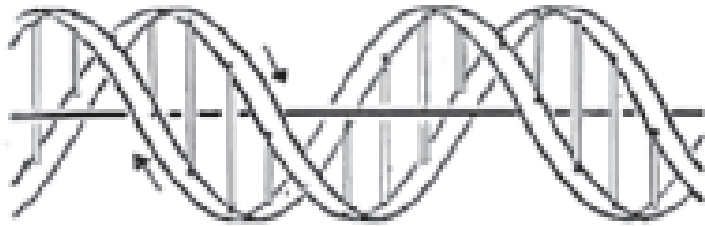


Typing or Fingerprinting of DNA ((البصمة الوراثية))





الخيط الأول **GGGTTTAAACCC**
الخيط الثاني **CCCAAATTTGGG**

من تقنيات البصمه الوراثيه:

- **RFLP**—Restriction Fragment Length Polymorphism
- **PCR**—Polymerase Chain Reaction
- **STR**—Short Tandem Repeats

اكتشاف البصمة الوراثية

يرجع الفضل في اكتشاف تقنية البصمة الوراثية إلى العالم الإنجليزي " أليك جيفري " الذي صاغ اكتشافه عام ١٩٨٥ وقد اكتشف أن هناك عددًا من التتابعات DNA sequences من المعلومات الوراثية تقع على خيطي ال DNA وتختلف اختلافًا واضحًا بين الأفراد فقام بدراستها ووجد أن لها قدرة عالية على التكرار وأكد أن طول هذه التتابعات المتكررة وعدد مرات تكرارها وموقعها بالتحديد تختلف من فرد لآخر وقد أطلق عليها اسم

" المقاطع الطولية المحددة ذات الشكل المتعدد "

Restriction fragment length polymorphism "RFLP"

اكتشاف البصمة الوراثية

عملية تحليل الحمض النووي DNA بـ "تحليل البصمة الوراثية أو
مظهر DNA
DNA Fingerprinting".

ومن المتفق عليه أن البصمة الوراثية تظهر التنوع وتطور الكائنات الحية و
الصفات الوراثية والتركيب الوراثي .

تمكن العالمان الأستراليان "رولند فان" و"ماكسويل جونز" في عام 1997 من
عزل المادة الوراثية من الأشياء التي تم لمسها مثل المفاتيح والتليفون والأكواب
بعد استخلاص المادة الوراثية

كيف يتم تعيين بصمة الجينات :

كل ما هو مطلوب لتعيين بصمة الجينات هو عينة صغيرة من الأنسجة التي يمكن استخلاص الحمض النووي الريبوزي المختزل DNA منها. فعلى سبيل المثال نحتاج :

- لفحص تطابق الأنسجة عند نقل الأعضاء.
- عينة من الدم في حالة إثبات بنوة.
- عينة من الحيوان المنوي في حالة اغتصاب
- قطعة جلد من تحت الأظافر أو شعيرات من الجسم بجذورها
- في حالة وفاة بعد مقاومة المعتدي.
- دم أو سائل منوي مجمد أو جاف موجود على مسرح الجريمة.
- عينة من اللعاب.

انواع تقنيات البصمة الوراثية:

1 -RAPD

Random amplification polymorphic DNA

2 -SSR

Simple Sequence recreate

And

ISSR

Inter simple Sequence recreate

انواع تقنيات البصمة الوراثية:

3- RFLP

Restriction Fragment Length Polymorphism

4 -AFLP

Amplified Fragment Length polymorphism

5 -Pulse Field electrophoresis

تقنية RFLP

ماذا تعني كلمة RFLP؟

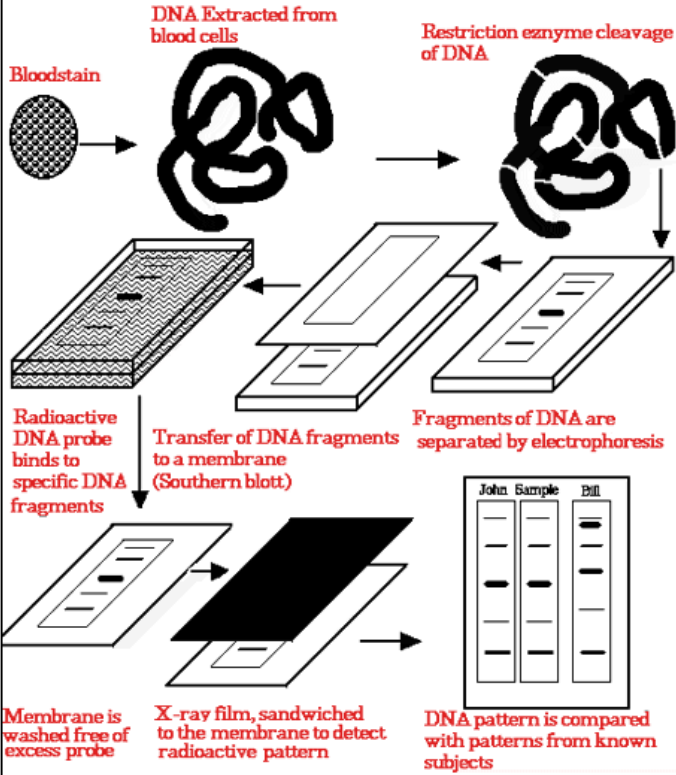
Restriction Fragment Length Polymorphism

هي عبارة عن أجزاء ذات تتابع معين من الحمض النووي DNA يتم الحصول عليها باستخدام انزيمات القطع Restriction enzymes وتسمى الأجزاء الناتجة من القطع بـ Restriction Fragment.

RFLP TESTING



Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)



تستخدم إنزيمات القطع لفصل التتابعات المتكررة من جزيء الحمض النووي .

اختلاف أطوال المرتبطة مع أجزاء (قطع) الحمض النووي تسمى الأجزاء المقطعة restriction fragment length polymorphisms "RFLP's" وتختصر

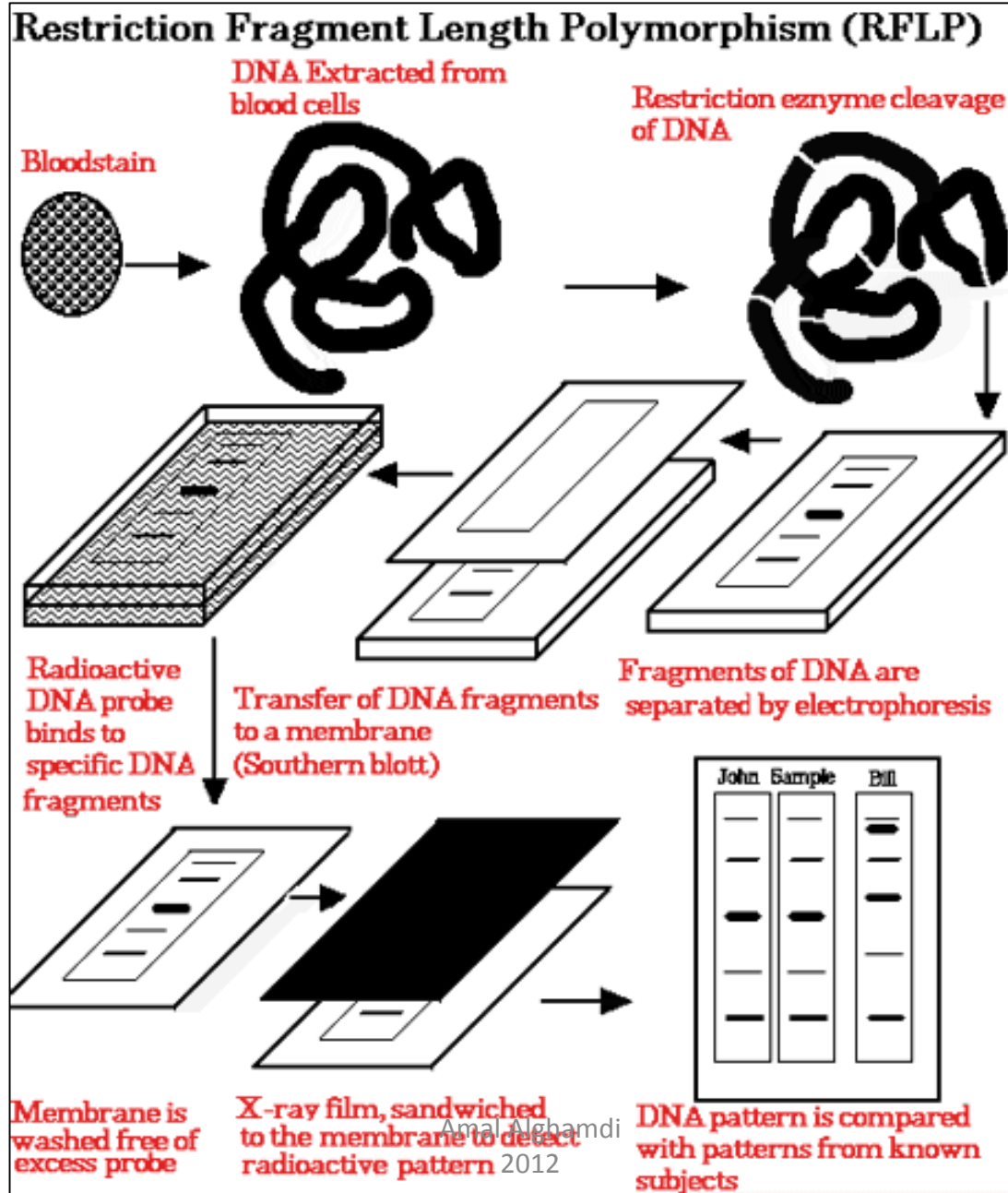
باستخدام الفصل الكهربائي يتم فصل القطع من الحمض النووي تبعاً للوزن الجزيئي لها

الأجزاء المقطعة الأصغر (الأقل وزناً) تسير مسافة أطول بعيداً عن الفتحات في جل الأجاروز- من القطع الأكبر (الأعلى وزناً) فتظهر القطع الأثقل في بداية سريان الجل والأخف تقترب من نهاية الجل.

تنقل القطع Fragment إلى غشاء من النايلون (تسمى هذه الخطوه Southern blotting).

لمشاهدة قطع RFLP's المفصوله يتم معاملتها ببادئات معلمه إشعاعياً radioactively labeled probes تحتوي على تتابع مكمل للقواعد النيروجينية للأجزاء المقطعة RFLP's (تسمى هذه الخطوه بالتهجين Hybridization).

RFLP TESTING



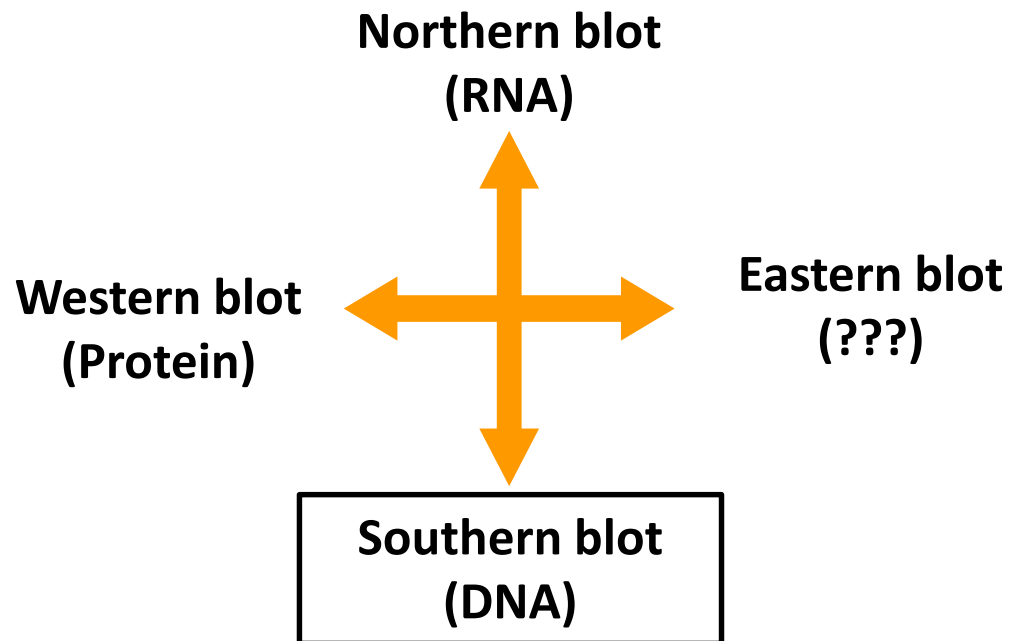
تشمل الخطوات المعملية التاليه:

- فصل (Extraction) الحمض النووي منقوص الأكسجين DNA.
- هضم (Digestion) الحمض النووي باستخدام انزيمات القطع المحدده
.Restriction Enzymes
- الفصل الكهربى للقطع تبعا للطول (الوزن الجزيئي).
- نقل الحمض النووي باستخدام Southern blotting
- تحضير الـ Probe.
- التهجين Hybridization.
- الكشف عن الحمض النووي hybridized DNA.

التهجين باستخدام طريقة Southern blotting للنقل

Hybridization by Southern Blotting

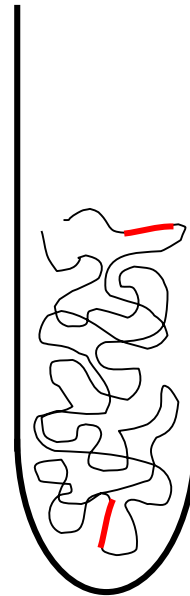
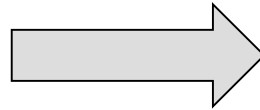
يسمى التهجين من هذا النوع تيمناً بالعالم إدوين سذرن Edwin southern في عام ١٩٧٥ .
ومنه ولدت تسميات التقنيات المشابهة:



الغرض من استخدام Southern blotting

- ادمصاص الحمض النووي DNA على ماده أكثر ثباتا من جل الأجاروز بعد انتهاء الفصل الكهربائي. مثل: النايلون أو النيتروسيليلوز الذي يمتلك شحنة موجبه ضعيفه.
- التعرف على نوع تتابعات الحمض النووي DNA (جينات) المفصوله والمرغوب تعريفها.

مثال: الكشف عن وجود جين معين في DNA الحمض النووي



Arabidopsis thaliana

يحتوي الحمض النووي نسختين من جين معين س

يخلط الحمض النووي المعزول مع إنزيمات القطع المحدده ثم يحضن في حمام مائي عند ٣٧ مئوية

Amal Alghamdi
2012

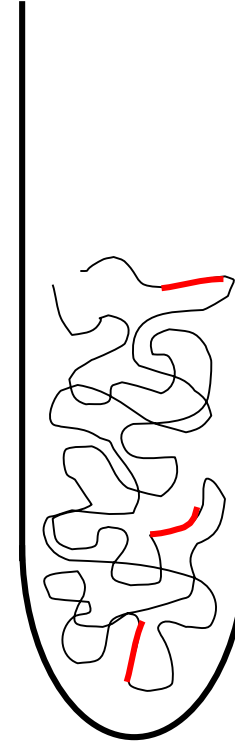
لمدة نصف ساعه

مثال: الكشف عن وجود جين معين في DNA الحمض النووي



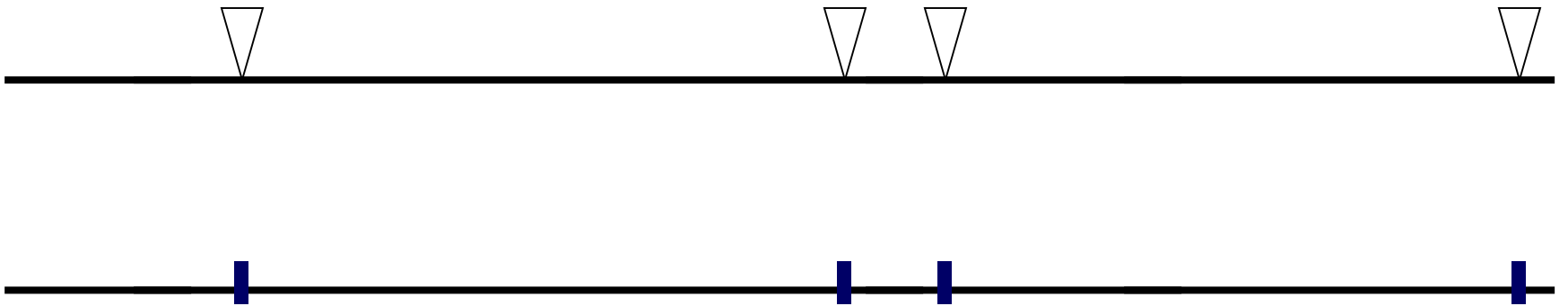
Capsella rubella

extract

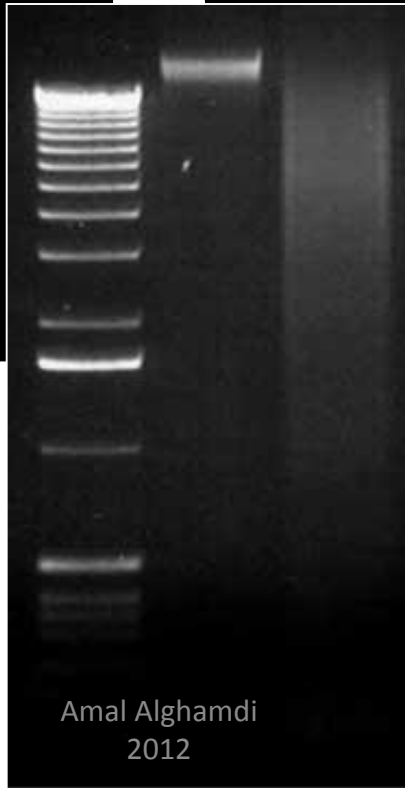
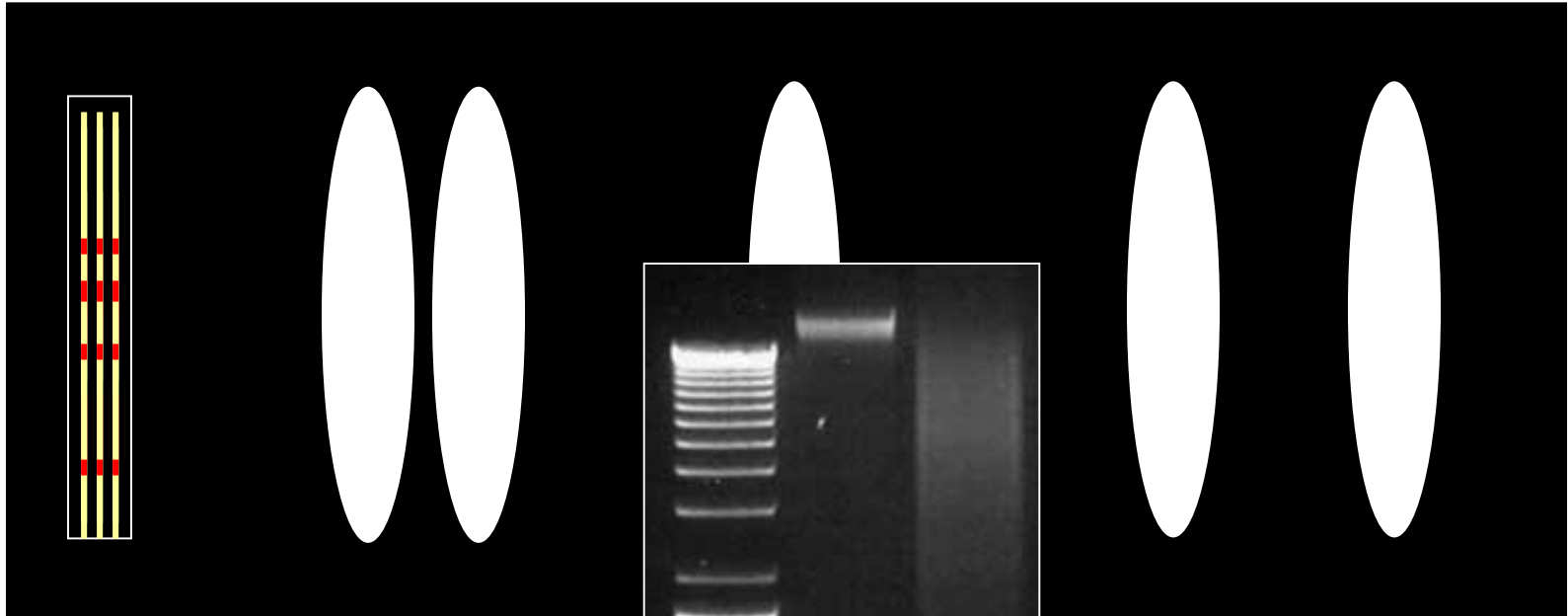


نرغب في معرفة تواجد نفس الجين في نوع آخر من النبات
وكم عدد النسخ اذا تواجدت

الخطوة الأولى: هضم الحمض النووي DNA باستخدام انزيمات القطع



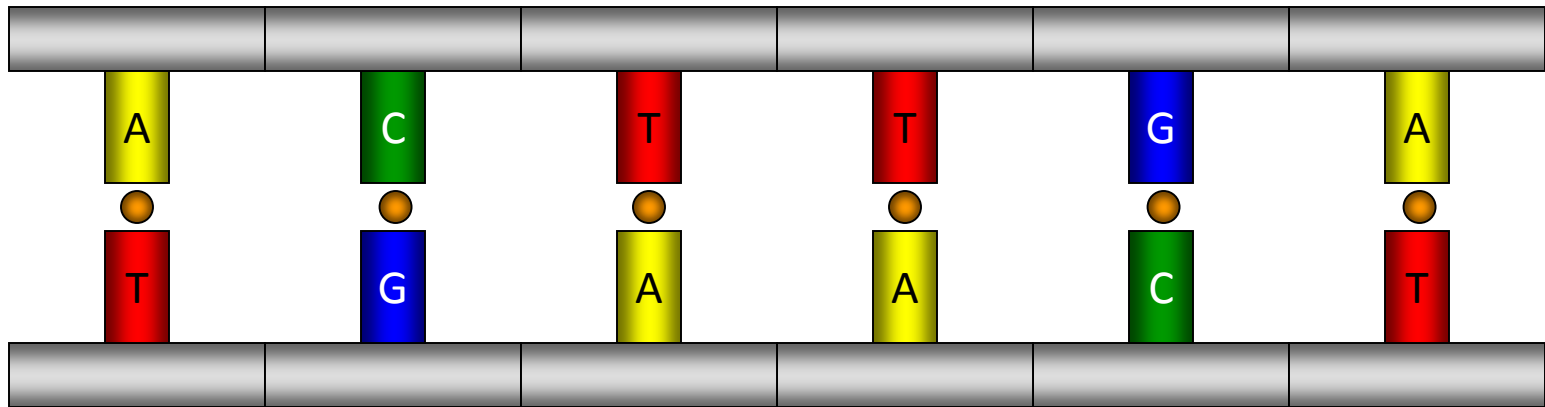
الخطوه الثانيه : الفصل الكهربى



Amal Alghamdi
2012

الخطوة الثالثة: فصل خيطي الحمض النووي DNA (DNA Denaturation)

يتم إزالة الروابط الهيدروجينية بإضافة محلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم.



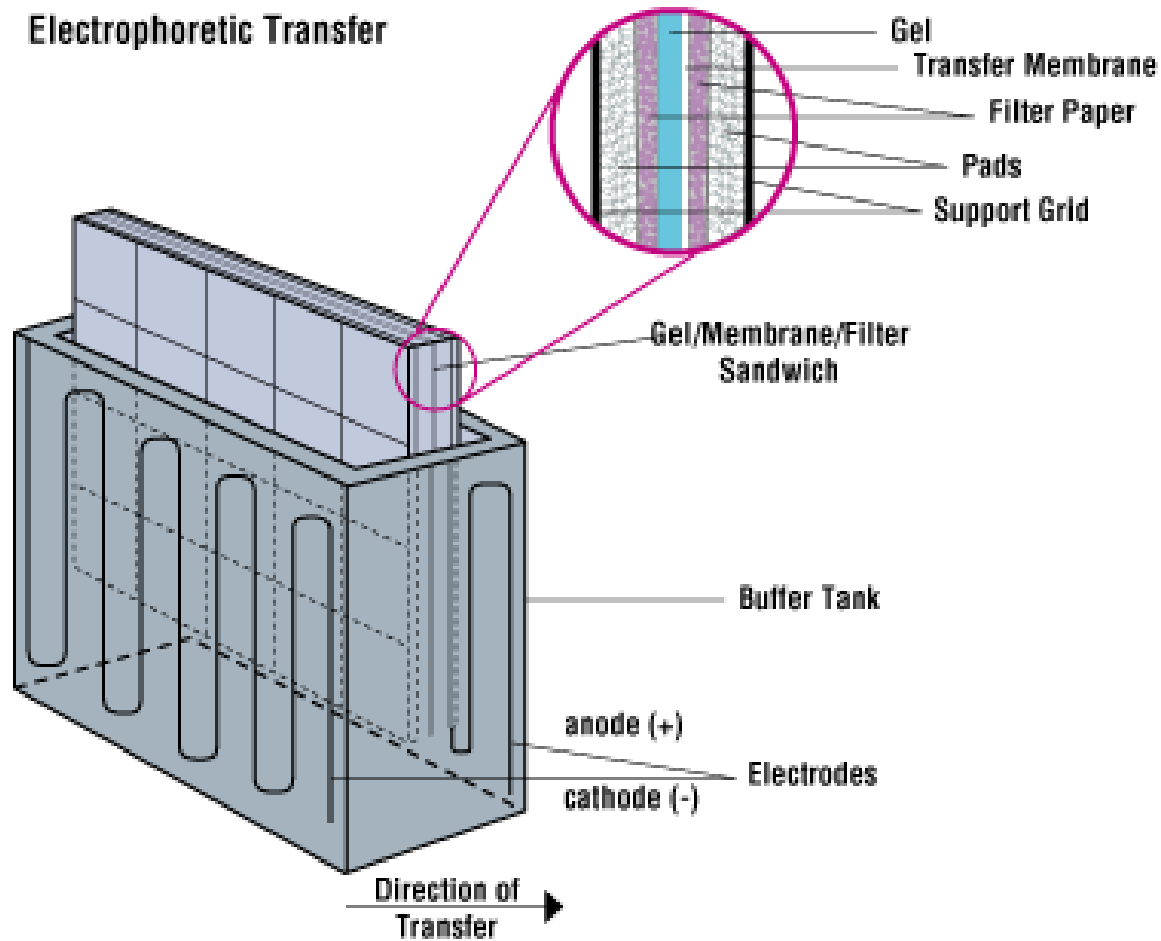
الخطوه ٤ : نقل الحمض النووي DNA المقطَّع إلى الغشاء

هناك طريقتين للنقل:

- عن طريق الخاصيه الشعريه
- عن طريق الفصل الكهربى

– عن طريق الفصل الكهربائي

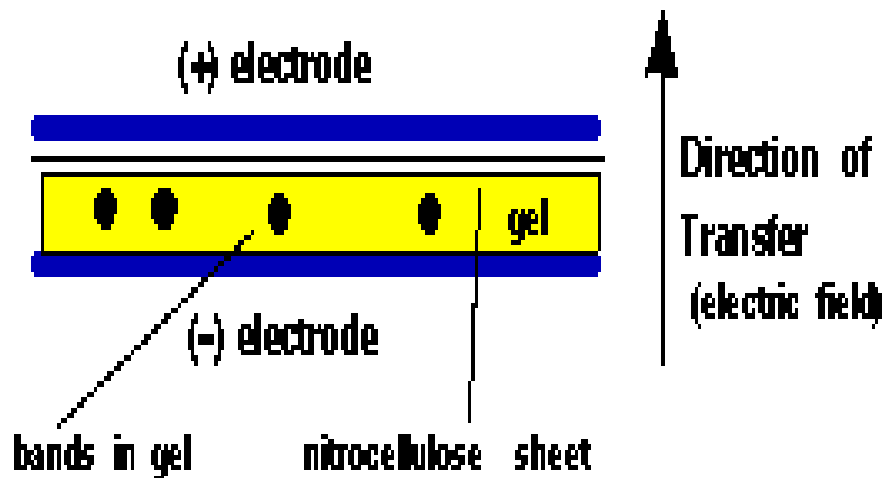
Electrophoretic Transfer



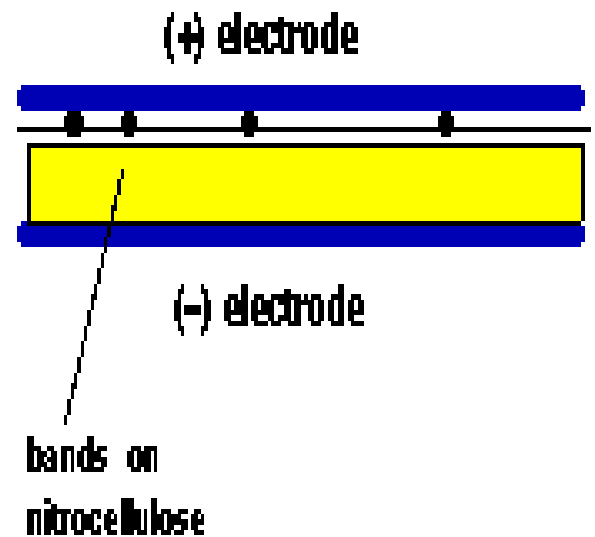
- عن طريق الفصل الكهربائي

Side View:

Before Transfer:

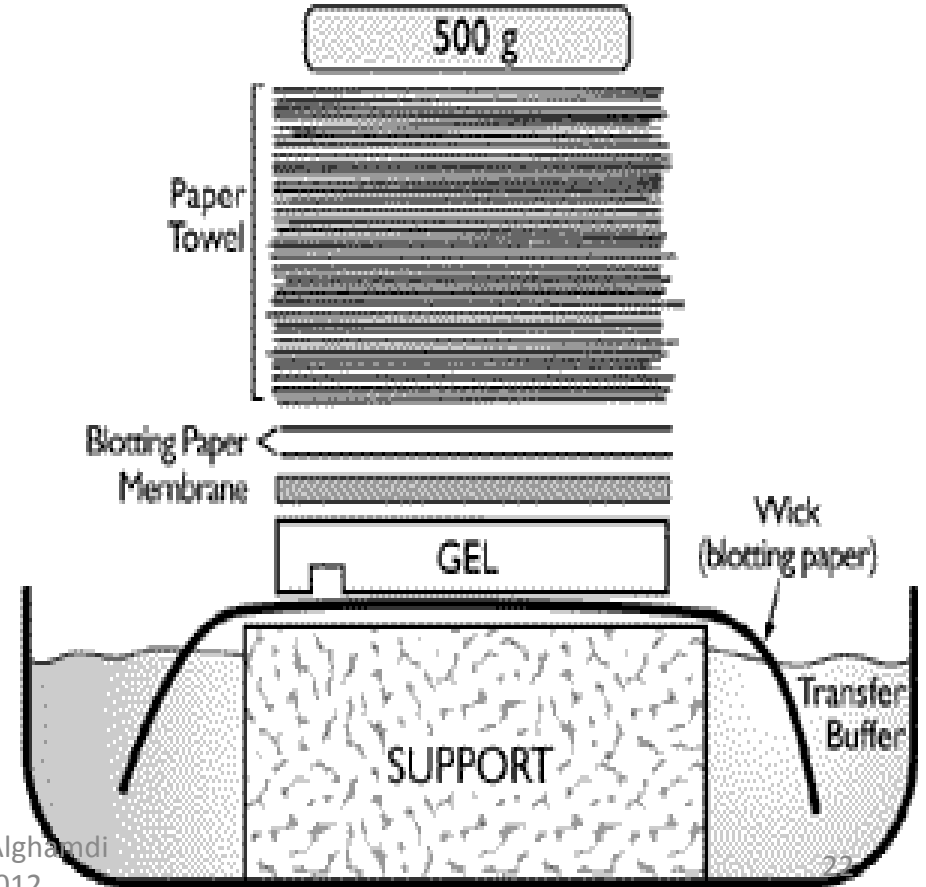
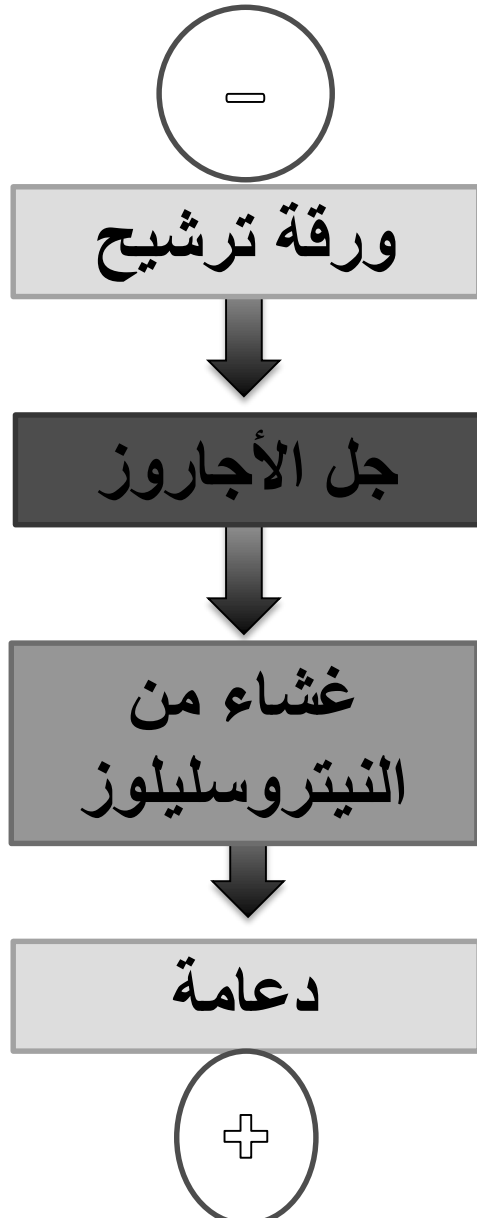


After Transfer:



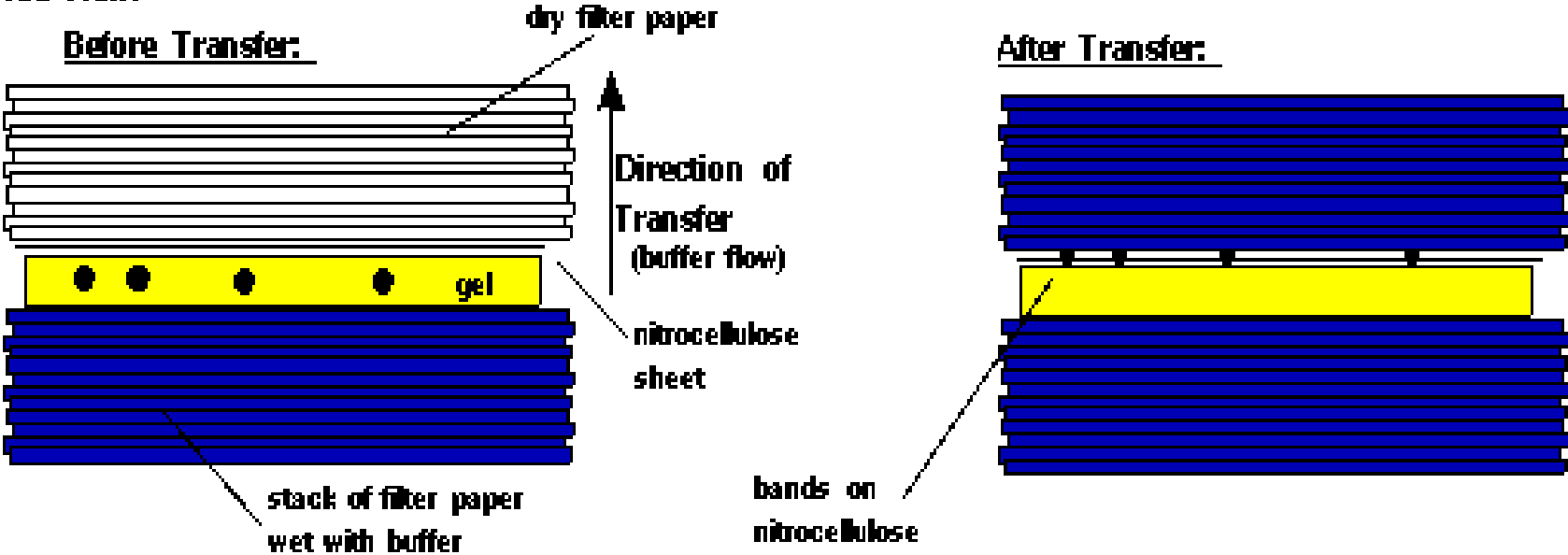
Note: All the layers are pressed tightly together.

- عن طريق الخاصية الشعرية



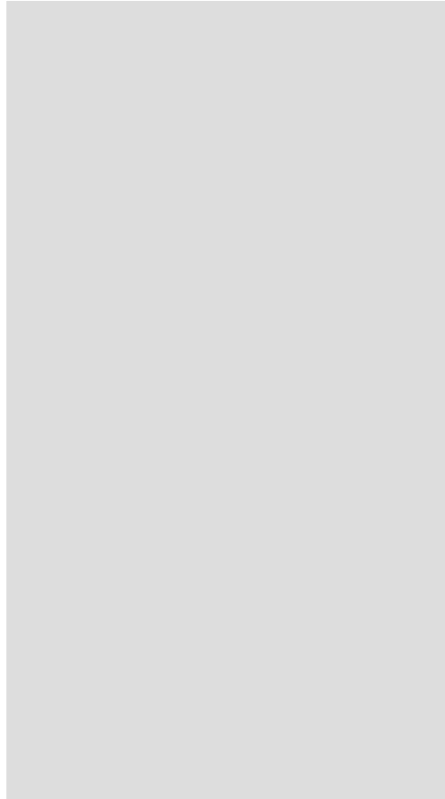
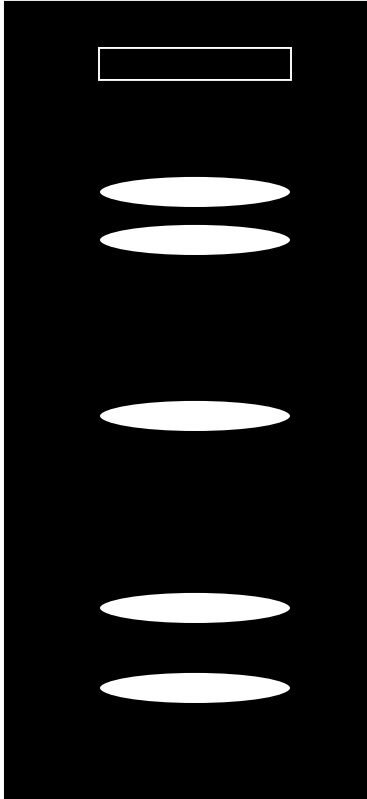
- عن طريق الخاصيه الشعريه

Side View:



Note: All the layers are pressed tightly together.

الخطوة ٤: نقل الحمض النووي DNA المقطع إلى الغشاء



الخطوة ٥: التهجين مع الـ Probe المكمل

● الـ Probe هو تتابع صغير من القواعد النيروجينية أحادي الخيط (يتراوح بين ٢٥-٢٠٠٠ زوج قاعدي) من الحمض النووي DNA or RNA.

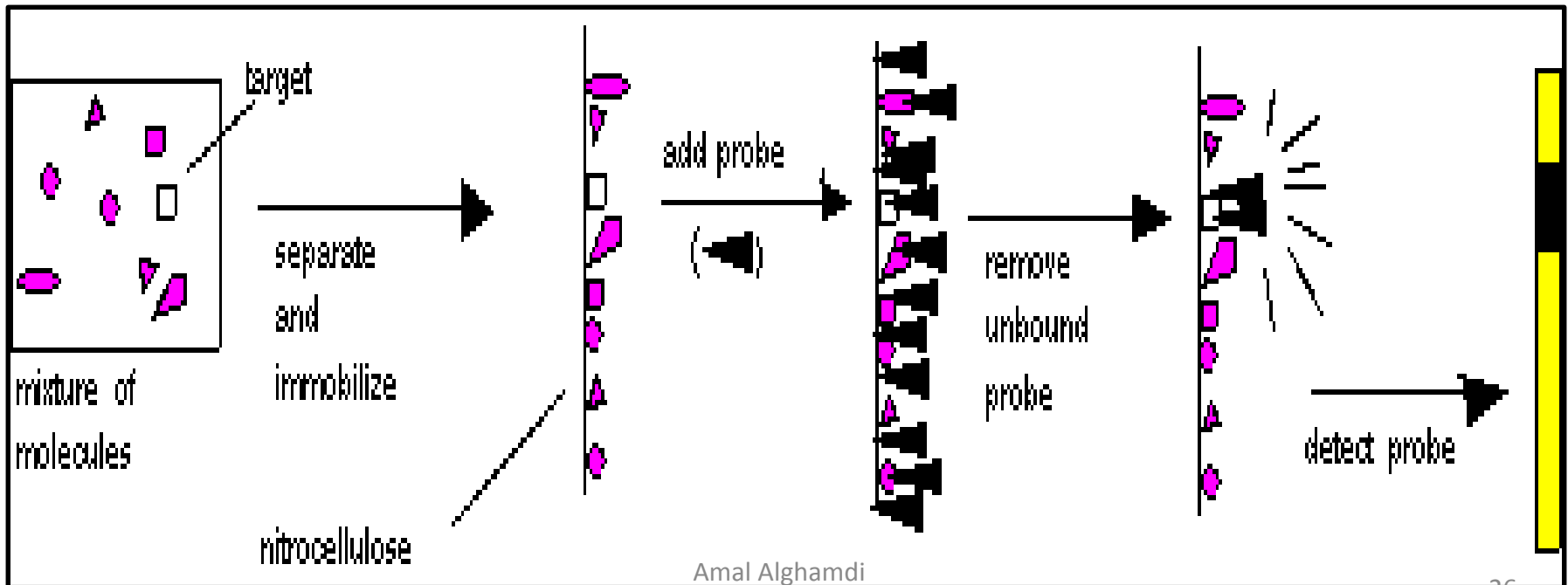
● مكمل للتتابع (الجين) المرغوب الكشف عن وجوده

● معلم بماده مشعه للإستخدام في الإجراءات التشخيصية التالية.

● يحضن الغشاء المحتوي على الحمض النووي المقطوع (الهدف) مع الـ DNA probe

الخطوة ٦: الغسيل ثم الكشف

يتم غسل الـ probe الذي لم يكون الهجين ويرتبط مع الـ DNA. ثم يوضع على الغشاء فيلم للأشعة السينية. ويمكن تصوير الإشعاع الذاتي بالفيلم الكاشف لهذا الإشعاع.



رسم توضيحي للخطوات من 1 - 6

