

**Kornelia Drożdżiak, Jadwiga Kabiesz, Joanna Kulikowska, Joanna Nowicka, Krystian Rygol**

## Genetyka populacyjna 11 loci systemów STR w próbkach badanych na Górnym Śląsku

### Population genetics of 11 STR loci in the Upper Silesia population

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Kierownik: dr n. med. C. Chowaniec

Praca przedstawia wyniki badań populacyjnych w obrębie 11 loci STR: D16S5539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS, VWA, F13B, LPL próbek badanych w Pracowni Śladów Biologicznych Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej ŚUM. Badania przeprowadzono w grupie 455 osób dorosłych, niespokrewnionych, płci męskiej i żeńskiej, zamieszkujących na terenie Górnego Śląska. Celem niniejszej pracy było określenie częstości występowania alleli z poszczególnych 11 loci STR w populacji Górnego Śląska, ocena zgodności rozkładu alleli z prawem Hardy-Weinberga, obliczenie parametrów oceniających przydatność markerów w medycynie sądowej i ich porównanie. W oparciu o uzyskane częstości alleli wyliczono wybrane parametry statystyczne (PD, PIC, MEC, PM, Ht i MEP) wskazujące na wysoką przydatność analizowanych loci w medycynie sądowej.

The report present the results of population studies of 11 STR loci: D16S5539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS, VWA, F13B, LPL originating from samples examined in Laboratory of Biological traces, Chair and Department of Forensic Medicine, Silesian Medical University. The examinations were performed in the group of 455 non-consanguinated adults, men and women, from Upper Silesia. The purpose of the investigation was to study the distribution of allele frequencies of 11 short tandem repeat representative sample of the Upper Silesia (Poland) population, .to show genetic balance in agreement with Hardy-Weinberg's law for the studied population and to compare homogeneity of

the usefulness of 11 STR genetic markers for paternity testing and forensic identification purposes. Genomic DNA was isolated from blood samples and swabs from oral cavity by The Blood DNA Prep Plus kit (A&A Biotechnology) and EZ1 DNA tissue Kit for the use on the BioRobot EZ1. All reactions were carried out according to the manufacturer's recommendations (Silver Stain Detection, Promega). PCR amplification was performed following the instructions of the GenePrint STR System kit using a GeneAmp PCR System 2700 Thermal Cykler. PCR products and Promega Ladders were separated by vertical electrophoresis on 6% denaturing polyacrilamide gel (Amresco), electrophoresis and visualized by silver staining (Promega Corporation). Allele frequencies, the values of heterozygosity (Ht), polymorphism information content (PIC), power of discrimination (PD), power of exclusion (PE), paternity index (PI), and matching probability (PM) were calculated using FatRec by Dudek's program and TFGPA of Miller. The concordance with HWE was evaluated using the chi-square test. The compared statistic parameters, which make an important component of research work and opinionating, show that 11 STR loci constitutes a very useful tool for individual identification in crime research and in putative paternity research.

### WSTĘP

Oznaczanie loci STR jest najszybszym i najskuteczniejszym sposobem ustalenia sporności ojcostwa, badania pokrewieństwa, identyfikacji

osób nieznanymi oraz identyfikacji materiału biologicznego.

Badania populacyjne 11 loci STR prowadzono w wielu regionach Europy, Azji, Australii i obu Ameryk [1]. W Polsce oznaczano polimorfizm 11 loci STR w 7 regionach: region Górnego Śląska, Polska Południowa, Polska Południowo-Wschodnia, Polska Centralna, Polska Północna, region Pomorsko-Kujawski i region Podlaski [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

Celem niniejszej pracy było:

- określenie częstości występowania alleli w zakresie loci D16S539, D7S820, D13S317, CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS, VWA, F13B, LPL w populacji Górnego Śląska;
- ocena zgodności rozkładu alleli poszczególnych loci z prawem Hardy-Weinberga;
- obliczenie parametrów oceniających przydatność poszczególnych loci STR w medycynie sądowej.

## MATERIAŁ I METODYKA

Materiał do badań stanowiły próbki krwi lub wymazy z jamy ustnej, nadesłane do Pracowni Śladów Biologicznych Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej SUM, od osób pokrzywdzonych i podejrzanych biorących udział w sprawach, w których badano ślady biologiczne. Badania przeprowadzono w grupie 455 osób dorosłych, niespokrewnionych, płci męskiej i żeńskiej, zamieszkujących na terenie Górnego Śląska. DNA izolowano zestawem do izolacji DNA – Blood DNA Prep Plus firmy A&A Biotechnology [15] oraz zestawem EZ1 Tissue DNA Kit w BIOROBOTYCIE EZ firmy QIAGEN [16]. Amplifikację wykonywano metodą PCR zgodnie z rekomendacją producenta zestawów GenePrint STR System Multiplex i Monoplex firmy Promega Corporation, Madison, WI, USA. Produkty amplifikacji PCR rozdzielano techniką elektroforezy wertykalnej (aparatury do elektroforezy S 2001 i S-32 firmy Life Technologies firmy Gibco BRL) w systemie buforowym, na 6% zdenaturowanym żelu poliakrylamidowym firmy Amresco. Barwienie elektroforegramów wykonywano metodą srebrną. Allele określano porównując wizualnie namnożone fragmenty z „drabinami alleli” firmy Promega Corporation. Opracowanie wyników stanowiło wyliczenie obserwowanych i oczekiwanych liczebności i częstości genotypów przy zastosowaniu równania Hardy-Weinberga. W badaniach statystycznych ocenę zgodności między oczekiwanymi i obserwowanymi geno-

typami prowadzono z zastosowaniem testu  $\chi^2$  i testu Exact z zastosowaniem programu TFPGA [17]. Charakterystykę statystyczną poszczególnych loci wykonano stosując program FatRec. Wyliczono: siłę dyskryminacji PD, heterozygotyczność obserwowaną  $Ht_{obs.}$ , heterozygotyczność oczekiwaną  $Ht_{ocz.}$ , prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności profili genetycznych PM [18], siłę wykluczeniową układu MEC [19], współczynnik informacji polimorficznej PIC [20], średnie prawdopodobieństwo wykluczenia MEP [20].

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Przeprowadzone badania pozwoliły na prawidłową separację fragmentów i łatwą identyfikację genotypów wszystkich 11 loci zarówno mono- jak i kompleksowego PCR. Tabela I przedstawia częstości występowania alleli w obrębie 11 loci STR w badanej populacji Górnego Śląska. Analiza danych w oparciu o test  $\chi^2$  wykazała, że badana populacja Górnego Śląska w zakresie 11 loci STR znajduje się w równowadze genetycznej zgodnej z prawem Hardy-Weinberga z uwagi na zgodność między danymi oczekiwanymi i obserwowanymi. Wysokie wartości prawdopodobieństwa zgodności z prawem Hardy-Weinberga dla poszczególnych 11 loci STR świadczą o poprawnym genotypowaniu. W zakresie loci: D7S820, CSF1PO, TH01, TPOX, F13A01, FESFPS i F13B pojawiły się allele występujące rzadziej – z częstością od 0.002 do 0.0026. Allele były również obserwowane w innych rejonach Polski.

Częstości alleli w badanej populacji Górnego Śląska nie odbiegały od danych dla innych populacji polskich zamieszczonych w literaturze. Porównanie częstości alleli występujących w zakresie 11 loci STR w populacji Górnego Śląska dało znamienne różnice dla populacji Azji, Australii.

Tabela II przedstawia parametry statystyczne 11 loci STR, wskazujące na ich dużą przydatność w medycynie sądowej.

## WNIOSKI

1. Badana populacja znajduje się w równowadze genetycznej zgodnej z prawem Hardy-Weinberga. Zgodność częstości alleli dla 11 loci STR w badanej populacji pozwala na zastosowanie markerów w badaniach w dochodzeniu ojcostwa, badaniu pokrewieństwa, identyfikacji osobniczej i kryminalistycznej.

Tabela I. Częstości alleli 11 loci STR w populacji Górnego Śląska.  
Table I. Allele frequencies of 11 STR loci in the Upper Silesia population.

Allele	D16S539	D7S820	D13S317	CSF1PO	TPOX	TH01	F13A01	FESFPS	VWA	F13B	LPL
N	455	455	455	455	455	455	455	455	455	455	455
3,2	-	-	-	-	-	-	0.0640	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	0.0498	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	0.0024	0.1732	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	0.2162	0.3067	-	-	0.0950	-
7	-	0.0198	-	-	0.0026	0.1402	0.3560	-	-	0.0160	-
8	0.0178	0.1440	0.1180	-	0.5490	0.1000	0.0032	0.0234	-	0.2286	-
9	0.0924	0.1436	0.0776	0.0461	0.1198	0.1964	-	0.0020	-	0.2494	0.0678
9,3	-	-	-	-	-	0.3402	-	-	-	-	-
10	0.0464	0.3072	0.0636	0.3078	0.0600	0.0046	-	0.2612	-	0.4040	0.4018
11	0.3128	0.2044	0.3689	0.2568	0.2512	-	0.0020	0.4648	-	0.0046	0.2417
12	0.3260	0.1534	0.2456	0.3132	0.0175	-	0.0020	0.1888	-	0.0024	0.2419
13	0.2020	0.0242	0.0875	0.0555	-	-	-	0.0602	0.0026	-	0.0408
14	0.0044	0.0024	0.0344	0.0186	-	-	0.0093	-	0.1082	-	-
15	-	-	0.0035	0.0020	-	-	0.0198	-	0.1030	-	-
16	-	-	-	-	-	-	0.0146	-	0.1902	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2766	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2216	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0890	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0080	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\chi^2_{df}$ test	$\chi^2_{21}$ 19.864	$\chi^2_{28}$ 28.635	$\chi^2_{28}$ 21.750	$\chi^2_{21}$ 27.875	$\chi^2_{15}$ 11.452	$\chi^2_{21}$ 14.334	$\chi^2_{78}$ 78.567	$\chi^2_{21}$ 15.925	$\chi^2_{36}$ 19.750	$\chi^2_{21}$ 15.214	$\chi^2_{10}$ 5.865
P	0.6590	0.6412	0.8400	0.7055	0.7136	0.8100	0.5678	0.8136	0.7242	0.8121	0.9285
Ht	0.7872	0.7870	0.7987	0.7250	0.6080	0.7666	0.7424	0.7304	0.8106	0.6902	0.6966
PD	0.9168	0.9344	0.9188	0.8664	0.8042	0.8986	0.8728	0.8527	0.9361	0.8581	0.8569
PM	0.0832	0.0656	0.0812	0.1336	0.1977	0.1014	0.1272	0.1473	0.0639	0.1419	0.1431
MEC	0.5793	0.6152	0.5760	0.4754	0.3729	0.5325	0.4785	0.4388	0.6206	0.4580	0.4477
MEP	0.5902	0.6122	0.5477	0.4635	0.3130	0.5314	0.4623	0.4210	0.6042	0.4616	0.3930
PIC	0.7449	0.7782	0.7422	0.6727	0.5660	0.7168	0.6694	0.6403	0.7809	0.6569	0.6447

Tabela II. Porównanie własności statystycznych poszczególnych systemów Silver STR.  
Table II. Comparison of statistical parameters of particular Silver STR systems.

Układ system	PD	PIC	MEC	PM	H <sub>obs.</sub>	MEP
D16S539	0.9168	0.7449	0.5793	0.0832	0.7872	0.5902
D7S820	0.9344	0.7782	0.6152	0.0656	0.7870	0.6122
D13S317	0.9188	0.7422	0.5760	0.0812	0.7987	0.5477
CSF1PO	0.8664	0.6727	0.4754	0.1336	0.7250	0.4635
TPOX	0.8023	0.5660	0.3729	0.1977	0.6080	0.3130
TH01	0.8986	0.7168	0.5325	0.1014	0.7666	0.5314
F13A01	0.8728	0.6694	0.4785	0.1272	0.7424	0.4623
FESFPS	0.8527	0.6403	0.4388	0.1473	0.7304	0.4210
VWA	0.9361	0.7809	0.6206	0.0639	0.8106	0.6042
F13B	0.8581	0.6569	0.4580	0.1419	0.6902	0.4616
LPL	0.8569	0.6447	0.4477	0.1431	0.6966	0.3930

2. Parametry statystyczne charakteryzujące jednocześnie analizowanych loci genowych STR, wskazują na wysoką przydatność markerów w badaniach identyfikacyjnych i w dochodzeniu ojcostwa.
3. Częstości genowe są zbliżone do obserwowanych w siedmiu innych populacjach polskich.

## PIŚMIENNICTWO

1. Promega Technical Manual No.D004, GenePrint®STR Systems (Silver Stain Detection), P/N TMD004, 2001, 14-15, 17.
2. Raczek E.: Population data on the 11 STR loci in the Upper Silesia (Poland). *Forensic Sci. Int.* 2007, 168, 68-72.
3. Raczek E.: Population data on the three STR loci in the Upper Silesia (Poland). *Forensic Sci. Int.* 2007, 47, 228.
4. Raczek E.: Population data on the three STR loci in the Upper Silesia (Poland). *Forensic Sci. Int.* 2001, 46, 1522.
5. Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.: Częstość alleli układów STR: LPL, F13B i HPRTB w populacji Polski Południowej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 1999, 49, 149-152.
6. Turowska B., Sanak M.: Frequency data on the loci VWA, FESFPS, F13A01, TH01, TPOX and CSF1PO in a population from South Poland. *Int. J. Legal Med.* 2000, 113, 123-125.
7. Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.: Częstość alleli systemów STR: D13S317, D7S820, D16S539 w populacji Polski Południowej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2000, 50, 193-197.
8. 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.
9. Kuźniar P., Płoski R.: STR data for the power-plex-16 loci in a population from Central Poland. *Forensic Sci. Int.* 2004, 139, 261-263.
10. Szczerkowska Z., Wysocka J., Kapińska E., Cybulska L.: Genetyczna zmienność w obrębie 14 loci typu VNTR w populacji Polski Północnej. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2001, 51, 227-232.
11. Miścicka-Śliwka D., Czarny J., Grzybowski T., Woźniak M.: Population genetics of 14 STRs: VWA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, F13A01, FESFPS, F13B, LPL, D3S1358 and FGA in the Pomorania-Kujawy region of Poland. *For. Sci. Int.* 2001, 119, 119-122.
12. Pepiński W., Skawrońska M., Janica J., Berent J. A.: Polimorfizm układów STR FES/FPS i F13B w populacji Polski północno-wschodniej. *Post. Med. Sąd. Krym.*, 1999, 5, 393-395.
13. Pepiński W., Janica J., Skawrońska M., Niemcunowicz-Janica A., Sołtyszewski I.: Genetyka populacyjna 12 loci typu STR w populacji Podlasia, *Post. Med. Sąd. Krym.* 2001, 6, 281-284.
14. Berent J.: Dane populacyjne dla układów STR: CSF1PO, D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11, FGA, penta D, penta E, SE33, TH01, TPOX i VWA dla potrzeb obliczeń biostatystycznych w ramach atestacji laboratoriów genetycznych na lata 2008-2009. *Arch. Med. Sąd. Krym.* 2007, 57, 3, 364-367.
15. Lahiri D. K., Bye S., Nurberger J. N., Hodes M. F., Crisp M.: A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than do nine other methods tested, *J. Biochem. Biophys. Methods* 1992, 25, 193-205.
16. Qiagen EZ1 DNA Handbook, 02, 2004.
17. Miller M.: Tools for population Genetic Analyses (TFPGA). 1997, 3, Free program distributed by author over the internet at <http://herb.bio.nau.edu/~mille/tfpga.thtm>.
18. Jones D. A.: Blood samples: probabilities of discrimination. *J. Forensic Sci. Soc.* 1972, 12, 355-359.
19. 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 Corporation, 1989, 23-53.
20. 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.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Kornelia Drożdżiok

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej

i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej

Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Ul. Medyków 18

40-752 Katowice

e-mail: [kdrozdzio@slam.katowice.pl](mailto:kdrozdzio@slam.katowice.pl)