أولاً- مشروع الجينوم البشري

انتهى العمل على مشروع الجينوم البشري في عام ٢٠٠٣، والذي استمر قرابة ١٣ عاماً في ٦ دول، وأضفى هذا المشروع إلى مجموعة هائلة من النتائج منها:

- ✓ تم تحديد التتالي الكامل للنكليوتيدات الموجودة في الجينوم البشري، حيث بلغ عددها ≈ ٣ بليون زوج أساس (Base pairs/bps).
- ✓ معرفة كل الجينات الموجودة في الجينوم البشري وقُدَّر عددها الكلي في نهاية المشروع بـ (٢٠٠٠٠ – ٢٥٠٠٠) جين
- ✓ تبيّن أنّ أقل من ٢٪ من الجينوم البشري يُرمّز البروتينات، وأكثر من ٩٨٪ منه هي مواقع بين جينية (Non-coding genome).

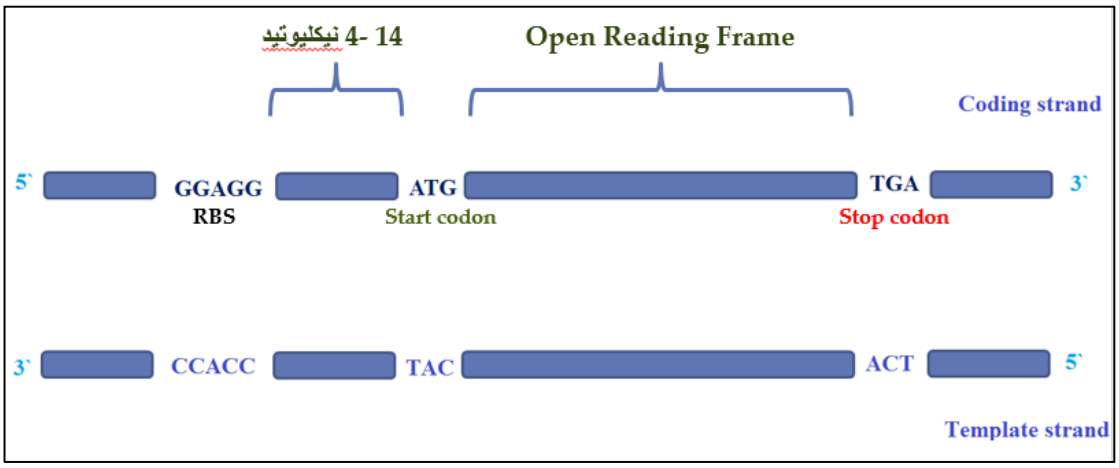
الجين Gene:

الجينات هي تتاليات ضمن الجينوم البشري تُرمّز للبروتينات، ويتم التعبير عنها بمصطلح open reading frame (ORF)، ويمكن أن يتراوح طولها وسطياً بين مئات إلى آلاف bps.

يتمّ تحديد موقع الجينات على الـ DNA من خلال تتاليات محددة التي تعرفنا ببداية ونهاية الجين (على **Coding strand** من طاقي الـ DNA) (الشكل ١)، وهي:

- ✓ ATG وهو رامز البداية (Start codon)
- ✓ TGA، TAG، TAA وهي تمثل رامز التوقف (Stop codon).
- ✓ الموقع الرابط للريبوزومات (Ribosomal Binding Site): يختلف بين بدائيات النوى وحقيقيات النوى، بالنسبة لبدائيات النوى لديها التتالي (GGAGG) قبل رامز البداية بـ ٤-١٤ نكليوتيد.

الشكل ١: كيفية تحديد ORF ضمن الـ DNA



مثال:

5`ACTCTAGGCTATCATGCCCTGAGTCAGGAGGTA
CTCTGTATGGAACAGCATCTCAAGGAACTCTAGT
CGCATCATGCACTACGATC 3`

لديك تتالي النيكليوتيدات السابق:

حدد موقع ال Start Codon والـ Stop codon.

حدد الـ ORF.

الحل:

أولاً للبحث عن رامز البداية يجب قراءة التتالي من `5 إلى `3.

ثانياً يجب تحديد روامز البداية والتوقف في هذا التتالي بالإضـــافة للموقع الرابط للريبوزوم:

5`ACTC**TAG**GCTATC**ATG**CCC**TGA**GTCA**GGAGG**TACTC
TGT**ATG**GAACAGCATCTCAAGGAACTC**TAG**TC**TAA**TC
ATGCACTACGATC 3`

رامز البداية المناسب هو الذي يقع بعد GGAGG بـ ٤-١٤ نكليوتيد

رامز التوقف المناســب يقع بعد رامز البداية مع الانتباه لتقســيم الروامز إلى ثلاثيات كالتالي:

G GAG GTA CTC TGT **ATG** GAA CAG CAT CTC AAG GAA CTC **TAG** TC~~T AA~~T

تجدر الإشـارة إلى أن رامز التوقف TAA غير مناسـب لأنه ليس ضـمن نفس مجال الثلاثيات (Frame) الخاص برامز البداية المحدد، وبالتالي يكون ORF في التتالي السابق هو:

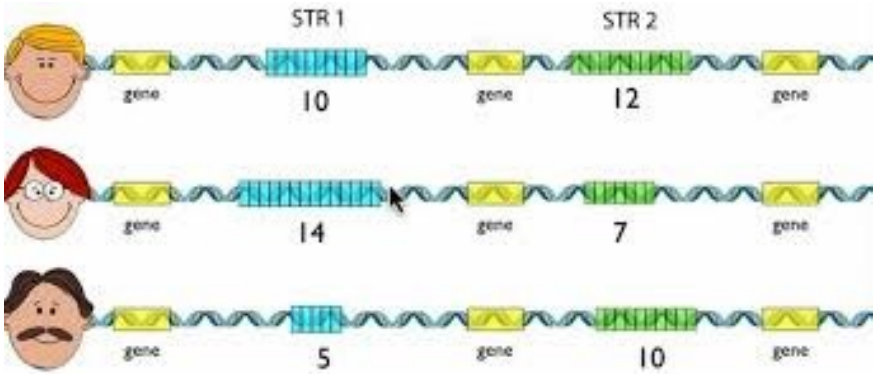
GGAGGTACTCTGT **ATG** GAA CAG CAT CTC AAG GAA CTC **TAG**

ثانياً- استخدام PCR في المخبر الجنائي

لنفترض أنك تعمل في المعمل الجنائي، ووصلت عينة DNA من شعرة تم العثور عليها في مسرح الجريمة بالإضافة لعينات الـ DNA من ثلاثة مشتبهين في ارتكاب الجريمة. تكمن وظيفتك في فحص مجموعة من genetic markers لمعرفة أي من المشتبهين الثلاثة تعود له هذه الشعرة.

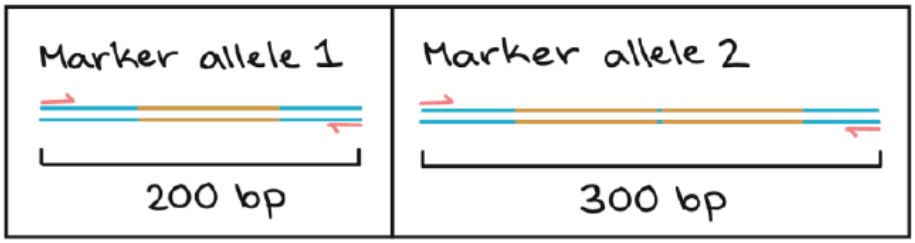
التكرارات الترادفية القصيرة (Short tandem Repeat/STR): هي من أشيع الـ markers المستخدمة في المخبر الجنائي وهي عبارة عن تسلسلات قصيرة في الجينوم البشري (من ٢ إلى ٦ نكليوتيدات تتكرر باستمرار) وغالباً ما تتواجد في المناطق بين الجينية في الجينوم البشري (non-coding DNA).

هذه الـ STR تأتي بشكل أليلات (نسخ) تختلف فيما بينها بعدد هذه التكرارات، على سبيل المثال إن أحد الأليلات قد يمتلك ٢٠ تكرار بينما الآخر ١٨ تكرار وهكذا.... ففي الصورة التالي كل الأشخاص الثلاثة يمتلكون STR1 وSTR2 ولكن الولد يملك من STR1 ١٠ تكرارات والفتاة تملك ١٤ تكرار والرجل يملكك ٥ تكرارات فقط وكذلك الأمر بالنسبة لـ STR2 وهكذا يختلف طول STR بين أشخاص مختلفين.

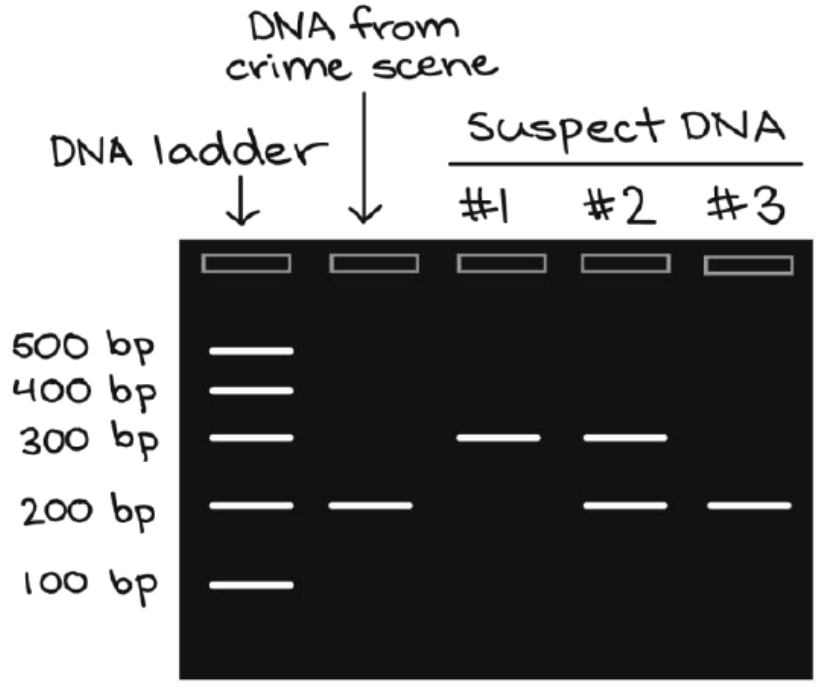


نقوم بإجراء الـ PCR لمعرفة وجود marker وتحديد طوله (الذي يرتبط بعدد التكرارات).

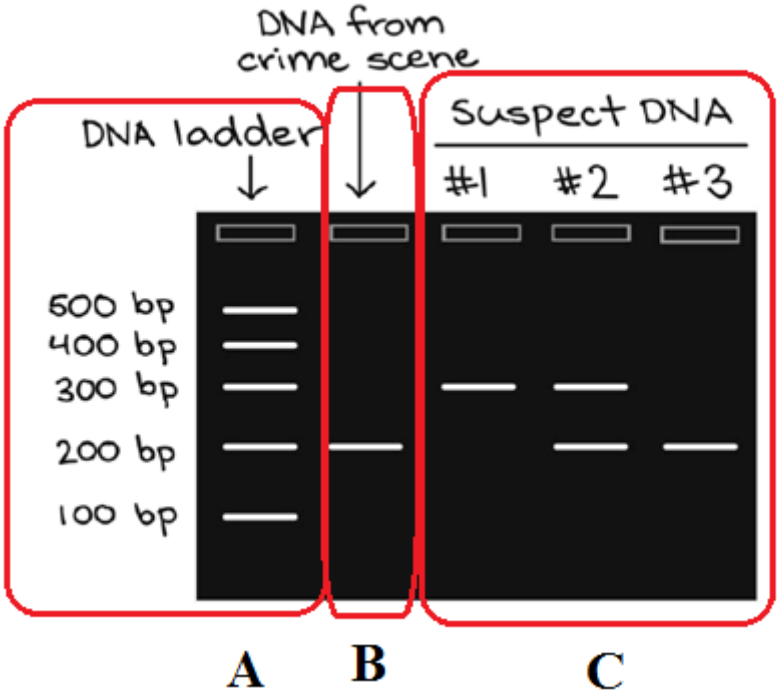
في المثال الآتي تم استخدام STR يملك أليلين فقط، أحدهما 200 base pairs والآخر بطول 300 base pairs.



بعد إجراء PCR للعينات الأربعة، وإظهار النتائج بالرحلان الكهربائي، حصلت على النتيجة التالية:



لمن تعود عينة DNA التي تم إيجادها في مسرح الجريمة؟



في الجزء A: من نتيجة الرحلان الكهربائي يوجد DNA ladder وهي عينة شاهد تحتوي على قطع من الـ DNA معروفة الطول ومن خلالها نعرف طول القطع الناتجة عن PCR للعينة المأخوذة من مسرح الجريمة وعينات المشتبهين.

في الجزء B: نتيجة الرحلان الكهربائي لـ PCR العينة المأخوذة من مسرح الجريمة، ونشاهد عُصابة واحدة عند طول ٢٠٠ bps (وهو طول الـ STR المدروس في هذه العينة).

في الجزء C: نتيجة الرحلان الكهربائي لـ PCR للعينات المأخوذة من المشتبهين الثلاثة:

المشتبه الأول: لديه عُصابة واحدة بطول ٣٠٠ bps.

المشتبه الثاني: لديه عُصابتين واحدة بطول ٣٠٠ bps والثانية بطول ٢٠٠ bps.

المشتبه الثالث: لديه عُصابة واحدة بطول ٢٠٠ bps.

بالمقارنة مع نتيجة العينة المأخوذة من مسرح الجريمة نستنتج أن المشتبه الثالث هو المجرم.

الجدير بالذكر أنه في المخابر الجنائية، يتم مقارنة عدة markers بين العينات، وغالباً ما تمتلك عدداً كبيراً من الأليلات. عند فحصها يستطيع العلماء الجنائيون بناء "بصمة" جينية من عينة DNA، على سبيل المثال إن قمنا بفحص ١٣ markers، فإن احتمال الحصول على نتيجة إيجابية كاذبة هي أقل من ١ في البليون.

تُستخدم هذه الطريقة أيضاً في تبرئة المساجين الذين تم اتهامهم ظلماً، كما تُستخدم أيضاً لتحديد الأبوة وتحديد هوية الضحايا بعد الكوارث.

ملخص حالة جنائية: دور البصمة الوراثية في حل القضايا المعقدة

السياق :جريمة قتل مزدوجة وقعت في قرية بالقرب من مدينة كيتشيفو(Kicevo) ، حيث عُثر على زوجين مقتولين ومقيدين بالحبال.

الإجراءات البيولوجية الجزيئية المتخذة:

- **جمع العينات :**تم أخذ عينات دم من الضحايا، وبقايا من تحت الأظافر، وقطع من الحبال المستخدمة في التقييد والقفّازات من حاوية قريبة من موقع الجريمة.
- **استخلاص الحمض النووي (DNA Extraction):**
- **تفاعل البوليميراز التسلسلي (PCR):** تم تضخيم مناطق محددة من الـ DNAباستخدام أطقم تعريف (Identifier amplification kit).
- **الفصل باستخدام الرحلان الكهربائي الشعري (Capillary Electrophoresis):** استُخدم لتحديد الأنماط الوراثية.

النتائج الأولية:

- كشف التحليل الوراثي للحبال عن وجود ملف تعريف لـ نمط وراثي ذكري غير معروف (Unknown Male Autosomal STR profile).
- تمت مقارنة هذا الملف مع قاعدة بيانات الحمض النووي الجنائي الوطنية، لكن النتيجة كانت **سلبية** في ذلك الوقت، وبقيت القضية معلقة.

نقطة التحول (بعد ٥ سنوات):

- وقع سطو على أحد المحال التجارية، ووُجدت آثار دم على نافذة محطمة.

- تم إلقاء القبض على مشتبه به، وأُخذت منه **مسحة فموية** (Buccal swab).
- **المطابقة:** تطابق DNA المشتبه به (Suspected) مع الدم الموجود في المحل التجاري، وعند إدخال بياناته في القاعدة الوطنية، ظهرت المفاجأة :**تطابق تام** مع الملف الوراثي المجهول المستخلص من حبال جريمة القتل التي وقعت قبل ٥ سنوات.

الخلاصة العلمية:

أدت تقنية **تكرارات المترادفة القصيرة (STR)** والربط بين قواعد البيانات الجنائية إلى كشف الجاني في قضية قتل قديمة بفضل عينة بيولوجية من جريمة سرقة حديثة.

Locus	Repeat motif	Victim 1	Victim 2	Rope	Gloves	Suspected
D8S1179	Compound TCTA/TCTG	11, 15	14, 16	9, 14	9, 14	9, 14
D21S11	Complex TCTA/TCTG	28, 30	28, 30	28, 29	28, 29	28, 29
D7S820	Simple GATA	10, 12	10, 12	8, 9	8, 9	8, 9
CSF1PO	Simple AGAT	11, 12	12, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D3S1358	Compound TCTA/TCTG	15, 16	14, 17	15, 18	15, 18	15, 18
TH01	Simple TCAT	6, 9.3	8, 9.3	6,8	6,8	6,8
D13S317	Simple TATC	11, 11	11, 13	10, 12	10, 12	10, 12
D16S539	Simple GATA	11, 11	11, 12	12, 12	12, 12	12, 12
D2S1338	Compound TGCC/TTCC	17, 17	17, 25	17, 23	17, 23	17, 23
D19S433	Simple AGAA	13, 14	12, 13	14, 14	14, 14	14, 14
vWA	Compound TCTA/TCTG	17, 18	14, 16	17, 18	17, 18	17, 18
TPOX	Simple AATG	8, 9	11, 11	11, 11	11, 11	11, 11
D18S51	Simple AGAA	13, 15	15, 17	15, 16	15, 16	15, 16
D5S818	Simple AGAT	11, 12	12, 12	12, 13	12, 13	12, 13
FGA	Compound CTTT/TTCC	21, 26	21, 23	23, 24	23, 24	23, 24
Amelogenin		XY	XX	XY	XY	XY