuối thiên niên kỷ thứ nhất trước Công nguyên. Đây là dân tộc có số dân đông thứ hai trong 54 dân tộc cư trú ở Việt Nam sau người Kinh, với dân số khoảng trên 2.000.000 người. Dân tộc Tày cư trú tập trung ở trung du và miền núi phía bắc Việt Nam - chủ yếu là các tỉnh Lạng Sơn, Cao Bằng, Tuyên Quang, Hà Giang, Yên Bái, Bắc Kạn, Thái Nguyên. Một số đáng kể ở Gia Lai, Đắk Lắk do di cư mới và rải rác cư trú ở cả 63 tỉnh thành trong cả nước. Người dân tộc Tày có vai trò hết sức quan trọng trong mọi mặt của đời sống - kinh tế - xã hội. Thời gian gần đây cùng với sự hội nhập về kinh tế, sự phát triển của khoa học công nghệ. Đời sống - kinh tế - xã hội của toàn xã hội nói chung, của cộng đồng người dân tộc Tày nói riêng có sự chuyển biến rõ rệt. Đời sống mọi mặt được cải thiện tích cực. Tuy