

dostępne i tanie (prosta technologia ich otrzymywania w warunkach domowych)

Ryzyko zatrucia śmiertelnego po przyjęciu „kompotu” wzmagają równoczesne zażywanie leków psychotropowych z grupy pochodnych 1,4-benzodiazepiny i kwasu barbiturowego.

Pochodne amfetaminy mimo intensywnie rosnącej podaży nie przynoszą tak wysokiej liczby zatruc śmiertelnych ().

PIŚMIENNICTWO

1. Abbott Laboratories, TDx FLx, 1992, -2. Bogusz M.J., Maier R-D., Kruger K-D., Kohls U., Determination of common drugs of abuse in body fluids using one isolation procedure and liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical-ionization mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.*, 1998, 22, 549-558. -
3. Bogusz M.J., Maier R-D., Driessen S., Morphine, morphine-3-glucuronide, morphine-6-glucuronide, and 6-monoacetylmorphine determined by means of atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry-liquid chromatography in body fluids of heroin victims, *J. Anal. Toxicol.*, 1997, 21, 347-355. -5. J. Kulikowska, H. Sybirska, M. Albert, A Soja: Doświadczenia Katedry Medycyny Sądowej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach z badań nad jakością narkotyków z nielegalnego obrotu, *Acta Poloniae Toxicologica* 2000, 8, 2, 205-211.

Adres pierwszego autora:
Katedra Medycyny Sądowej Śląskiej AM
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

Kornelia Drożdżiak, Jadwiga Kabiesz

Polimorfizm lokus STR LPL w populacji Górnego Śląska

Polymorphism of the STR system LPL in the Silesian population

Z Katedry Medycyny Sądowej Śląskiej AM w Katowicach
Kierownik: dr hab. n. med. Z. Olszowy - profesor Śląskiej AM

Praca przedstawia wyniki badań lokus LPL w populacji Górnego Śląska. Badania przeprowadzono w grupie 147 osobników. Obserwowano następujące częstości alleli: LPL*9=0.0578; LPL 10=0.4048; LPL*11=0.2517, LPL*12=0.2449 i LPL13=0.0408. Wartości charakteryzujące polimorfizm układu to: siła dyskryminacji PD = 0.8581, heterozygotyczność obserwowana $H_{t,bs.}$ = 0.7211, heterozygotyczność oczekiwana HW = 0.7102, prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności profili genetycznych PM = 0.1419, siła wykluczeniowa układu MEC = 0.4580, współczynnik informacji polimorficznej PIC = 0.6569, średnie prawdopodobieństwo wykluczenia MEP = 0.4616. Badana populacja znajduje się w równowadze genetycznej zgodnej z prawem Hardy'ego-Weinberga. Częstości genowe są zbliżone do obserwowanych w dwóch innych populacjach polskich. Populacja polska wykazuje homogenność.

This paper shows the results of locus LPL in the population of Upper Silesia. The examinations were performed in a group of 147 unrelated adults. The following gene frequencies were observed: LPL*9=0.0578; LPL10=0.4048; LPL11=0.2517, LPL12=0.2449 i LPL*13=0.0408. DNA was isolated using Blood DNA Prep Plus of A&A Biotechnology. Amplification was carried out in a Perkin Elmer GeneAmp PCR System 2400 thermal cycler, using the GenePrint STR System LPL (8p22) of Promega Corporation, Madison, WI, USA. PCR products were electrophoretically separated by high-resolution polyacrylamide gel - GDG of Perkin Elmer. Gels were stained by the silver method. Test %, exact and Carmody's were used for statistical estimation. The identification values of the system are: PD, Ht, PM, MEC, PIC, MEP. The analysis of studies has shown that the examined population is in the genetic equilibrium conformable to the Hardy-Weinberg's principle. The estimated gene frequencies are similar to those observed in two Polish populations.

Słowa kluczowe: lokus LPL, populacja Górnego Śląska, genetyka populacyjna, analiza statystyczna.

Key words: STR system LPL, the Upper Silesia population, population genetics, statistical analysis.

WPROWADZENIE

Polimorficzny układ LPL jest jednym z markerów genetycznych stosowanych w hemogenetyce sądowej. Badane sekwencje LPL leżą w 6 intronie ludzkiego genu lipazy lipoproteinowej. Lokus LPL zlokalizowany jest na krótkim ramieniu w autosomalnym chromosomie 8 w regionie p22 (8). Polimorfizm układu LPL wynika ze zmiennej liczby powtórzeń sekwencji czteronukleotydowej AAAT. Długość amplifikowanych fragmentów wynosi od 105 dla allelu 7 do 133 par zasad dla allelu 14 (8).

Badania populacyjne układu LPL prowadzono w wielu regionach Europy, Azji i Afryki (4, 5, 7, 13). W Polsce oznaczano polimorfizm LPL w dwóch regionach: Polsce Południowej i Polsce Południowo-Wschodniej (3, 6, 12).

Celem niniejszej pracy było:

- określenie częstości występowania alleli z lokus LPL w populacji Górnego Śląska; ocena zgodności rozkładu alleli z prawem Hardy'ego-Weinberga;
- porównanie rozkładu częstości występowania alleli w badanej populacji z populacją Polski Południowej i Polski Południowo-Wschodniej, populacjami europejskimi i wybranymi populacjami świata (test homogenności);
- obliczenie parametrów oceniających przydatność układu LPL w medycynie sądowej.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał do badań populacyjnych stanowiły 147 próbki krwi pochodzące od osób dorosłych, niespokrewnionych, płci męskiej i żeńskiej. Krew pobraną na EDTA wylewano na bibułę filtracyjną i suszono. Z suchych plam izolowano DNA zestawem do izolacji DNA - Blood DNA Prep Plus firmy A&A Biotechnology.

Amplifikację wykonywano metodą PCR (1,2) zgodnie z rekomendacją producenta zestawu GenePrint STR System LPL firmy Promega Corporation, Madison, WI, USA (8). Produkty amplifikacji PCR rozdzielano techniką elektroforezy wertykalnej (aparatus do elektroforezy S 2001 firmy Life Technologies firmy Gibco BRL) w systemie buforowym, na żelu poliakrylamidowym GDG firmy Perkin Elmer. Barwienie elektroforegramów wykonywano metodą srebrową (2). Allele określano porównując z „drabinami alleli” firmy Perkin Elmer (8).

Opracowanie wyników stanowiło wyliczenie obserwowanych i oczekiwanych liczebności i częstości genotypów przy zastosowaniu równania Hardy'ego-Weinberga. W badaniach statystycznych ocenę zgodności między oczekiwanymi i obserwowanymi genotypami prowadzono z zastosowaniem testu χ^2 P²Y⁰ 0 stopniach swobody df=10 i testu Exact z zastosowaniem programu TFGA. Charakterystyka statystyczna lokus LPL obejmuje również następujące parametry statystyczne świadczące o przydatności układu w medycynie sądowej: PD - siła dyskryminacji, PE - siła wykluczająca układu, PIC - zawartość informacji polimorficznej, PM - prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności, średnie prawdopodobieństwo wykluczenia MEP, Ht - heterozygotyczność układu (wg obowiązujących wzorów). Do obliczeń stosowano program FatRec.

Porównanie homogenności rozkładu alleli pomiędzy badaną populacją a innymi populacjami przeprowadzono testem Carmody'go. Program ten dokonuje obliczeń kreując 1000 symulowanych tabel zawierających sumaryczną liczbę alleli, jak dla wartości obserwowanych.

WYNIKI I DYSKUSJA

W grupie 147 osób dorosłych, niespokrewnionych, płci męskiej i żeńskiej stwierdzono obecność pięciu alleli: 9, 10, 11, 12, i 13 z 9 alleli wymienionych w piśmiennictwie (3, 4, 5, 6, 7, 12, 13).

W badaniach nie natrafiono na allele 7, 8, 14 i 16. Najczęściej występującym allelem w populacji Górnego Śląska jest 10-40.5% populacji, 11-25.2% i 12-24.5%, najrzadszym 13-4.1% populacji.

Obserwowano obecność czternastu genotypów: 9-9, 9-10, 9-11, 9-12, 9-13, 10-10, 10-11, 10-12, 10-13, 11-11, 11-12, 11-13, 12-12 i 12-13, spośród piętnastu możliwych dla pięciu spotkanych alleli. Najrzadziej występującym genotypem jest 9-9 i 9-13, zaś najczęstszym 10-12. W badanym lokus nie stwierdzono interalleli.

Tabela I przedstawia częstości występowania genotypów obserwowanych i oczekiwanych w układzie LPL u 147 osób niespokrewnionych oraz częstości występowania alleli w badanej populacji.

Analiza danych w oparciu o test χ^2 wykazała, że badana populacja Górnego Śląska w obrębie lokus LPL znajduje się w równowadze genetycznej zgodnej z prawem Hardy'ego-Weinberga dając wartości $\chi^2=3-9747$ przy 10 stopniach swobody i $p=0.9485$ z uwagi na zgodność między danymi oczekiwanymi i obserwowanymi. Różnice między wartościami obserwowanymi i oczekiwanymi nie są statystycznie istotne. Badanie zgodności rozkładu genotypów obserwowanych i oczekiwanych z wykorzystaniem testu Exact metodą Monte Carlo i Markov-Chain dało wartość $p=0.8625$ i $p=0.8460$ przy $S.E.=0.0103414$ i $S.E.=0.0232604$, co również potwierdziło spełnienie prawa genetyki populacyjnej.

Rycina 1 pokazuje graficzne porównanie częstości poszczególnych alleli układu LPL w populacji Górnego Śląska.

Porównanie częstości występowania alleli w badanym lokus w populacji Górnego Śląska i dwóch regionach Polski przedstawia tabela II. Jedynie w obrębie allelu 13 nastąpiła zauważalna odmiennność częstości tegoż allelu, nie wpływająca jednak na dalszy przebieg analizy statystycznej. Zaobserwowana niejednorodność wynika prawdopodobnie z różnic regionalnych. Wysoka wartość prawdopodobieństwa zgodności z prawem Hardy'ego-Weinberga ($p=0.9485$) świadczy o poprawnym genotypowaniu.

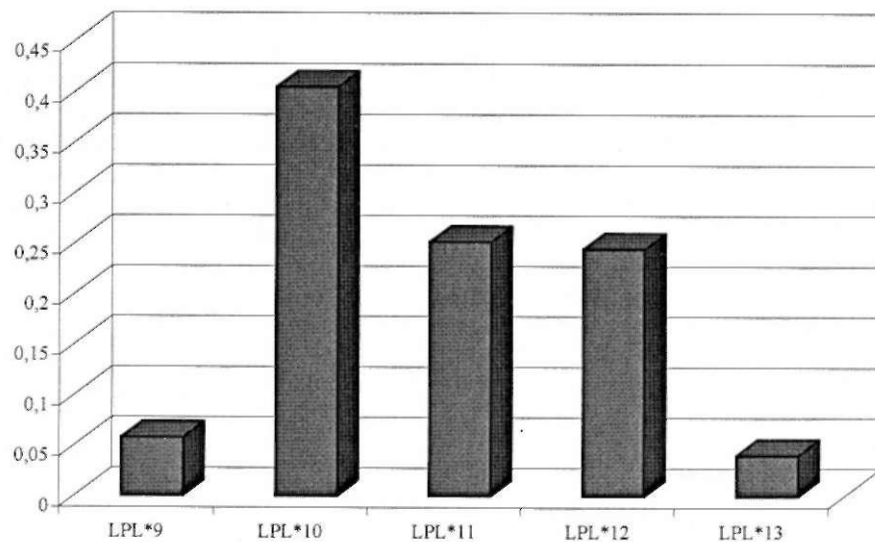
W tabeli III porównano rozkład częstości genotypów systemu LPL w populacji Górnego Śląska z rozkładem częstości genotypów w regionie Polski Południowej (12) i Polski Południowo-Wschodniej (3, 6) testem homogenności (test Carmody'ego). W teście nie wykazano znamienych statystycznie różnic dla badanych alleli LPL pomiędzy populacją Górnego Śląska, a populacjami Polski Południowej i Południowo-Wschodniej. Również populacja Polska jest homogenna.

Tabela I. Liczebność i częstość obserwowana i oczekiwana genotypów oraz częstość alleli lokus LPL w populacji Górnego Śląska.

Table I. Observed and expected number and frequency of genotypes and allele frequencies of the LPL system in the Upper Silesia population.

Genotypy LPL Genotype of LPL	Liczebność genotypów Number of genotypes		Częstość genotypów Genotype frequency		Częstość alleli Allele frequency	
	obserwowana observed	oczekiwana expected	obserwowana observed	oczekiwana expected		
9-9	1	0.4915	0.0068	0.0033	LPL*9	0.0578
9-10	4	6.8810	0.0272	0.0468		
9-11	6	4.2789	0.0408	0.0291		
9-12	4	4.1633	0.0272	0.0283		
9-13	1	0.6939	0.0068	0.0047		
10-10	24	24.0833	0.1633	0.1638	LPL*10	0.4048
10-11	30	29.9524	0.2041	0.2038		
10-12	32	29.1439	0.2177	0.1983		
10-13	5	4.8571	0.0340	0.0330		
11-11	8	9.3129	0.0544	0.0634	LPL*11	0.2517
11-12	18	18.1224	0.1224	0.1233		
11-13	4	3.0204	0.0272	0.0205		
12-12	8	8.8163	0.0544	0.0600	LPL*12	0.2449
12-13	2	2.9388	0.0136	0.0200		
13-13	0	0.2449	0.0000	0.0017	LPL*13	0.0408

$\chi^2=3.9747$ $p=0.9485$ $df=10$
Exact test (Monte Carlo) $p=0.8625$ $SE=0.0103414$ Exact test (Markov Chain) $p=8460$ $SE=0.232604$



Ryc. 1. Graficzne przedstawienie częstości poszczególnych alleli lokus LPL dla populacji Górnego Śląska.

Fig. 1. Graphical comparison of allele frequencies of the LPL system in the Upper Silesia population.

Tabela II. Porównanie częstości alleli lokus LPL w populacji Górnego Śląska i innych regionach Polski.

Table II. Comparison of the allele frequencies locus LPL in the population of Upper Silesia to other Polish population samples.

Allele LPL	Górny Śląsk Upper Silesia	Polska Płd.(12) South Poland	Polska Płd.-Wsch. (6) South-Eastern Poland
7	0.0000	0.000	0.002
8	0.0000	0.000	0.003
9	0.0578	0.070	0.048
10	0.4048	0.401	0.449
11	0.2517	0.273	0.236
12	0.2449	0.238	0.243
13	0.0408	0.012	0.019
14	0.0000	0.000	0.000
15	0.0000	0.000	0.000
16	0.0000	0.006	0.000

Tabela III. Homogenność populacji polskiej - test Carmody'ego.

Table III. Homogeneity of Polish population - Carmody's test.

Porównywane populacje Compared populations	test χ^2 test			test G G test			Homogene $p>0.05$ tak Homogeneous $p>0.05$ yes Niehomogene $p<0.05$ nie
	χ^2	P	SE	G	P	SE	Non-homogeneous $p<0.05$ no
Górny Śląsk Upper Silesia	6.5727	0.3760	0.0153	7.2187	0.3650	0.0152	Tak / yes
Polska Płd.-Wsch. (6) South-Eastern Poland	7.7227	0.1690	0.0119	8.6497	0.1540	0.0114	Tak / yes
Polska Płd. (12) South Poland							
Polska Płd.-Wsch. (6) South-Eastern Poland	10.5982	0.1300	0.0106	12.0257	0.1260	0.0105	Tak / yes
Polska Płd. (12) South Poland							
Populacja POLSKA Polish population	19.9959	0.1090	0.0099	20.3360	0.1190	0.0120	Tak / yes

W tabeli IV zebrano wyniki statystycznego porównania homogenności rozkładu częstości alleli LPL pomiędzy badaną populacją Górnego Śląska a populacjami Europy. Z przeprowadzonych badań z zastosowaniem testu Carmody'ego wynika, że otrzymane w teście wartości p wskazują na odrzucenie hipotezy zgodności rozkładu alleli LPL jedynie pomiędzy populacją Górnego Śląska i Romów Węgierskich z uwagi na istotne różnice. Wyłączenie populacji Romów Węgierskich z obliczeń w teście Carmode'go pozwoliło na stwierdzenie, że populacja europejska jest homogenna - nie wykazano znamienych statystycznie różnic dla badanych alleli LPL.

Tabela IV. Homogenność populacji Górnego Śląska z innymi populacjami Europy test Carmody'ego.

Table IV. Homogeneity of the population of Upper Silesia and other European populations - Carmody's test.

Porównywane populacje Compared populations	test χ^2 test			test G G test			Homogenne p>0.05 Homogeneous p>0.05 Niehomogenne p<0.05 Non-homogeneous p<0.05
		p	SE	G	p	SE	
Górny Śląsk Upper Silesia	3.1627	0.5370	0.0158	3.2264	0.5280	0.0158	Tak / yes
Niemcy (13) Germany	6.9132	0.2900	0.0143	7.6546	0.2930	0.0144	Tak / yes
Hiszpanie (7) Spanish	4.0057	0.5400	0.0157	5.0308	0.4600	0.0158	Tak / yes
Węgrzy (5) Hungarian	24.12.02	0.0000	0.0000	28.7947	0.0000	0.0000	Nie / no
Węgierscy Romowie (4) Hungarian Romany							
Turcy (13) Turks	7.7376	0.1620	0.0017	8.1451	0.1670	0.0118	tak / yes
POPULACJA EUROPEJSKA EUROPEAN POPULATION	64.5533	0.0010	0.0010	72.1611	0.0000	0.0000	Nie / no
POPULACJA EUROPEJSKA z wyłączeniem Węgierskich Romów European population without of Hungarian Romany	25.7858	0.3630	0.0152	26.4637	0.3410	0.0150	Tak / yes

Tabela V obrazuje statystyczne porównanie homogenności rozkładu częstości alleli pomiędzy badaną populacją Górnego Śląska, a innymi populacjami świata. W locus LPL na poziomie istotności 0.05 populacja Marokańczyków i Białych Amerykanów nie wykazała znamienych statystycznie różnic (8, 13). Natomiast znamienne statystycznie różnice w rozkładzie alleli obserwowano

w badanych populacjach: Japończyków, Chińczyków, Papuasów, Aborygenów, Czarnych Amerykanów i Hiszpańskich Amerykanów (8, 13).

Tabela V. Homogenność populacji Górnego Śląska z innymi populacjami świata - test Carmody'ego.

Table V. Homogeneity of the population of Upper Silesia and other world populations - Carmody's test.

Porównywane populacje Compared populations	test χ^2 test			test G G test			Homogenne p>0.05 Homogeneous p>0.05 Niehomogenne p<0.05 Non-homogeneous p<0.05
	χ^2	P	SE	G	P	SE	
Górny Śląsk Upper Silesia	8.0737	0.0000	0.0000	64.5357	0.0000	0.0000	Nie / no
Japończycy (13) Japanese	22.7237	0.0010	0.0010	24.4941	0.0010	0.0010	Nie / no
Chińczycy (13) Chinese	8.2089	0.1100	0.0099	8.6055	0.1130	0.0100	tak / yes
Marokańczycy (13) Maroccans	127.6992	0.0000	0.0000	139.0311	0.0000	0.0000	Nie / no
Papuasi (13) Papuans	14.0228	0.0160	0.0040	16.5876	0.0110	0.0033	Nie / no
Aborygeni (13) Aborigines	24.6586	0.0000	0.0000	25.9575	0.0000	0.0000	Nie / no
African-Americans (5)							Tak / yes
Czarni Amerykanie	3.5182	0.6510	0.0151	3.8758	0.6540	0.0150	Nie / no
Caucasian-Americans (5)							
Biali Amerykanie	10.5538	0.0630	0.0077	11.2360	0.0670	0.0079	
Hispanic-Americans (5)							
Hiszpańscy Amerykanie							
POPULACJE ŚWIATA WORLD POPULATIONS	611.6006	0.0000	0.0000	478.2935	0.0000	0.0000	Nie / no

W tabeli VI ukazano charakterystykę statystyczną układu LPL, gdzie: siła dyskryminacji PD = 0.8589, heterozygotyczność obserwowana i oczekiwana wynosi 0.7211 oraz 0.7102 \pm 0.0109, prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności profilu genetycznego PM - 0.1419, zawartość informacji polimorficznej - wartość PIC 0.6569, wreszcie siła wykluczająca układu PE odpowiednio równa się 0.4616.

Tabela VI. Wartości statystyczne locus LPL wyliczone na podstawie badań własnych.

Table VI. Statistical parameters of the LPL system estimated on my own examinations.

Układ System	PD	H _c cz	MEC	PM	PIC	MEP
LPL	0.8581	0.7102	0.4580	0.1419	0.6569	0.4616

Dla zobrazowania przydatności lokus LPL w tabeli VII przedstawiono porównanie parametrów statystycznych tego lokus z parametrami innych markerów genetycznych (CSF1PO, TPOX, TH01, F13B, HPRTB, F13A01, FESFPS, VWA, D13S317, D7S820, D16S539) (3, 6, 9, 10, 11, 12).

Tabela VII. Porównanie własności statystycznych układu LPL z innymi układami STR.
Table VII. Comparison of statistical parameters of the LPL system with other systems.

Układ System	PD	PIC	MEC	PM	Hocz.	MEP
LPL (own)	0.8581	0.6569	0.4580	0.1419	0.7102	0.4616
(12)	0.858	0.649	0.504		0.703	0.413
(6)	0.8388	0.6260	0.4240		0.7142	0.4507
F13B (3)	0.8569	0.6447	0.4477		0.6766	0.3930
(12)	0.846	0.629	0.483	–	0.683	0.397
HPRTB (12)	0.886	0.690	0.551		0.731	0.468
(6)	0.8698	0.6834	0.4974	–	0.7314	0.4730
CSF1PO(11)	0.8664	0.6727	0.4754		0.7251	0.4635
TPOX(11)	0.8012	0.5593	0.3673		0.6128	0.2678
TH01 (11)	0.8986	0.7168	0.5325		0.7567	0.5314
F13A01 (9)	0.8728	0.6694	0.4785		0.7424	0.4623
FESFPS (9)	0.8527	0.6403	0.4388		0.7304	0.4210
VWA (9)	0.9334	0.7755	0.6136		0.8555	0.6083
D13S317(10)	0.9290	0.7626	0.6017		0.7809	0.5831
D7S820 (10)	0.9348	0.6159	0.6159		0.7865	0.6192
D16S539 (10)	0.8908	0.6995	0.5120		0.7662	0.5008

Uzyskane wartości statystyczne charakteryzujące lokus STR LPL istotne dla badań spornego ojcostwa i identyfikacji śladów biologicznych nie odbiegają od wyników uzyskanych dla innych regionów Polski (6,12).

Zestawione parametry statystyczne, które stanowią ważny element przy przeprowadzaniu badań i wydawaniu opinii wskazują że układ ten może stanowić użyteczne narzędzie w identyfikacji osobniczej ze wskazaniem na dużą przydatność tego markera w badaniach kryminalistycznych. Parametry te kształtują się podobnie jak dla systemów STR F13B, CSF1PO, TPOX, FESFPS. Wartość współczynników MEP i MEC, wskazuje że marker LPL może być z dużym powodzeniem stosowany w badaniach kompleksowych w połączeniu z innymi markerami DNA.

products separated on rehydratable polyacrylamide gels and stained with silver. *Bio Techniques* 1989, 7, 736. -2. Bassam B.J., Caetano-Anolles G., Gresshoff P.M.: Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 1991, 196, 80-83. -3. Czerski T., Kozioł P., Monies D., Mądro R.: Badania układu F13B w populacji Polski Południowo-Wschodniej. *Z Zagadnień Nauk Sądowych* 1998, 38, 126-137. -4. Furedi S., Kozma Z., Wolier J., Padar Z., Angyal M., Bajnóczky I., Nishi K.: Population genetic data on four STR loci in a Hungarian Romany population. *Int. J. Legal Med.*, 1998, 112, 72-74. -5. Furedi S., Wolier J., Padar Z.: A population study of the STR loci HumLPL, HumF13B and HumF13A01 in Hungary. *Int. J. Legal Med.* 1997, 110, 107-108. -6. Kozioł P., Czerski T., Mądro R.: HumF13B, HumLPL and HumHPRTB in southeast Poland. *Int. J. Legal Medicine* 1999, 113, 55-57. -7. Martin P., Garcia O., Albarran C., Sancho M.: A Spanish population study of the STR loci HumLPL, D5S818, D7S820 and D13S317. *Int. J. Legal Med.* 1998, 112, 70-71. -8. Promega Corp. Gene Print™ STR Systems (Silver Stain Detection), Revised ed., June 1998. -9. Raczek E.: Population data on the three STR (FFV) loci in the Upper Silesia (Poland). *J. Forensic Sci.*, 2001, 46, 6, 1522. -10. Raczek E.: Population data on the three STR loci in the Upper Silesia (Poland). *J. Forensic Sci.*, 2002, 47, 1, 228.

11. Raczek E., Drożdżiak K., Kabiesz J.: Polimorfizm loci typu STR: TH01, TPOX i CSF1PO w populacji Górnego Śląska; ich przydatność do badań spornego ojcostwa. *Z Zagadnień Nauk Sądowych* 2001, 45, 81-92. -12. Turowska B, Sanak M., Opolska-Bogusz B.: Częstości alleli układów STR: LPL, F13B i HPRTB w populacji Polski Południowej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 1999, 49, 149-152. -13. Takeshita H., Meyer E., Brinkmann B.: The STR loci HUMTPO and HumLPL: population genetic data in eight populations. *Int. J. Legal Med.* 1997, 110, 331-333.

Adres pierwszego autora:
Katedra Medycyny Sądowej Śląskiej AM
ul. Medyków 18
40-752 Katowice

PIŚMIENNICTWO

1. Allen R.C., Graves G., Budowle B.: Polymerase chain reaction amplification