

Lidia Cybulska, Zofia Szczerkowska, Joanna Wysocka, Krzysztof Rębała

Polimorfizm chromosomu X – STR loci DXS7108 i DXS1196 w populacji Polski północnej

Polymorphism of X-STR loci DXS7108 and DXS1196 in the Northern Polish population

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku
Kierownik: dr hab. Z. Szczerkowska – profesor AM

W pracy przedstawiono wyniki badań populacyjnych dwóch mikrosatelitarnych loci typu STR znajdujących się na chromosomie X. Badaniom poddano próbki DNA 298 niespokrewnionych osób (kobiet i mężczyzn) z terenu Polski północnej. DNA izolowano metodą nieenzymatyczną, po amplifikacji produkty PCR rozdzielano na automatycznym sekwenatorze DNA ABI PRISM 310. Rozkład częstości alleli analizowanej populacji wykazał zgodność z regułą Hardy-Wainberga. W oparciu o uzyskane wyniki obliczono wybrane parametry statystyczne (PD, HET, MEC) wykazując przydatność analizowanych loci w medycynie sądowej.

This paper describes results of a population study of two X-linked STR microsatellite markers: DXS7108 and DXS1196. 298 samples of DNA of unrelated persons (male and female) from the Northern part of Poland were analyzed. DNA was isolated using a non – enzymatic method. After amplification PCR products were separated by means of capillary electrophoresis using the ABI PRISM 310 Genetic Analyzer. The most common alleles of each locus were sequenced and used as a control ladder to type unknown samples. Testing for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) showed no significant deviation for these two loci. Statistical parameters (PD, HET, MEC) showed that examined systems are useful in forensic medicine.

Słowa kluczowe: STR, ludzki chromosom X, loci DXS7108 i DXS1196, genetyka populacyjna
Key words: STR, human X chromosome, loci DXS7108 and DXS1196, population genetics

WSTĘP

Krótkie sekwencje repetytywne typu STR rozproszone w ludzkim genomie zostały szeroko wykorzystane w genetyce sądowej zarówno w identyfikacji osób czy śladów biologicznych jak i w dochodzeniu ojcostwa. Początkowo skupiono się na polimorfizmie autosomalnych loci, czego dowodem są liczne publikacje na ten temat, później zainteresowano się również polimorfizmem chromosomów płci, najpierw Y (7, 9, 10) a obecnie również zróżnicowaniem w obrębie chromosomu X (3, 5, 6, 11).

Polimorfizm mikrosatelitarnych markerów loci STR umiejscowionych na chromosomie X może być szczególnie przydatny w przypadkach ustalania ojcostwa gdy spornym dzieckiem jest córka, w sprawach o dochodzenie ojcostwa gdy kwestionowane jest ojcostwo jednej z sióstr (12), a także np. w sytuacji gdy domniemany ojciec jest nieobecny, wówczas markery chromosomu X, wykazane u matki pozwanego (babki małoletniej powódki) i dziecka, pozwolą na wnioskowanie odnośnie ojcostwa.

Polimorficzne sekwencje chromosomu X znajdują również zastosowanie w przypadkach zgwałcenia. Markery z chromosomu X kobiety, wykrywane na ciele lub odzieży sprawcy posiadającego inne niż ofiara allele w analizowanych loci tego chromosomu, mogą stanowić dowód przestępstwa.

Dotychczasowe badania nad zróżnicowaniem w obrębie loci DXS7108 i DXS1196 wykazały w locus DXS7108 7 alleli o wielkościach od 238-258 pz

i odpowiednio 11 alleli w locus DXS1196 zawartych w przedziale wielkości od 210-230 pz. Jednostkę repetytywną w obu przypadkach stanowi sekwencja dwunukleotydowa (CA)_n

MATERIAŁ I METODY

Materiał biologiczny stanowiła krew pełna pobrana na antykoagulant (EDTA), pochodząca od 298 niespokrewnionych osób (kobiet i mężczyzn) z obszaru populacji Polski północnej. Izolację DNA i pomiar jego stężenia przeprowadzono opisanymi uprzednio metodami (2).

Amplifikację loci DXS7108 oraz DXS1196 prowadzono w warunkach podanych przez producenta zestawu ABI PRISM Linkage Mapping (8). Produkty reakcji PCR rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej (2) z zastosowaniem automatycznego sekwenatora ABI PRISM 310.

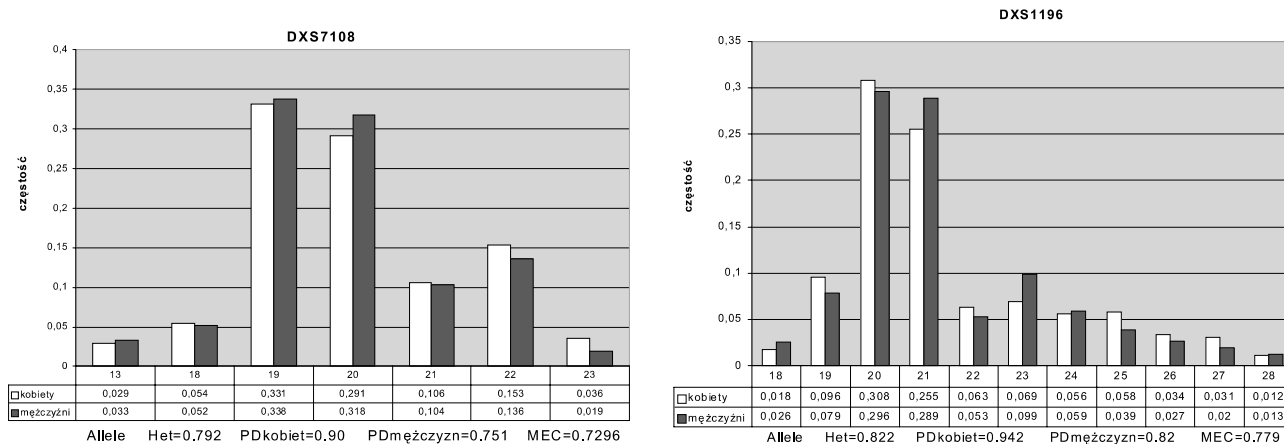
W celu określenia jakości i ilości jednostek repetytywnych allele różniące się między sobą wielkościami fragmentów poddano sekwencjonowaniu przy użyciu zestawu BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 1.1 (Applied Biosystems) stosując nieznakowane fluorescencyjnie startery P^F o sekwencji 5' – CTA AAT TCT CCT CCA CCG TG – 3' dla locus DXS1196 i odpowiednio 5' – GCT AAA ATA GAT GCT CAA TAT AAT G – 3' dla locus DXS7108 (2, 9). W niniejszej pracy zastosowano nazewnictwo alleli zgodnie z wytycznymi komisji ISFG (4).

WYNIKI I DYSKUSJA

Rozkład częstości alleli loci DXS7108 i DXS1196 oraz wybrane parametry statystyczne w analizowanej populacji z terenu Polski północnej przedstawiono na rycinie 1.

Ryc. 1. Rozkład częstości alleli loci DXS7108 i DXS1196 w populacji kobiet i mężczyzn oraz parametry statystyczne przydatne w medycynie sądowej.

Fig. 1. Allele frequency distribution of the DXS7108 and DXS1196 in the female and male population and statistical usefulness in forensic genetics parameters.



W badanej populacji 298 osób wykazano 7 różnych alleli locus DXS7108: 13, 18, 19, 20, 21, 22, 23 – najczęstszymi były allele 19 i 20. Odpowiednio w locus DXS1196 wykazano 11 różnych alleli: 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 wśród nich najczęstszymi były allele 20 i 21. W zakresie obu markerów genetycznych wykazano zgodność z prawem Hardy-Weinberga.

Na podstawie uzyskanych wyników obliczono parametry statystyczne, wykazano wysoką przydat-

ność loci DXS7108 i DXS1196 w medycynie sądowej: w badaniach identyfikacyjnych oraz w dochodzeniu ojcostwa.

Porównanie częstości rozkładu alleli loci DXS7108 i DXS1196 pomiędzy danymi z populacji Polski północnej oraz populacji kaukaskiej (1) przedstawiono w tabeli I.

Tab. I. Rozkład częstości alleli loci DXS7108 i DXS1196 w populacji Polski północnej i populacji kaukaskiej.
 Tab. I. Distribution frequencies of loci DXS7108 and DXS1196 alleles in the Northern Polish and Caucasian population.

ALLEL	DXS7108		ALLEL	DXS1196	
	Polska północna N=298	Populacja kaukaska N=106		Polska północna N=298	Populacja kaukaska N=106
13	0,0336	0,0283	18	0,0157	-----
14	-----	-----	19	0,0830	0,1038
15	-----	-----	20	0,2960	0,3019
16	-----	-----	21	0,2601	0,2830
17	-----	0,0189	22	0,0740	0,0472
18	0,0471	0,0189	23	0,0762	0,1038
19	0,3318	0,2925	24	0,0561	0,0189
20	0,2937	0,3491	25	0,0605	0,0283
21	0,1009	0,0849	26	0,0336	0,0283
22	0,1547	0,1981	27	0,0336	0,0660
23	0,0382	0,0189	28	0,0112	0,0189

Wykazano zgodność częstości większości alleli w obu populacjach, najczęstszymi allelami w locus DXS7108 były allele 19 i 20, w naszej populacji zaobserwowano brak allela 17. Podobną zgodność obserwowano w zakresie częstości alleli locus DXS1196, najczęstszymi były allele 20 i 21, w populacji kaukaskiej wykazano brak allela 18.

Badania nad polimorfizmem kolejnych markerów loci X-STR w naszej populacji są kontynuowane. Wyniki zostaną opublikowane w późniejszym czasie.

PIŚMIENNICTWO

1. CEPH Genotype Database (<http://www.ceph.fr/cephdb>).
2. Cybulska L., Szczerkowska Z.: Polimorfizm locus DXS1062 w populacji polskiej. *Archiwum Med. Sąd. Krym.*, 2004, LIV, 95-100.
3. Desmarais D., Zhong Y., Chakraborty R., Perreault C., Busque L.: Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA): *J Forensic Sci* 1998, 43, 1046-1049.
4. DNA recommendations-further report of the DNA Commission of the ISFG regarding the use of short tandem repeat systems: *Forensic Sci. Int.* 1997, 87, 179-184.
5. Edelmann J. et al.: Advantages of X-chromosomal microsatellites in deficiency paternity testing: presentation of cases. *Progress In forensic Genetics* 10, vol. 1261, Elsevier, ICS, 2004, 257-259.
6. Matsushita H., Nakamura S., Nagai T., Nakamura M., Sugite H., Furukawa M., Komuro T., Kurihara K.: Allele frequencies of dinucleotide repeat loci on the X chromosome in the Japanese population. *Forensic Sci. Int.* 2002, 129, 134-136.
7. Pascali V. L., Dobosz M., Brinkmann B.: Coordinating Y-chromosomal STR research for the courts. *Int. J. Legal Med.* 1998 112: 1.
8. PE Applied Biosystems ABI PRISM Linkage Mapping Set (Version 2): User's Manual 2003.
9. Rębała K., Szczerkowska Z.: Identyfikacja bardzo krótkiego allela YCAII w populacji północnej Polski. *Archiwum Med. Sąd. Krym.*, 2004, LIV, 17-24.
10. Roewer L., Arnemann J., Spurt N. K., Grzeschik K. H., Epplen J. T.: Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum. Genet.* 1992, 89, 389-394.
11. Szibor R., et al.: Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int. J. Legal Med.* 117 (2003) 67-74.
12. Toni Ch., Presciuttini S., Spinetti I., Domenici R.: Population data of four X-chromosome markers in Tuscany, and their use in a deficiency paternity case. *Forensic Sci. Int.* 2003, 137, 215-216.

Adres autorów:
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. Dębowa 23
80-210 Gdańsk