

**Jerzy Janica, Witold Pepiński, Małgorzata Skawrońska, Anna Niemcunowicz-Janica,
Ewa Koc-Żórawska**

Polimorfizm 10 autosomalnych loci STR w populacji Podlasia – rozszerzenie typowego panelu badawczego

Polymorphism of 10 autosomal STRs in a population sample of Podlasie (NE Poland) – an extension to the STR core set

Z Zakładu Medycyny Sądowej AM w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. J. Janica

Celem pracy było określenie częstości alleli 10 autosomalnych loci STR człowieka oraz obliczenie parametrów ich przydatności w badaniach medyczno-sądowych. Badania populacyjne przeprowadzono na 220 próbkach krwi obwodowej pobranych od niespokrewnionych osób obojga płci narodowości polskiej wywodzących się z regionu Podlasia. Obserwowane rozkłady częstości genotypów badanych loci znajdują się w równowadze Hardy-Weinberga. Analizowane systemy wykazują wysoką informatywność i mogą być przydatne w przypadkach wymagających rozszerzenia panelu badawczego opartego na systemie CODIS.

Population genetic data for 10 STRs included in the Humantype Chimera kit were obtained by multiplex PCR and subsequent automated fluorescent detection (ABI 310) from a sample of 220 unrelated individuals of Polish ancestry residing in north-eastern Poland. The genotype distributions conformed to HWE for all the analysed loci. The highly polymorphic systems exhibit a high informativeness and may be helpful in cases requiring an extension of the CODIS loci system, particularly in kinship analysis and deficiency cases.

Słowa kluczowe: loci STR, genetyka populacyjna, Podlasie

Key words: STRs, population genetics, north-eastern Poland

WSTĘP

Z uwagi na występowanie różnych rozkładów częstości cech loci STR w populacjach, w celu określenia wartości prawdopodobieństwa opisujących losową szansę wystąpienia profilu DNA, prowadzone są badania mające na celu określenie częstości obserwowanych genotypów i alleli. Poza aspektem medyczno-sądowym, genotypowanie loci mikrosatelitarnych znalazło zastosowanie w celu rozróżniania komponenty komórkowej dawcy i biorcy w monitorowaniu przeszczepów szpiku kostnego. Zastosowanie multipleksowych zestawów markerów mikrosatelitarnych, o odpowiedniej sile dyskryminacji oraz zautomatyzowanej techniki opartej na detekcji fluorescencyjnej, pozwala na jakościową i ilościową ocenę stopnia chimeryzmu na podstawie parametrów wielkości pików alleli na elektroforegramie. Większość z loci multipleksu Humantype Chimera (Biotype, AG) nie była uwzględniana w istniejących bazach populacyjnych, ani nie jest stosowana w praktyce medyczno-sądowej. Celem badania było określenie rozkładów częstości alleli 10 loci zestawu Humantype Chimera (pomijając D8S1132 i D18S51 wchodzące w skład systemu CODIS) oraz ocena ich przydatności w identyfikacji genetycznej.

MATERIAŁ I METODY

Wymazy nabłonka jamy ustnej pobrano od 220 osób narodowości polskiej zamieszkujących obszar Podlasia. DNA izolowano przy użyciu metody z cheksem 100 i proteinazą K [1]. Pomiary stężenia matrycy DNA wykonano metodą spektrofotometryczną. Matryce DNA w ilości 0,5-1 ng amplifikowano zgodnie z instrukcją producenta (Biotype AG, Germany) w termocyklerze PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) stosując zestaw Humantype Chimera obejmujący 12 loci: D2S1360, D3S1744, D4S2366, D5S2500, D6S474, D7S1517, D8S1132, D10S2325, D12S391, D18S51, D21S2055, SE33 (ACTBP8) oraz amelogeninę. Informacje o analizowanych systemach przedstawiono w tabeli I. Genotypowanie przepro-

wadzono przy użyciu analizatora ABI 310 (Applied Biosystems, USA) stosując polimer POP-4 i referencyjne drabiny alleli zawarte w zestawie. Program Genotyper v2.5 użyto w połączeniu z makrem udostępnionym w pliku Humantype Chimera Template File. Jako standard wewnętrzny wykorzystano DNA Size Standard 550 znakowany fluorochromem ROX. Zgodność z rozkładem Hardy-Weinberga (HWE) oraz analizę sprzężeń w parach loci sprawdzano stosując test dokładny Fishera [2] zawarty w oprogramowaniu GDA v1.2 [3]. Dodatkowo obliczono wartości obserwowanej heterozygotyczności, wskaźnika informacji o polimorfizmie (PIC) [4], teoretycznej szansy wykluczenia (MEC) [5] oraz siły dyskryminacji (PD) i prawdopodobieństwa przypadkowej zgodności (MP) [6].

Tabela I. Informacje o analizowanych loci.

Table I. Data on the analyzed loci.

Locus	Lokalizacja chromosomowa Chromosomal location	Wielkość (pz) Length (bp)	Znacznik fluorescencyjny Fluorescent dye
D7S1517	7q22	106-154	6-FAM
D3S1744	3p22	167-204	6-FAM
D12S391	12p12	212-266	6-FAM
D2S1360	2p22	281-330	6-FAM
D6S474	6q21-22	353-373	6-FAM
D5S2500	5p13	183-220	HEX
D21S2055	21q22	348-432	HEX
D10S2325	10p12	113-184	NED
SE33	6q14.2	201-371	NED
D4S2366	4p16-15.2	430-455	NED

WYNIKI I WNIOSEK

Częstości alleli i parametry biostatystyczne obliczone w populacji Podlasia dla 10 markerów mikrosatelitarnych, nie objętych systemem CODIS, przedstawiono w tabeli II. Dla wszystkich analizowanych loci rozkłady częstości genotypów były zgodne z rozkładami wyznaczonymi w oparciu

o regułę Hardy-Weinberga ($0,1149 < P < 0,9842$). Wyniki testu dokładnego użytego w celu analizy naruszenia równowagi sprzężeń nie wykazały zależności między rozkładami częstości genotypów poszczególnych par loci ($0,0974 < P < 0,9968$). Oceniane loci charakteryzuje się łączną wartością MP wynoszącą $9,67 \times 10^{-15}$ i łączną wartością MEC wynoszącą 0,99999.

Tabela II. Częstości alleli i parametry biostatystyczne dla 10 loci autosomalnych w próbkę populacyjnej Podlasia.
 Table II. Allele distribution and biostatistical parameters for 10 autosomal STRs in a population sample of north-eastern Poland.

D7S1517		D10S2325		D12S391		D2S1360		D21S2055		SE33	
16	0,007	6	0,002	15	0,035	19	0,007	16.1	0,056	11	0,002
17	0,007	7	0,102	16	0,019	20	0,126	17.1	0,021	12	0,014
18	0,049	8	0,056	17	0,107	21	0,060	18.1	0,023	13	0,002
19	0,120	9	0,121	17.3	0,021	22	0,309	19.1	0,275	13.2	0,002
20	0,101	10	0,142	18	0,215	23	0,142	20.1	0,040	14	0,026
21	0,099	11	0,144	18.3	0,007	24	0,098	21.1	0,019	15	0,049
22	0,082	12	0,193	19	0,121	25	0,086	22.1	0,005	16	0,047
23	0,077	13	0,133	19.3	0,016	26	0,093	23	0,007	17	0,070
24	0,155	14	0,065	20	0,117	27	0,035	25	0,112	17.3	0,002
25	0,230	15	0,037	21	0,093	28	0,023	26	0,116	18	0,044
26	0,054	16	0,005	22	0,114	29	0,012	27	0,016	18.3	0,002
27	0,014			23	0,072	30	0,002	28	0,007	19	0,082
28	0,005			24	0,040	31	0,005	29	0,030	19.2	0,009
				25	0,021	32	0,002	30	0,021	20	0,044
				26	0,002			31	0,023	20.2	0,009
Het	0,826	Het	0,851	Het	0,893	Het	0,856	32	0,026	21	0,035
PIC	0,86	PIC	0,86	PIC	0,87	PIC	0,82	33	0,067	21.2	0,019
PD	0,967	PD	0,967	PD	0,971	PD	0,955	34	0,074	22	0,007
MEC	0,710	MEC	0,718	MEC	0,698	MEC	0,682	35	0,053	22.2	0,035
								36	0,007	23.2	0,023
								37	0,002	24	0,002
D6S474		D5S2500		D3S1744		D4S2366		Het	0,856	24.2	0,035
13	0,246	9	0,007	13	0,007	9	0,347	PIC	0,87	25.2	0,044
14	0,212	10	0,084	14	0,104	10	0,179	PD	0,971	26.2	0,042
15	0,154	11	0,313	15	0,053	11	0,074	MEC	0,752	28	0,084
16	0,286	12	0,161	16	0,100	12	0,147			28.2	0,084
17	0,097	13	0,061	17	0,319	13	0,168			29.2	0,052
18	0,005	14	0,042	18	0,197	14	0,074			30	0,002
		15	0,213	19	0,13	15	0,011			30.2	0,063
		16	0,103	20	0,067					31.2	0,028
		17	0,009	21	0,023					32.2	0,023
		18	0,007							33	0,009
Het	0,733	Het	0,804	Het	0,792	Het	0,795			33.2	0,005
PIC	0,74	PIC	0,78	PIC	0,79	PIC	0,76			34	0,002
PD	0,918	PD	0,938	PD	0,943	PD	0,919			36	0,002
MEC	0,608	MEC	0,628	MEC	0,640	MEC	0,614			Het	0,949
										PIC	0,95
										PD	0,990
										MEC	0,896

Het: heterozygotyczność obserwowana, PIC: wskaźnik informacji o polimorfizmie, PD: siła dyskryminacji, MEC: średnia szansa wykluczenia

Het: observed heterozygosity, PIC: polymorphism information content, PD: power of discrimination, MEC: mean exclusion chance

Analizowane systemy wykazują bardzo wysoką informatywność i mogą być przydatne w przypadkach wymagających rozszerzenia panelu badawczego opartego na systemie CODIS.

PIŚMIENNICTWO

1. Wiegand P., Bajanowski T., Brinkmann B.: PCR typing of debris from fingernails. *Int. J. Legal Med.* 1993, 106, 81-84.

2. Guo S. W., Thompson E. A.: Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics.* 1992, 48, 361-372.

3. Lewis P. O., Zaykin D.: Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.

4. Botstein D., White R. L., Skolnick M., Davies R. W.: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 1980, 32, 314-331.

5. Brenner C., Morris J. W.: Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes validation and other studies. *Proceedings from International Symposium of Human Identification.* Promega Corp. 1989, p. 23-53.

6. Jones D. A.: Blood samples: probabilities of discrimination. *J. Forensic Sci. Soc.* 1972, 12, 355-359.

Adres autorów:

Zakład Medycyny Sądowej AMB

15-269 Białystok

ul. Waszyngtona 13

e-mail: pepinski@amb.edu.pl (W. Pepinski)