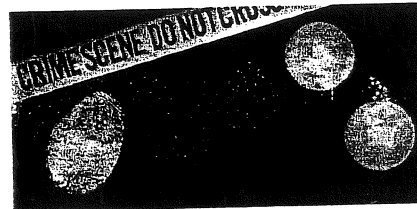


- عالمياً تم تحديد ١٦ موقعاً من بين الآلاف المتوفرة لتحديد الهوية الجينية أو البصمة الوراثية لأفراد النوع البشري.
- لا يوجد شخصين يملكان نفس أطوال المواقع ١٦ على سطح الكرة الأرضية إلا التوائم الحقيقية.
- هذا الاختبار، يعد حالياً أهم اختبارات الطب الشرعي التي يعتمد عليها لتحديد هوية المجرمين، من بقايا الأثار البيولوجية التي يتركونها في مكان الجريمة.
- يستخلص DNA منها وتضخم المواقع ١٦ بواسطة PCR وترسم بصمة جينية للمشتبه به بعد عملية الرحلان الكهربائي.



الاستعمالات في الطب الشرعي: تحديد الهوية الجينية للمجرم

Forensics DNA Testing

Target Sequence

DNA profile is extracted from the semen and targeted sequences are amplified using PCR or STR. This DNA will be used to compare to any suspects in the case to see if the profiles are a match.

Crime Scene sample

Subject #1

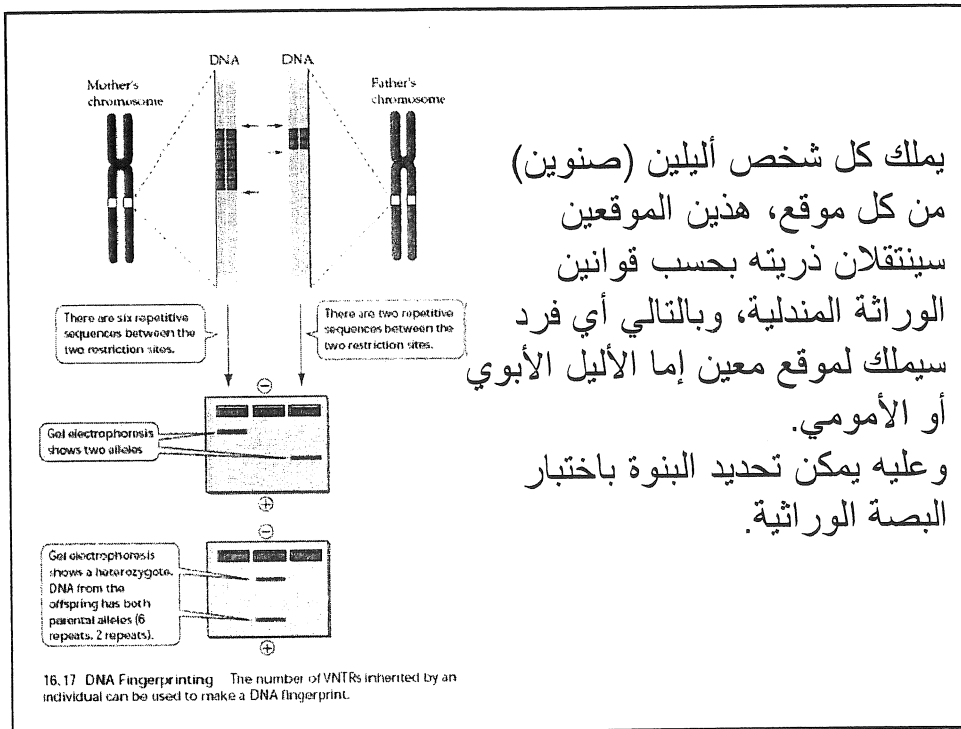
Subject #2

Subject #3

Sample Sub # 1 Sub # 2 Sub # 3

The results indicate that Subject #2 is an exact match to the DNA present at the crime scene.

© Copyright 2009 - Deborah L. Unford Healthcare. All Rights Reserved.



يملك كل شخص أليلين (صنوين)
 من كل موقع، هذين الموقعين
 سينتقلان ذريته بحسب قوانين
 الوراثة المنديلية، وبالتالي أي فرد
 سيملك لموقع معين إما الأليل الأبوي
 أو الأمومي.
 وعليه يمكن تحديد البنية باختبار
 البصمة الوراثية.

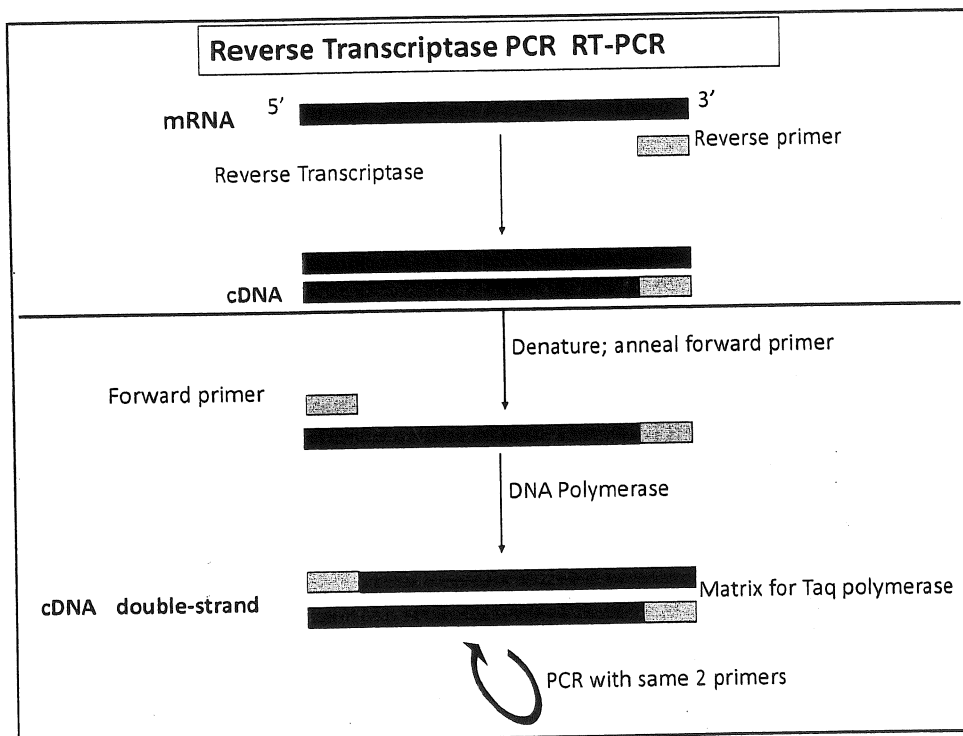
DNA fingerprinting can be used to identify a child's parents.

MOM	DAD	D1	D2	S1	S2

a family consists of a mom and dad, two daughters and two sons. The parents have one daughter and one son together, one daughter is from the mother's previous marriage, and one son is adopted

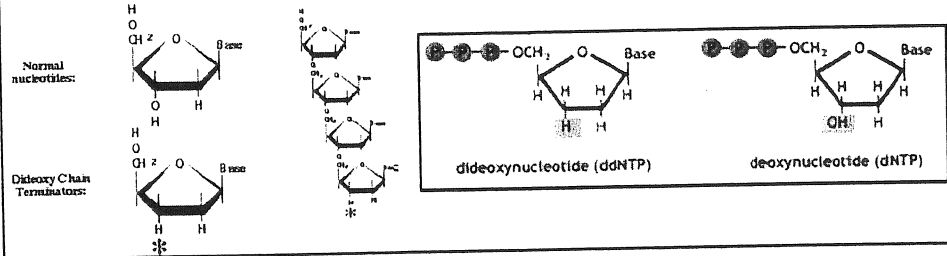
Reverse Transcriptase PCR RT-PCR

- تستعمل لتضخيم mRNA معروف التسلسل (أو على الأقل جزء من التسلسل).
- البدء مع mRNA بدل DNA ثنائي الشريطة.
- الخطوة الأولى: تحويل mRNA إلى cDNA أحادي الشريطة
- RNA → cDNA with reverse Transcriptase and reverse primer.
- الخطوة الثانية: استعمال البادئة الأمامية لتحويل الشريطة المفردة cDNA إلى شريطة مضاعفة.
- الناتج يستخدم ك قالب في تفاعل PCR تقليدي.

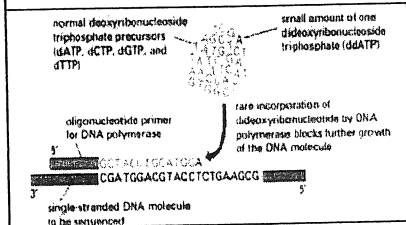


سلسلة DNA DNA Sequencing

هي معرفة تتالي الأسس الآزوتية التي تكون تسلسل معين من DNA تستخدم عادة طريقة سنجر للسلسلة **Sanger sequencing method** يعتمد مبدأ السلسلة على استخدام نكليوتيدات ثنائية منزوعة الأوكسجين منبهة للسلسلة chain-terminating dideoxynucleotides يضيفها أنزيم DNA بوليميراز أثناء تضاعف DNA في الزجاج *in vitro* DNA replication إلى السلسلة النامية بشكل عشوائي. عندما يتم إضافة نكليوتيد منهي ddNTP يتوقف نمو (اصطناع) السلسلة.

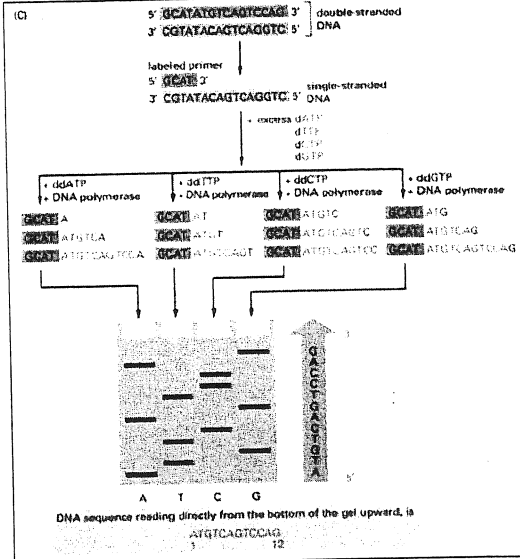


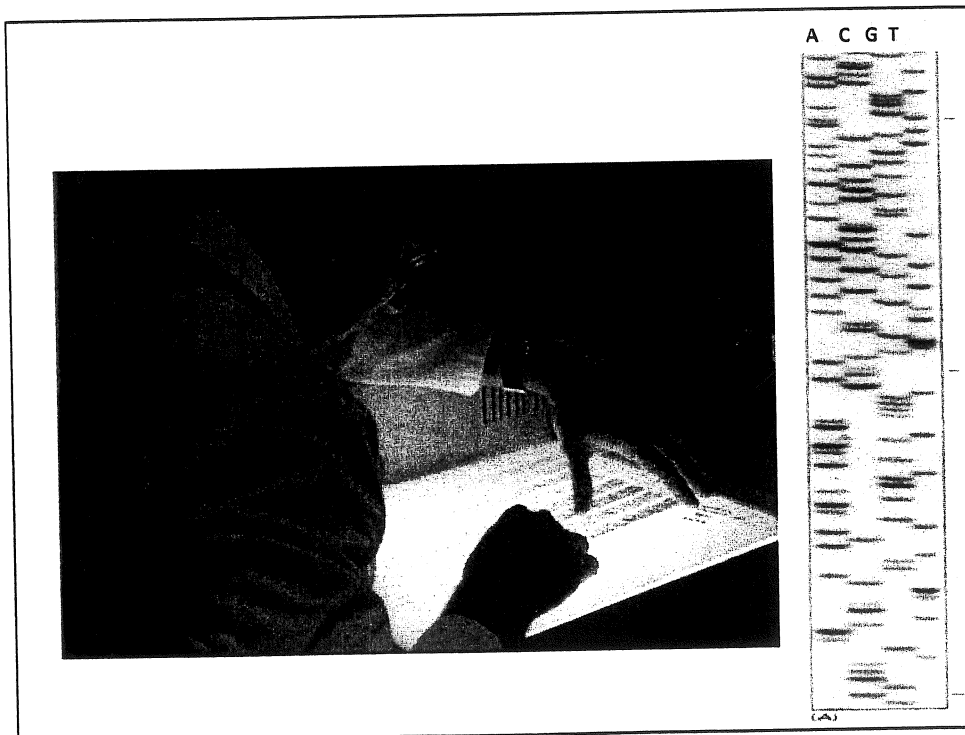
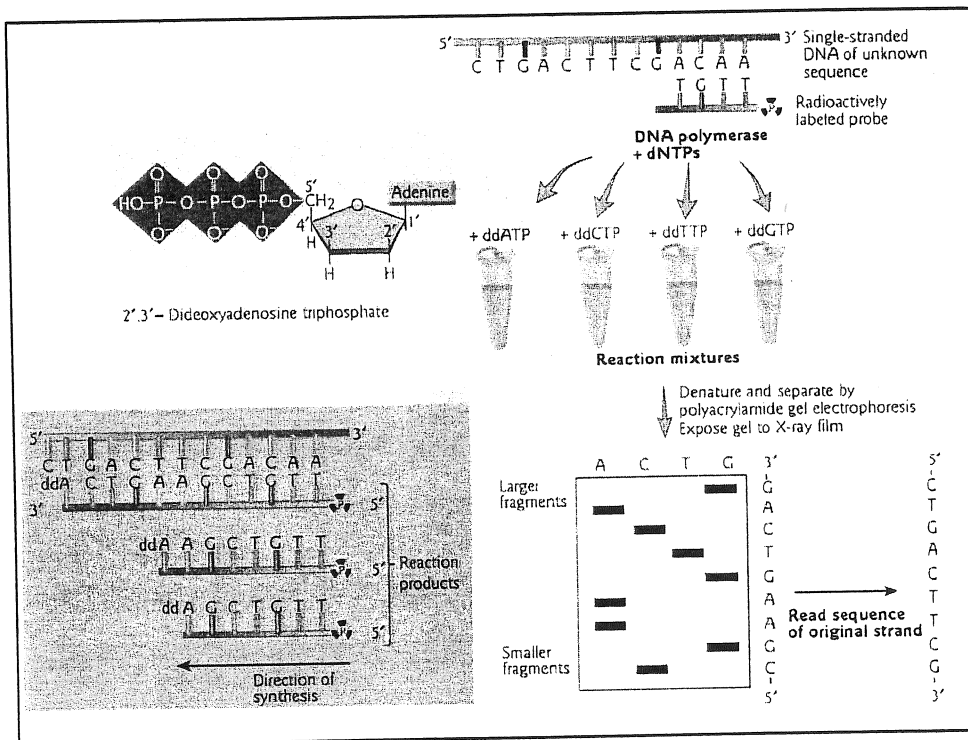
The dideoxy method for sequencing DNA :



يعتمد إلى إجراء أربع تفاعلات اصطناع DNA في الزجاج بشكل منفصل، يوضع في كل تفاعل النكليوتيدات الأربعة منزوعة الأوكسجين وكمية معينة مدروسة بدقة من نكليوتيد ثنائي منزوع الأوكسجين. يتوقف اصطناع السلسلة عند ضمه عشوائياً.

بعد الرحلان الكهربائي سنحصل في كل تفاعل على شذفة منتهية بالنكليوتيد ثنائي منزوع الأوكسجين في كل موقعه.





السلسلة الآلية

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

5' 3'

Capillary electrophoresis

detector

DNA flowing down

= AATCG

4. Electrophoresis, imaging, data analysis

DNA sequencer : Genome Analyzer

السلسلة الآلية

- نحتاج لإنجاز تفاعل السلسلة الآلية إلى:
 - DNA، أنزيم بوليميراز، بادنة، نكليوتيدات حرة dNTPs، نكليوتيدات منهيّة ddNTPs موسومة بصباغ فلورة (fluorescent dyes) كل نكليوتيد بصباغ فلورة معين.
 - تضاف هذه النكليوتيدات المنهيّة بتركيز محسوبة بدقة بحيث يتم إضافتها بشكل عشوائي أثناء تفاعل البناء. يتوقف نمو السلسلة بعد إضافتها.

1. Primer added:

Primer

5' TTTTTTTTT 3'

3' GGGGGGG 5'

Template strand

2. Reaction ingredients added

DNA polymerase

dATP

dCTP

dGTP

dTTP

small amount of ddNTPs with fluorochromes:

ddATP →●

ddCTP →●

ddGTP →●

ddTTP →●

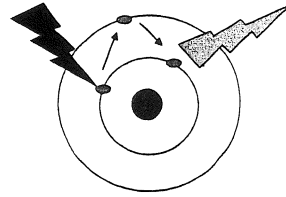
3. Primer extension
Chain termination
Product recovery

FLUOROPHORES

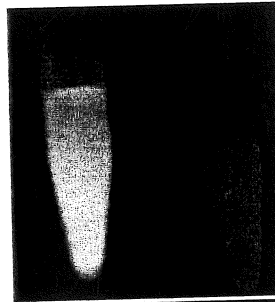
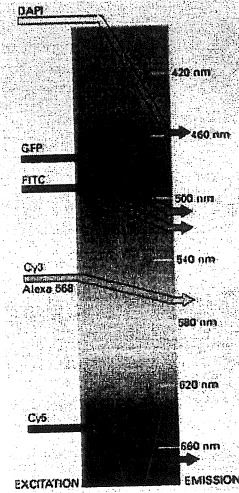
الفلورسين / الرودامين

CY3 / CY5

Alexa 488/ 568/ 645



ترى هذه الجزيئات مضيئة إذا تمت استثارتها بشعاع ضوئي طول موجته تعادل طول موجة الامتصاص (التثيغ، استثارة) الخاصة بها. اللون الذي تتألق به هو لون طول موجة الإصدار.



- بما أن النكليوتيدات الأربعة ثنائية منزوعة الأوكسجين موسومة بألوان مختلفة يمكن انجاز تفاعلات الإصطناع الأربعة ضمن نفس الأنبوب.
- يمكن فصل المنتجات في خط واحد (بنز واحدة) من الهلامية.
- يستعمل عمود رحلان شعري.
- في أسفل العمود ليزر لاستثارة الصباغ المفلور في كل عصابة وكاشف Detector (حساس) للون الفلورة.
- كومبيوتر مبرمج لقراءة اللون وتحول إلى النكليوتيد الموافق

