

PCR và dấu vân tay DNA

Lịch sử

Một người da đen (gọi là “X”) sinh tại Vương quốc Anh đã bỏ qua sống với cha của mình tại Ghana. Sau đó anh ta xin qua trở lại Vương quốc Anh để sống với mẹ (gọi là “M”) và ba người anh chị em ruột của mình thì bị từ chối cho nhập cảnh vì người ta nghi ngờ người xin qua Anh quốc lần này (gọi là “X?”) đã bị thay thế bởi một người cháu hay là một người không thân thuộc gì với bà mẹ. Câu chuyện từ chối visa nhập cảnh này xảy ra vào năm 1985, và lúc này xét nghiệm dấu ấn protein (protein markers) đã được thực hiện và đã xác định được bà mẹ là có liên hệ với “X?” tuy nhiên không thể loại trừ được M là cô hay dì của “X?”. Thắc mắc này tưởng chừng bế tắc cách giải quyết, nhưng may thay Jeffereys và các cộng sự đã được nhờ đến, và lần đầu tiên xét nghiệm dấu vân tay DNA đã được áp dụng trong trường hợp này. Kết quả xét nghiệm đã xác định được đúng “X?” chính là “X” vì “X?” có mang các dấu vân tay DNA từ M và đồng thời có chung các dấu vân tay DNA với các đứa con của “M” thừa hưởng từ người cha. Vậy thì dấu vân tay DNA là gì? Nguyên tắc hoạt động của các xét nghiệm dấu vân tay DNA như thế nào? Các tiến bộ và các phạm vi ứng dụng hiện nay của xét nghiệm dấu vân tay DNA ra sao?

DNA bộ gen người của chúng ta có đến 30% chứa các trình tự base lặp lại và hầu như không mang những mã có ý nghĩa chức năng. Cũng như các trình tự base có ý nghĩa chức năng (gọi là gen), các trình tự base lặp lại này được di truyền từ cha mẹ sang con cái theo định luật phân ly độc lập của Mendel. Tuy nhiên khác với gen, rất khó tìm thấy sự khác biệt về trình tự base của gen giữa các cá nhân, có khá nhiều trình tự base lặp lại giúp có thể giúp phân biệt được cá nhân này với các nhân khác, và chẳng những thế, có thể giúp tìm xem họ có quan hệ huyết thống với nhau hay không. Các trình tự base lặp lại này được gọi là các dấu vân tay DNA.

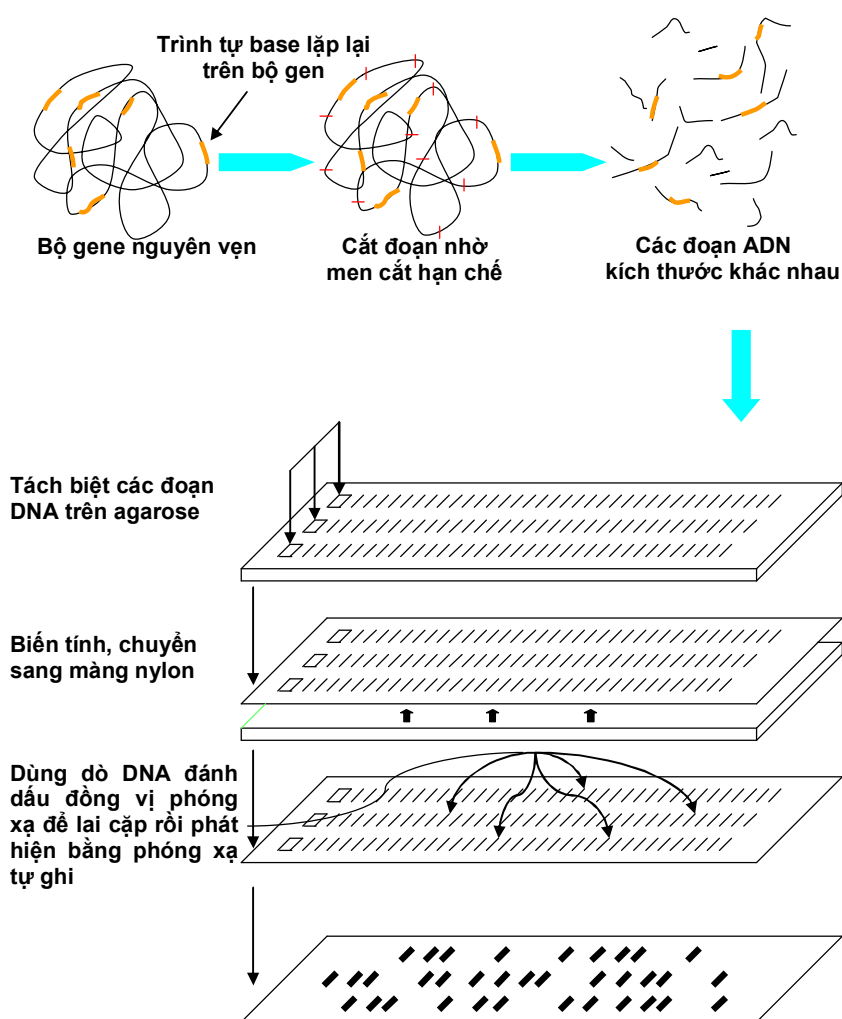
Các loại xét nghiệm dấu vân tay DNA

Các loại xét nghiệm dấu vân tay DNA hiện đang được dùng là tùy thuộc vào loại trình tự lặp lại được các nhà khoa học xem là dấu vân tay DNA.

1. Các tiểu vệ tinh (minisatellite)

Đó là các trình tự base lõi lặp lại, gọi là các tiểu vệ tinh VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats = Số lượng thay đổi các trình tự base lặp lại), có các kích thước thay đổi từ 1.000 base (1 KB) đến 30.000 base (30 KB). Các VNTRs này hiện diện rải rác tại nhiều vị trí trên bộ gen, là *tiểu vệ tinh đa vị trí* (multilocus minisatellite); hay chỉ có tại một vị trí trên bộ gen, là *tiểu vệ tinh đơn vị trí* (single-locus minisatellite). Xét nghiệm dấu vân tay DNA mà Jeffereys thực hiện năm 1985 là xét nghiệm phát hiện *các tiểu vệ tinh đa vị trí* bằng kỹ thuật phát hiện sự đa hình về chiều dài các đoạn DNA của bộ gen bị cắt bởi enzyme cắt hạn chế (Restriction Fragments Length Polymorphism = RFLP). Kỹ thuật này được tóm tắt như sau (**hình 30**): (1) Trước hết mẫu máu được lấy từ các người cần thử nghiệm để tách được bạch cầu, sau đó tách chiết toàn bộ bộ gen

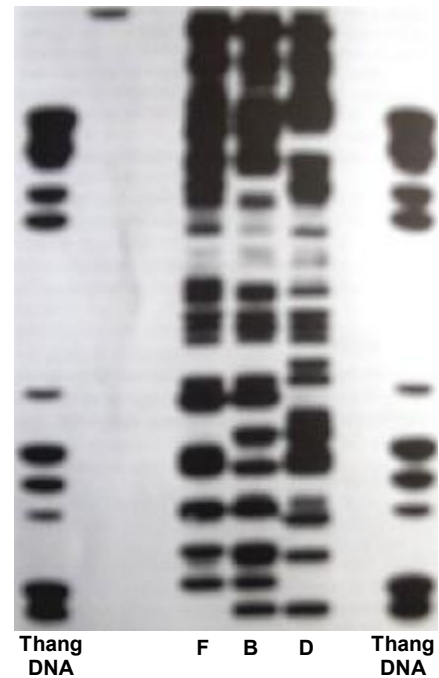
nguyên vẹn của bạch cầu trong các mẫu thử nghiệm; (2) Cắt đoạn các bộ gen đã tách chiết này bằng enzyme cắt hạn chế *Hin*I là một loại enzyme cắt nhận diện được 4 trình tự base đặc hiệu, nhờ đó cắt đoạn được bộ gen thành những mảnh DNA dài ngắn khác nhau, trong đó có những mảnh chứa các trình tự base lặp lại; (3) Điện di mẫu thử nghiệm để phân tách các đoạn DNA này trên thạch agarose, sau đó chuyển các đoạn DNA trên



Hình 30: Minh họa kỹ thuật RFLP để nhận diện dấu vân tay DNA qua phân tích vị trí các tiểu vệ tinh đa vị trí sau bộ gene khi bị enzyme cắt hạn chế cắt đoạn và tách rời nhau trên gel điện di.

thạch này qua một màng nylon bằng một kỹ thuật gọi là kỹ thuật thấm Southern (Southern blotting); (4) phát hiện vị trí các trình tự base lặp lại trên màng nylon bằng cách lai với một trong những dò DNA đánh dấu đồng vị phóng xạ và đặc hiệu cho các trình tự base lặp lại này. Trong thử nghiệm, Jefferey đã thiết kế 2 dò DNA có mã số là 33.6 và 33.15. Kết quả xét nghiệm ở trường hợp trên đã cho thấy “X?” có 61 vị trí của trình tự lặp lại đặc hiệu với hai loại dò 33.6 và 33.15, và tất cả 61 vị trí này đều thấy hiện diện được trên M (do “X?” đã di truyền được từ “M”) hoặc trên 3 người con của “M” (do “X?” và các người này đã di truyền được từ cha của họ tức là chồng của “M” dù không có mẫu thử nghiệm lấy từ ông này). Có thể nói kỹ thuật RFLP được Jeffereys áp dụng trong phân tích các tiểu vệ tinh đa vị trí đã mở đầu cho một kỷ nguyên mới trong pháp y học: dấu vân tay DNA.

Xét nghiệm phát hiện các *tiểu vệ tinh đa vị trí*, vì dùng kỹ thuật RFLP, nên được gọi ngắn gọn là xét nghiệm RFLP. Xét nghiệm này được dùng khá nhiều trong xác định quan hệ huyết thống. Xin đưa thêm ra đây một trường hợp bị chứng minh loạn luân tại Anh quốc (**hình 31**). Kết quả xét nghiệm RFLP cho thấy mẹ đứa bé, là “D” và cha của cô ấy, là “F” có đến 62% các vạch vị trí của tiểu vệ tinh đa vị trí trùng nhau; đồng thời “F” và “B” lại có đến 78% các vạch trùng nhau. Chính nhờ như vậy mà đã xác định được chẳng những “F” là cha của “D” đồng thời cũng là cha của “B”, có nghĩa là “F” vừa là ông ngoại, vừa là cha của “D”.

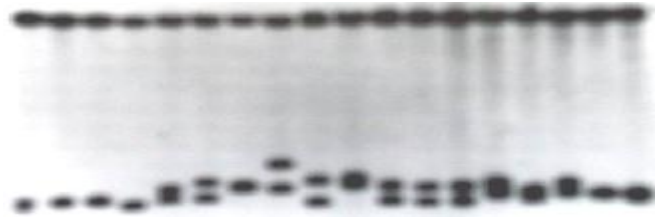


Hình 31: Một kết quả xét nghiệm RFLP (Từ Cellmark Diagnostics, Abinadon, UK)

Xét nghiệm RFLP có một hạn chế là phải có mẫu thử nhiều tế bào để có thể trích được bộ gen nguyên vẹn (phải lấy không dưới 10ml máu để tách đủ bạch cầu dùng trong tách chiết bộ gen). Do vậy xét nghiệm này không thể áp dụng được khi mẫu phân tích quá ít, thậm chí chỉ là các dấu vết sinh học không thể cân đo được vì quá nhỏ.

Ngoài ra, như đã nói ở trên là còn có những *tiểu vệ tinh đơn vị trí* cũng có giá trị là dấu vân tay DNA đã được phát hiện, ví dụ tiểu vệ tinh kết hợp với vị trí của gen α globulin nằm trên nhiễm sắc thể 16 (gọi là 3' α HVR) hay kết hợp với vị trí của gen

Globulin miễn dịch chuỗi nặng nằm trên nhiễm sắc thể 14... Tuy nhiên vì chỉ có một vị trí trên bộ gen nên sau khi bộ gen bị cắt bởi men cắt hạn chế, điện di, thậm chí Southern và phát hiện bằng dò DNA đặc hiệu cho trình tự base lặp lại, trên màng nylon chỉ có thể xuất hiện 3 loại kiểu hình vị trí phản ánh kích thước đoạn DNA chứa trình tự base lặp lại: ngắn-ngắn, dài-dài, ngắn dài (**hình 32**). Hiện nay có nhiều phòng thí nghiệm tư nhân và chính phủ thực hiện xét nghiệm



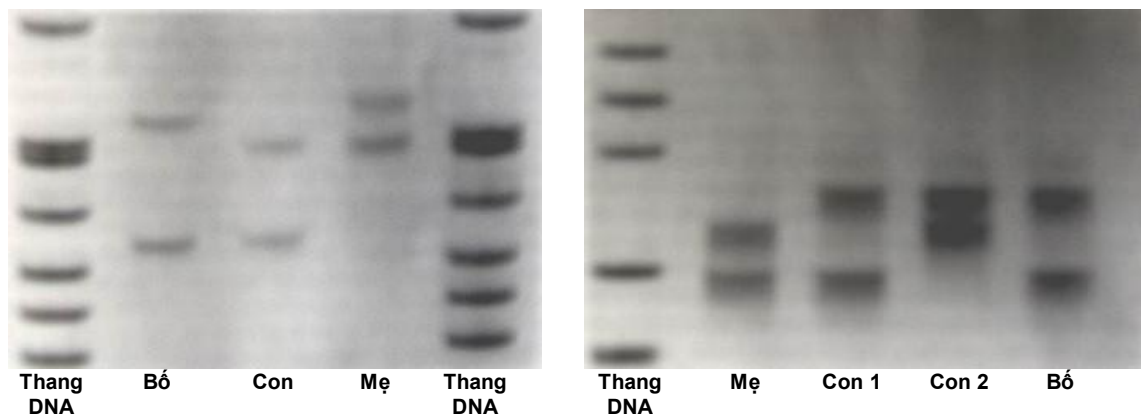
Hình 32: Kết quả phát hiện một tiểu vệ tinh đơn vị trí cho thấy trên một cá nhân chỉ có thể có một trong 3 loại kiểu hình: ngắn-ngắn, ngắn-dài, và dài dài. Ngoài ra sự khác biệt của các cá nhân cũng rất lớn vì chiều dài của các VNTR trên từng cá nhân cũng khác nhau

dấu vân tay DNA này. Các phòng xét nghiệm này dùng một bộ xét nghiệm phát hiện không chỉ một loại *tiểu vệ tinh đơn vị trí* mà phát hiện 4 đến 6 loại *tiểu vệ tinh đơn vị trí* cùng một lúc, và chính nhờ vậy mà kết hợp kết quả các vị trí vạch trên màng nylon dư sức đa hình để phân biệt được sự khác nhau của các mẫu thử nghiệm với xác suất giống nhau giữa hai cá nhân rất thấp đến mức hầu như khó có thể xảy ra. Xét nghiệm này có ưu thế hơn xét nghiệm RFLP vì kết quả đa hình cao nhờ sự kết hợp phát hiện nhiều *tiểu vệ tinh đơn vị trí* cùng một lúc. Ngoài ra, xét nghiệm còn có thể thực hiện trên các mẫu không cần có sự nguyên vẹn của bộ gen. Trong nhiều trường hợp, vẫn có thể làm được xét nghiệm trên các mẫu thử chứa ít DNA nhờ phương pháp khuếch đại tín hiệu phát hiện các vạch đặc hiệu trên màng nylon bằng cách dùng các dò DNA đặc hiệu VNTRs để lai cặp rồi sau đó tái lai cặp bằng các dò DNA phụ trợ. Nhờ những ưu thế này mà xét nghiệm phát hiện các *tiểu vệ tinh đơn vị trí* ngoài việc dùng xác định quan hệ huyết thống, còn có thể dùng trong các mục đích pháp y khác mà chúng tôi sẽ đề cập ở phần sau. Tuy nhiên, xét nghiệm này cũng có nhược điểm là không thể thực hiện trên các mẫu có quá ít DNA, hay khi mẫu bị lẫn nhiều mảnh DNA nhỏ do mẫu thử bị phân hủy vì các mảnh DNA này có thể làm đứt đoạn các VNTR trong các tiểu vệ tinh.

2. Các vi vệ tinh (microsatellite)

Là các trình tự có kích thước nhỏ dưới 1000 base tạo nên bởi các trình tự lõi khoảng 2 đến 4 base lặp lại nhiều lần (từ 10 đến 60 lần). Do kích thước nhỏ nên các trình tự này còn được gọi là các STRs (Short Tandem Repeats, các trình tự lặp lại

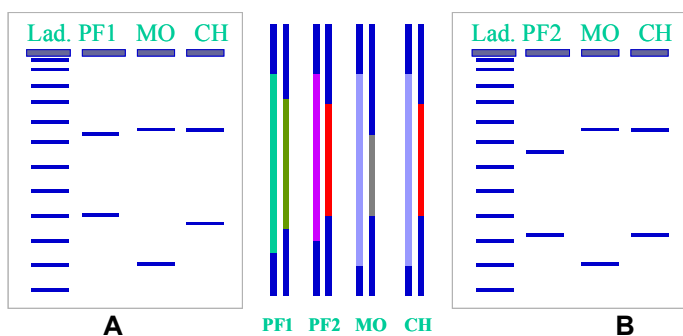
ngắn). Hiện nay có rất nhiều STRs đã được phát hiện và dùng làm dấu vân tay DNA; ví dụ HUMTHO1 nằm trên intron 1 của gen tyrosine hydroxylase, FGA nằm trên intron 3 của gen α fibrinogen, FES, VWA, D18S51...



Hình 33: Kết quả phát hiện một loại STR trên hai gia đình bao gồm bố, mẹ và các con; Cho thấy con luôn được di truyền STR một từ bố và một từ mẹ. Lưu ý là kích thước của STR có nhiều khi chỉ cách biệt nhau dưới 10 base nên không thể dùng kỹ thuật điện di thông thường trên thạch mà phải thực hiện trên hệ thống điện di có độ phân giải cao như điện di với gel giải trình tự hay trên hệ thống điện di mao quản.

Khác biệt với xét nghiệm dựa trên VNTR, xét nghiệm dấu vân tay DNA dựa trên STRs được thực hiện bằng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction, phản ứng chuỗi polymerase).

Đây là một kỹ thuật nhân bản DNA trong ống nghiệm dựa vào những chu kỳ nhiệt, nhờ đó mà các mẫu thử dù chứa DNA với số lượng rất ít vẫn có thể nhân bản thành nhiều bản sao đặc hiệu giống hệt nhau về kích thước và trình tự. Khi một STR được nhân bản



Hình 34: Xét nghiệm STR cho thấy (A) PF1 không thể là cha ruột của bé CH; (B) PF2 có thể nhưng không chắc 100% là cha ruột của bé CH. MO: mẹ, CH: con, PF1 cha có thể 1, PF2: cha có thể 2

bằng kỹ thuật PCR, trong ống nghiệm sẽ có một trong 3 loại kiểu hình về kích thước STR tùy thuộc vào STR trong mẫu DNA thử nghiệm là đồng hợp tử vì nhận từ bố và mẹ STR kích thước giống nhau, hay dị hợp tử vì nhận được STR từ bố có kích thước khác STR nhận từ mẹ (**hình 33**). Chính nhờ vậy mà có thể dùng thử nghiệm STR để xác định một người không phải là cha một đứa bé như trong ví dụ minh họa ở **hình 34-A** trình bày ở đây: Người đàn ông “PF1” không thể là cha của đứa bé “CH” vì kết quả xét nghiệm một loại STR đã cho thấy “CH” chỉ có một vạch trùng với mẹ “MO” và không có vạch trùng với “PF1”. Sự phân phối của các kích thước một loại STR trong

các cá nhân của một quần thể có thể rất rộng, ví dụ kích thước của HUMTHO1 phân phối trong quần thể có thể thay đổi từ 146 đến 273 base với sự khác biệt của hai kích thước gần nhau là không quá 6 base. Như vậy, sự khác biệt kích thước một loại STR trong loài người rất đa hình, đủ để có thể phân biệt được dấu vân tay DNA của cá nhân này với cá nhân khác và mối quan hệ huyết thống nếu có của họ nếu làm xét nghiệm STRs dựa trên nhiều loại STR cùng một lúc. Trong **hình 34-B**, kết quả cho thấy “CH” có một vạch trùng với mẹ “MO” và lại có một vạch trùng với người đàn ông “PF2”. Tuy nhiên điều này chưa thể giúp khẳng định được PF2 đúng 100% là cha của đứa bé “CH” vì kích thước này của STR có thể tìm thấy được trên những người đàn ông khác. Chính vì vậy mà để xác định một quan hệ huyết thống, hay xác định được một thủ phạm thông qua dấu vết DNA để lại tại hiện trường, phải làm xét nghiệm nhiều STR cùng một lúc. Người ta cho rằng nếu xét nghiệm STRs dùng một bộ xét nghiệm phát hiện được cùng một lúc 12 đến 16 loại STRs khác nhau thì xác suất để có kết quả STR hoàn toàn giống nhau trên hai cá nhân là cực thấp, dưới 10^{-10} , và xác suất này là một xác suất của một sự kiện không thể xảy ra được. Hiện nay với phương pháp điện di mao quản và sử dụng đa môi, chúng ta có thể phân tích cùng lúc 12 đến 16 loci STR của một mẫu rất dễ dàng (minh họa một kết quả ở hình 3). Chúng tôi xin minh họa một kết quả xét nghiệm quan hệ huyết thống mà chúng tôi đã thực hiện tại phòng thí nghiệm của mình để xác định mối quan hệ của con trai (N. U. A) với cha (I. A) mẹ (H. D) và hai cô bé gái (H. SOP và H. SOD) được bà mẹ khai là cháu gái gọi mình bằng dì. Trong thí nghiệm này các mẫu thử mà chúng tôi lấy là các mẫu quẹt niêm mạc má của các cá nhân thử nghiệm. Các mẫu niêm mạc này được tách chiết DNA nhờ **bộ thuốc thử tách chiết DNA niêm mạc má** do công ty Nam Khoa chế tạo.

Các mẫu DNA tách chiết này được định lượng và sau đó cho vào chạy PCR với 12 môi đặc hiệu cho 12 loci STR dùng làm dấu vân tay DNA. Các môi này được đánh dấu huỳnh quang với 3 màu huỳnh quang khác nhau để máy điện di mao quản nhận diện được khi vạch khuếch đại đi qua cửa sổ nhận diện của máy. **Bảng 10** trình bày các thông tin cần thiết về 12 loci STR này bao gồm tên, màu huỳnh quang đánh dấu, và kích thước sản phẩm khuếch đại. Lưu ý trên **bảng 10** là màu huỳnh quang được đánh dấu sao cho trong cùng một màu, có thể biết được sản phẩm khuếch đại đó thuộc về locus STR nào, nghĩa là các sản phẩm khuếch đại có chiều dài trùng nhau phải được

đánh dấu khác màu nhau. Sản phẩm PCR sau đó được trộn thêm thang DNA rồi đưa vào chạy điện di mao quản trên máy CEQ 8000 của Becman Coulter với chương trình phân tích đoạn (fragment analysis) là chương trình phân tích xác định kích thước các sản phẩm khuếch đại có trong ống PCR. Kết quả được máy hiển thị là các đỉnh cùng kích thước tương ứng với các sản phẩm khuếch đại của các STR có trong mẫu DNA tách chiết từ mẫu niêm mạc má của người thử nghiệm. **Hình 35** là một minh họa kết quả phát hiện và phân tích kích thước

Bảng 10: Các mồi cho 12 loci STR được dùng cho phân tích dấu vân tay DNA

Tên mồi	Kích thước sản phẩm PCR	Màu HQ
D18S51	286 - 366	D2
TH01	159-199	D2
Amelogenin	104-111	D3
D7S820	214 - 250	D3
D13S137	173 - 213	D3
D16S539	264 - 309	D3
PentaE	377 - 481	D3
D3S1358	112-152	D4
D8S1179	206 - 266	D4
CSF1PO	316 - 356	D4
TPOX	260 - 292	D4
PentaD	369 - 449	D4

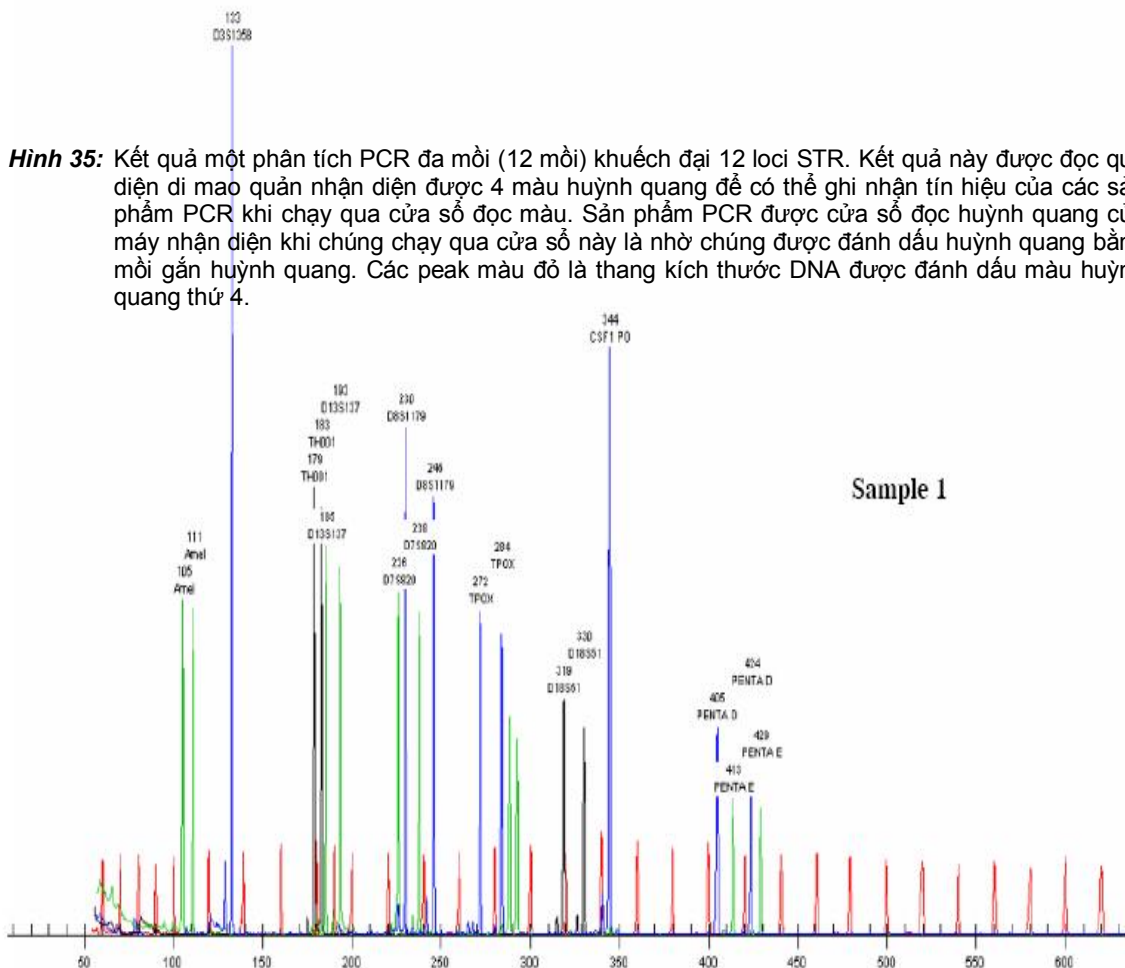
của sản phẩm khuếch đại của các STR, trong trường hợp này là của I.A. Mỗi cá nhân có mẫu thử nghiệm sẽ có một kết quả hiển thị như vậy. Cuối cùng máy sẽ xuất ra một bảng tổng kết các allele (là kích thước sản phẩm khuếch đại) của các STR có trong các mẫu thử nghiệm. **Bảng 11** là bảng trình bày tổng kết các allele của 5 người có mẫu thử nghiệm ở trên. Phân tích kết quả trên **bảng 11** chúng ta sẽ thấy là 12 loci STR của N.U.A có allele chia sẻ với cả I.A và H.D, điều này cho phép nhận định I.A có khả năng rất cao là cha ruột của N.U.A (Gọi là có khả năng rất cao là cha ruột là bởi vì phải tính cho được xác suất chính xác dựa trên tần số xuất hiện các allele trong quần thể). Còn hai cháu H.SP và H.SD cũng có các allele của 12 loci chia sẻ với H.D nhưng giữa H.SP và H.SD có 6 loci STR có allele còn lại không chia sẻ với H.D và đồng thời với nhau. Điều này cho phép kết luận H.SP và H.SD không cùng cha, và H.D có thể là mẹ mà cũng có thể là dì của hai cháu này. Muốn xác định chính xác thì cần phải có mẫu của người được khai là mẹ ruột của hai cháu này.

Chính nhờ ưu điểm có thể thực hiện thử nghiệm trên mẫu nhỏ, kết quả có độ chính xác cao mà xét nghiệm STRs hiện nay được áp dụng trong nhiều lĩnh vực của pháp y như xác định quan hệ huyết thống, truy tầm thủ phạm qua các dấu vết sinh học chứa DNA để lại tại hiện trường, hay truy tầm tung tích nạn nhân qua các mẫu di thể còn lại.

Có thể tóm tắt một qui trình phát hiện dấu vân tay DNA dựa trên STRs thành các bước sau: (1) Tách chiết DNA từ các mẫu thử nghiệm; (2) Khuếch đại các STRs trong mẫu DNA bằng kỹ thuật PCR với mồi đặc hiệu cho STR muốn khuếch đại; (3) Điện di phát hiện kích thước của STR được khuếch đại; (4) Phân tích thống kê dựa trên tần số xuất hiện các allele của các loci STR trong quần thể để tính ra được nguy cơ sai lầm hay xác suất chính xác.

Bảng 11: Kết quả phân tích STR của con trai (N. U. A), cha (I. A), mẹ (H. D) và hai cô bé gái (H. SP và H. SD) được bà mẹ khai là cháu gọi bằng dì

	LOCUS	I.A	N.U.A	H. D	H. SP	H. SD
D2	D18S51 286-336	318.60; 329.94	348.94; 330.07	314.83; 348.94	318.65; 349.03	314.83; 318.62
	TH001 159-199	178.89; 182.93	178.86	178.83	170.5; 178.83	174.77; 178.80
D3	Amelogenin 104-111	105.10; 110.88	104.98; 110.78	105.06	105.01	105.10
	D7S820 214-250	225.88; 237.77	237.61; 241.67	225.78; 241.75	241.59	225.9; 237.74
	D13S137 173-213	185.35; 193.35	181.21; 193.26	181.27; 185.31	181.17	181.29
	D16S539 264-309	288.45; 292.50	292.25	292.37	292.16	284.21; 292.25
	Penta E 337-481	413.42; 429.03	413.18	413.35; 418.53	413.09	418.50; 455.08
D4	D3S1358 112-152	128.51; 132.64	128.32; 132.46	132.57; 145.08	132.47; 144.95	132.57; 145.05
	D8S1179 206-266	229.97; 245.98	237.79; 245.79	229.86; 237.87	229.71; 237.71	229.84; 233.85
	CSF1PO 316-356	344.31	344.23	344.35; 348.36	344.22	344.34
	TPOX 260-292	271.89; 283.98	271.74; 283.82	271.83	271.66	271.82
	Penta D 369-449	404.62; 423.82	409.38; 423.79	404.65; 409.44	394.90; 409.28	404.74; 414.34



Hình 35: Kết quả một phân tích PCR đa mồi (12 mồi) khuếch đại 12 loci STR. Kết quả này được đọc qua điện di mao quản nhận diện được 4 màu huỳnh quang để có thể ghi nhận tín hiệu của các sản phẩm PCR khi chạy qua cửa sổ đọc màu. Sản phẩm PCR được cửa sổ đọc huỳnh quang của máy nhận diện khi chúng chạy qua cửa sổ này là nhờ chúng được đánh dấu huỳnh quang bằng mồi gắn huỳnh quang. Các peak màu đỏ là thang kích thước DNA được đánh dấu màu huỳnh quang thứ 4.

Chúng tôi cũng xin đưa ra ở đây thêm một ví dụ khá đặc biệt về xác định quan hệ huyết thống. Đó là trường hợp một gia đình người Hoa với ông nội (T.N.Y., 67t) đang hấp hối và trước khi chết muốn xác định gấp đưa cháu nội của mình (T.K.T., 8t), con của một người con trai đã mất trước đó 2 năm của ông, có thật sự là cháu nội ruột của

Bảng 12: Bảng kết quả STR của 4 mẫu ông-bà-cô-cháu được làm xét nghiệm quan hệ huyết thống

LOCUS		T.N.Y. (67t)	T.K.T. (8t)	T.N. (63t)	T.H.T. (37t)
D2	D18S51 286-336	304 ; 319	311 ; 319	308 ; 319	304 ; 319
	TH001 159-199	171 ; 179	171	171 ; 182	171 ; 182
D3	Amelogenin 104-111	105 ; 111	105 ; 111	105	105
	D7S820 214-250	226 ; 235	238 ; 242	238	226 ; 238
	D13S137 173-213	202	186 ; 202	198	198 ; 202
	D16S539 264-309	285 ; 297	285 ; 289	285 ; 301	285 ; 301
	Penta E 337-481	414 ; 424	383 ; 435	424 ; 435	424 ; 435
D4	D3S1358 112-152	137	129	125 ; 129	125 ; 137
	D8S1179 206-266	234	234 ; 243	222 ; 238	222 ; 234
	CSF1PO 316-356	333 ; 344	340 ; 352	336 ; 352	336 ; 344
	TPOX 260-292	272	272	272 ; 283	272
	Penta D 369-449	420 ; 424	410 ; 420	405 ; 410	410 ; 424

ông hay không. Nhận được yêu cầu này chúng tôi cũng khá bối rối vì không thể có được mẫu từ cha ruột của cháu, cũng không thể lấy mẫu từ mẹ ruột của cháu vì gia đình không muốn con dâu biết về xét nghiệm này. May thay khi hỏi kỹ thì biết bà nội còn sống (T.N.,63t), và ngoài ra còn có một người cô (T.H.T.,37t) của cháu nữa. Chúng tôi đã phải lấy gấp mẫu và làm gấp xét nghiệm chỉ trong vòng không

quá 24 giờ vì người hấp hối cần biết kết quả khi còn tỉnh táo. Kết quả trình bày trong **bảng 12** đã chứng minh là 12 loci STR khuếch đại từ DNA tách chiết từ mẫu của cháu nội (T.K.T) là chia sẻ các alleles (màu vàng) hoặc với ông nội (T.N.Y.) hoặc với bà nội (T.N.). Kết quả này chứng minh T.K.T. chính là cháu nội ruột của ông nội T.N.Y và bà nội T.N. Kết quả cũng xác định cô T.H.T. chính là con ruột của hai ông bà T.N.Y và T.N. vì các allele của 12 loci STR phát hiện trên cô T.H.T. là nhận các allele của STR của ông T.N.Y và của bà T.N., có nghĩa cô chính là cô ruột của T.K.T. Trong xét nghiệm này, chúng tôi muốn nói lên là kết quả xét nghiệm có thể đến tay người làm xét nghiệm trong thời gian rất nhanh, chỉ trong vòng 24 giờ sau khi phòng thí nghiệm nhận mẫu. Đây chính là một đặc trưng nữa làm cho xét nghiệm phân tích STR rất hữu dụng không chỉ trong phát hiện quan hệ huyết thống mà cả trong các áp dụng khác. Hiện nay xét nghiệm quan hệ huyết thống là một yêu cầu có thực đến từ thực tế của cuộc sống và của xã hội. Do vậy người làm xét nghiệm hay người muốn thử rất cần phải có các hiểu biết nhất định về xét nghiệm này.

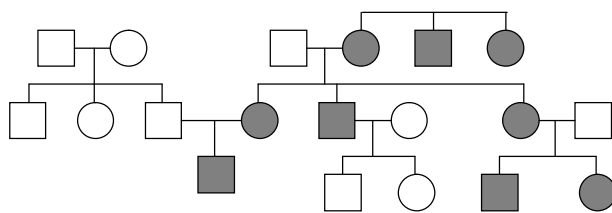
Như đã nói ở trên, ngoài áp dụng phát hiện quan hệ huyết thống, phát hiện các dấu vân tay DNA bằng các xét nghiệm phát hiện STR và xét nghiệm phát hiện các *tiểu vệ tinh đơn vị trí* còn được dùng rộng rãi trong các lĩnh vực khác của pháp y như truy tầm thủ phạm và truy tầm tung tích nạn nhân. Chúng tôi xin đưa ra đây một ví dụ hoàn toàn có thật được Sweet và Sweet thông báo vào năm 1995 để thấy được các áp dụng này: Vào tháng 7 năm 1991, tại Vancouver, British Columbia, Canada; một người đàn bà 29 tuổi được tìm thấy bị giết chết và xác bị đốt cháy đen gần như thành than vì vậy mà không thể nhận diện được. DNA của thi thể không thể thu thập được từ tro của xác chết. Tuy nhiên nhờ một chút ít dữ kiện may mắn có được và nhờ sự làm việc rất tốt của cảnh sát, người ta đã tìm được một người đàn ông bị nghi ngờ là thủ phạm. Khám nhà người này, phát hiện thấy có các dấu máu khô còn dính trên xe hơi và quần áo của hắn ta cùng một can xăng trống rỗng. Xét nghiệm dấu vân tay DNA từ các vết máu, người ta đã xác định không phải từ máu của hắn ta. Vấn đề là làm sao để có DNA trích được từ di thể của nạn nhân. Sau khi xem xét phần hàm dưới của di thể, người ta đã tìm thấy được một vài cái răng khôn không bị cháy nhờ được hàm răng bảo vệ. Chính từ các mẫu răng khôn này, các nhà khoa học hình sự đã trích được DNA, và nhờ đó đã làm được xét nghiệm phát hiện dấu vân tay DNA của nạn nhân. Kết quả cho thấy các dấu vân tay DNA này hoàn toàn trùng khớp với dấu vân tay DNA từ các mẫu máu tìm được trên xe hơi của hung thủ. Cuối cùng hung thủ phải nhận tội giết người.

3. Trình tự vòng D của ty thể

Trong trường hợp xác định xương hài cốt của lính Mỹ chết trận tại Việt Nam, các DNA hầu như bị phân huỷ gần hết do hài cốt bị nằm trong đất quá lâu. Đa số các trường hợp này người ta không thể phát hiện dấu vân tay DNA bằng các xét nghiệm phát hiện STR và xét nghiệm phát hiện các *tiểu vệ tinh đơn vị trí* như đã nêu ở trên. Lúc này một loại xét nghiệm khác được thực hiện, đó là dùng PCR để vừa khuếch đại, vừa giải trình tự các vòng D nằm trên DNA ty thể. Các DNA ty thể hầu như còn hiện diện khá nhiều trong tủy răng của hài cốt vì một phần là chúng được răng bảo vệ, một phần nữa là do trong một tế bào có rất nhiều ty thể, số lượng DNA ty thể trong một tế bào có khá nhiều nên khó thể bị phân huỷ hết. Vòng D là một đoạn DNA của ty thể hầu như rất bảo tồn qua nhiều thế hệ và chỉ di truyền qua mẹ (vì ty thể chỉ có trên tế bào chất). Thông qua kết quả khuếch đại và giải trình tự này, người ta có thể xác định mẫu hài cốt

có quan hệ huyết thống hay không với các gia đình lính Mỹ mất tích. **Hình 36** dưới đây minh họa một cây phả hệ dựa trên sự giống nhau của trình tự vòng D của DNA ty thể.

Phát hiện dấu vân tay DNA bằng xét nghiệm giải trình tự vòng D của DNA ty thể là một xét nghiệm rất hữu dụng để truy tầm hài cốt bị phân hủy khá lâu trong lòng đất. Chính nhờ xét



Hình 36: Một cây phả hệ cho thấy sự di truyền trình tự vòng D của DNA ty thể qua người mẹ

nghiệm này mà người ta đã tìm được hài cốt của Nga Hoàng Nicolas đệ nhị bị giết chết sau cách mạng tháng 10 Nga nhờ phát hiện được trình tự vòng D ty thể trên một hài cốt chôn tại bìa rừng nơi được cho là đã hành quyết gia đình nhà vua, trình tự này trùng với trình tự vòng D của ty thể một người thân thuộc, và cả hài cốt của hoàng hậu do có thân thuộc với nữ hoàng Victoria bên Anh quốc.

Kết luận

Phát hiện dấu vân tay DNA để xác định quan hệ huyết thống, truy tầm thủ phạm thông qua dấu vết sinh học chứa DNA để lại tại hiện trường, truy tầm tông tích nạn nhân qua các di thể còn sót lại dù rằng chỉ là các mảnh xương và răng là một tiến bộ rất tuyệt vời của ngành pháp y học. Để không bị lạc hậu với các tiến bộ này, hiện nay phòng thí nghiệm khoa học hình sự của Bộ Công An chúng ta đã trang bị được các phương tiện để làm các xét nghiệm phát hiện dấu vân tay DNA và đã hoạt động thường xuyên. Phòng thí nghiệm nghiên cứu và phát triển của công ty Nam Khoa cũng đã có những phương tiện tương tự và đã hoạt động có những kết quả bước đầu rất đáng khích lệ. Ngoài ra, chúng ta cũng rất vui mừng khi biết được Viện Công Nghệ Sinh Học Việt Nam đã triển khai thành công xét nghiệm truy tầm hài cốt liệt sĩ và đã chuyển giao được kỹ thuật này cho phòng thí nghiệm có chức năng. Chúng tôi nghĩ rằng đây là các kết quả rất có giá trị minh chứng được rằng các nhà khoa học Việt Nam không hề muốn bị tụt hậu trong các lĩnh vực khoa học kỹ thuật đỉnh cao.