

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

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

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

LÊ THANH CỬ

**KHẢO SÁT VÀ XÂY DỰNG CƠ SỞ DỮ LIỆU TẦN SUẤT
CÁC ALLEN Ở 15 LOCUS GEN HỆ IDENTIFILER TỪ
QUẦN THỂ NGƯỜI DÂN TỘC KHMER ỨNG DỤNG
TRONG GIÁM ĐỊNH ADN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

HÀ NỘI - NĂM 2014

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

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

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Đề tài :

**KHẢO SÁT VÀ XÂY DỰNG CƠ SỞ DỮ LIỆU TÀN SUẤT
CÁC ALEN Ở 15 LOCUS GEN HỆ IDENTIFILER TỪ
QUẦN THỂ NGƯỜI DÂN TỘC KHMER ỨNG DỤNG
TRONG GIÁM ĐỊNH ADN**

Học viên: Lê Thanh Cừ

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60 42 01 14

Người hướng dẫn: PGS. TS. Nguyễn Văn Hà

NĂM 2014

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành được luận văn cao học này tôi xin được bày tỏ lời cảm ơn đến:

- **PGS.TS Nguyễn Văn Hà** - Phó giám đốc trung tâm giám định Sinh học pháp lý, Viện Khoa học hình sự, đã chỉ bảo đã cho tôi nhiều kinh nghiệm trong thời gian thực hiện luận văn cũng như trong quá trình công tác.

- Tập thể Lãnh đạo Viện Khoa học hình sự, Lãnh đạo và cán bộ trong Trung tâm giám định Sinh học Pháp lý - Viện Khoa học hình sự đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình đi học và làm nghiên cứu đề tài.

- Tôi cũng xin được gửi lời cảm ơn đến tất cả thầy, cô đã giảng dạy tại Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật Việt Nam - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam những người đã truyền đạt cho tôi những kiến thức quý giá về lĩnh vực Công nghệ Sinh học làm cơ sở cho tôi thực hiện tốt luận văn này

Sau cùng tôi xin gửi lời biết ơn sâu sắc đến gia đình đã luôn tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong suốt quá trình học cũng như thực hiện luận văn.

Hà Nội, tháng 12 năm 2014

Lê Thanh Cừ

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT	3
DANH MỤC HÌNH VẼ VÀ BẢNG BIỂU	4
MỞ ĐẦU	5
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	9
1.1. Giám định gen (ADN):	9
1.1.1. Sự ra đời của sinh học phân tử:.....	9
1.1.2. Cơ sở khoa học và sự ra đời của giám định gen:	13
1.1.3. Khái niệm về locus và alen	19
1.1.4. Các tiêu chuẩn cho locus STR dùng trong giám định ADN.....	19
1.1.5. Ý nghĩa của cơ sở dữ liệu tần suất alen của các locus STR.....	20
1.2. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước về khảo sát tần suất các alen của các locus gen sử dụng trong giám định ADN.	21
1.2.1. Tình hình nghiên cứu trên thế giới.....	21
1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước:	23
CHƯƠNG 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	26
2.1. Nội dung nghiên cứu:	26
2.2. Phương pháp nghiên cứu:	26
2.2.1. Thu mẫu:	26
2.2.2. Phân tích mẫu:.....	27
2.2.2.1. Quy trình phân tích ADN.....	27

2.2.2.2. Hóa chất, thiết bị và dụng cụ:	28
a. Hóa chất và thiết bị cho tách chiết ADN.....	28
b. Hóa chất và thiết bị cho định lượng ADN	28
c. Hóa chất và thiết bị cho nhân bội và điện di	28
2.2.3. Xử lý thống kê số liệu và tính tần suất các locus gen	29
2.2.3.1. Cơ sở lý thuyết	29
2.2.3.2. Phương pháp xử lý thống kê	29
2.2.3.3. Các bước tính toán thống kê và kiểm định:	30
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN	31
3.1. Kết quả thu, bảo quản mẫu và tách chiết AND.	31
3.2 Kết quả thực hiện phản ứng PCR, điện di và phân tích kiểu gen.	31
3.3 Kết quả xử lý số liệu thống kê.	32
3.3.1. Kết quả tính toán tần suất các alen.....	32
3.3.2. Kết quả quan sát kiểu gen từng locus và tính toán chỉ số kiểm định Khi bình phương.....	35
3.4 Một số ví dụ về ứng dụng kết quả của đề tài trong công tác giám định ADN tại Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an.....	54
KẾT LUẬN.....	56
KIẾN NGHỊ	57
TÀI LIỆU THAM KHẢO	

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ADN	- Axit Deoxyribo Nucleic
ARN	- Axit ribonucleic
A	- Adenine
T	- Thymine
G	- Guanine
C	- Cytosine
NST	- Nhiễm sắc thể
VNTR	- Variable Number of Tandem Repeat - Các trình tự lặp ngắn
STR	- Short Tandem Repeat - Các trình tự lặp ngắn
ID	- Identifiler/Identify definition
PCR	- Polymerase Chain Reaction - Phản ứng chuỗi trùng hợp
FTA	- Tên riêng của một vật mang thu mẫu máu (dạng thẻ) trong khoa học hình sự
bp	- Base pair

DANH MỤC HÌNH VẼ VÀ BẢNG BIỂU

Hình ảnh kiểu gen dạng peak từ mẫu ký hiệu KM100.

Bảng 1.1. Các locus gen hệ Identifiler.

Bảng 3.1. Kết quả định lượng ADN bằng phương pháp Realtime PCR.

Bảng 3.2. Tần suất xuất hiện của các alen trên 15 locus gen hệ Identifiler.

Bảng 3.3. đến 3.17. Xử lý số liệu thống kê ở 15 locus gen hệ Identifiler.

Bảng 3.18. So sánh χ^2_{tt} và χ^2_{lt} .

Bảng 3.19. So sánh tần xuất alen với một số quần thể.

MỞ ĐẦU

Viện Khoa học hình sự là một đơn vị đầu ngành của lực lượng kỹ thuật hình sự, một trung tâm khoa học của ngành Công an Việt Nam. Một trong những nhiệm vụ quan trọng của Viện Khoa học hình sự là công tác giám định phục vụ tố tụng hình sự, tố tụng dân sự và các yêu cầu cá nhân, trong đó nổi bật là lĩnh vực giám định ADN.

Từ tháng 4 năm 1999, Viện Khoa học hình sự đã triển khai lĩnh vực giám định ADN với toàn bộ quy trình được chuyển giao từ Viện Khoa học hình sự bang Victoria - Úc, sử dụng hệ NinePlex II (gồm 09 locus).

Năm 2006 Viện Khoa học hình sự đã đưa vào ứng dụng hệ Identifiler (gồm 15 locus) trong giám định ADN. Với bộ kit này, công tác giám định đạt hiệu quả cao hơn so với bộ kit 9 locus NinePlex II.

Trong giám định ADN hình sự đòi hỏi bắt buộc phải tính xác suất một người ngẫu nhiên trong quần thể có cấu trúc di truyền trùng lặp với ADN của các mẫu vật giám định. Để tính toán được xác suất này thì phải có dữ liệu tần suất của từng alen [7].

Theo lý thuyết di truyền học, mỗi quần thể người (dân tộc) khác nhau có những đặc điểm di truyền đặc trưng, thể hiện bằng sự phân bố tần suất alen trong mỗi quần thể là khác nhau và không thể áp dụng cơ sở dữ liệu của quần thể này cho một quần thể khác. Do đó, bắt buộc phải tiến hành khảo sát tần suất các alen của các locus dùng trong giám định ADN hình sự đối với mỗi dân tộc để đảm bảo tính khoa học, chính xác và khách quan trong kết luận giám định. Việc khảo sát tần suất các alen của các locus đang sử dụng trong giám định ADN đối với các dân tộc trên toàn lãnh thổ Việt Nam là một việc làm mang tính cấp bách.

Việt Nam có 54 dân tộc, trong đó dân tộc Kinh chiếm tỉ lệ lớn nhất (gần 90%) [1] và đã có đề tài khoa học cấp Bộ khảo sát tần suất alen gen người Việt

(Kinh) theo hệ Identifiler [12]. Còn lại là các dân tộc thiểu số, do điều kiện về cơ sở vật chất cũng như con người chưa đáp ứng được nên chưa thể tiến hành khảo sát tần suất alen cho tất cả các dân tộc.

Trong nhóm các dân tộc thiểu số đông dân nhất (Tày, Thái, Mường, Khmer, Hoa, Nùng, Hmông, người Dao, Giarai, Êđê, Chăm, Sán Dìu, người Raglay) có một số dân tộc cư trú chủ yếu tại các tỉnh biên giới, là các điểm nóng về An ninh và Trật tự an toàn xã hội.

Theo Tổng điều tra dân số và nhà ở năm 2009, người Khmer ở Việt Nam có dân số 1.260.640 người, có mặt ở tất cả các tỉnh, thành phố. Người Khmer cư trú tập trung tại các tỉnh: Sóc Trăng (397.014 người, chiếm 30,7 % dân số toàn tỉnh và 31,5 % tổng số người Khmer tại Việt Nam), Trà Vinh (317.203 người, chiếm 31,6 % dân số toàn tỉnh và 25,2 % tổng số người Khmer tại Việt Nam), Kiên Giang (210.899 người, chiếm 12,5 % dân số toàn tỉnh và 16,7 % tổng số người Khmer tại Việt Nam), An Giang (90.271 người), Bạc Liêu (70.667 người), Cà Mau (29.845 người), thành phố Hồ Chí Minh (24.268 người), Vĩnh Long (21.820 người), Cần Thơ (21.414 người), Hậu Giang (21.169 người), Bình Phước (15.578 người), Bình Dương (15.435 người) [1].

Tết: Người Khơ Me có 2 lễ lớn trong năm, Tết Chuôn chnam Thmây tổ chức từ ngày 1 đến ngày 3 đầu tháng Chét (theo Phật lịch) vào khoảng tháng 4 dương lịch và Lễ chào mặt trăng (ok ang bok) tổ chức vào rằm tháng 10 âm lịch, trong lễ này có đua thuyền Ngo giữa các phum - sóc.

Lịch sử: Người Khơ Me từ Tây Khương xuống Trung Lào vào khoảng giữa thiên kỷ 1 trước Tây lịch, cùng lúc với người Việt tộc từ Giang Nam di cư xuống Bắc bộ (2), từ Tây Khương (hay Tây Khang) đi Trung Lào không xa lắm, chỉ vượt qua Vân Nam là đến, lại có sẵn một “đường” rất tiện là con sông Cửu Long. Đến trước thế kỉ XII người Khơ Me và văn hoá của họ giữ vai trò chủ thể ở vùng đồng bằng sông Cửu Long.

Văn hóa: Người Khơ Me đã có những cống hiến to lớn vào kho tàng văn hóa chung của các dân tộc ở Việt Nam. Về văn học dân gian, người Khơ Me là chủ nhân di sản của một nền văn hóa phong phú gồm nhiều thể loại: dân ca, truyền cổ, những câu châm ngôn, tục ngữ thường như một lời khuyên răn, một kinh nghiệm sống. Gắn liền với những sinh hoạt khác nhau, dân ca Khơ Me cũng có nhiều loại: hát ru con, hát trong lao động... những bài hát không chỉ phản ánh không kinh nghiệm nông nghiệp mà còn phản ánh đời sống xã hội nhiều tình cảm của người Khơ Me.

Hoạt động sản xuất: Bên cạnh việc trồng lúa nước là ngành sản xuất chủ yếu, nông dân Khơ Me còn trồng hoa màu trên đất rẫy. Có hai loại đất rẫy: rẫy chuyên dùng và rẫy vốn là ruộng ven làng. Giữa hai vụ mùa lớn, người dân Khơ Me canh tác thêm một vụ hoa màu phụ ngắn ngày. Trên đất rẫy, phổ biến các loại đậu, khoai, ngô, rau, mía, hành, ngò... Có nhiều địa phương chuyên trồng các đặc sản như dưa hấu, hành đỏ, nhãn, sầu vàng, xoài... Ngoài công việc chăn nuôi, người Khơ Me ở vùng ven sông rạch hay biển cũng sử dụng các kỹ thuật đánh bắt cá nước ngọt và nước mặn. Rất ít người Khơ Me sống chuyên bằng chài lưới trên biển, tuy cũng có một số gia đình chung vốn vào việc mua thuyền, mua lưới đánh cá ven biển.

Như vậy, người Khmer tuy là dân tộc thiểu số nhưng phân bố rộng rãi khắp các tỉnh thành và tập trung chủ yếu theo tuyến biên giới phía Tây Nam Bộ [1]. Đây là những khu vực có thời tiết khí hậu khắc nghiệt, giao thông đi lại khó khăn và lại là địa bàn nhạy cảm, thường xuyên phải đấu tranh với những âm mưu thủ đoạn, hoạt động chống phá của các thế lực thù địch, các loại tội phạm (tội phạm xâm phạm an ninh quốc gia, tội phạm ma túy, buôn lậu, buôn bán phụ nữ trẻ em, giết người, hiếp dâm, vận chuyển, buôn bán tiền giả, chất nổ, chất cháy...). Giám định ADN là một công cụ đắc lực phục vụ cho công tác điều tra, xét xử nói chung và góp phần bảo vệ chủ quyền an ninh biên giới, giữ vững an