

Reaction Kits. -9. Rębała K., Szczerkowska Z.: Identyfikacja bardzo krótkiego allela YCAII w populacji północnej Polski. Arch. Med. Sąd. Krym., 2004, 54, 1, 17-24.

Adres pierwszego autora,  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM  
ul. Dębowa 23  
80-210 Gdańsk

**Ewa Raczek**

## Rzadkie, pozadrabinowe allele w STRowych loci w populacji Górnego Śląska

### **Rare, out-ladder alleles at the STR loci in the Upper Silesia population**

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

W populacji Górnego Śląska, wśród uczestników spraw spornego ojcostwa znaleziono rzadkie, pozadrabinowe allele w czterech STRowych loci, rutynowo fenotypowanych w sądowym ustalaniu więzów pokrewieństwa. Allele VWA\*12 i 21, CSF1PO\*16, D13S317\*6 oraz TPOX\*5 wystąpiły odpowiednio z częstością 0.0006 i 0.0006, 0.0005, 0.0006 oraz 0.0005.

Among individuals (participants of paternity testing) from the Upper Silesia region rare, out-ladder alleles in four STRs (routinely used in paternity testing) were found. There are alleles: VWA\*12 and 21, CSF1PO\*16, D13S317\*6 and TPOX\*5 with the following frequency: 0.0006 and 0.0006, 0.0005, 0.0006 and 0.0005.

Słowa kluczowe: STRowe loci, pozadrabinowe allele, populacja górnośląska

**Key words: STR loci, out-ladder alleles, the Upper Silesia population**

### WPROWADZENIE

Wysoce polimorficzne sekwencje genomowego DNA typu STR (short tandem repeat) są nieocenione w opiniowaniu spraw spornego ojcostwa. Rutynowo, w sądowym ustalaniu ojcostwa w KMS ŚAM w Katowicach oznacza się je od 1999 roku. Obecnie badane osoby fenotypuje się w 12 STRowych loci w oparciu o drabiny alleliczne, będące zbiorem powszechnie występujących alleli w danym lokus.

Jednak wśród osobników z regionu Górnego Śląska znaleziono rzadkie, pozadrabinowe allele w czterech spośród 12 loci. Częstości występowania powszechnych alleli przedstawiają prace Raczek (12, 14) oraz Raczek i wsp., (13).

Niniejsze doniesienie odnotowuje wystąpienie rzadkich alleli VWA\*12 i 21, CSF1PO\*16, D13S317\*6 oraz TPOX\*5.

## MATERIAŁ I METODY

DNA izolowano z krwi osób uczestniczących w sprawach spornego ojcostwa zmodyfikowaną metodą Kunkela i wsp., (5).

Amplifikację, elektroforezę, barwienie srebrem prowadzono zgodnie z rekomendacją Promegi Co., (USA) - producenta zestawów STRowych: CTT, Silver STR III i FFV (3).

Pozadrabinowe allele weryfikowano przez ponowną izolację i amplifikację. W przypadku allele D13S317\*6 przeprowadzono sekwencjonowanie (15).

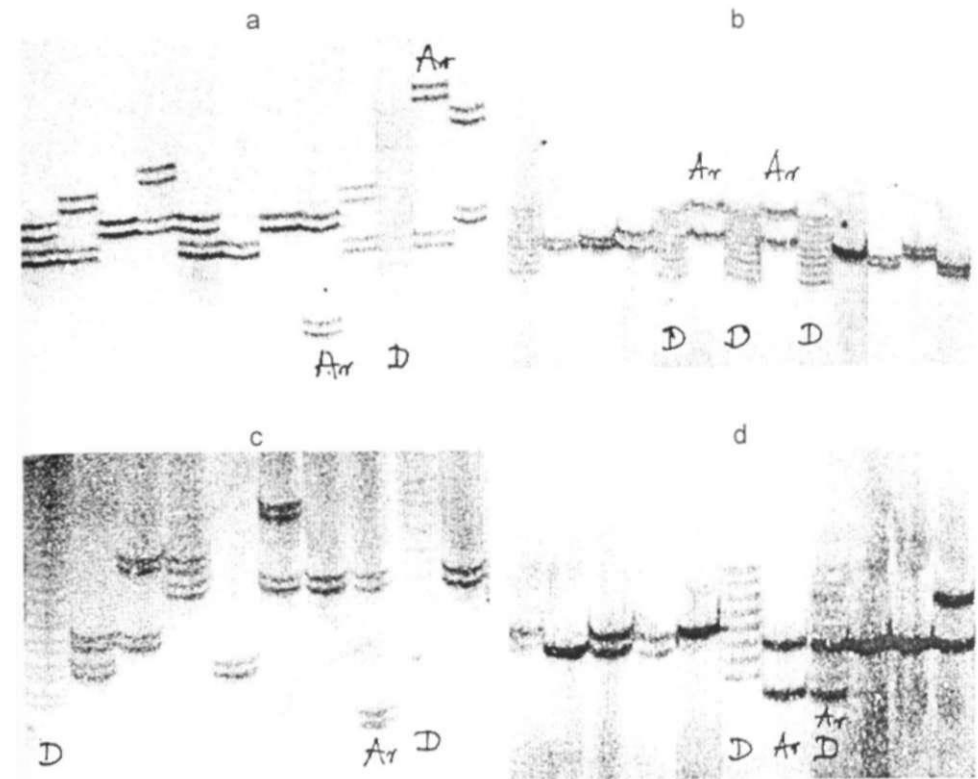
Dla potrzeb niniejszej pracy policzono ponownie częstości alleli w czterech loci, w których spotkano allele pozadrabinowe stosując program komputerowy FatRec (2).

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Lokus VWA znajduje się w obrębie 12 chromosomu (12p12-pter); jest powtórzeniem sekwencji AGAT od 13 do 20 razy w powszechnie występujących allelach o długości od 139-169 pz (3).

Allel VWA\*12 (ryc. 1a) znaleziono u matki dziecka (6/386/03/DNA) w formie heterozygotycznej VWA 12-16. Kobieta nie przekazała go swojemu dziecku. Allel 12 wystąpił w populacji Górnego Śląska u 1 osobnika spośród 860 zbadanych, a więc z częstością 0.0006. Najczęstszy w tym locus allele 17 pojawił się w populacji górnośląskiej 452 razy, czyli z częstością 0.2628.

W genowym banku danych ([www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str\\_vwa.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_vwa.htm)) jest uznany za allel obserwowany o znanej sekwencji TCTA(TCTG)<sub>n</sub>(TCTA)<sub>m</sub>, którą po raz pierwszy opisali Urquhart i wsp., (20). W polskiej populacji allel 12 ponadto znaleziono w Polsce ptn. (10), gdzie pojawił się także drugi z pozadrabinowych alleli spotkanych w locus VWA na terenie Górnego Śląska - allel VWA\*21 (ryc. 1a). Wystąpił on u pozwanego (6/385/03/DNA) w postaci heterozygoty VWA 15-21. Allela nie odziedziczyło sporne dziecko, gdyż pozwany mężczyzna nie był jego ojcem. Allel 21 jest opisany w literaturze przez Brinkmanna i wsp., (1), którzy podają jego sekwencję TCTA(TCTG)<sub>n</sub>(TCTA)<sub>m</sub>TCCATCTA. W Polsce spotkano go jeszcze w populacji Podlasia (11).



Ryc. 1. Elektroforegramy fenotypów osobników z rzadkimi, pozadrabinowymi allelami: VWA\*12 i VWA\*21 (a), CSF1PO\*16 (b), D13S317\*6 (c) i TPOX\*5 (d).

D - drabina alleliczna, A - allel pozadrabinowy

Fig. 1. Electrophoregrams of individual phenotypes with rare, out-ladder alleles: VWA\*12 and VWA\*21 (a), CSF1PO\*16 (b), D13S317\*6 (c) and TPOX\*5 (d).

D - allelic ladder, A - out-ladder allele

Lokus CSF1PO jest związane z 5 chromosomem (5q33.3-q34) i powtarza sekwencję AGAT powszechnie od 7 do 15 razy dając allele o długości 295-327 (3).

Allel CSF1PO\*16 (ryc.1b) znaleziono u pozwanego (6/10/04/DNA) w postaci heterozygoty CSF1PO 12-16; mężczyzna przekazał go swojemu potomstwu: córce (P=0.9999994, PI=1708239) i synowi (P=0.999997, PI=375674) - bliźniętom dwujajowym. Tak więc allel 16 wystąpił u 3 spokrewnionych ze sobą osobników ale tylko u 1 osobnika spośród 920 zbadanych niespokrewnionych dorosłych, czyli z częstością 0.0005. Najczęstszy w locus CSF1PO allel 12 pojawia się na Górnym Śląsku z częstością 0.2989.

Allel 16 w genowej bazie STR ([www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str\\_csf.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_csf.htm)) uznano za obserwowany po podaniu jego sekwencji przez Margolis-Nunno

i wsp., (7). W tym samym czasie (rok 2001) w polskiej populacji allel CSF1PO\*16 zsekwencjonowała i opisała Szczerkowska i wsp., (17), ale tego faktu nie odnotowuje ani genowa baza danych ani ostra dyskusja dotycząca zasadności użycia przez Margolis-Nunno i wsp., (7) stwierdzenia „previously unreported size variant, CSF1PO” (8, 21). W polemikach cytuje się publikację na temat wystąpienia allela 16 w jednej z polskich populacji (8, 21), ale nie jest to praca Szczerkowskiej i wsp., (17).

Lokus D13S317 to locus z chromosomu 13 (13q22-q31), w którym sekwencja TATC (GATA) powtarza się powszechnie od 7 do 15 razy, dając allele o długości od 165-197pz (3).

Allel D13S317\*6 (ryc. 1c) wystąpił w formie heterozygoty D13S317 6-11 u pozwanego (6/15/02/DNA); mężczyzna nie przekazał rzadkiego allela swemu dziecku ( $P=0.99986$ ,  $PI=7193$ ), czyli allel 6 wystąpił u 1 osobnika wśród 831 zbadanych z regionu Górnego Śląska ( $f=0.0005$ ).

W STRowej bazie danych ([www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str\\_d13s.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_d13s.htm)) allel D13S317\*6 jest wymieniony kilkakrotnie ale jako variant allel, czyli dotychczas nie opisano jego sekwencji. We współpracy z Wolańską-Nowak 1 Kupcem (IES - Kraków) podjęto próbę ustalenia sekwencji allela 6 w lokus D13S317; wyniki są zaskakujące. Przedstawiono je na 13. Międzynarodowym Zjeździe Medycyny Sądowej regionu Alpe-Adria-Pannonia w Grazu (15). Wykazano rozbieżności między sekwencją kanoniczną w powszechnie występującym allelu 11 a pozadrabinowym 6. Natomiast w obu allelach stwierdzono odmienność liczby powtarzanej sekwencji, liczonej w odniesieniu do długości fragmentu oznaczanego allela i tej liczonej z doświadczenia sekwencjonowania. Podobną sytuację opisuje Lins i wsp., (6) w allelu 10 z tegoż lokus, podając dwie jego wariantowe sekwencje. W polskiej populacji allel 6 spotkano w Polsce pld.-wsch. (4); próba jego zsekwencjonowania zakończyła się analogicznymi spostrzeżeniami (Kozioł - korespondencja prywatna). Kontynuacja sekwencjonowania innych alleli lokus D13S317, szczególnie tych występujących u osobników homozygotycznych pod względem badanego allela, być może wyjaśni złożoność struktury alleli lokus D13S317.

Lokus TPOX jest umiejscowione w 2 chromosomie (2p25.1-pter); sekwencja kanoniczna to AATG, powtarzana od 6 do 13 razy daje powszechnie występujące allele o długości 224-252 pz (3).

Allel TPOX\*5 (ryc. 1d) oznaczono u pozwanego (6/48/03/DNA) w formie heterozygoty TPOX 5-8, mężczyzna nie przekazał go swojemu dziecku ( $P=0.99924$ ,  $PI=1320$ ).

W STRowej bazie ([www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str\\_tpoX.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_tpoX.htm)) występuje jako wariant, dotychczas nie poznano jego sekwencji, a tylko zweryfikowano obecność - podobnie jak w tej pracy - poprzez reamplifikację. W populacji górnośląskiej allel TPOX\*5 wystąpił u 1 osobnika spośród 958 zbadanych, niespokrewnionych dorosłych, czyli z częstością 0.0005. Najczęstszy w tym lokus allel 8 pojawił się 1089 razy, a więc z częstością 0.5684. Nie spotkano doniesienia o obecności allela 5 w innych regionach Polski (9, 11).

Przedstawione rzadkie, pozadrabinowe allele z czterech STRowych loci: VWA, CSF1PO, D13S317 i TPOX, rutynowo oznaczanych w sprawach spornego ojcostwa, świadczą o nieustającym procesie zmian zachodzących w ludzkim

genomie, ewolucji tegoż. Z innej strony - opiniodawczej - mogą stanowić znak zapytania przy ustalaniu pokrewieństwa w przypadku możliwości różnorodności sekwencji tego samego allela występującego w homozygotycznej parze: pozwany-dziecko - analogia z podtypami fenotypów fosfoglukomutazy z ekspertyzy I°.

## PIŚMIENNICTWO

Brinkmann B., Sajantila A., Goedde H.W., Matsumoto H., Nishi K., Wiegand P.: Population genetic comparison among eight populations using allele frequency and sequence data from three microsatellite loci. *Eur. J. Hum. Genet.*, 1996, 4, 175-182. -2. Dudek G.: Komputerowy program FatRec do obliczeń statystycznych stosowanych w genetyce populacyjnej, 2002. -3. Gene Print STR Systems (Silver Stain Detection). technical manual, Promega Co., USA, 4/01. -4. Kozioł P., Ciesielka M., Mądro R., Krajka A.: Genetic data on 19 STR loci in south-east Poland. *Forensic Sci. Int.*, 2004, 139, 89-92. -5. Kunkel L.M., Smith K.D., Boyer S.H., Borgaonkar D.S., Wachtel S.S., Miller O.J., Berg W.R., Jones H.W., Rary J.M.: Analysis on human Y-chromosome - specific reiterated DNA in chromosome variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977, 74, 1245-1249. -6. Lins A.M., Micka K.A., Sprecher C.J., Taylor J.A., Bacher J.W., Rabbach D.R., Bever R.A., Creacy S.D., Schumm J.W.: Development and population study of an eight locus short tandem repeat (STR) multiplex system. *J. Forensic Sci.*, 1998, 43, 1168-1180. -7. Margolis-Nunno H., Brenner L., Cascardi J., Kobilinsky L.: A new allele of the short tandem repeat (STR) locus CSF1PO. *J. Forensic Sci.*, 2001, 46, 1480-1483. -8. Margolis-Nunno H., Kobilinsky L.: Authors response. *J. Forensic Sci.*, 2002, 47. -9. Miścicka-Śliwka D., Czarny J., Grzybowski T., Woźniak M.: Population genetics of 14 STRs: VWA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820, D16D539, F13A01, FESFPS, F13B, LPL, D3S1358 and FGA in the Pomerania-Kujawy region of Poland. w: *Progress in Forensic Genetics*. wyd. B. Olaisen, B. Brinkmann, P.J. Lincol Elsevier, Amsterdam, 1998, 261-263. -10. Pawłowski R., Dettlaff-Kąkol A., Jezierski G., Maciejewska A., Paszkowska R., Reichert M.: Genetyka populacyjna dziewięciu loci typu STR z zestawu Profiler Plus w próbkce populacyjnej z obszaru Polski. *Arch. Med. Sąd. Krym.*, 2000, 50, 207-213.

11. Pepiński W., Janica J., Skawrońska M., Niemcunowicz-Janica A., Sołtyszewski I.: Genetyka populacyjna 12 loci typu STR w populacji Podlasia. *Postępy Med. Sąd. i Krym.*, 2001, 6, 281-284. -12. Raczek E.: Population data on three STR loci in the Upper Silesia (Poland). *J. Forensic Sci.*, 2001, 46, 1522. -13. Raczek E., Drozdziok K., Kabiesz J.: Polymorphism of the STR loci: TH01, TPOX ana CSF1PO in the population of Upper Silesia; usefullness in disputed paternity testing. *Z Zagadnień Nauk Sądowych*, 2001, 45, 81-92. -14. Raczek E.: Population data on three STR loci in the Upper Silesia (Poland). *J. Forensic Sci.*, 2002, 47, 228. -15. Raczek E., Wolańska-Nowak P., Kupiec T.: Compound structure of variant alleles of D13S317. 13<sup>th</sup> International Meeting on Forensic Medicine Alpe-Adria-Pannonia, Graz, 21-22. Mai, 2004. 28-29. -16. Szczerkowska Z., Antyborzec I.: System silver STR™ multiplex - zastosowanie

w medycynie sądowej. Arch. Med. Sąd. Krym., 2000, 50, 199-206. -17. Szczerkowska Z., Kapińska E., Wysocka J., Jezierski G.: Rzadki wariant STR locus HumCSFIPO. Arch. Med. Sąd. Krym., 2001, 51, 315-319. -18. Turowska M.B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.: Częstości alleli systemów STR: D13S317, D7S820 i D16S539 w populacji Polski Południowej. Arch. Med. Sąd. Krym., 2000.50, 193-197. -19. Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.: Wstępne badania populacji Polski Południowej w zakresie 10 STR loci z zestawu AmpFISTR SGM Plus. Arch. Med. Sąd. Krym., 2001, 51, 93-96. -20. Urquhart A., Oldroyd N.J., Kimpton C.P., Gili P.: Highly discriminating heptaplex short tandem repeat PCR system for forensic identification. Biotechniques, 1995, 18, 116-121.

21. Walsch S.J.: Commentary on article of Margolis-Nunno et al., J.Forensic Sci., 2002, 47.

Adres autora:

Katedra Medycyny Sądowej Śląskiej AM  
ul. Medyków 18  
40-752 Katowice  
e-mail: [medsad@slam.katowice.pl](mailto:medsad@slam.katowice.pl)

**Ewa Raczek**

## Opiniowanie w sprawach sądowego ustalenia ojcostwa względem bliźniąt w praktyce Katedry Medycyny Sądowej Śląskiej AM w Katowicach w latach 1996-2003\*

### **Mono - and dizygotic twins in forensic paternity testing in practice at the Department of Forensic Medicine (Silesian Academy of Medicine, Katowice) in the years 1996-2003**

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

Opiniowanie spraw spornego ojcostwa z udziałem bliźniąt jednojajowych w praktyce KMS ŚAM w Katowicach pozwoliło ukazać ich idealną zgodność pod względem badanych markerów genetycznych - nawet mutacja uwidoczniła techniką RFLP-VNTR (MZ1.3/Hae III) wystąpiła u obu bliźniaczych siostr. W przypadku bliźniąt dwujajowych wykazano zdecydowane zróżnicowanie szans i prawdopodobieństw ojcostwa będące konsekwencją niezależnej segregacji cech w pierwszym - redukującym podziale mejotycznym. Natomiast rzadki, pozadrambinowy allel 16 w lokus CSF1PO został przekazany przez pozwanego zarówno córce jak i synowi - bliźniaczemu rodzeństwu.

Giving an opinion on disputable paternity, concerning monozygotic twins in practice at the Department of Forensic Medicine (Silesian Academy of Medicine, Katowice) demonstrated their ideal agreement according to examined genetic markers possible. Even the mutation, which was revealed using the RFLP-VNTR method was the same for both twin sisters. In the case of dizygotic twins a firm differentiation of paternity index and probability of paternity was proved. This was the consequence of independent features segregation in first, reductive meiotic division. While the rare, out-ladder allele 16 at the CSF1PO locus was transmitted to both twins: a daughter and a son by the putative father.

**Słowa kluczowe:** bliźnięta jedno- i dwujajowe, sądowe ustalenie ojcostwa