

Anita Dettlaff-Kąkol, Ryszard Pawłowski*

Locus DYS 439 - polimorfizm w populacji polskiej

The DYS 439 locus - polymorphism in a Polish population

* Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku

Kierownik: dr hab. Z. Szczerkowska - profesor AM

** Z Instytutu Ekspertyz Sądowych w Krakowie

Dyrektor: A. Głazek

Praca przedstawia badanie polimorfizmu locus DYS 439 w próbce populacyjnej 198 mężczyzn z obszaru Polski. W celu wiarygodnego określenia wszystkich profili skonstruowano drabinę alleli składającą się z zsekwencjonowanych próbek. W analizowanej próbce populacyjnej stwierdzono 6 z 7 dotychczas opisanych alleli (17, 19-23). Najczęstszym allelem był allel, 19 który wystąpił w badanej populacji z częstością 0,4343. Obliczony współczynnik różnorodności dla locus DYS 439 wynosi 0,70 i jest jednym z najwyższych z loci typu Y-STR do tej pory badanych w naszej populacji. Analizie poddano homogenność rozkładu alleli pomiędzy populacją polską a innymi populacjami. Stwierdzono bardzo znamienne statystycznie różnice ($p < 0,0000$) pomiędzy rozkładem alleli pomiędzy populacją polską a czterema populacjami europejskimi (Włochy, Portugalia, Hiszpania).

This paper describes the polymorphism of a new locus DYS439 in a Polish population sample of 198 males. To correctly type DYS439 alleles, a sequenced allelic ladder was constructed. In an analyzed population sample 6 of 7 alleles identified to date were found (17, 19-23). The most frequent allele was 19 with a frequency of 0,4343. Calculated gene diversity value for DYS439 locus is 0,70 and is one of the highest for Y-STR loci analyzed in our population to date. Moreover a comparison of homogeneity distribution of DYS 439 alleles between different populations was analyzed. Very significant statistical differences ($p < 0,0000$) were observed between our population and four European population samples (Italy, Portugal and Spain).

Słowa kluczowe: Locus DYS 439, genetyka populacyjna, populacja Polska

Key words: DYS 439 Locus, population genetics, Polish population

WSTĘP

Polimorficzne loci z chromosomu Y człowieka stosowane są od szeregu lat w genetyce sądowej do identyfikacji śladów biologicznych oraz dochodzenia spornego ojcostwa (9). Szczególnie przydatne są w tych przypadkach, gdy koniecznością staje się badanie mieszanych plam biologicznych w postaci np. wymazów z dróg rodnych zgwałconych. Do najczęściej stosowanych i zweryfikowanych, co do ich przydatności w medycynie sądowej należą loci DYS 19, DYS 392, DYS 390, DYS 393, DYS 385I/II, DYS 391, DYS 389I i DYS 389II, dla których częstości populacyjne dostępne są od stosunkowo niedawna w internecie (<http://ystr.charite.de>). Przydatność loci Y-STR do celów identyfikacyjnych tak jak każdego locus autosomalnego wybitnie zależy między innymi od jego polimorfizmu wyrażonego np. poprzez wartość współczynnika PIC czy współczynnika różnorodności (D). Ze względu na stosunkowo niskie siły dyskryminacyjne do tej pory scharakteryzowanych loci, są one amplifikowane najczęściej w reakcjach kompleksowego PCR, opracowywanych zarówno w poszczególnych laboratoriach jak i dostępnych od niedawna komercyjnie. Daje to w efekcie stosunkowo dużą, moc dyskryminacyjną co potwierdzono między innymi w praktyce podczas eliminacji potencjalnych sprawców przestępstw w przypadku seryjnego gwałciela ze Świnoujścia (4). Polimorfizm loci Y-STR jest wyraźnie niższy od autosomów stąd konieczność poszukiwania takich loci, które charakteryzują się wysoką siłą dyskryminacji, jak również opracowywania reakcji kompleksowego PCR, które zawierają ich maksymalnie dużo (3). Ostatnio Ayub i wsp. opisali 6 nowych loci typu STR obecnych na chromosomie Y (2). Wśród nich trzy (DYS437, DYS438, DYS439) charakteryzują się stosunkowo wysokim poziomem polimorfizmu. Locus DYS 439 (GenBank AC002992) wykazuje złożony polimorfizm czteronukleotydomowych jednostek repetytywnych. Struktura sekwencji powtarzalnej dla tego locus może zostać zapisana następująco: - (GATA)₂ N₄ (GATA)₄ N₁₄ (GATA) N₃ (GATA) N₇ (GATA)₁₀ 14 choć istnieją co najmniej 3 różne drogi opisywania jego polimorfizmu (2,6,7). Do tej pory w locus tym zidentyfikowano 7 alleli (17-23) zawartych w przedziale wielkości od 236-256 pz.

Niniejsza praca opisuje badanie częstości alleli locus DYS439 dla populacji polskiej.

MATERIAŁY I METODY

Badaniom poddano próbki materiału biologicznego (krew i wymazy z jamy ustnej) pochodzące od 198 niespokrewnionych mężczyzn z obszaru populacji Polski Północnej. Izolację DNA i pomiar jego stężenia przeprowadzano metodami uprzednio opisanymi (12).

Amplifikację locus DYS439 prowadzono stosując warunki amplifikacji podane przez Ayub i wsp. (2). Produkty amplifikacji rozdzielano metodą elektroforezy kapilarnej stosując automatyczny sekwenator ABI310.

W celu skonstruowania drabiny alleli dla badanego locus sekwencjonowaniu poddano wybrane allele różniące się pomiędzy sobą wielkościami fragmentów. Sekwencjonowanie alleli prowadzono stosując zestaw BigDye Terminator cycle sequencing kit v. 3.1 (Applied Biosystems). W niniejszej pracy zastosowano nazewnictwo alleli przyjęte przez Gonzalez-Neira i wsp. (6).

Współczynnik zróżnicowania dla genów (D) obliczano wg Nei (10).

WYNIKI I DISKUSJA

Rozkład częstości 198 alleli locus DYS 439 zaobserwowany w próbkę populacyjnej z obszaru Polski przedstawia tabela I. W badaniach populacyjnych stwierdzono, 6 z 7 do tej pory zidentyfikowanych alleli, wśród których najczęściej występował allel 19.

Tabela I. Rozkład alleli locus DYS 439 w próbkę populacyjnej z obszaru Polski (N=198).

Table I. Distribution of DYS 439 alleles in a Polish population sample (N=198).

Allel	Ilość zaobserwowana Number	Częstość Frequency
17	1	0,0051
18	0	0,0000
19	86	0,4343
20	49	0,2475
21	40	0,2020
22	21	0,1061
23	1	0,0051

Dla alleli stwierdzonych w analizowanej populacji 198 mężczyzn obliczono współczynnik różnorodności D, którego wartość (D=0,70) jest niższa od innych trzech uprzednio badanych loci typu Y-STR (DYS385I/II (0.84), DYS 19 (0.76), DYS 389II (0.72) a wyższa od pozostałych DYS 390 (0.68), DYS 391 (0.50), DYS 389I (0.40), DYS 392 (0.36) i DYS 393 (0.36) (13). Wysoka wartość tego parametru pozwala tym samym uznać ten locus za jeden z bardziej przydatnych do celów identyfikacyjnych w naszej populacji. Innymi słowy można powiedzieć, iż prawdopodobieństwo uzyskania identycznych profili w zakresie locus DYS439 dla dwóch przypadkowych, niespokrewnionych mężczyzn wynosi ok. 30%. Podobnie, choć niższe wartości D zaobserwowano w populacjach z półwyspu iberyjskiego i północnych Włoch (tabela II).

Porównanie homogenności rozkładu alleli DYS439 pomiędzy próbką populacyjną z Polski oraz 4 populacjami z Europy wykazało bardzo znamienne różnice w ich rozkładzie. We wszystkich porównaniach zaobserwowano wartości P poniżej 0,0000 (tabela II), co, zdecydowanie wskazuje na konieczność opierania wszelkich obliczeń częstości na częstościach zaobserwowanych we własnych

Tabela II. Porównanie rozkładu alleli locus DYS439 pomiędzy pięcioma populacjami europejskimi.

Table II. Comparison of DYS439 locus alleles distribution between five European population samples.

Allele Alleles	Polska Poland		Włochy (Północno-Zach) North-West Italy (7)		Portugalia (Północna) North Portugal (8)		Hiszpania (Południowo-wschodnia) South-east Spain (1)		Hiszpania (Galicja) Spain Galicia (14)	
	N	Częstość frequency	N	Częstość frequency	N	Częstość frequency	N	Częstość frequency	N	Częstość frequency
17	1	0,0051	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
18	0	0,0000	0	0,0000	2	0,0094	0	0,0000	0	0,0000
19	86	0,4343	5	0,0000	23	0,1085	2	0,0263	13	0,0613
20	49	0,2475	43	0,0382	80	0,3774	21	0,2763	75	0,3538
21	40	0,2020	57	0,4351	83	0,3915	40	0,5263	94	0,4434
22	21	0,1061	25	0,1908	23	0,1085	10	0,1316	27	0,1274
23	1	0,0051	1	0,0076	1	0,0047	2	0,0263	2	0,0094
24	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	1	0,0132	1	0,0000
D [#]	0,7023		0,6652		0,6839		0,6282		0,6610	
G-statistic			78,7989 (P=0,0000)		61,5796 (P=0,0000)		65,2491 (P=0,0000)		91,5164 (P=0,0000)	
Chi ^{2*}			65,9063 (P=0,0000)		65,4220 (P=0,0000)		54,0035 (P=0,0000)		89,3125 (P=0,0000)	

Legenda: * - Homogenność rozkładu alleli pomiędzy populacją polską a innymi populacjami z Europy obliczana za pomocą programu G. Carmodi'ego

Legend: Homogeneity alleles distribution between polish and other European populations calculated with Carmody program. # - Współczynnik różnorodności (gene diversity)

próbkach. Podobne różnice obserwowano uprzednio porównując populację Polski północnej z populacjami zachodnimi w zakresie loci DYS19 i DYS390 (12), gdzie wyraźnie widoczna była tendencja przesunięcia częstości alleli w kierunku tych, które posiadały większą ilość jednostek repetytywnych. Na konieczność tego typu postępowania wskazywał również Pascali i wsp. (11) oraz Forster i wsp. (5).

PIŚMIENNICTWO

I. Aler M, Salas A., Murcia E., Gisbert-Grifo J, Carracedo A.: Population study of eight novel Y-chromosome STRs (DYS460, DYS461, GATA-A10, GATA-C4, GATA-H4, DYS434, DYS437, DYS439) in a southeast Iberian population: looking for highly informative Y-chromosome haplotypes. *Int. J. Legal Med.* 2003, 117 (2), 127-131. - 2. Ayub, Q., Mohyuddin, A., Qamar, R., Mazhar, K., Zerjal, T., Mehdi, S. Q., Tyler-Smith, C: Identification and characterisation of novel human Y-chromosomal microsatellites from sequence database Information. *Nucleic Acids Res.* 28(2):e8. - 3. Bosch E., Lee A.C., Calafell F., Arroyo E., Henneman P., de Knijff P., Jobling MA: High resolution Y chromosome typing: 19 STRs amplified in three multiplex reactions. *Forensic Sci. Int.* 2002, 125, 42-51. - 4. Dettlaff-Kakol A., Pawłowski R.: First Polish DNA "manhunt" - an application of Y-chromosome STRs *Int. J. Legal Med.* 2003, 116, 289-291. - 5. Forster P., Kayser M., Meyer E., Roewer L, Pfeiffer H., Brinkmann H., Brinkmann B.: Phylogenetic resolution of complex mutational features at Y-STR DYS390 in aboriginal Australians and Papuans. *Mol. Biol. Evol.* 1998, 15(9), 1108-1114. - 6. Gonzalez-Neira A, Elmoznino M, Lareu MV. Sanchez-Diz P, Gusmao L, Prinz M, Carracedo A.: Sequence structure of 12 novel Y chromosome microsatellites and PCR amplification strategies. *Forensic Sci. Int.* 2001, 122(1), 19-26. - 7. Grignani P, Peloso G, Fattorini P, Previdere C: Highly informative Y-chromosomal haplotypes by the addition of three new STRs DYS437, DYS438 and DYS439. *Int J Legal Med.* 2000; 114(1-2): 125-9. - 8. Gusmao L, Alves C, Beleza S, Amorim A.: Forensic evaluation and population data on the new Y-STRs DYS434, DYS437, DYS438, DYS439 and GATA A10. *Int. J. Legal Med.* 2002, 116(3), 139-147. - 9. Jobling MA., Pandya A, Tyler-Smith C: The Y-chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int. J. Legal Med.*, 1997, 110, 118-124, - 10. Nei M.: Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1973, 70, 3321-3323.

II. Pascali VL, Dobosz M., Brinkmann B.: Coordinating Y-chromosomal STR research for the Courts. *Int. J. Legal Med.* 1999, 112(1), 1. - 12. Pawłowski R., Branicki W., Kupiec T.: Y-chromosomal polymorphic loci DYS19, DYS390, DYS393 in a population sample from northern Poland. *Electrophoresis* 1999, 20, 1702-1706. - 13. Pawłowski R., Dettlaff-Kakol A.: Population data of nine Y-chromosomal STR loci in northern Poland. *Forensic Sci. Int.* 2003, 131(2-3), 209-13. - 14. Quintans B., Beleza S., Brion M., Sanchez-Diz P., Lareu M., Carracedo A.: Population data of Galicia (NW Spain) on the new Y-STRs DYS437, DYS438, DYS439, GATA A10, GATA A7.1, GATA A7.2, GATA C4 and GATA H4. *Forensic Sci. Int.* 2003, 131(2-3), 220-224.

Adres pierwszego autora,
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a
80-210 Gdańsk