

ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC NHẬN DIỆN CÁ THỂ NGƯỜI PHỤC VỤ CÔNG TÁC AN NINH

PGS.TS PHẠM CÔNG HOẠT, TS NGUYỄN VĂN LIÊU

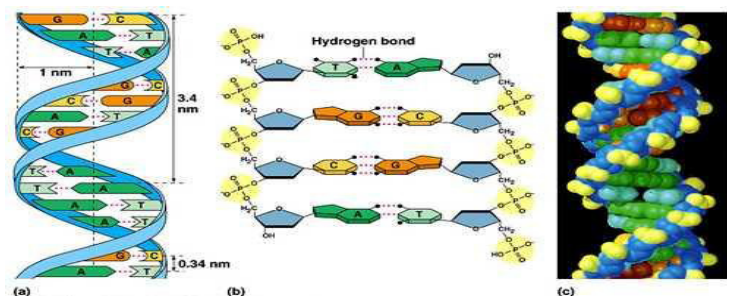
Vụ KH&CN các ngành kinh tế - kỹ thuật

Bộ KH&CN

Ngày 22.7.2005, Thủ tướng Chính phủ đã ban hành Quyết định số 188/2005/QĐ-TTg về Chương trình hành động của Chính phủ thực hiện Chỉ thị số 50-CT/TW ngày 4.3.2005 của Ban Bí thư Trung ương Đảng về việc đẩy mạnh phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học phục vụ sự nghiệp công nghiệp hóa, hiện đại hóa đất nước. Chương trình hành động của Chính phủ chỉ rõ mục tiêu đến 2010: “Tạo ra, tiếp nhận và làm chủ được các công nghệ sinh học chủ yếu; triển khai ứng dụng mạnh mẽ, rộng khắp và có hiệu quả các công nghệ này vào lĩnh vực nông nghiệp, thủy sản, y tế, công nghiệp chế biến, bảo vệ môi trường và an ninh, quốc phòng”. Như vậy, an ninh quốc phòng là một trong những lĩnh vực được Đảng và Nhà nước quan tâm mà công nghệ sinh học cần phải hướng đến. Một trong những mục tiêu quan trọng nhất cần đạt được là làm thế nào quản lý được các đối tượng hình sự một cách hệ thống, truy cập nhanh và phát hiện chính xác các nạn nhân trong các vụ hỏa hoạn, nổ... Trong 10 năm qua, đã có nhiều sản phẩm, thiết bị là kết quả của các đề tài nghiên cứu cấp nhà nước phục vụ đắc lực cho công tác an ninh, như: KIT phát hiện nhanh ma túy, que chẩn đoán nhanh vi khuẩn nhiệt thán, xác định gen cá thể người..., đặc biệt, công nghệ xác định gen cá thể người đang được áp dụng để trả lại tên cho các liệt sỹ vô danh, xác định danh tính cá thể trong các vụ tai nạn do cháy nổ... Trong bài viết này, các tác giả đề cập đến việc ứng dụng công nghệ gen để xác định cá thể người.

Cơ sở khoa học và sự cần thiết của việc nhận dạng cá thể người

Vào những năm cuối thế kỷ XX, công nghệ gen phát triển nhanh chóng nhờ việc phát minh ra cấu trúc chuỗi xoắn kép ADN của James Watson và Francis Crick vào năm 1953 và phát minh ra phương pháp khuếch đại một lượng rất nhỏ ADN trong ống nghiệm của Kary Mullis năm 1985. Những phát minh này nhanh chóng được ứng dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về y - sinh học và trong khoa học hình sự để xác định cá thể người. Có thể nói, sinh học phân tử và công nghệ gen lần đầu tiên ứng dụng để phân biệt cá thể tại Anh vào năm 1985 nhờ công trình nghiên cứu của Alec Jeffreys và cộng sự khi nghiên cứu các đoạn gen mã hóa Protein Myoglobin trong máu người. Họ đã phát hiện trên đoạn gen có một trình tự bao gồm những bazơ nitơ được lặp đi lặp lại một số lần, điều đáng chú ý là các đoạn lặp này ở các cá thể khác nhau thì khác nhau. Jeffreys coi đây là một đặc điểm quan trọng để phân biệt sự khác nhau của các cá thể.



Hình 1: cấu trúc hóa học của phân tử ADN

Với sự phát triển của công nghệ gen, nhiều đoạn lặp lại đa hình khác lần lượt được phát hiện. Từ việc phát hiện các đoạn đa hình có trình tự lặp lại bằng phương pháp sử dụng enzym cắt hạn chế (RFLP) đến phương pháp lai đầu dò (ADN-probe), các đoạn lặp lại ngẫu nhiên có độ dài trung bình (VNTR), các đoạn lặp lại ngắn, chỉ 2-4 đôi bazơ nitơ (STR) kết hợp kỹ thuật PCR, công nghệ gen đã giúp cho việc phân biệt cá thể phát triển lên một tầm cao mới. Giám định tư pháp về gen ra đời từ đây và đã khắc phục được những hạn chế của các phương pháp huyết thanh

học trước đây, giúp các nhà điều tra truy nguyên được đến cá thể người, xác định được quan hệ huyết thống cha - con, mẹ - con, xác định được hài cốt, xây dựng cơ sở dữ liệu và tàng thư gen tội phạm.

Nghiên cứu tìm kiếm các trình tự gen đa hình để phân biệt cá thể người, đồng thời nghiên cứu chế tạo các bộ KIT phục vụ cho mục đích này được nhiều doanh nghiệp để ý, vì đây là nguồn thu lợi rất cao. Ngay từ giữa những năm 90, hai hãng sản xuất các chế phẩm sinh học là PERKIN ELMER và PROMEGA (Mỹ) đã cho xuất xưởng nhiều bộ KIT khác nhau, các bộ KIT đơn gen, 3 gen, 9 gen, 12 gen và 16 gen đã lần lượt ra đời. Hiện nay, các loại KIT này đã được sử dụng ở nhiều nước để phục vụ cho mục đích phân biệt cá thể người, xác định quan hệ huyết thống mà lĩnh vực được quan tâm nhiều nhất là khoa học hình sự. Với hệ 16 gen, người ta đã có khả năng phân biệt một người trong 10^{17} người. Các hệ phân tích càng nhiều gen thì khả năng phân biệt cá thể càng cao. Vì khả năng nhận dạng cá thể cao như vậy, những năm gần đây, nhiều quốc gia trên thế giới đã đưa thông tin về ADN lên thẻ nhận dạng cá nhân để phục vụ cho việc kiểm soát an ninh, phòng chống tội phạm hoặc tìm kiếm nhận dạng những cá nhân chết không có tung tích... cũng như nhiều ứng dụng khác của phân tích gen. Ở một số quốc gia, người ta còn sử dụng thẻ ADN cho quân đội với những lực lượng đặc biệt làm công tác chiến đấu, hoặc những người làm các công việc có nguy cơ rủi ro cao như phi công, lực lượng cứu hỏa, cứu hộ...

Hàng năm, tai nạn do cháy nổ, sập hầm lò, bão lụt, động đất hoặc tai nạn giao thông đã gây thiệt hại vô cùng lớn về người và tài sản. Nhiều quốc gia đã và đang quan tâm đầu tư để hạn chế rủi ro trên cả phương diện đào tạo, kiện toàn các lực lượng cứu hộ, cứu nạn, chuẩn bị cơ sở vật chất, kỹ thuật để khắc phục thảm họa, trong đó có công tác giám định nhận dạng người. Đây là vấn đề rất nhạy cảm, liên quan đến gia đình các nạn nhân. Trong những vụ thảm họa mà nạn nhân không còn nhận dạng được bằng các phương pháp nhận dạng so sánh như thông tin về tầm vóc, quần áo, những đặc điểm do người thân cung cấp, so sánh vân tay với chứng minh thư hoặc tàng thư vân tay... thì phân tích ADN là phương pháp duy nhất để nhận dạng nạn nhân thông qua so sánh với cơ sở dữ liệu ADN đã lưu trữ của nạn nhân hoặc so sánh ADN của nạn nhân với những người có quan hệ huyết thống với nạn nhân như bố, mẹ, con hoặc anh chị em ruột... Vì vậy, nếu hai cá nhân có thể ADN (hay thể gen), người ta chỉ cần so sánh kiểu gen của họ thì có thể biết được họ có quan hệ huyết thống với nhau hay không (vì con cái phải có 50% gen của bố, 50% gen của mẹ, còn anh chị em ruột thì có số lượng gen giống nhau ít nhất 25%). Việc quản lý hồ sơ kiểu gen (hay cơ sở dữ liệu ADN) của cá nhân hoặc thân nhân của một cá nhân cho phép máy tính nhanh chóng tìm kiếm và xác định được mối quan hệ giữa hai mẫu phân tích. Vì vậy, việc chế tạo thẻ ADN và việc xây dựng cơ sở dữ liệu quản lý thông tin sẽ phục vụ kịp thời cho công tác an ninh (nếu các vụ việc liên quan đến các loại tội phạm) hoặc dân sinh như xác định

danh tính nạn nhân thông qua thân nhân và các mục đích nhân đạo khác.

Công nghệ sinh học phục vụ xác định cá thể người tại Việt Nam

Kể từ năm 2001 đến nay, Chương trình “Nghiên cứu phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học” (KC.04) đã đưa ra mục tiêu “Hình thành được cơ sở dữ liệu (khoảng 40.000 cá thể) về tàng thư gen người phục vụ công tác an ninh, quốc phòng”. Qua 3 giai đoạn, đã có 5 đề tài với các nội dung nghiên cứu được đặt ra như sau:

Giai đoạn 2001-2005

Đề tài “Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật ADN trong nhận dạng cá thể người” với các nội dung: khảo sát các bộ KIT đơn gen nhập ngoại để chọn những đoạn ADN đáp ứng các yêu cầu: tính ổn định cao, tính đa hình cao, có khả năng phối hợp để tạo thành KIT đa gen; tiêu chuẩn hoá phương pháp tách chiết, bảo quản ADN từ máu; thiết kế các bộ KIT dùng để xác định các đoạn ADN đặc biệt (tính đa hình cao, ít đột biến, tính bảo thủ cao phục vụ giám định, điều tra và xác định đặc trưng cá thể người); xây dựng bảng phân bố tần suất các alen với quần thể người Việt; thử nghiệm, so sánh kết quả bộ KIT trong điều kiện thực tế; xây dựng quy trình kỹ thuật ổn định bộ KIT với 3 locus; áp dụng công nghệ thông tin xây dựng cơ sở dữ liệu cho tàng thư thí nghiệm.

Đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ ADN trong việc giám định hài cốt liệt sỹ” với các nội dung: thu thập, bảo quản các mẫu hài cốt liệt sỹ phục vụ cho việc tách chiết mtADN; thu thập, lưu trữ, lập tàng thư các tài liệu liên quan phục vụ cho việc truy cập thông tin, xác định phả hệ các liệt sỹ vô danh; thiết lập mối quan hệ di truyền theo dòng mẹ đối với trường hợp hài cốt liệt sỹ vô danh có di vật liên quan tới nhiều gia đình để tạo điều kiện thu thập mẫu sinh phẩm chuẩn xác phục vụ cho việc tách chiết mtADN của các phả hệ có liên quan; nghiên cứu quy trình tách chiết mtADN từ các mẫu hài cốt, sinh phẩm. Thiết kế các cặp mồi đặc hiệu để nhân bản đoạn ADN vùng siêu biến của mtADN từ các mẫu hài cốt, sinh phẩm; nghiên cứu quy trình nhân bản vùng siêu biến trong mtADN từ các mẫu hài cốt, sinh phẩm. Tạo dòng các đoạn gen ADN để giải trình tự vùng siêu biến; tiến hành phân tích mức độ tương đồng và sự khác biệt giữa các trình tự vùng siêu biến các mẫu đã giải trình tự bằng phần mềm chuyên dụng để xác định phả hệ cho các hài cốt vô danh.

Đề tài “Nghiên cứu ứng dụng và phát triển kỹ thuật phân tích ADN phục vụ chẩn đoán hình sự” với các nội dung: thiết kế mồi từ trình tự (dự kiến các cặp mồi cho các locus: VWA, D3 (D8), D13S317) đảm bảo cho các locus có kích thước alen không gối lên nhau để có thể chế tạo bộ KIT 3 gen; lựa chọn điều kiện tối ưu để nhân bản các cặp mồi đơn; phối hợp một số mồi đơn để xây dựng các bộ 3 cặp mồi trong 1 phản ứng; tối ưu hoá quy trình điện di để nhận kết quả phân tách các alen tốt nhất cho từng locus đơn, cho 3 locus đồng thời;

sử dụng kỹ thuật PCR đã tối ưu khảo sát 200-300 cá thể đối với từng locus đơn để lấy số liệu xây dựng tần suất alen và thu đủ số lượng alen để làm thang alen chỉ thị; chế tạo 3 KIT chuẩn và tài liệu hướng dẫn kỹ thuật phù hợp; phân tích kiểu gen của 9 locus trên cơ sở 9 bộ KIT đơn gen cho 1.000 cá thể và xây dựng tầng thư mẫu lưu giữ, phân tích thông tin về kiểu gen; chuyển giao kỹ thuật tổng thể cho cơ sở ứng dụng các bộ KIT phân tích gen.

Giai đoạn 2006-2010

Đề tài “Nghiên cứu chế tạo một số bộ KIT phân tích ADN dựa trên 16 gen đa hình phục vụ giám định hình sự” đã tập trung và nâng cấp từ việc xác định dựa trên 9 gen đa hình của giai đoạn trước với 7 gen đa hình mới thành bộ KIT 16 gen, đảm bảo phân biệt sự khác nhau tốt hơn giữa những cá thể có cùng huyết thống; đã hình thành được Danh mục kiểu gen với 16 locus của 500 phạm nhân; hình thành cơ sở dữ liệu nhận dạng ADN cá nhân thử nghiệm 16 gen (dạng phiếu và dạng phần mềm quản lý).

Giai đoạn 2011-2015

Đề tài “Nghiên cứu xây dựng thể dữ liệu ADN nhận dạng cá thể người phục vụ công tác an ninh và dân sinh” đã chế tạo được các bộ KIT nhận dạng cá thể người sử dụng mỗi huỳnh quang dựa trên 16 locus STR đa hình phân tích trên thiết bị sol gel huỳnh quang và trên hệ thống điện di mao quản; đã chế tạo được 1.000 thể ADN nhận dạng cá thể người sử dụng các bộ KIT phân tích gen tự chế tạo; đã xây dựng được ngân hàng mẫu sinh phẩm cho 1.000 cá thể.

Ứng dụng kết quả nghiên cứu về công nghệ sinh học trong công tác an ninh, quốc phòng

Ứng dụng công nghệ gen trong định danh hài cốt liệt sỹ và xác định danh tính các cá nhân trong các vụ tai nạn thảm khốc, trong quản lý an ninh quốc phòng có ý nghĩa xã hội to lớn, sẽ góp phần trả lại tên cho các liệt sỹ vô danh (số lượng hiện tại còn khoảng trên 300.000 mộ liệt sỹ vô danh). Mặc dù mới chỉ làm được vài trăm trường hợp nhưng đã được dư luận đánh giá cao. Một mẫu xác định gen ở nước ngoài hết 400 USD, còn ở Việt Nam theo tính toán của các nhà khoa học chỉ hết khoảng 2.250.000 đồng. Đây là việc làm hết sức có ý nghĩa, thể hiện sự tri ân của nhân dân đối với các liệt sỹ đã anh dũng hy sinh vì độc lập tự do của dân tộc.

Kết quả nghiên cứu thiết kế và chế tạo thể dữ liệu ADN nhận dạng cá thể người dựa trên các công nghệ in ấn, công nghệ chế bản điện tử, phương pháp in trên nhựa, các loại mực in đặc biệt, các kỹ thuật màng bảo vệ phủ thể sẵn có, các nhà khoa học đã tiến hành thiết kế mẫu thể ADN cá thể (gồm cả mặt trước và mặt sau thể) theo tiêu chí: dễ dàng thực hiện quá trình in offset, in cá thể hóa nội dung trên bề mặt thể nhựa ADN một cách hiệu quả, đạt chất lượng kỹ thuật, mỹ thuật. Thể ADN có kích thước của thể nhận dạng theo tiêu chuẩn quốc tế ISO/IEC 7810-3:2003. Thể chứa đầy đủ

nội dung thông tin nhân thân và kiểu gen bằng tiếng Việt; vẫn nền bảo an của thể được thiết kế ứng dụng các mô đun trong phần mềm thiết kế bảo an của hãng Fortuna. Thể ADN có kích thước và mang các thông tin giống với mẫu thể nhựa chứng minh thư nhân dân hiện đang lưu hành. Tương lai có thể được tích hợp với chứng minh thư nhân dân nhưng vẫn bảo đảm đầy đủ các thông tin về nhân thân, góp phần phục vụ công tác quản lý, giảm số lượng giấy tờ hành chính của mỗi cá nhân.

Sau khi phân tích và nhập hoàn chỉnh thông tin nhân thân và kiểu gen 16 locus STR của 1.000 mẫu cá thể, các nhà khoa học đã chế tạo được 1.000 thể ADN cá nhân theo tiêu chuẩn quốc tế. Thể ADN cá nhân này của Việt Nam được chế tạo với công nghệ tiên tiến, góp phần chủ động hoàn toàn về mặt kỹ thuật, có thể sản xuất với số lượng lớn khi có yêu cầu. Kết hợp với phần mềm quản lý, tiến tới việc thống nhất mỗi người chỉ cần có một mã định danh cá nhân, giải quyết hiện trạng mỗi người phải mang quá nhiều giấy tờ nhân thân và cấp trùng mã chứng minh thư nhân dân như hiện nay.

Việc các nhà khoa học trong nước ứng dụng công nghệ sinh học vào nghiên cứu và đã chế tạo thành công thể nhận dạng cá thể người với các tính năng kỹ thuật và bảo mật cao đã giúp các cơ quan quản lý bổ sung một phương tiện quản lý con người hoàn toàn mới tồn tại song song với các phương pháp quản lý hiện có nhưng có độ chính xác và tin cậy cao hơn.

Tài liệu tham khảo

- Hồ Huỳnh Thuỷ Dương (2001), Sinh học phân tử, Nxb Y học.
- Bạch Quốc Tuyên (1979), Nhóm máu và các kỹ thuật miễn dịch thường dùng, tài liệu dịch, Nxb Khoa học và Kỹ thuật.
- Andrew D. Thibodeau, J.D. Senior Fellow (2011), National forensic ADN databases, council for responsible genetics.
- Alan Gunn (2006), Essential Forensic Biology, John Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex PO19 8SQ, England.
- Butler M.J (2001), Forensic ADN: Typing Biology and Technology behind STR Markers, London: Academic Press.
- Butler M.J (2001), Forensic ADN typing. Academic Press.
- Butler M.J (2006), Genetics and Genomics of Core STR loci used in human identity testing, J. Forensic Sci, 51.
- Butler M.J (2007), Mini-review: Short Tandem Repeat typing technologies used in human identity testing, Biotechniques, Vol.43(4), Sii-Sv.
- Collins P.J., L.K. Hennessy, C.S. Leibelt, R.K. Roby, D.J. Reeder and P.A. Foxall (2004), Developmental validation of a single-tube amplification of the 13 CODIS STR loci, D2S1338, D19S433, and amelogenin: the AmpFISTR Identifier PCR Amplification Kit, J. Forensic Sci.
- John M. Butler (2005), Forensic ADNTyping, Elsevier Academic Press, second Edition.
- J.M. Butler, C.R. Hill (2012), Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Useful for Forensic ADN Analysis, Forensic Sci Rev 24 (1) 15-26.
- Jeffreys A.J., Wilson V. & Thein S.L (1985), Individual-specific-for fingerprints of human ADN, Nature : 314 : 67-73.
- W. Mark Dale, Owen Greenspan, Donald Orokos (2006), ADN Forensics: Expanding Uses and Information Sharing, The national consortium for justice information and statistics.