انگشت نگاری ژنتیکی

● دکتر شهرام نعمتی
دکترای علوم آزمایشگاهی، دکترای تخصصی (PhD) ژنتیک پزشکی
shahnemati@yahoo.com

❑ چکیده

اســـتفاده از روش انگشت نگاری ژنتیکی در قرن بیستم تحول عظیمی درحل مناقشات مرتبط با تعیین هویت افراد چه در حوزه موضوعات خانوادگی و یا مسائل جنایی، ایجاد نموده اســـت. DNA موجود در ســـلول‌های هر یک از ما علیرغم اینکه در بیش از ۹۹/۵ درصد با ژنوم سایر افراد گونه Homo Sapience (گونه‌ای که تمامی انسان‌های مدرن از آن انشـــقاق یافته‌اند) مشـــابه بوده ولی کمتر از ۰/۵ درصد آن در بین افراد، منحصر به فرد می‌باشـــد. در روش انگشت نگاری ژنتیک بر اساس این فرض و با استفاده از توالی‌های خاص که به نام توالی‌های تکرار شـــونده نامیده شـــده و در هر فرد به شـــکل انحصاری وجود دارد، هویت افراد با دقت بسیار بالا قابل ارزیابی می‌باشد. البته بایستی توجه نمود که در این روش نتایج به دســـت آمده بر اساس احتمال وقوع آن‌ها به شکل تصادفی، تفسیر می‌شوند. برای مثال احتمال اینکه دو فرد به شکل تصادفی حاوی محتوای ژنومی کاملا یکســـان باشـــند یک در ۵۹۴/۱ تریلیون برآورد شده است (که البته غیر ممکن تفســـیر خواهد شد). مقدار خط برش (CUT OFF) این احتمالات که در دادگاه نیز قابل استناد باشد، توســـط دولت‌ها تعیین می‌گردد. در مطالعه مروری حاضر پس از شـــرح مختصر در خصوص تاریخچه ابداع این روش، به توضیح در مورد انـــواع مارکرها و کاربرد آن‌ها در موضوعات مرتبط خواهیم پرداخت.

کلمات کلیدی: انگشت نگاری ژنتیکی، توالی‌های تکرار شونده، مارکرهای ژنتیکی در پزشکی جنایی

❑ مقدمه

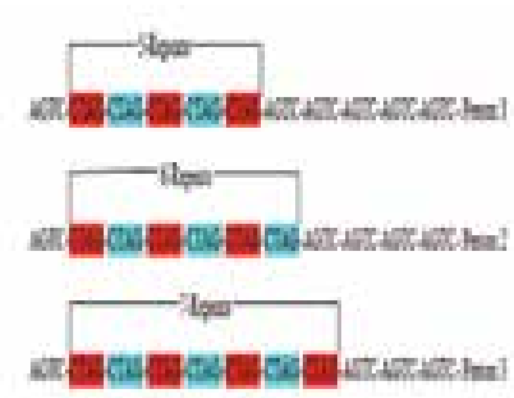
انگشت نگاری ژنتیکی[1] روشی است که در آن بر اساس تفاوت‌هـــای ژنتیکی بین فـــردی[2]، هویت افـــراد ارزیابی می‌گردد. اســـاس این تســـت بر این فرض استوار است که ســـاختار ژنوم در بیـــن افراد در کمتـــر از ۰/۵ درصد باهم متفاوت می‌باشـــد و از این شاخصه به جهت ارزیابی هویت افراد اســـتفاده می‌شود. به طور کلی تغییرات در ژنوم در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند.

۱- تغییراتی کـــه در آن محتوای DNA تغییر نمی‌کند، مانند جابجایی‌های متعـــادل[3] بین کروموزوم‌ها که طی آن بخش‌هایی از کروموزوم‌ها بدون هیچ کم و کاستی بین هم جا به جا می‌شوند. این نوع تغییرات معمولاً آثار بیماری‌زایی ندارند.

۲- تغییرات در تعداد بازهـــا و یا توالی‌های خاص ژنوم[4]. بدین معنی که ایـــن تغییرات (جهش‌هـــا) می‌تواند باعث جایگزینی، حذف و یا اضافه شـــدن یک بـــاز با باز دیگر و یا افزایش و کاهش تعداد توالی‌های تکراری در ســـطح ژنوم گردد. توالی‌های تکراری بخش‌های از ژنوم می‌باشند که در

1- DNA fingerprinting
2- DNA variants
3- Balanced translocation
4- Copy number of a nucleotide or DNA sequence

آن بازها با الگویی (واحدهای) معین به دفعات پشت سر هم تکرار می‌شوند[5] ولی تعداد دفعات این تکرارها در افراد مختلف یکسان نیست. واحدهای تکرار شونده می‌توانند از یک باز تا بیش از ۱۰۰ باز متغیر باشند. تکرارهای متشکل از واحدهای کمتر از ۱۰ باز تحت عنوان میکرو ساتلیت[6] نامیده که غالباً از واحدهای ۱، ۲ و یا ۴ بازی تشکیل یافته و تکرارهای متشکل از واحدهای ۱۰ تا ۵۰ بازی در گروه مینی ساتلیت[7] قرار می‌گیرند. از تکرارهای میکروساتلیت که به نام STRPs[8] نیز نامیده می‌شوند در تکنیک انگشت نگاری ژنتیک به جهت ارزیابی هویت فرد استفاده می‌گردد. (Nwawuba SU 2020a)شکل ۱.



شکل ۱.STRs تترانوکلئوتیدی با تکراری‌های متفاوت در یک لوکوس (جایگاه معین) و در سه فرد (فرد اول، دوم و سوم که به ترتیب ۵، ۶ و ۷ تکرار می‌باشد.) برگرفته از مقاله ردیف سوم بخش ژورنال‌ها همین مقاله Nwawuba SU et al. 2020 .

❑ ۱. تاریخچه

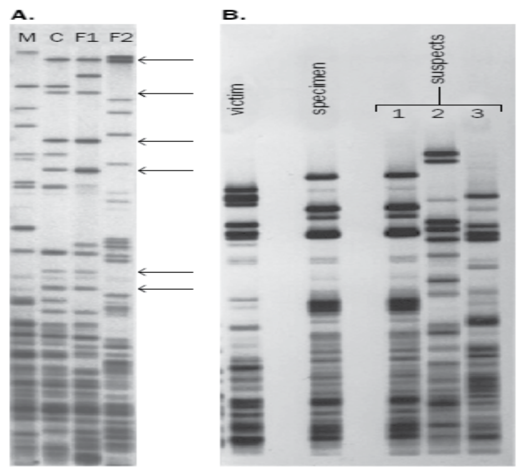
در ابتدا استفاده از انگشت نگاری ژنتیکی به جهت ارزیابی هویت افراد در کشور انگلستان توسط یک متخصص ژنتیک به نام Alec Jeffreys انجام گردید. وی در سال ۱۹۸۴ به هنگام مطالعه بر روی ژن میوگلوبین انسان متوجه وجود یک تکرار ۳۳ بازی در اینترون ۱ این ژن گردید که دفعات تکرار آن در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد. در ادامه مشخص شد که این تکرارها در افراد مختلف یک گونه (انسان) نیز منحصر به فرد بوده و در خانواده بر اساس اصول مندل منتقل می‌گردد (از والدین به فرزندان). اولین بار در سال ۱۹۸۵ از ارزیابی DNA برای حل مناقشه‌ای در مورد تعیین هویت فردی که قصد داشت به شکل غیر قانونی به کشور انگلستان وارد شود، استفاده گردید. (۱)

❑ ۲. روش‌ها

۲-۱. روش‌های نخستین: روش تعیین هویت ژنتیکی در زمان ارائه، مبتنی بر روش ساترن بلات بود. در این روش DNA ی ژنومی با آنزیم‌های محدود کننده [9] که قابلیت برش DNA در مناطق خاص را دارد، مجاور می‌شود. سپس نمونه حاوی قطعات DNA ی جدا شده که اندازه‌های متفاوتی دارند و تحت نام RFLP[10] نامیده می‌شوند، را درون چاهک‌های ژل قرار داده، الکتروفورز می‌شوند. قطعات DNA بر اساس سایز و بار الکتریکی از هم جدا می‌شوند. سپس باندهای ایجاد شده را به یک غشا با جنس نیتروسلولز و یا نایلونی منتقل نموده که به این عمل لکه گذاری [11] گفته می‌شود. در ادامه غشا را به مدت ۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه قرار داده و در نهایت رشته‌های جدا شده در سطح غشا با رشته‌های DNA ی نشاندار شده با مواد رادیو اکتیو (یا سایر نشانگرها) که توالی آن معلوم بوده و پروب نامیده می‌شوند مجاور می‌گردند. پروب بر اساس قانون جفت شدن بازها (قانون چارگوف) به قطعه DNA ی که بر روی غشا قرار داشته و بایستی توالی آن تعیین شود، متصل شده و

5- Repeated DNA sequence
6- Microsatellites
7- Minisatellites
8- Short tandem repeat polymorphisms
9- Restriction enzyme
10- Restriction fragment length polymorphism
11- Blotting

در ادامه توســط اتورادیوگرافی تصویــر باندها بر روی فیلم ایکس ری ظاهر می‌گردد. شکل ۲.



شکل ۲. اتورادیوگرام در روش انگشت نگاری ژنتیکی (A) حل چالش مرتبط با رد ابوت paternity انگشت نگاری ژنتیکی مربوط به مادر (M) فرزندش (C) و دو پدر احتمالی F1 وF2 باندهای مربوط به فرزند یا از مادر کسب شده و یا از پدر. با مقایسه این باندها انطباق آن‌ها را با F1 متوجه می‌شویم. (B) حل چالش مرتبط با تحقیقات جنایی. نمونه‌ها از DNA ی قربانی (victim) از محل وقوع جنایت (specimen) و از سه مظنون (suspects) تهیه شده است. با مقایسه باندها، انطباق باندهای نمونه اخذ شده از صحنه جرم با مظنون ۱ دیده می‌شود. بر گرفته از Strachan T& Read A [2019] Human molecular genetics5th edn.

هــر چنــد این روش بــه دلیل تکرارپذیــری، مفید بودن اطلاعات به دســت آمــده[۱۲] و دقت بالا، باعــث ایجاد تحولات شــگرفی در حوزه تحقیقات جنایی و فامیلی گردید، به طوری که احتمال یکســان شدن پروفایل دو فرد غیر منسوب در اروپا به شکل تصادفی با پروب ۶- ۳۳ (پروبی که در آن سکانس ۳۳ بازی ۶ بار تکرار شده است)

۳×۱۰^{-۱۱} و با اضافه شــدن پروب ۱۵-۳۳ (پروبی که در آن سکانس ۳۳ بازی ۱۵ بار تکرار شده است).

۵×۱۰^{-۱۹} محاســبه گردیده، ولی محدویت هــای آن باعث گردید تا این روش با روش‌های جدید جایگزین گردد.

۲-۱-۱. محدویت های روش ساترن بلات

۲-۱-۱-۱. این روش نیازمنــد مقادیر بالای نمونه به جهت آنالیز می‌باشد: ۰/۵ تا ۵ میکروگرم DNA، ۶۰ میکرولیتر خون و ۵ میکرولیتــر مایع منی. علاوه برایــن مراحل انجام تکنیک طولانی بوده و نیازمند مهارت بالا می‌باشد.

۲-۱-۱-۲. در ایــن روش پروفایل‌های فردی ایجاد شــده به شکل مقایسه‌ای، نه ژنتیکی، با پروفایل مرجع مورد قیاس قرار می‌گیرند. در این نوع ارزیابی محل قرار گیری و شــدت باند با یکدیگر مقایسه می‌شــوند. (شکل ۱) و در انتها احتمال رخداد تصادفی انطباق پروفایل مورد بررســی با پروفایل مرجع تعیین می‌گردد. برای مثال وقتی در بررسی‌های جنایی پروفایل یکی از مظنونین با نمونه به دست آمده از صحنه جرم منطبق باشد دو حالت را می‌توان تصور نمود. ۱- فرد مظنون همان مجرم است. ۲- این پروفایل مربوط به یکی از افراد جامعه است که به شکل تصادفی ترکیب باندهای آن با پروفایل نمونه به دســت آمده از صحنه جرم یکی می‌باشد.

در حقیقــت نتایج نهایتاً به شــکل میــزان احتمالات اعلام می‌گردد و البته داشتن یک احتمال بسیار پایین که خط برش[۱۳] آن در هر جامعه به شــکل اختیاری تعین شده و البته بایستی مــورد تأیید مراجع قضایی نیز بوده و به واســطه آن بتوان فرد مظنــون را با اطمینان بالا محکوم نمود، ضروری می‌باشــد. لذا هر چقدر احتمال تصادفی بــودن انطباق پروفایل مورد ارزیابی (مظنون) با پروفایل به دســت آمده از صحنه جرم کمتر باشد،

12- Informative

13- Cut off

احتمال اینکه فرد مظنون به درستی همان مجرم باشد، بیشتر خواهــد بود. برای این منظــور در انتخاب نوع مارکرها یا همان واریانــت ها و یا پلی مورفیســم ها (رجوع شــود به روش‌های نوین) بایستی دو شاخص اصلی مورد توجه قرار گیرد. ۱- مارکر بایستی از تنوع و اشکال متفاوتی برخوردار باشد. به عبارت دیگر بایســتی هتروزیگوسیته[۱۴] بالایی (آلل های زیاد) داشته باشد تا به واسطه آن جمعیت‌های یک جامعه تفکیک و شناسایی شوند.

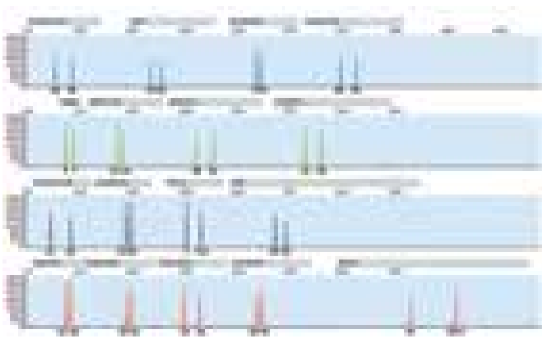
۲- فرکانس و فراوانی ایــن مارکرها در جمعیت مورد مطالعه بایستی پایین باشد. هر چقدر فراوانی آلل یک مارکر یا پلی‌مورفیسم کمتر باشد احتمال اینکه به شــکل تصادفی در یک فرد از آحاد جامعه وجود داشته باشد و با پروفایل نمونه بدست آمده از صحنه جرم یکســان باشد، کمتر خواهد بود و بر عکس. در این ارتباط از فرمول ریاضی ساده‌ای اســتفاده می‌شود. p^n که در آن p فراوانی آلل مارکر و یا باندها و n تعداد مارکر ها (در روش‌های نوین) و یا باندهای (روش ســاترن) است که به جهت تعیین پروفایل به کار گرفته شده‌اند. برای مثال اگر در روش ساترن تعداد ۱۰ باند مورد بررسی قرار می‌گیرد و فراوانی هر باند در جامعه به شکل میانگین ۰/۲ تعیین گردد، احتمال اینکه پروفایل به دســت آمده به شکل تصادفی متعلق به یکی از افراد نرمال جمعیت بوده (نه الزاماً مجرم) کمتر از $۱۰^{-۷}$ خواهد بود. هر چقدر تعداد مارکرها (باندها در روش ساترن) بیشتر و فراوانی آن‌ها کمتر باشد این احتمال پایین‌تر بوده و قدرت آن در تعیین مجرم واقعی بالاتر خواهد بود.

۳- باندهای به دست آمده در روش ساترن بلات تنها به شکل یک به یک و در کنار هم مقایسه می‌شوند و در چنین شرایطی روش مشخصی به جهت تشکیل پایگاه داده‌ها[۱۵] وجود نداشته که بتوان به کمک آن پروفایل باندهای به دست آمده از نمونه مورد نظر (متهم) را با پروفایل‌های موجود در پایگاه داده ها مقایســه نمود. در تحقیقــات جنایی این امر باعث محدودیت‌های جدی در شناسایی صحیح منشــأ نمونه‌های به دست آمده از صحنه جرم خواهد شد. (۲)

۲-۲. روش‌های نوین

۲-۲-۱ مارکرهای STRs : به دلیل محدویت هایی که در روش ساترن وجود داشــت، امروزه روش رایج در تعیین هویت (جنایی و یا فامیلی) مبتنی بر PCR می‌باشــد. در این روش به جای استفاده از مارکرهای RFLP از STRPs استفاده می‌گردد که اولاً چنــد آللی بوده و به دلیل انــدازه کوچک‌تر به راحتی حتی در مورد DNA های خرد شده با روش PCR قابل تکثیر می‌باشند. چنانچه پیشتر نیز به آن اشاره شد STRPs به شدت پلی مورفیک (چند آللی) بوده، در طول ژنوم توزیع شــده و از واحدهای کمتــر از ۱۰ (۶-۲) بازی تشــکیل یافته و در آن‌ها امکان عدم تکثیر آلل بــه هنگام انجام PCR یا ADO[۱۶] دیده نشده و یا به میزان کمی می‌باشد.

در عمل برای هر یک از مارکرها مورد استفاده که توالی آن‌ها معلوم می‌باشــد یک جفت پرایمر طراحی می‌شــود. این عمل بــه گونه‌ای صورت می‌گیرد تا طول محصولات به دســت آمده از واکنش زنجیرهای(PCR) یکســان نباشــد. علاوه بر این از ترکیب رنگ‌های متفاوت فلورسانسی استفاده شده و آن‌ها را با پیوند کووالانسی به انتهای '۵ هر یک از جفت پرایمر ها متصل می‌نمایند. در ادامه به جهت جداســازی و آشکارسازی قطعات تکثیر یافته از الکتروفورزیس کاپیلاری استفاده می‌شود. قطعات بر اساس اندازه و بارالکتریکی از هم تفکیک می‌شوند. شکل ۳.



شکل ۳. پروفایل DNA حاصل از مارکرهای DNA17UK اعداد زیر هر یک از اشکال مربوط به تعداد تکرارها می‌باشد. (برای توضیح بیشتر به متن مراجعه شود.) بر گرفته از

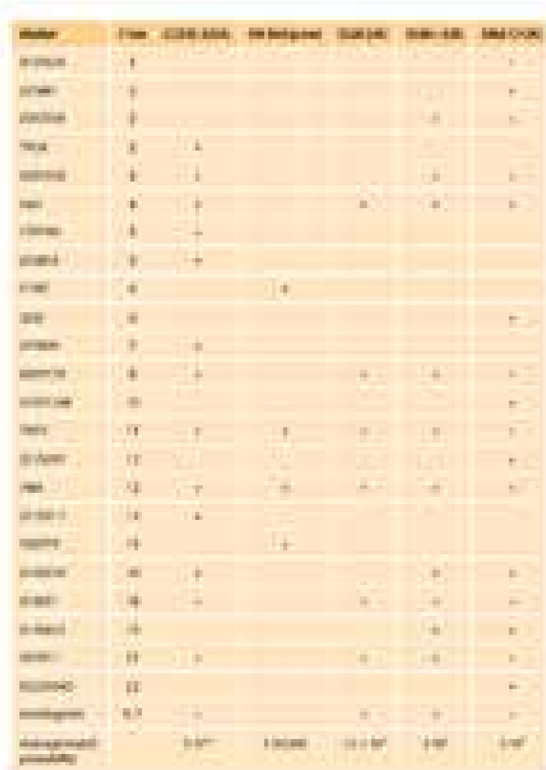
Strachan T& Read A [2019] Human molecular genetics5th edn.

14- Heterozygosity

15- Databases

16- Allelic dropout

به لحاظ تاریخچه اولین ترکیب STRs به کار گرفته شده در انگلستان در سال ۱۹۹۴ کیت‌های حاوی ۴ مارکر که از ۸ آلل (هر کدام از یک والد) تشکیل یافته و قدرت افتراق پایینی نیز داشته، تشکیل یافته که به نام UK first panel شناخته می‌شوند. به دنبال آن در سال ۱۹۹۵ ترکیب دوم به نام SGM[۱۷] با ۶ مارکر (۱۲ آلل) و مارکر کروموزوم‌های جنسی X و Y یعنی آمیلوجنین[۱۸] که یک کپی از آن بر روی کروموزوم‌های جنسی وجود داشته ولی به دلیل اندازه متفاوت در الکتروفورز در جایگاه‌های متفاوت قرار می‌گیرند، معرفی گردید. از ژن‌های کروموزوم جنسی به جهت تعیین جنسیت استفاده می‌گردد. در ادامه در سال ۱۹۹۹ ترکیب SGMplus با ده مارکر (۲۰ آلل) و مارکرهای کروموزوم جنسی معرفی گردید. نهایتاً ترکیب DNA17UK با ۱۶ مارکر (۳۲ آلل) و مارکرهای کروموزوم جنسی، تولید گردید. علاوه بر این در ایالات متحده آمریکا ترکیبی دیگری از مارکرها طراحی شده که پروفایل‌های مرتبط با آن در پایگاه داده‌های CODIS[۱۹]، که توسط FBI[۲۰] تشکیل شده است، بایگانی شده و قابل دسترس می‌باشد. مارکرهای STRs به شکل قراردادی با فرمت خاصی نوشته می‌شوند. برای مثال مارکر D3S1358 بدین ترتیب رمزگشایی می‌شود: حرف D مخفف DNA، عدد ۳ شماره کروموزومی است که مارکر بر روی آن قرار دارد، حرف S مخفف STR بوده و شماره ۱۳۵۸ شماره اختصاصی این STR می‌باشد. (Nwawuba SU 2020b) شکل ۳، جدول ۱.



جدول ۱. انواع مارکرهای STR مورد استفاده در پایگاه داده‌های پلیس جنایی ایالات متحده و انگلستان
بر گرفته از.Strachan T& Read A [2019] Human molecular genetics5th edn

---

17- Second Generation Multiplex

18- Amelogenin

19- Combined DNA Index System

20- Federal Bureau of Investigation

لازم به ذکر است که در طی سال‌ها در هر کشور بر اساس سیاست‌های تعیین شده پایگاه‌های داده‌ها مرتبط با DNA یا NDNAD[21] تشکیل یافته است. برای اولین بار این نوع پایگاه‌ها توسط کشور انگلستان در سال ۱۹۹۵ راه اندازی گردید که در آن‌ها اطلاعات پروفایل‌های ژنتیکی افراد که بر اساس مجموعه مارکرهای توضیح داده شده تعین شده‌اند، نگهداری می‌شوند. سیاست‌های اتخاذ شده به جهت بایگانی این پروفایل‌ها در کشورهای مختلف متفاوت می‌باشد. در ایالات متحده در سال ۲۰۱۸ پایگاه DNA ملی شامل اطلاعات مربوط به پروفایل ۱۳۴۱۳۰۲۹ از مجرمین، ۸۶۴۱۲۸ پروفایل مربوط به افرادی که مرتکب جنایت شده‌اند و ۳۱۷۴۰۱۳ پروفایل دستگیر شدگان را نگهداری می‌نمایند. هدف از این کار امکان مقایسه سریع DNA به دست آمده از صحنه جرم، با پروفایل‌های بایگانی شده می‌باشد.

۲-۲-۲. مارکرهای مرتبط با نسب[22]

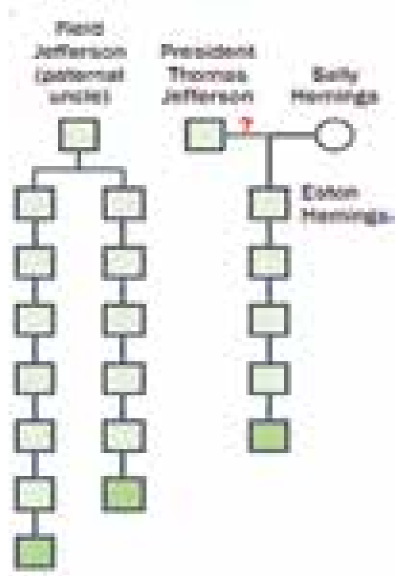
از آنجایی که از این مارکرها به جهت ردیابی ارتباط فی‌مابین اشخاص در لاین مادری و یا پدری استفاده می‌گردد، به این نام خوانده می‌شوند. با این وجود استفاده از آن‌ها فقط به این نوع مطالعات محدود نشده و در تحقیقات جنایی نیز از آن استفاده می‌شود. در دو گروه قرار می‌گیرند.

۲-۲-۲-۱. مارکرهای کروموزوم Y. هاپلوتیپ های کروموزوم Y را که بتوان به جهت تهیه پروفایل ژنتیکی در نظر گرفت را می‌توان در قالب مجموعه‌ای از مارکرهای STRs و SNP [23] تعریف نمود. نکته مهم اینکه به دلیل عدم تبادل ژنی کروموزوم Y با X در قالب کراسینگ-آور (به جز در نواحی معدودی در انتهای این کروموزوم‌ها که تحت نام سودواتوزومال[24] نامیده می‌شوند) تغییرات در کروموزوم Y محدود به جهش‌های با فرکانس پایین می‌باشد. لذا یک هاپلوتیپ معین از مارکرهای کروموزوم Y در یک شخص را می‌توان در کلیه منسوبین مذکر وی پیدا نمود. از این ویژگی در تحقیقات جنایی و مطالعات خویشاوندی و تعیین هویت افراد در بلایا و مصیبت‌ها استفاده می‌گردد. (Calacal GC 2005)

علاوه بر این از این مارکرها در مواردی که حجم نمونه در دسترس بسیار محدود می‌باشد، استفاده می گردد. مثلاً در تحقیقات جنایی در تعیین هویت عامل یا عاملین تجاوزی که در آن انزال منی صورت نگرفته ویا فرد متجاوز وازکتومی نموده است و همچنین در بررسی بقایای زیر ناخن و حتی آثار تماس بر پوست و یا لوازم قربانی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. نکته قابل توجه اینکه در تحقیقات جنائی صرف یافتن مارکر مشابه (منظور مارکری که بر روی DNA باقیمانده در صحنه جرم وجود داشته است) بر روی کروموزوم Y مظنون دلیل مجرم بودن آن شخص نخواهد بود (چرا که این مارکر می‌تواند بر روی کروموزوم Y تمامی مردانی که در یک لاین قرار دارد وجود داشته باشد) ولی نبود آن می‌تواند مظنون را تبرئه نماید. همین اصل در تحقیقات و مطالعات خویشاوندی صدق می‌کند. مثال بارز آن شناسایی نسب پدری نواده زنی (سالی همینگز[25]) که به عنوان خدمتکار در خانه توماس جفرسون[26] (سومین رئیس جمهور آمریکا) زندگی می‌کرد، می‌باشد. مطالعات انجام شده حاکی از یکسان بودن پروفایل ژنتیکی موجود بر روی کروموزوم Y توماس جفرسون و فرزند این زن (استون همینگز) می‌باشد. با این اطلاعات به تنهایی نمی‌توان نتیجه گرفت که توماس جفرسون پدر و یا جد این شخص و یا سایر نوادگان سالی همینگز باشد. چرا که این مارکر در کلیه افراد ذکور خاندان جفرسون مشابه می‌باشد. لذا پدر این فرد می‌تواند یکی از منسوبین توماس جفرسون (رییس جمهور آمریکا) باشد. البته با بررسی

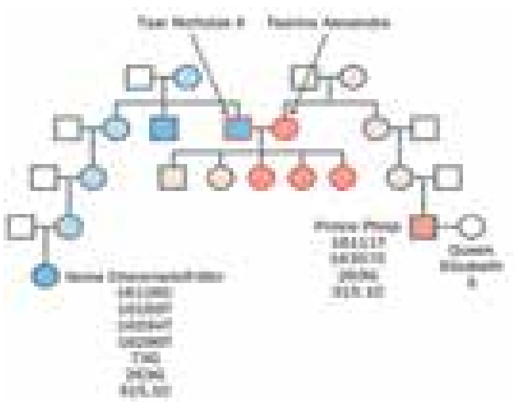
21- National DNA database
22- Lineage markers
23- Single nucleotide polymorphism
24- Pseudoautosomal regions
25- Sally Hemings
26- Thomas jefferson

تکمیلی می‌توان وضعیت پرونده‌های مشـــابه را روشن نمود. مثلاً اینکه زمان تولد فرزند ســالی همینگز مقارن با حضور کدامیک از اعضای خاندان جفرســون در آن ناحیه بوده و یا سایر موارد دیگر. شکل ۴.



شکل ۴. هاپلوتایپ های موجود بر روی کروموزوم Y توماس جفرسون رییس جمهور آمریکا که توسط 11 SNP 7 STRs و یک میکروساتلیت تعیین شده بود، علاوه بر استون همینگز بر روی افراد ذکوری که در قالب مربع‌های پررنگ نمایش داده شده‌اند، شناسائی گردید. بر گرفته از Strachan T& Read A [2019] Human molecular genetics5th edn.

۲-۲-۲-۲. اســـتفاده از واریانـــت هـــای DNA میتوکندری[27]: مشـــابه هاپلوتیپ های کرمـــوزوم Y که تمامـــاً از پدر بـــه فرزندان ذکور خانـــواده منتقل می‌گردد، منشـــأ میتوکندری منتقله به کلیه فرزندان در نســـل بعد، میتوکنـــدری های گامت مادر می‌باشـــد. میتوکندری های اسپرم وارد سلول تخم می‌شـــوند ولی به شکل برنامه‌ریزی شـــده تجزیه می‌شـــوند. به دلیـــل عدم وجـــود نوترکیبی (کراسینگ آور) ژنوم میتوکندری های مادر (به جز مواردی معدود که به علت جهش‌های جدید باعث ایجاد واریانت‌های متفاوت می‌گـــردد) عیناً به فرزندان منتقـــل می‌گردد. لذا بررسی DNA ی میتوکندریایی روشی مؤثر به جهت تعیین منســـوبین لاین مادری بوده و از آنجایی که سلول‌ها حاوی تعداد زیادی میتوکندری می‌باشند، ژنوتایپینگ mt-DNA در مواردی که مقادیر نمونه بسیار اندک بوده و یا DNA آن تجزیه شده است (بقایای انسانی مربوط به هزاره‌های قبل) بســـیار کاربردی خواهد بود. مثال مشخص آن تعیین هویت بقایای یافت شـــده مربوط به نیکولاس دوم تزار روســـیه و خانواده وی می‌باشد. (Coble MD 2009) شکل ۵.



شکل ۵. با استفاده از واریانت های mt-DNA بقایای اسکلتی، خانواده نیکولاس دوم، تزار روسیه، که در سال ۱۹۱۷ توسط بلشویک‌ها کشته شدند، شناسائی شدند. اجساد اعضای این خانواده (چهار دختر و یک پسربه رنگ قرمز) در سال ۱۹۹۱ پس از نبش قبر مورد بررسی قرار گرفتند. بر گرفته از Strachan T& Read A [2019] Human molecular genetics5th edn.

❑ ۳- کاربردها

همانطور که در بالا نیز به آن اشـــاره شد از روش انگشت نگاری ژنتیکی به شـــکل گســـترده‌ای در چهار حوزه اصلی

27- Mitochondrial DNA(mt-DNA)

مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۱- تحقیقات جنایی

۲- بررسی رابطه فرزند- والدی، که در دو حوزه paternity و maternity انجام می‌گیرد. همانند آزمایش‌های مرتبط با تحقیقات جنایی در این نوع تست‌ها نیز می‌توان از کیت‌های مشابه (با مارکرهای تعیین شده در جدول ۱) استفاده نمود. نکته‌ای که بایستی به آن توجه داشت این است که همانند آزمایش‌های تحقیقات جنایی در این نوع بررسی‌ها نیز تعیین والدین فرزند به شکل صددرصد نبوده ولی رد آن قطعی می‌باشد. از طرف دیگر بر خلاف آزمایش‌های حوزه جنایی در این نوع، احتمال وقوع جهش نو را در نسل بعد (فرزند) بایستی در نظر داشت. بدین معنی که باند و یا ستونی در پروفایل فرزند دیده شود که در والد مورد ارزیابی وجود ندارد که این امر می‌تواند به دلیل جهش‌های جدید[۲۸] در جرم لاین[۲۹] و یا مراحل بعد از آن ایجاد شده باشد. این امر به خصوص در مارکرهای D18S51 و SE33 (جدول ۱) دیده می‌شود. البته نرخ جهش برای هر آللی (مارکری) تعیین شده است که می‌توان در محاسبه احتمالات از آن استفاده گردد. با این حال به شکل کلی چنین در نظر گرفته می‌شود که یک عدم انطباق در باند یا ستون‌های منحنی حاصل از کاپیلاری الکتروفورزیس به خصوص هنگامی که عدم تطابق به دلیل تنها یک واحد تکرار شونده باشد، نمی‌تواند منجر به رد والد بودن فرد گردد.

۳- تعیین شجره نامه[۳۰] و ارتباط‌های خویشاوندی

۴- بررسی چگونگی تکامل انسان[۳۱] و خواستگاه پیدایش آن

❑ نتیجه گیری

استفاده از انگشت نگاری ژنتیکی همچنان یک روش مهم و دقیق به جهت ارزیابی هویت افراد در حوزه‌های متنوعی از جمله تحقیقات جنایی، ارتباطات خویشاوندی، مناقشات خانوادگی و تعیین ارتباط فرزند-والدی، بلایای طبیعی همچون سیل و زلزله، حوادث و سوانح مانند سقوط هواپیما، جنگ و سایر موارد مورد استفاده قرار می‌گیرد. استقرار یک پایگاه داده‌های ملی در هر کشور که در آن اطلاعات مربوط به پروفایل ژنتیکی افراد که دایره وسعت آن توسط سیاست‌های دولت تعیین خواهد شد (که می‌تواند جنایت کاران، مجرمین و حتی دستگیر شدگان به هر علتی را شامل شود) نقش بسیار مهمی در رسیدگی سریع به پرونده‌ها را خواهد داشت. از طرف دیگر همگام با گسترش روز افزون علوم، امکان استفاده از مارکرهای مناسب و حتی بومی شده در کنار بهره‌گیری از روش‌های نوین تعیین توالی یا NGS[۳۲] افق روشنی را در خصوص افزایش سرعت و دقت نتایج به دنبال خواهد داشت.

References:

Books:

1- E Giardina, DNA Fingerprinting. In: Stanley Maloy, Kelly Hughes editors. Brenner's Encyclopedia of Genetics.2nd edition, volume2, Netherlands: Elsevier.2013. p.356-359.

2- Strachan T, Read A Genetic testing in healthcare and the law. Human molecular genetics. 5th edition. US: CRC press.2019. P. 657-664.

Journals:

2005 Identification of exhumed remains of fire tragedy victims using conventional methods and autosomal/Y-chromosomal short tandem repeat DNA profiling. Am J Forensic Med Pathol 26:285–291. Calacal GC, Delfin FC, Tan MM, Roewer L, Magtanong DL, Lara MC, Rd F,De Ungria MC.

2009 Mystery solved: the identification of the two missing Romanov children using DNA analysis. PLoS One 4. Coble MD, Loreille OM, Wadhams MJ, Edson SM, Maynard K, Meyer CE,Niederstätter H, Berger C, Berger B, Falsetti AB, Gill P, Parson W, Finelli LN.

2020 Key DNA profiling markers for identification: A mini review. Pharm Pharmacol Int J 8(6):337–343. Nwawuba SU, 1 Momoh SM, 2 Nwokolo CC,3 Ojo OG,1 Ajayi JO,1 Irabor IM,1 Oboh BO1.

2020 Forensic DNA Profiling: Autosomal Short Tandem Repeat as a Prominent Marker in Crime Investigation. Malay J Med Sci 27(4):22–35. Nwawuba SU, Mohammed KA, Adams TB, et al.

28- New mutation
29- Germ line
30- Genealogy
31 Human evolution
32- Next generation sequencing