

**Małgorzata Ludwikowska-Pawłowska<sup>1</sup>, Renata Jacewicz<sup>1</sup>, Maciej Jędrzejczyk<sup>2</sup>, Adam Prośniak<sup>1</sup>, Jarosław Berent<sup>1</sup>**

## **Wykorzystanie zestawów QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit oraz PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit w procesie izolacji genomowego DNA z materiału kostnego**

### **Application of the QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit and PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit in genomic DNA extraction from skeletal remains**

<sup>1</sup> Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej UM w Łodzi

<sup>2</sup> Z Zakładu Orzecznictwa Sądowo-Lekarskiego i Ubezpieczeniowego UM w Łodzi  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. J. Berent

W pracy przedstawiono zastosowanie zestawów QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit oraz PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit w procesie izolacji genomowego DNA z materiału kostnego o cechach degradacji. Analizie poddano 25 fragmentów kostnych pochodzących z sekcji sądowo-lekarskich, w zakresie 15 loci STR. Na podstawie uzyskanych wyników oceniono została wydajność badanych zestawów do izolacji genomowego DNA.

The report presents an application of the QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit and PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit in genomic DNA extraction from post-mortem highly degraded skeletal remains. The analysis included 25 bone samples collected on autopsy. DNA extraction was performed in accordance with the QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit and PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit manufacturer's isolation protocols. Amplification was performed on a Biometra thermocycler using the AmpFISTR<sup>®</sup> Identifiler<sup>™</sup> PCR Amplification Kit according to the manufacturer's protocol. Typing of PCR products was carried out on an ABI Prism<sup>®</sup> 377 DNA sequencer. The recommended parameters for GeneScan<sup>®</sup> analysis and Genotyper<sup>®</sup> software were followed. The authors demonstrated that the QIAamp<sup>®</sup>

DNA Investigator Kit was more effective, convenient and statistically significantly better method which may be employed in DNA extraction from bone specimens.

**Słowa kluczowe:** izolacja DNA, materiał kostny, degradacja DNA, STR  
**Key words:** DNA extraction, skeletal remains, degraded DNA, STR

#### **WSTĘP**

Pierwszym etapem analizy genetycznej jest izolacja DNA, która jest kluczowym etapem analizy próbek biologicznych w laboratoriach genetyki sądowej. Od tego etapu zależą w sposób istotny kolejne szczeble analizy genetycznej. Izolacja materiału genetycznego w odpowiedniej ilości i jakości w wielu przypadkach nie jest procesem łatwym. Zazwyczaj w laboratoriach, w zależności od sprawy, wykonuje się różne metody analizy, by uzyskać zadowalający wynik. Głównym celem izolacji DNA jest uzyskanie wysokocząsteczkowego kwasu deoksyrybonukleinowego w niezdegradowanej postaci z możliwie maksymalną wydajnością. Jednocześnie

próbka DNA powinna być oczyszczona z białek i inhibitorów enzymów, które mogą wpływać na dalsze etapy analizy. Istotne jest, aby dana metoda była uniwersalna i umożliwiała pozbycie się wszelkiego rodzaju zanieczyszczeń.

## CEL PRACY

Celem pracy było zastosowanie zestawów QIAamp® DNA Investigator Kit [1] i PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit [2] do izolacji genomowego DNA z materiału kostnego oraz ocena ich skuteczności w pozyskiwaniu kwasu deoksyrybonukleinowego z kości pochodzących ze zwłok charakteryzujących się daleko posuniętymi zmianami pośmiertnymi.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy pracy stanowiły pojedyncze fragmenty kości pobrane ze zwłok podczas sekcji sądowo-lekarskich oznaczonych numerami: 21933, 22837, 22911, 23292, 23303, 23606, 23613, 23626, 23804, 23964, 24082, 24146, 24148, 24158, 24164, 24166, 24239 i uzyskane ze spraw kryminalnych opisanych odpowiednio 110K/08, 4K/09 oraz sześć części szkieletu uzyskanych w czasie sekcji o numerze 23768, przechowywanych jako: 23768(1), 23768(2), 23768(3), 23768(4), 23768(5) i 23768(6). W niniejszej pracy wykorzystano materiał kostny pobrany z różnych części ciała, były to fragmenty trzonu i głowy kości ramiennej, fragmenty trzonu i głowy kości udowej, fragmenty kości czaszki, fragmenty żeber i fragmenty spojenia łonowego. Szczegółowy opis materiału kostnego poddane go analizie przedstawia tabela I.

Podczas etapu wstępnego materiał kostny oczyszczano mechanicznie za pomocą papieru ściernego, przemywano 4,5% roztworem podchlorynu, płukano w wodzie dejonizowanej, naświetlano promieniami UV i pozostawiano do wyschnięcia.

Następnie umieszczano w moździerzu wypełnionym ciekłym azotem i inkubowano 30 minut, cały czas uzupełniając ubytek azotu. Po odparowaniu fazy ciekłej rozbijano masę kostną tłuczkiem. Uzyskiwany proszek przenoszono do probówek typu Eppendorf 1,5 ml i przechowywano w zamrażarce w temperaturze -20°C.

DNA z każdego fragmentu kostnego izolowano z wykorzystaniem zestawów: QIAamp® DNA Investigator Kit (QIAGEN) [1], PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit (Applied Biosystems) [2] zgodnie z zaleceniami producentów.

Tabela I. Cechy materiału kostnego.

Table I. Characteristics of the bones.

Próbka Sample	Data sekcji Autopsy date	Typ kości The bone type	Cechy Features
21933	08.07.2004	Fragment trzonu kości ramiennej	Oznaki gnicia
22837	18.11.2005	Fragment głowy kości ramiennej	Oznaki przebywania zwłok w wodzie
22911	21.12.2005	Fragment trzonu kości udowej	Oznaki zeszkieleto- wania i mumifikacji
23292	18.07.2006	Fragment trzonu kości ramiennej	Oznaki gnicia
23303	24.07.2006	Fragment trzonu kości ramiennej	Oznaki gnicia
23606	03.01.2007	Fragmenty kostne	Zeszkieleto- wanie, wiek kości szacowany na kilkadziesiąt lat
23613	05.01.2007	Fragment trzonu kości ramiennej	Oznaki gnicia
23626	12.01.2007	Fragment trzonu kości udowej	Daleko posunięty rozkład gnilny
23768 (1-6)	26.03.2007	Kość czołowa, kość ciemieniowa, nasada bliższa kości udowej, kości śródstopia	Wiek kości szacowany na 30 lat, szczątki pochodzące prawdopodobnie od kilku osób, zeszkieleto- wanie
23804	12.04.2007	Fragment nasady bliższej kości ramiennej	Mumifikacja
23964	25.07.2007	Fragment żebra	Cechy gnicia
24082	22.10.2007	Fragment żebra	Cechy gnicia
24146	26.11.2007	Fragment spojenia łonowego	Cechy gnicia
24148	26.11.2007	Fragment żebra	Cechy gnicia
24158	30.11.2007	Fragment głowy kości ramiennej	Daleko posunięty rozkład gnilny
24164	04.12.2007	Fragment żebra	Cechy gnicia
24166	06.12.2007	Fragment żebra	Cechy przebywania zwłok w wodzie
24239	15.01.2008	Fragment trzonu kości ramiennej	Cechy gnicia
110K/08	10.09.2006	Głowa i fragment trzonu kości ramiennej	Zaawansowane zmiany gnilne z tłuszczem woskiem
4K/09	03.01.2009	Fragmenty kostne	Zaawansowany stan rozkładu

Stężenie DNA zawarte w próbach po procesie izolacji było oceniane za pomocą fluorymetru Qubit™ oraz zestawu Quant-iT™ HS Assay Kits (Invitrogen).

Amplifikację DNA za pomocą zestawu AmpFłSTR® Identifiler™ PCR Amplification Kit przeprowadzono zgodnie z protokołem poda-

nym przez producenta [3]. Zestaw umożliwił przeprowadzenie reakcji typu PCR multiplex, pozwalając na jednoczesną amplifikację piętnastu loci STR i amelogeniny w jednej reakcji.

Elektroforeza przebiegała w denaturującym żelu poliakrylamidowym z wykorzystaniem automatycznego sekwenatora płytowego ABI Prism 377 (Applied Biosystems). Parametry elektroforezy ustawiano zgodnie z zaleceniami producenta [3] posługując się oprogramowaniem 377 Data Collection. Proces elektroforezy był przeprowadzany w systemie pięciokolorowej detekcji (6-FAM, VIC, NED, PET, LIZ). Do genotypowania próbek użyto oprogramowania GeneScan<sup>®</sup> 3.7.1, w odniesieniu do zdefiniowanego wzorca wielkości fragmentów DNA GeneScan<sup>™</sup> 500 LIZ<sup>™</sup> Size Standard (Applied Biosystems).

## WYNIKI

Rozkłady alleli w poszczególnych układach STR otrzymanych ze zgromadzonego materiału biologicznego w postaci fragmentów tkanki kostnej posłużyły do obliczenia częstości występowania w badanych próbkach pełnych genotypów (zawierających 2 allele) oraz pozostałych, niepełnych układów (1 allel) lub ich braku w danej próbce. Rozróżnienie niepełnego układu STR (1 allel) od homozygotycznego genotypu w badanym układzie dokonywano poprzez porównanie z wynikami uzyskanymi podczas izolacji kolejnymi metodami ekstrakcji badanych próbek (fenol/chloroform, Sherlock AX), co przekracza ramy niniejszej publikacji. Rozkład alleli w poszczególnych loci przekładał się na pełność profilu genetycznego we fragmentach kostnych poddanych analizie. Tabela II przedstawia zakres amplifikacji układów STR charakteryzujących próby izolowane dwoma sposobami ekstrakcji DNA. Do porównania częstości występowania pełnych, dwuallelicznych układów STR, zawartych w profilach genetycznych z dwóch metod izolacji DNA każdej próbki, wykorzystano test niezależności chi-kwadrat ( $\chi^2$ ). Zależność pomiędzy cechami mierzalnymi (ilością DNA wyrażoną w ng/ $\mu$ l a pełnością profilu genetycznego) w danej próbce oceniono za pomocą współczynnika korelacji rang Spearman'a ( $\rho$ ).

W związku z różnymi ilościami proszku kostnego wykorzystywanymi do analizy (100 mg – QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit, 50 mg – PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit) wyniki zostały przeliczone dla 50 mg tkanki kostnej.

## DYSKUSJA

Jednym z rutynowo przeprowadzanych badań w Zakładach Medycyny Sądowej jest identyfikacja zwłok o nieznannej tożsamości na podstawie określenia profilu genetycznego. Zastosowanie odpowiedniej metody izolacji materiału genetycznego ma zasadniczy wpływ na końcowe wyniki badań. Podczas wyboru optymalnej metody izolowania DNA można kierować się wieloma względami. Chodzić może o stopień oczyszczania próbek, wydajność metody, jej koszty, czas potrzebny do przeprowadzenia pełnej analizy, łatwość wykonania procedury, a także własne doświadczenia w postępowaniu z danym rodzajem materiału. Ma to szczególne znaczenie w przypadkach konieczności określenia profilu DNA w oparciu o materiał biologiczny pobrany np. z ekshumowanych zwłok. W tych sprawach kości są często jedynym dostępnym do badań nośnikiem informacji genetycznej [4]. W genetyce sądowej oznaczenie profilu jest uzależnione od jakości i stężenia DNA, które uzyskuje się w procesie jego ekstrakcji [5]. Niekorzystnym czynnikiem, mającym wpływ na końcowy efekt analizy, jest obecność inhibitorów reakcji PCR. Obecnie za pomocą różnych udoskonaleń dotyczących metod izolacji DNA próbuje się opracować taki sposób ekstrakcji lub modyfikacje istniejących procedur, który umożliwiłby pozyskiwanie pełnych profili genetycznych z tzw. trudnych materiałów biologicznych. Dobra metoda izolacji powinna umożliwiać ekstrakcję DNA z różnego rodzaju materiału biologicznego dostępnego nawet w niewielkiej ilości (LCN) [6], zapewniać wysoką jakość i czystość izolatu, być szybka, nietoksyczna i tania oraz możliwa do zastosowania w małych laboratoriach [7].

Z zastosowanych w niniejszym badaniu metod izolacji mniej czasochłonną i bardziej poręczną okazał się zestaw QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit (Qiagen). W pracy z zestawem PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA Extraction Kit (Applied Biosystems) napotkano niedogodności o charakterze niewystarczającego oddziaływania molekuł magnetycznych obecnych w roztworze z blokiem magnetycznym. Powodowało to trudności w oddzieleniu buforu płuczącego od kuleczek magnetycznych opłaszczonych przez DNA obecnych po części na ściance próbki, a po części w roztworze.

Zgodnie z zaleceniami producentów do ekstrakcji za pomocą zestawu QIAamp<sup>®</sup> DNA Investigator Kit użyto 100 mg proszku kostnego, a do izolacji metodą PrepFiler<sup>™</sup> Forensic DNA

Extraction Kit odpowiednio 50 mg. Z dostępnego piśmiennictwa wynika, że ilość proszku kostnego wykorzystywana przez badaczy podczas prób izolacji DNA waha się od 25-50 mg [8] przez 150 mg [9], 500 mg [10] do kilku gramów [11], z pozytywnym skutkiem ekstrakcji.

Podczas izolacji zestawem QIAamp® DNA Investigator Kit inkubowano próbki w temperaturze +56°C przez 24 godziny, a podczas izolacji zestawem PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit w temperaturze +50°C przez 17 godzin (zgodnie z zaleceniami producenta). W dostępnym piśmiennictwie stwierdza się fakt większego uwalniania DNA z materiału biologicznego podczas dłuższej inkubacji w wyższej temperaturze, ale także możliwość degradacji kwasu deoksyrybonukleinowego w tych warunkach połączonego ze zmniejszeniem aktywności Proteinyzy K [12].

Ilość pozytywnych detekcji poszczególnych układów STR przypadających na 25 kości izolowanych dwoma sposobami ekstrakcji DNA oraz długość ampliconów poszczególnych układów STR [13] ukazuje tabela III, z której wynika, że częściej uzyskiwano w profilach genetycznych układy mikrosatelitarnego DNA o krótszej długości ampliconu (np. układy D8S1179, D3S1358, D19S433), w porównaniu do tych dłuższych (np. CSF1PO, D2S1338, D18S51). W przypadku wyników uzyskanych za pomocą zestawu PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit istnieje większa tendencja do detekcji układów STR, których długość ampliconu nie przekracza 210 par zasad. Wg Fondevila i wsp. [14] długość ampliconu jest ważnym czynnikiem wpływającym na rezultat analizy DNA pochodzącego ze zdegradowanego materiału biologicznego. Prawdopodobieństwo powodzenia badania wzrasta podczas stosowania zestawów amplifikacyjnych umożliwiających detekcję układów STR o mniejszej długości ampliconów.

Kolejnym krokiem było porównanie dwóch sposobów izolacji DNA pod względem pełności profili genetycznych uzyskanych z 25 badanych fragmentów kostnych (tabela II). Analizy dokonano za pomocą testu niezależności chi-kwadrat ( $\chi^2$ ) na podstawie ilości pełnych, dwuallelicznych układów STR. Metoda z zastosowaniem zestawu PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit w sposób istotny statystycznie różni się od metody z zastosowaniem zestawu QIAamp® DNA Investigator Kit, uzyskując mniej pełnych genotypów, w zakresie 15 analizowanych loci STR, co przekłada się na mniej kompletne profile genetyczne badanych prób.

Tabela II. Zakres amplifikacji układów STR.  
Table II. Range of STR loci amplification.

	Próbka Sample	QIAamp® DNA Investigator Kit	PrepFiler™ Kit
1.	23768 (1)	9/16	0/16
2.	23768 (2)	6/16	0/16
3.	23768 (3)	16/16	0/16
4.	23768 (4)	15/16	0/16
5.	23768 (5)	16/16	0/16
6.	23768 (6)	0/16	0/16
7.	23626	0/16	0/16
8.	23292	0/16	0/16
9.	24158	16/16	0/16
10.	23303	16/16	0/16
11.	23606	0/16	0/16
12.	22837	16/16	0/16
13.	21933	12/16	4/16
14.	22911	0/16	0/16
15.	23804	0/16	0/16
16.	24082	16/16	7/16
17.	24164	16/16	16/16
18.	24239	6/16	0/16
19.	24148	16/16	2/16
20.	24166	16/16	9/16
21.	23964	16/16	0/16
22.	24146	16/16	0/16
23.	23613	16/16	0/16
24.	4K/09	14/16	3/16
25.	110K/08	12/16	0/16

Tabela III. Detekcja układów STR oraz długość ampliconów [pz].

Table III. STR loci detection and amplicons length [bp].

Układ STR STR loci	QIAamp®DNA Investigator Kit		PrepFiler™ Kit	
D8S1179 123 – 170 pz	18/25	72%	3/25	12%
D21S11 185 – 239 pz	18/25	72%	2/25	8%
D7S820 255 – 291 pz	18/25	72%	1/25	4%
CSF1PO 305 – 342 pz	17/25	68%	1/25	4%
D3S1358 112 – 140 pz	18/25	72%	4/25	16%
TH01 163 – 202 pz	17/25	68%	4/25	16%
D13S317 217 – 245 pz	17/25	68%	1/25	4%
D16S539 252 – 292 pz	16/25	64%	1/25	4%
D2S1338 307 – 359 pz	15/25	60%	1/25	4%
D19S433 102 – 135 pz	17/25	68%	6/25	24%
vWA 155 – 207 pz	14/25	56%	3/25	12%
TPOX 222 – 250 pz	17/25	68%	2/25	8%
D18S51 262 – 345 pz	15/25	60%	1/25	4%
D5S818 134 – 172 pz	16/25	64%	3/25	12%
FGA 215 – 355 pz	14/25	56%	1/25	4%
Amelogenin X = 107 pz Y = 113 pz	18/25	72%	6/25	24%

Kolejnym krokiem było porównanie wydajności dwóch analizowanych metod ekstrakcji DNA na podstawie stężenia kwasu deoksyrybonukleinowego (ng/ $\mu$ l) zmierzonego po procesie izolacji (tabela IV). Ze względu na

fakt wykorzystania różnej objętości proszku kostnego w dwóch metodach izolacji DNA nie można wysunąć bezpośredniego wniosku co do ich efektywności tylko na podstawie stężeń DNA uzyskanych z materiału biologicznego. Porównania efektywności należy dopatrywać się na podstawie analizy zależności dwóch cech mierzalnych, którymi w tym wypadku były stężenie DNA [ng/μl] zawarte w poszczególnych próbkach i kompletność profili genetycznych kolejnych oznaczeń uzyskanych dwoma metodami izolacji DNA z 25 fragmentów kostnych. Zaobserwowano brak korelacji pomiędzy ilością DNA uzyskaną dwiema testowanymi metodami, świadczyć to może o różnej sile pozyskiwania DNA przez badane zestawy oraz o możliwości zanieczyszczenia próbek DNA pochodzenia obcogatunkowego. Zwrócono także uwagę na brak przełożenia wysokiego stężenia DNA na kompletność profilu genetycznego podczas ekstrakcji zestawem PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit. Świadczyć to może o słabej wydajności zestawu w usuwaniu inhibitorów PCR.

Tabela IV. Stężenia DNA [ng/μl] w badanych próbkach  
Table IV. DNA concentration [ng/μl] in investigated samples.

Próbka Sample	QIAamp® DNA Investigator Kit 100 mg kości 100 mg of bone powder	PrepFiler™ Kit 50 mg kości 50 mg of bone powder
1. 23768 (1)	31,4	12,8
2. 23768 (2)	24,2	10,15
3. 23768 (3)	31,8	13,8
4. 23768 (4)	50,1	3,06
5. 23768 (5)	31,1	8,82
6. 23768 (6)	0,588	12,7
7. 23626	0,21	0,988
8. 23292	0,241	0,498
9. 24158	27,0	22,2
10. 23303	58,0	18,9
11. 23606	580,0	11,0
12. 22837	3,5	2,94
13. 21933	0,068	9,15
14. 22911	0,085	0,496
15. 23804	6,15	0,275
16. 24082	26,4	597,0
17. 24164	2,08	15,6
18. 24239	0,639	0,326
19. 24148	590,0	31,4
20. 24166	25,7	35,5
21. 23964	40,3	41,3
22. 24146	49,8	54,5
23. 23613	0,793	0,131
24. 4K/09	54,0	2,25
25. 110K/08	0,124	1,09

Analizując wyniki można stwierdzić, że z porównywanych w pracy metod izolacji DNA bardziej efektywną jest metoda z zastosowaniem zestawu QIAamp® DNA Investigator Kit, ponieważ wraz ze wzrostem stężenia DNA w sposób istotny statystycznie wzrasta pełność profilu genetycznego ( $p=0,041263$ ).

## WNIOSKI

1. QIAamp® DNA Investigator Kit jest wydajną i niekłopotliwą metodą izolacji DNA z materiału kostnego, zapewniającą wysoką wydajność izolacji, co przekłada się na kompletność uzyskanego profilu genetycznego.
2. Zestaw PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit jest w przypadku materiału zdegradowanego mało skuteczną metodą izolacji.

## PIŚMIENICTWO

1. QIAamp DNA Investigator Handbook, QIAGEN 12/2007.
2. PrepFiler™ Forensic DNA Extraction Kit, User Guide, Applied Biosystems. 05/2008.
3. AmpFłSTR® Identifiler™ PCR Amplification Kit, User's Manual, Applied Biosystems. 08/2006.
4. Kapińska E., Szczerkowska Z.: Ustalenie tożsamości nieznannej osoby w oparciu o określenie profilu DNA z ekshumowanych szczątków ludzkich. Arch. Med. Sąd. Krym. 2008, 58: 32-36.
5. Parys-Proszek A., Branicki W., Wolańska-Nowak P., Kupiec T.: Application of BioRobot M48 to DNA extraction from biological specimens analysed in forensic investigations. Problems of Forensic Sciences. 2008, 76: 369-381.
6. Budowle B., Eisenberg A. J., Van Daal A.: Validity of low copy number typing and applications to forensic science. Croat Med J. 2009, 50: 207-217.
7. Drábek J., Petrek M.: A sugar, laundry detergent, and salt method for extraction of deoxyribonucleic acid from blood. Biomed. Papers. 2002, 146(2): 37-39.
8. Bille T., Wingrove R., Holland M., Cave C., Schumm J.: Novel method of DNA extraction from bones assisted DNA identification of World Trade Center victims. International Congress Series. 2004, 1261: 553-555.
9. Salamon M., Tuross N., Arensburg B., Weiner S.: Relatively well preserved DNA is present

in the crystal aggregates of fossil bones. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102(39): 13783-13788.

10. Höss M., Pääbo S.: DNA extraction from Pleistocene bones by silica-based purification method. *Nucl Acids Res.* 1993, 21(16): 3913-3914.

11. Cattaneo C., Smilie D., Gelsthorpe K., Piccinini A., Gelsthorpe A., Sokol R.: A simple method for extracting DNA from old skeletal material. *Forensic Sci Int.* 1995, 74: 167-174.

12. Rohland N., Hofreiter M.: Comparison and optimization of ancient DNA extraction. *Biotechniques.* 2007, 42: 343-352.

13. Butler J.: Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques.* 2007, 43(4): 2-5.

14. Fondevila M., Philips C., Naverán N., Cerezo M., Rodríguez A., Calvo R., Fernández L., Carracedo Á., Lareu M.: Challenging DNA: assessment of a range of genotyping approaches for highly degraded forensic samples. *Forensic Sci Int. Genetics Supplement Series.* 2008, 1: 26-28.

Adres do korespondencji:  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej w Łodzi  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
ul. Sędziowska 18a  
Łódź  
tel. 042 6544536