اثبات نسب بین دختر و استخوان اسکلت مادر با روش‌های تشخیصی ژنتیک مولکولی

● دکتر داریوش فرهود
متخصص ژنتیک، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه/اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی ایران، کلینیک ژنتیک، تهران، ایران
farhud@tums.ac.ir

● مهسا آذری
کارشناس باستان شناسی، بخش باستان شناسی، دانشکده ادبیات و علوم انسانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

● عاطفه محرابی
کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی، کلینیک ژنتیک، دانشکده علوم نوین پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی/واحد تهران پزشکی، تهران، ایران

● هاجر آرین
کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی، کلینیک ژنتیک

❑ چکیده

در این مقاله از اهمیت وجود علم ژنتیک در زندگی و جوامع امروزی و میزان کمک رسانی این دانش به ما بدون محدودیت زمانی بحث شده است. برای ملموس بودن این مبحث به تشریح یک نمونه آزمایش ژنتیکی در ارتباط با مراجعه کننده به کلینیک ژنتیک، مربوط به سال ۱۳۹۹ پرداخته شده است. فرد مراجعه کننده خواستار آزمایش‌های ژنتیک با استفاده از خون خود و بخشی از استخوان یک فرد فوت شده بود، چرا که فرد مادر خود را از کودکی گم کرده بود و شواهد متوفی نشان از مادرش را داشته و در نهایت برای از بین رفتن شک و تردید، مراجعه کننده خواستار آزمایش تعیین هویت شده بود. نتایج آزمایش‌ها و مقایسه مارکرهای به دست آمده نشان داد نمونه استخوان با نمونه فرد مراجع همخوانی داشته و متعلق به مادر وی می‌باشد. به همین صورت از اطلاعات ماده ژنتیکی پس از حتی گذشت سالیان متمادی می‌توان اطلاعات کمک کننده‌ای را به دست آورد.

کلید واژه: آزمایش ژنتیک مولکولی، DNA استخوان اسکلت، تعیین هویت، پزشکی قانونی

❑ مقدمه

علم ژنتیک، دانشی بسیار ارزشمند برای تمام دوره‌ها است. به وسیله فناوری‌های این رشته ما به حقیقت ماجرا پی می‌بریم، از این رو پیشرفت در این حوزه، نتایج درخشان و اطمینان بخش تری خواهد داشت. علم ژنتیک در حوزه‌هایی با عنوان تعیین هویت، پزشکی قانونی، باستان شناسی و تشخیص بیماری‌ها کارکرد بسیار مطلوبی دارد. بنابراین محدودیت زمانی برای استفاده از داده‌های موجود در این حوزه وجود ندارد. امروزه ما حتی شاهد نتایج صحیح با درصد بالا از مطالعات ژنتیک باستان شناسی بر روی بقایای انسانی به دست آمده، در بخش‌های مختلف ایران مانند بانوی ۷ هزار ساله (کاوش خیابان مولوی تهران) (۲-۱)، بقایای مربوط به ایلام میانی (۴-۳) و گورستان عصر آهن مسجد کبود تبریز هستیم (۶-۵). آگاهی از تاریخ و تمدن با استفاده از متون و بناهای تاریخی به همراه اطلاعات کسب شده از بقایای انسان باستانی به عنوان مدرک و شواهد روزگار خود، بسیار حائز اهمیت است و موجب افزایش اطلاعات تاریخی برای تاریخ دانان می‌شود؛ و به نوعی گنجینه‌های یک کشور به حساب می‌آیند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

اســـتخراج اطلاعات با استفاده از DNA و بهره بردن از این دانش در حوزه تکامل و تاریخ بشر در چند دهه اخیر توسط پژوهشگران بسیار به کار رفته است.

ماده تشـــکیل دهنده محتوای ژنتیک انسان DNA دارای ساختار مارپیچ دوگانه است. دو نوع بر هم کنش وجود دارد که ســـبب پایداری مارپیچ DNA می‌شوند، مورد اول پیوندهای هیدروژنی می‌باشند و عامل بعدی نیروهای جفت بازها است (۷). به دســـت آوردن DNA فرد، پس از مرگ و حتی بعد از تجزیه شـــدن بقایا، از استخوان و یا از خاک ناحیه‌ای که بقایا در آن بوده اســـت مقدور و امکانپذیر اســـت؛ اما میزان سالم بودن و کمتر آســـیب رسیدن به رشته‌های DNA بقایا به دو عامل بســـتگی دارد: ۱- میزان PH خـــاک (۳) که مربوط به مواد شـــیمیایی موجود در خاک بستر اســـت و نباید فراتر از حد مقاومت DNA باشد. ۲- DNA در معرض حرارت بالا یا سوختگی با دمای بالا قرار نگرفته باشد. به همین دلیل امروزه ما شـــاهد مقالات متعدد در رابطه با به دست آوردن DNA نئاندرتال و نوع بیماری‌های مشـــابه با انسان امروزی هستیم (۸)؛ بنابراین کسب اطلاعات ژنتیکی حتی قدمتی فراتر از دوره تاریخی، مربوط به دوره پلئولتیک و هولوسن در بر می‌گیرد که باعث شـــفاف سازی از نحوه تکامل و انواع بیماری‌های عفونی باستان به وسیله میکرو ارگانیسم‌های عفونت زای موجود در استخوان می‌شود (۹،۱۰). در نتیجه اطلاعاتی که ما می‌توانیم به منظور حل مســـئله از DNA برداشـــت کنیم محدودیت زمانی ندارد. در این مقاله به یک مورد در ارتباط با اســـتخراج DNA از اســـتخوان پرداخته‌ایم تا به عنوان مثالی از اهمیت آزمایش‌های ژنتیکی در شفاف سازی و حل مشکلات باشد.

❑ روش‌ها و ابزار مطالعه

شرح مورد

در ســـال ۱۳۹۹ فردی بـــا مراجعه بـــه کلینیک ژنتیک فرهود خواستار آزمایش تعیین هویت با استفاده از قطعه‌ای از استخوان شـــد. فرد مراجعه کننده ســـال‌ها از مادر خود بی‌اطلاع بود و در نهایت جســـد دفن شده‌ای به عنوان جسد مادر ایشان معرفی شـــده بود. به علت شواهد ناکافی و عدم اطمینان فرزند درخواست تعیین هویت با استفاده از آزمایش ژنتیک با قطعه ایی از استخوان جسد مربوطه ارائه شد.

❑ نحوه انجام آزمایش

برای تعیین هویت در این مطالعـــه از آزمایش‌های مولکولی PCR و MLPA اســـتفاده شده اســـت. این مطالعه با استفاده از بخشـــی از استخوان لگن جســـد فرد مجهول الهویه و خون مراجعه کننده صورت گرفته اســـت. فارغ از قدمت نمونه مرحله پاکسازی در رســـیدن به پاسخ بسیار کمک رسان مهمی است. بعـــد از مراحل پاکســـازی عمل خـــرد کردن اســـتخوان انجام می‌شـــود تا نتیجه دارای اشـــکال نباشـــد و ما بتوانیم به اصل DNA مورد نظر از اســـتخوان برســـیم. اســـتخوان با دستگاه میکروتوم، تراش استخوانی داده شده و به ابعاد بسیار ریز تبدیل می‌شـــود. در مرحله بعد استخراج DNA با اســـتفاده از کیت (QIAamp DNA Investigator Kit, QIAGEN, Germany) صـــورت گرفتـــه و مرحلـــه PCR توســـط کیـــت (AmpFLStR™ Identifiler™ PCR Amplification Kit, Thermo Fisher, UK) انجام شده اســـت؛ بعد از مرحله PCR مرحله الکتروفورز انجام گرفـــت که به موجـــب اطمینـــان و چک باند به دســـت آمده بـــرای اجـــرا، توالی بـــر روی ژل آگارز امتحان شـــد. در نهایت تســـت MLPA (جداسازی با قطعات نشـــان دار) با استفاده از IRFiling Kit v2.2 صورت گرفت. در این آزمایش مارکرهای ژنتیکی خاص، (۱۶ مارکر) مورد بررســـی و مقایسه قرار گرفت؛ قابل ذکر است که کیت‌های مورد استفاده در این آزمایش بسیار حساس بوده و توانایی تشـــخیص DNA با مقادیر پایین را نیز داشـــته‌اند. به کار گیری جدیت و احتیاط، از ضروریات کار برای رسیدن به نتیجه صحیح است که باید رعایت شود تا به موجب آلودگی، نتیجه عکس به ما ندهد (۳). به طور مثال، DNA فرزند فرضی موجب آلودگی و نفوذ در جواب ما نشـــده باشد و جواب تنها مربوط به استخوان فرد مجهول باشد که بتوان با ضریب بالا از اطمینان، تطبیق را در مراحل بعد انجام دهیم.

❑ نتایج و یافته‌ها

در روش تعیین هویت StR[1]، محاســـبه براســـاس میزان

1- Short Tandem Repeats

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

تکرار توالی نوکلئوتیدی و مقایسه با زنجیره‌های نوکلئوتید افراد دیگر صورت می‌گیرد. از آنجایی که هر فرد یک سری از کروموزوم‌های خود را از مادر و یک سری را از پدر می‌گیرد و میزان تکرار این واحدها در هر شخصی متفاوت از دیگری است، مشابهت تکرار واحدها تنها مربوط به افراد هم خانواده و دارای نسبت بسیار نزدیک می‌باشد. مارکرهای مورد بررسی این آزمایش، ۱۶ ناحیه ژنی از استخوان جسد و شخص درخواست دهنده را مورد بررسی و تطبیق قرار می‌دهد. در این مطالعه عدم تطابق بیش از یک مارکر از این ۱۶ مارکر، وجود نسبیت مادر-دختری را منتفی در نظر گرفته و وجود رابطه مادر-دختری بین دو فرد را رد شده اعلام می‌کند.

نتایج یافت شده پس از انجام آزمایش نشان داد که فاکتورهای ژنتیکی دو فرد اشاره شده کاملاً مشابه بوده، لذا نسبیت مادر و فرزندی نامبردگان تأیید می‌شود (به دلیل حفظ حریم خصوصی اشخاص از آوردن جدول اطلاعات اختصاصی مربوط به مارکرهای این دو شخص خودداری شده است). بنابراین فرزند به وسیله نتایج آزمایش مولکولی DNA توانست با اطمینان خاطر مادر خود را پیدا کند. وجود ۱۶ ناحیه برای تشخیص و مقایسه، مسئله را حل کرده و جایی برای شک و شبهه نمی‌گذارد، زیرا مارکرهای ثبت شده جهانی برای تعیین هویت به این حد یکسان تنها از پدر و مادر به فرزند منتقل می‌شود.

❑ بحث

آزمایشی که در این مقاله شرح شد مربوط به تشخیص هویت از استخوانی است که توسط مراجعه کننده با عنوان فرزند فرضی آورده شده بود. مراحل استخراج DNA برای نمونه‌های امروزی و قدمت فراتر از عصر حاضر، گرچه یکسان است اما مقدار حرارت و محلول برای استفاده متفاوت است و دلیل آن، تفاوت میزان مقاومت در سلول و کروموزوم و توالی ژنومی است؛ بی شک هرچه قدمت بیشتر باشد، احتیاط بیشتری را می‌طلبد و امکان برداشت DNA به میزان اندک را موجب می‌شود.

DNA تمام اطلاعات تعیین هویت را در خود دارد و می‌توان گفت هر فرد براساس اطلاعات ثبت شده روی این مولکول دارای ویژگی‌های متفاوت هستند یکی از مهم‌ترین کاربردهای آزمایش مولکولی برای تشخیص هویت، کشف روابط خانوادگی، تشخیص هویت اجساد سوخته و ... این حوزه حلال بسیاری از مشکلات و ادعاهای موجود در پزشکی قانونی است؛ چرا که این نوع آزمایش بسیار دقیق و با خطای پایین انجام می‌شود از آنجا که خصوصیات ژنتیکی فرد در همه سلول‌هایش وجود دارد، استفاده از این شیوه به پژوهشگران امکان می‌دهد با در اختیار داشتن یک قطعه مو، یک قطره خون، یک قطعه استخوان یا حتی آثار بزاق دهان یک فرد نسبت به شناسایی او اقدام کنند.

نمونه‌های قابل استفاده برای بررسی DNA در پزشکی قانونی خون و لکه‌های خون، دندان و استخوان، بزاق، ادرار و دیگر مایعات بیولوژیک، بافت و اندام، ناخن و مو هستند (۱۱).

DNA در تمام سلول‌های بدن وجود دارد. یکی از آسان‌ترین و بی خطرترین راه‌های دستیابی به سلول‌ها برای آزمایش DNA، استفاده از یک گوش پاک کن است که به وسیله آن می‌توان سلول‌های سطح داخلی مخاط دهان را به دست می‌آورد. سپس در آزمایشگاه، DNA از سلول‌ها جدا می‌شود و بخش‌های خاصی از آن مورد بررسی قرار می‌گیرد. این بخش‌های خاص می‌توانند ارتباطات فامیلی و خانوادگی بین افراد را نشان دهند و یا در تعیین هویت فرد مؤثر باشند.

دستیابی به اطلاعات چنین بررسی‌های مولکولی که مربوط به تشخیص هویت علی الخصوص از روی بازمانده‌های جسد می‌شود، مستلزم صرف زمان و انجام مراحل بیشتری است؛ چرا که راه دسترسی به اطلاعات جسد محدود است و تنها مورد قابل مطالعه که دارای DNA قابل بررسی باشد اغلب باقیمانده استخوان‌ها می‌باشد. در استخراج DNA از استخوان به شرط عبور از مرحله برش استخوان و شستشو، آلودگی زدایی مناسب، استفاده از محلول‌های ویژه وارد روال عادی استخراج شده و به مراحل آزمایشی معمول می‌رسیم. بنا بر فرآیند اشاره شده، کسب اطلاعات برای تعیین هویت از باقیمانده جسد در مقایسه با تعیین هویت دو فرد زنده زمانبر بوده و احتیاج به صبر و شکیبایی بیشتری دارد؛ مخصوصاً اگر مرحله پیش از آزمایش که مربوط به کسب

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]

مجوز و قانع کردن مجریان قانون برای اجازه انجام نبش قبر را هم در نظر بگیریم.

نکته دیگری که باید در استخراج DNA توجه شود، انتخاب صحیح پرایمرها است (۸) تا اختصاصیت و حساسیت آزمایش بالاتر باشد و خسارت کمتری را موجب شود. نبود آلودگی در داده‌ها (داده بدون محدودیت زمانی) بسیار پر اهمیت است و ما را به حقیقت نزدیک‌تر می‌کند. بنابراین برای رسیدن به هدف در آزمایش، نیاز است از نبود آلودگی اطمینان حاصل کرده و از همان ابتدا به منظور استفاده بهینه از زمان مراحل آلودگی زدایی طی شود (۳).

ما در این مقاله به یکی از مزایای علم ژنتیک اشاره کردیم؛ بی شک علوم مربوط به حوزه ژنتیک هم اکنون و با پیشرفت بیشتر در آینده به عنوان چراغ روشن کننده مسیر تاریک مجهولات و مکتومات در رابطه با حوزه پزشکی قانونی، تعیین هویت و حتی رشته باستان شناسی برای افزودن آگاهی به محققان کمک رسانی می‌کنند و از جمله علوم ضروری برای زندگی بشر به حساب خواهند آمد.

References:

1- Paknazhad N, Mowlavi G, Camet JD, Jelodar ME, Mobedi I, Makki M, et al. (2016). Paleoparasitological evidence of pinworm (Enterobius vermicularis) infection in a female adolescent residing in ancient Tehran (Iran) 7000 years ago. Parasites & vectors;9(1):1-4.

2- Fugassa MH, Beltrame MO, Sardella NH, Civalero MT, Aschero C (2010). Paleoparasitological results from coprolites dated at the Pleistocene–Holocene transition as source of paleoecological evidence in Patagonia. Journal of archaeological Science;37(4):880-4.

3- Niknami K, Ramezani M (2017). An introduction to genetic archaeology. The organization for researching and composing university textbooks in the Islamic sciences and the Humanities (SAMT). P: 169, 329.

4- Brandstätter A, Peterson CT, Irwin JA, Mpoke S, Koech DK, et al. (2004). Mitochondrial DNA control region sequences from Nairobi (Kenya): inferring phylogenetic parameters for the establishment of a forensic database. International journal of legal medicine;118(5):294-306.

5- Zandkarimi H, Bagherzadeh kasiri M, Ajorloo B, Omrani B (2015). Strontium Stable isotope analysis and trace elements Sr and Ba in the skeletons of the Iron Age cemetery of Blue Masque in Tabriz. 10.22059/JARCS.2015.57749. P: 86-99.

6- Price TD, Burton JH. An introduction to archaeological chemistry (2010). Springer Science & Business Media. P: 73-126.

7- Abdolah S, Haghighi M, Aligholi H (2017). Physical and chemical properties of DNA Ligases. Shefayekhatam. P: 41-53.

8- D, Petrov DA (2018). Evidence that RNA viruses drove adaptive introgression between Neanderthals and modern humans. Cell, 175:360-371. e13.

9- Farhud D D, Azari M, Mehrabi A (2022). The History of coronavirus: From Neanderthals to Present. Iran journal of Public Health. P: 531-534.

10- Mays S (2010). The archaeology of human bones. Routledge. P: 202-490.

11- Lee HC, Ladd C, Scherczinger CA, Bourke MT (1998). Forensic applications of DNA typing: part 2 collection and preservation of DNA evidence. The American journal of forensic medicine and pathology;19(1):10-8.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-07-30]