

B. Turowska, B. Opolska-Bogusz, W. Dutkiewicz, J. Kunz Badanie niektórych układów grupowych enzymów krwi u biorców po przetoczeniu Arch. Med. Sąd. Krym., 1997, 47, 19-22 -176. B. Turowska Badania grupowe krwi w sprawach spornego ojcostwa przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej w Krakowie w latach 1926-1995 Arch. Med. Sąd. Krym., 1997, 47, 139-145 -177. B. Turowska, M. Sanak Study of short repeat system HUMTH01 in South Polish population Med. Sci. Monit., 1997, 3, 704-707 -178. B. Turowska Polimorfizm DNA jako jedyna ekspertyza (?) w sprawach o dochodzenie ojcostwa Arch. Med. Sąd. Krym., 1997, 47, 289-294.

1998-2000

179. B. Turowska, M. Sanak Data on the loci LDLR, GYPA, HBG, D7S8 and GC in a South Polish population Int. J. Legal Med., 1998, 111, 101-102 -180. B. Turowska, M. Sanak Badanie częstości alleli niektórych systemów typu STR w populacji Polski Południowej Arch. Med. Sąd. Krym., 1998, 48, 97-102 -181. B. Turowska, B. Opolska-Bogusz, M. Sanak Przydatność badań polimorfizmu DNA w śladach biologicznych Arch. Med. Sąd. Krym., 1998, 48, 153-157 -182. M. Sanak, B. Turowska ApoB VNTR system population data in the South Poland inhabitants Med. Sci. Monit., 1999, 5, 301-303 -183. B. Turowska, M. Sanak, B. Opolska-Bogusz Częstość alleli układów STR:LPL, F13B i HPRTB w populacji Polski Południowej Arch. Med. Sąd. Krym., 1999, 49, 149-152 -184. B. Turowska, M. Sanak, B. Opolska-Bogusz, A. Gross Przydatność metod klasycznych i polimorfizmu DNA przy ustalaniu ojcostwa płodu zamordowanej kobiety. Opis przypadku Arch. Med. Sąd. Krym., 2000, 50, 81-84 -185. B. Turowska, M. Sanak Frequency data on the loci vWA, FES/FPS, F13A01, TH01, TP0X and CSF1P0 in a population from South Poland Int. J. Legal Med., 2000, 113, 123-125.

Bożena M. Turowska*, Marek Sanak, Barbara Opolska-Bogusz***

Częstość alleli systemów STR: D13S317, D7S820 i D16S539 w populacji Polski Południowej

Allele frequencies of STR: D13S317, D7S820 and D16S539 systems in the South Poland population

* Z Katedry Medycyny Sądowej CM UJ w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. B. Turowska

**Z Katedry Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie

Kierownik: prof. dr hab. A. Szczeklik

Badanie systemów STR: D13S317, D7S820 i D16S539 wykonano izolując DNA z 298 próbek krwi. Amplifikację prowadzono przy zastosowaniu zestawu Silver STR™ Multiplex firmy Promega. W locus D13S317 wykazano w badanej populacji 8 alleli (najczęstszy 11), w locus D7S820 - 9 alleli (najczęstszy 10) a w locus D16S539 - 6 alleli (najczęściej występujący allel 12). Obliczone parametry ME, DP, PE, PM, PIC i HE wskazują na dużą praktyczną przydatność 3 badanych systemów w medycynie sądowej

DNA was isolated from 298 blood samples of unrelated individuals of the Southern Polish population. Using the commercialized Silver STR™ Multiplex - Promega kit the amplification was performed. The most frequent allele of the D13S317 was 11, of the D7S820 was 10 and of the D16S539 locus - allele 12. Statistical parameters ME, DP, PE, PM, PIC and HE showed that the examined STR systems are useful in forensic medicine.

Słowa kluczowe: PCR, STR: D13S317, D7S820, D16S539, częstość alleli.

Key words: PCR, STR: D13S317, D7S820, D16S539, allele frequencies.

Truizmem byłoby pisać, że warunkiem koniecznym przy wprowadzaniu do praktyki sądowo-lekarskiej nowych systemów genetycznie uwarunkowanych jest nie tylko sprawdzenie stosowanej metody lecz również opracowanie uzyskanych wyników badań w zakresie częstości występowania poszczególnych alleli w danej populacji.

W niniejszym doniesieniu przedkładamy wyniki dotyczące 3 STR systemów tj. D13S317, D7S820 i D16S539.

MATERIAŁ I METODYKA

Badaniami objęto 298 próbek krwi, pochodzących od osób dorosłych, zgłaszających się do Katedry Medycyny Sądowej w Krakowie z rejonu Polski Południowej, w sprawach o dochodzenie spornego ojcostwa. Były to osoby nie spokrewnione, obojga płci.

Po wyizolowaniu DNA metodą nie enzymatyczną (4) przeprowadzono dla badanych systemów jednoczesną amplifikację używając zestawu Silver STR™ Multiplex firmy Promega. Produkty amplifikacji rozdzielano na 6% żelach poliakrylamidowych stosując aparat S.A.32 firmy BRL. Do detekcji alleli stosowano metodę srebrzenia.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej (1, 2, 3, 5).

Homogenność populacji była testowana przy użyciu komputerowego programu opracowanego przez G. Carmody (Carleton University, Ottawa, Canada).

WYNIKI I OMÓWIENIE

W tabelach I–IV przedstawiono częstości występowania alleli dla 3 badanych systemów oraz fenotypy analizowanych loci dla ludności zamieszkującej region Polski Południowej. Odchylenia od prawa Hardy-Weinberga nie stwierdzono ani przy obliczeniach pojedynczych loci ani też przy ich kombinacji.

Tabela I. Częstość alleli w systemie : D13S317, D7S820 i D16S539 w populacji Polski Południowej.

Table I. Allele frequency distribution for systems D13S317, D7S820 and D16S539 in the Southern Polish population.

Allele	D13S317		D7S820		D16S539	
	N	Częstość Frequency	N	Częstość Frequency	N	Częstość Frequency
6			1	0,003	–	–
7	–		7	0,023	–	–
8	40	0,134	46	0,154	–	–
9	28	0,094	40	0,134	30	0,101
10	8	0,027	89	0,299	28	0,094
11	104	0,349	63	0,211	91	0,305
12	74	0,248	36	0,121	92	0,309
13	26	0,087	15	0,050	51	0,171
14	17	0,057	1	0,003	6	0,020
15	1	0,003			–	–

W locus D13S317 najczęściej występującymi allelami są 11 (34,9%) i 12 ((24,8%), w locus D7S820 najczęstszymi allelami są 10 (29,9%) i 11 (21,1%) a w locus D16S539 allel 12 (30,9%) i 11 (30,5%). Obliczone wartości heterozy-

gotyczności (HE) w badanej populacji wynoszą dla układu D13S317 - 0,7785, D7S820 - 0,8188 a dla D16S539 - 0,7785. Teoretyczne wartości oczekiwanych heterozygot dla badanych układów są odpowiednio 0,7628 - 0,8066 - 0,7628. Uzyskane wyniki obliczeń statystycznych świadczą więc o tym, że badana populacja stanowi próbę losową a metody są prawidłowo stosowane.

Tabela V zawiera informacje dotyczące niektórych parametrów statystycznych o przydatności badanych systemów STR w medycynie sądowej a mianowicie: szansę wykluczenia ojcostwa (ME), współczynnik dyskryminacji (DP), siłę wykluczenia ojcostwa (PE), prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności (PM) oraz zawartość informacji genetycznej (PIC). Wartości tych obliczeń wskazują na dużą przydatność 3 badanych wysoce polimorficznych systemów w badaniach genetycznych przy rozwiązywaniu różnych problemów w medycynie sądowej.

Tabela II. Częstości fenotypowe w systemie D13S317.

Table II. Phenotype frequency distribution for system D13S317.

Fenotyp Phenotype	N	Częstość Frequency
8/8	4	0,027
8/9	3	0,020
8/10	2	0,013
8/11	14	0,094
8/12	8	0,054
8/13	3	0,020
8/14	2	0,013
9/9	1	0,007
9/10	1	0,007
9/11	10	0,067
9/12	8	0,054
9/13	2	0,013
9/14	2	0,013
10/11	2	0,013
10/12	2	0,013
10/14	1	0,007
11/11	18	0,121
11/12	26	0,175
11/13	9	0,060
11/14	7	0,047
12/12	9	0,060
12/13	9	0,060
12/14	3	0,020
13/13	1	0,007
13/14	1	0,007
14/15	1	0,007

Tabela III. Częstości fenotypowe w systemie D7S820.

Table III. Phenotype frequency distribution for system D7S820.

Fenotyp Phenotype	N	Częstość Frequency
6/7	1	0,007
7/8	1	0,007
7/10	4	0,027
7/11	1	0,007
8/9	3	0,020
8/10	18	0,121
8/11	12	0,081
8/12	8	0,054
8/13	4	0,027
9/9	7	0,047
9/10	12	0,081
9/11	7	0,047
9/12	4	0,027
10/10	11	0,074
10/11	16	0,107
10/12	12	0,081
10/13	5	0,034
11/11	8	0,054
11/12	7	0,047
11/13	3	0,020
11/14	1	0,007
12/12	1	0,007
12/13	3	0,020

Tabela IV. Częstości fenotypowe w systemie D16S539.

Table IV. Phenotype frequency distribution for system D16S539.

Fenotyp Phenotype	N	Częstość Frequency
9/9	3	0,020
9/10	4	0,027
9/11	4	0,027
9/12	12	0,081
9/13	3	0,020
9/14	1	0,007
10/10	1	0,007
10/11	12	0,081
10/12	4	0,027
10/13	4	0,027
10/14	2	0,013

Ciąg dalszy tabeli IV.

11/11	11	0,074
11/12	33	0,221
11/13	18	0,121
11/14	2	0,013
12/12	13	0,087
12/13	16	0,107
12/14	1	0,007
13/13	5	0,034

Tabela V. Parametry przydatności systemów D16S539, D7S820 i D13S317 w medycynie sądowej.

Table V. Statistical parameters of the usefulness of D16S539, D7S820 and D13S317 in forensic medicine.

SYSTEM	ME	DP	PE	PM	PIC
D16S539	0,5003	0,9063	0,5900	0,3466	0,7253
D7S820	0,5663	0,9362	0,6572	0,3548	0,7802
D13S317	0,5314	0,9206	0,6181	0,3521	0,7480
ŁĄCZNIE TOTAL	0,898445	0,999525	0,946325	0,726862	

PIŚMIENNICTWO

1. Brenner C, Morris J.: Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes : validation and other studies. In : Proceedings of the international symposium on human identification 1989. Promega. Corporation, Madison. 1990, 21-53 -2. Fisher R.A. : Standard calculations for evaluating a blood group system. Heredity. 1951, 5, 95-102 -3. Kruger J., Fuhrmann W., Lichte K.H., Steffens C: Zur Verwendung des Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschafts-begutachtung. Dtsch. Z. Gerichtl. Med. 1968, 64, 127-146 -4. Lahiri D.K., Bye S., Numberger J.I., Hodes M.E., 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 -5. Ott J.: Analysis of human genetic linkage. Johns Hopkins University Press, 1991.

Adres autora:

Katedra Medycyny Sądowej CM UJ
31-531 Kraków
ul. Grzegorzeczka 16.

Zofia Szczerkowska, Inga Antyborzec

System Silver STR™ Multiplex - zastosowanie w medycynie sądowej

Silver STR™ Multiplex System - application in forensic medicine

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Gdańsku
p.o. Kierownik: dr hab. Z. Szczerkowska - profesor AM

Fenotypy i allele trzech wysoce polimorficznych systemów STR D13S317, D7S820 i D16S539 oznaczono w DNA wyizolowanym z krwi płynnej, plam krwi i mięśni. Amplifikację prowadzono przy użyciu komercyjnego zestawu Silver STR™ Multiplex (Promega). W analizowanych systemach wykazano 24 różne allele. Nie stwierdzono odchyłań od prawa Hardy-Weinberg. Obliczone parametry statystyczne PD, PIC, MEC, MEP, PE, PI oraz HE wskazują na wysoką przydatność trzech analizowanych systemów w medycynie sądowej.

Phenotypes and alleles of three high polymorphic systems STR: D13S317, D7S820 and D16S539 were determined in DNA isolated from blood samples (194-220 unrelated individuals of both sexes), blood stains and muscles. Amplification was performed using the commercially available Gene Print Silver STR™ III Multiplex System (Promega) kit. A total of 24 alleles for all systems could be observed. Distribution of alleles frequencies indicated no deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium. Statistical parameters: PD, PIC, MEC, MEP, PE, PI and heterozygosity has shown the usefulness of the D13S317, D7S820 and D16S539 in forensic practice.

Słowa kluczowe: PCR, STR, analiza populacyjna, multiplex.

Key words: PCR, STR, multiplex analysis, population study.

Określanie profili genetycznych polimorficznych sekwencji DNA stanowi rutynową metodę badawczą w wielu dyscyplinach medycznych. Badania te mają szczególne znaczenie w praktyce sądowo-lekarskiej zarówno w identyfikacji śladów biologicznych jak i w dochodzeniu ojcostwa. Powszechnie stosowane analizy dotyczą krótkich mikrosatelitarnych sekwencji DNA - STR. Metodą PCR można określić allele pojedynczych loci genowych, a stosując zestawy typu multiplex PCR w czasie jednej reakcji możliwe jest równoczesne zamplifikowanie alleli większej ilości polimorficznych systemów. Warunkiem powodzenia tego