

Natalia Rogalska-Niżnik, Jolanta Różańska-Zawieja, Zbigniew Sobek

Analiza 10 loci STR zestawu SGM Plus w próbie populacji ludności Wielkopolski

Wstęp

Poszerzająca się w ogromnym tempie wiedza na temat struktury i funkcjonowania genomów roślin i zwierząt, a przede wszystkim genomu człowieka oraz metody badawcze charakteryzujące się coraz większym stopniem zaawansowania technicznego i technologicznego znalazły swoje zastosowanie praktyczne nie tylko w medycynie, biotechnologii, archeologii czy rolnictwie. Nowoczesne metody biologii molekularnej, takie jak sekwencjonowanie i genotypowanie DNA, stały się także istotnym narzędziem w badaniach z zakresu medycyny sądowej i kryminalistyki. Wykorzystanie metod analizy DNA w badaniach kryminalistycznych i medyczno-sądowych nierozłącznie związane było nie tylko z poznaniem wpływu różnorodnych czynników na czułość, wiarygodność i powtarzalność przeprowadzanej analizy, ale także z obligatoryjnym poznaniem częstości alleli obecnych w analizowanych loci. Już od lat 90. zeszłego wieku na łamach polskich i zagranicznych czasopism naukowych publikowane były prace poruszające tematykę badań częstości alleli w próbach populacyjnych z różnych regionów Polski. Między innymi w roku 1998 Turowska i Sanak opublikowali wyniki przeprowadzonych na próbie 231 osób badań dotyczących częstości alleli układów STR: TH01, TPOX i CSF1PO w populacji Polski Południowej (Turowska i Sanak, 1998). W roku 1999 Turowska i wsp. (1999) opublikowali dane dotyczące częstości alleli układów STR: LPL, F13B i HPRTB w populacji Polski Południowej. W roku 2001 opublikowano wyniki badań populacyjnych przeprowadzonych na próbie 301 osób triplexu STR: D3S1744, D12S1090 i D18S849 w południowo-wschodnim regionie Polski (Kozioł i wsp., 2001). W tym samym roku ukazała się publikacja opisująca zmienność genetyczną w obrębie 14 loci typu VNTR w populacji Polski Północnej (Szczerkowska i wsp., 2001). Natomiast w 2006 r. Krzyżńska i wsp. (2006) opublikowali dane dotyczące loci STR D2S1338 i D19S433 w próbce populacyjnej z terenu Dolnego Śląska.

Wraz z pojawieniem się na rynku polskim komercyjnych zestawów do jednoczesnej amplifikacji większej liczby loci STR, także polscy naukowcy zyskali możliwość łatwiejszego i szybszego uzyskiwania danych na temat frekwencji alleli analizowanych układów typu

STR oraz struktury genetycznej badanych przez siebie populacji. Ukazały się między innymi prace na temat badań populacyjnych 9 loci typu STR z zestawu Profiler Plus (D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820) na podstawie próbki populacyjnej z obszaru Polski (Pawłowski i wsp., 2000), a także 10 loci typu STR z zestawu AmpFISTR SGM Plus (D3S1358, vWA, D16S539, D2S1338, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA) w populacji Polski Południowej (Turowska i wsp., 2001), Podlasia (Pepiński i wsp., 2003) oraz regionu centralnej Polski (Jacewicz i wsp., 2004). Natomiast Kozioł i wsp. (2004) opublikowali wyniki badań dotyczących frekwencji 19 loci typu STR (D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, CSF1PO, F13A01, F13B, FESFPS, FGA, LPL, Penta D, Penta E, TH01, TPOX, VWA) w populacji południowo-wschodniej Polski. Kolejne prace obejmowały dane dotyczące frekwencji 16 loci typu STR ujętych w zestawie Power Plex-16 (D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX, FGA) w populacji centralnej Polski (Kuźniar i Płoski, 2004) oraz frekwencji 15 loci typu STR ujętych w zestawie AmpFISTR Identifier (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA) w populacji północnej Polski (Szczerkowska i wsp., 2004). Także Sadowska i wsp. (2004) poddali analizie częstości 10 loci typu STR zestawu AmpFISTR SGM Plus w próbie populacji Małopolski. Autorzy ci porównali także uzyskane przez siebie wyniki z wcześniej opublikowanymi dla obszaru południowo-wschodniej Polski, Podlasia i centralnej Polski. W następnych latach Czarny i wsp. (2005) przebadali próbę populacji z północnej i centralnej Polski, natomiast Sołtyszewski i wsp. (2006) poddali analizie próbę populacyjną z zachodniej Polski. Janica i wsp. (2007) analizowali częstości 10 autosomalnych loci STR w populacji Podlasia. Natomiast Piątek i wsp. (2008) przebadali frekwencje 15 autosomalnych loci STR w populacji Pomorza Zachodniego. Wśród prac dotyczących badań z zakresu genetyki populacji nie można oczywiście pominąć analizy struktury populacji polskiej przeprowadzonej na podstawie zestawu AmpFISTR SGM Plus i opublikowanej na stro-

nie internetowej Wydziału Biologii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP w Warszawie, obejmującej pokąźną liczbę 2233 osób (http://clk.policja.pl/portal/clk/503/11026/Zespol_Badan_Biologicznych.html).

Cel badań

Celem niniejszej pracy było poznanie struktury genetycznej populacji ludności z terenu Wielkopolski na przykładzie próby obejmującej 214 osób, na podstawie 10 loci typu STR ujętych w zestawie AmpFISTR SGM Plus, oraz określenie przydatności analizowanych loci do badań medyczno-sądowych, a także porównanie uzyskanych wyników z danymi dla Polski Zachodniej (Sołtyszewski i wsp., 2006), Polski Północnej (Szczerkowska i wsp., 2004), Małopolski (Sadowska i wsp., 2004) oraz danymi dla obszaru Polski zamieszczone na stronie internetowej Wydziału Biologii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP (http://clk.policja.pl/portal/clk/503/11026/Zespol_Badan_Biologicznych.html).

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiła krew oraz wymazy z jamy ustnej pobrane od 214 niespokrewnionych osób obojga płci z terenu Wielkopolski, przekazane jako materiał porównawczy do ekspertyz kryminalistycznych zleconych do wykonania w latach 2005–2008 w pracowni biologicznej Laboratorium Kryminalistycznego KWP w Poznaniu. DNA izolowano metodą ekstrakcji organicznej. Ocenę ilości DNA w uzyskanych izolatach przeprowadzono z użyciem licencjonowanego, gotowego zestawu odczynników PicoGreen® dsDNA Quantitation Kit firmy Molecular Probes i aparatu Fluoroskan Ascent FL firmy Labsystems. Otrzymane ekstrakty amplifikowano techniką PCR z użyciem zestawu odczynników AmpF1STR® SGM Plus™ firmy Applied Biosystems i aparatu GenAmp PCR System 9700 firmy Applied Biosystems zgodnie z zaleceniami producenta. Produkty reakcji PCR poddano elektroforezie w żelu poliakrylamidowym z użyciem sekwenatora ABI PRISM® 377. Otrzymane wyniki analizowano z użyciem programu GeneScan® i Genotyper® 3.7 NT. Badania przeprowadzono w obecności kontroli dodatniej (DNA o znanym genotypie) i kontroli ujemnej (próbna odczynnikowa), otrzymując prawidłowe dla nich wyniki.

Dla badanych loci obliczono częstości alleli, heterozygotyczność obserwowaną i oczekiwaną (H_{obs} i H_{exp}). Zgodność obserwowanych wartości z prawem równowagi Hardy'ego–Weinberga obliczono, stosując test dokładny (Guo i Thompson, 1992) z użyciem oprogramowania GDA v.1.1 (*Genetic Data Analysis*). Stopień zróżnicowania genetycznego (heterozygotycz-

ność) obliczono według Nei (1978), współczynnik informacji o polimorfizmie (*Polymorphism Information Content*) według Bootsteina i wsp. (1980), typowy indeks ojcostwa (*Typical Paternity Index*) według Brennera i Morrisa (1989); prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności (*Random Matching Probability*) i siłę dyskryminacji (*Discrimination Power*) wg Jonesa (1972). Do obliczeń parametrów przydatności do badań medyczno-sądowych wykorzystano arkusze kalkulacyjne PowerStatsV12 oraz PowerStatsV12_THO1_Data (Promega Corp.).

Następnie porównano uzyskane wyniki analizy statystycznej z wcześniej opublikowanymi wynikami dla Polski Zachodniej (Sołtyszewski i wsp., 2006), Polski Północnej (Szczerkowska i wsp., 2004), Małopolski (Sadowska i wsp., 2004) oraz z wynikami opublikowanymi dla populacji polskiej na stronie internetowej Wydziału Biologii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP. Aby określić, czy różnice między porównywanymi populacjami są statystycznie istotne zastosowano z-test frakcji wg Greń (1972), przyjmując wartość krytyczną $u = 1,96$ dla $\alpha = 0,05$ oraz $u = 2,58$ dla $\alpha = 0,01$.

Wyniki

Na podstawie zestawu AmpFISTR® SGM Plus™ firmy Applied Biosystems oznaczono genotypy w 10 badanych loci STR dla próby populacyjnej ludności Wielkopolski liczącej 214 osoby. Na podstawie uzyskanych genotypów oszacowano frekwencje alleli dla 10 loci STR ujętych w wyżej wymienionym zestawie multipleksowym (tab. 1).

W tabeli gwiazdką oznaczono frekwencje alleli mniejsze niż minimalna frekwencja alleli ($5/2N$) rekomendowana przez National Research Council (NRC II), obliczona na podstawie liczebności badanej próby populacyjnej i wynosząca 0,011682. Otrzymane częstości alleli dla poszczególnych loci pozwoliły na określenie w badanej populacji heterozygotyczności i polimorficzności analizowanych loci oraz zgodności częstości oznaczonych genotypów z prawem równowagi Hardy'ego–Weinberga. Wyliczone na ich podstawie charakterystyki statystyczne przedstawiono w tabeli 2. Wyniki testu „exact” wskazują, że otrzymane częstości genotypów dla wszystkich loci nie różnią się istotnie od częstości oczekiwanych (poziom istotności 0,05), a zatem brak jest podstaw do odrzucenia H_0 zakładającej, że otrzymane częstości genotypów są zgodne z prawem równowagi Hardy'ego–Weinberga. Częstości alleli występujących w badanych loci posłużyły także do określenia przydatności analizowanych loci do badań medyczno-sądowych.

Tabela 1

Częstości alleli 10 loci STR w próbie z populacji ludności Wielkopolski
Allelic frequencies of the 10 STR loci in the Wielkopolska population sample

Allel	D3	VWA	D16	D2	D8	D21	D18	D19	THO1	FGA
5									0,002336*	
6									0,205607	
7									0,142523	
8			0,011682		0,011682				0,107477	
9			0,086449		0,021028				0,217290	
9.2								0,002336*		
9.3									0,313084	
10		0,042056			0,072430		0,004673*		0,011682	
11	0,007009*		0,294393		0,063084		0,011682	0,002336*		
12	0,002336*		0,327103		0,128505		0,119159	0,084112		
13	0,002336*	0,004673*	0,196262		0,334112		0,081776	0,252336		
13.2								0,016355		
14	0,144860	0,105140	0,042056		0,254673		0,151869	0,369159		
14.2								0,025701		
15	0,294393	0,109813			0,098131		0,172897	0,144860		
15.2								0,028037		
16	0,207944	0,189252		0,060748	0,014019		0,168224	0,042056		
16.2								0,018692		
17	0,200935	0,303738		0,214953	0,002336*		0,121495	0,002336*		0,004673*
17.2								0,007009*		
18	0,133178	0,182243		0,098131			0,086449			0,004673*
18.2								0,004673*		
19	0,007009*	0,091121		0,098131			0,035047			0,102804
20		0,011682		0,135514			0,023364			0,177570
21		0,002336*		0,028037			0,014019			0,165888
22				0,023364			0,009346*			0,189252
22.2										0,007009*
23				0,095794						0,116822
23.2										0,007009*
24				0,107477						0,107477
24.2										0,002336
25				0,121495						0,077103
26				0,011682						0,030374
27				0,004673*		0,025701				0,007009*
28						0,161215				
29						0,212617				
30						0,252336				
30.2						0,053738				
31						0,070093				
31.2						0,081776				
32						0,009346*				
32.2						0,088785				
33.2						0,039720				
34.2						0,004673*				

**Charakterystyki statystyczne oraz przydatność 10 loci STR w badaniach medyczno-sądowych
na podstawie próby z populacji Wielkopolski**

Statistical characteristics and the usefulness of 10 STR loci in forensic medicine on the basis of Greater Poland population sample

Populacja wielkopolska	D3S1358	vWA	D16S539	D2S1338	D8S1179	D21S11	D18S51	D19S433	THO1	FGA
Liczba alleli	428	428	428	428	428	428	428	428	428	428
Liczba heterozygot	175	178	170	187	172	181	189	168	157	177
Heterozygotyczność obserwowana H_{OBS}	0,81776	0,83178	0,79439	0,87383	0,80374	0,84579	0,88318	0,78505	0,73364	0,82710
Heterozygotyczność oczekiwana H_{EXP}	0,79274	0,80902	0,75844	0,87755	0,78921	0,84238	0,87545	0,76995	0,78231	0,86432
Błąd heterozygotyczności	0,09453	0,09949	0,08565	0,09946	0,093530	0,11174	0,12815	0,08843	0,09163	0,12200
Liczba homozygot	39	36	44	27	42	33	25	46	57	37
Homozygotyczność	0,18224	0,16822	0,20561	0,12617	0,19626	0,15421	0,11682	0,21495	0,26636	0,17290
HWE*	0,476250	0,952500	0,700000	0,800312	0,880625	0,067187	0,427500	0,279687	0,229063	0,935625
Prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności (MP), tj. 1 osoba na	0,07913	0,06682	0,09975	0,02996	0,07926	0,04992	0,03398	0,08927	0,08079	0,03555
	12,6	15	10	33,4	12,6	20	29,4	11,2	12,3	28,1
Siła dyskryminacji (PD)	0,92087	0,93318	0,90025	0,97004	0,92074	0,95008	0,96602	0,91073	0,91921	0,96445
Wskaźnik informacji o polimorfizmie (PIC)	0,75893	0,78117	0,71797	0,86311	0,75922	0,82186	0,86013	0,73750	0,74647	0,84684
Siła wykluczenia (PE)	0,63240	0,65928	0,58867	0,74234	0,60600	0,68659	0,76120	0,57159	0,48221	0,65027
Typowy indeks ojcostwa (TPI)	2,74	2,97	2,43	3,96	2,55	3,24	4,28	2,33	1,88	2,89
Dla 10 układów STR zestawu SGM Plus: • prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności MP: $5,4 \times 10^{-13}$, tj. jak u 1 osoby na 1 835 874 046 874 osób; • siła dyskryminacji PD: 0,999999999999946; • siła wykluczenia PE: 0,989657632653.										

HWE* – wartości prawdopodobieństwa P testu „exact” w ocenie stanu równowagi Hardy’ego–Weinberga na podstawie 3200 losowych permutacji.

Tabela 3

Wyniki z-testu frakcji dla loci zestawu SGM Plus dla wybranych populacji z terenu Polski

(wartość krytyczna $u = 1,96$ dla $\alpha = 0,05$; $u = 2,58$ dla $\alpha = 0,01$)

The „z-test” results of SGM Plus loci for chosen populations of Poland

(critical value $u = 1,96$ for $\alpha = 0,05$; $u = 2,58$ for $\alpha = 0,01$)

Allele	Wielkopolska (N = 214) ↓ Polska Zachodnia (N = 668)	Wielkopolska (N = 214) ↓ Polska Północna (N = 145)	Wielkopolska (N = 214) ↓ Małopolska (N = 163)	Wielkopolska (N = 214) ↓ Polska (N = 2233)
Locus D3				
10	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
11	1,8668	b.d.	0,7382	3,5793**
12	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
13	0,4348	0,9095	0,8208	0,3539
14	0,5301	0,2610	0,0266	0,5542
15	1,1593	0,1503	0,1810	1,9463
16	0,1648	1,2714	0,4287	1,3812
17	0,9968	0,4179	0,9052	0,6125
18	0,5069	0,3540	0,9034	0,7074
19	1,6066	0,6291	0,7382	0,9526
20	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
21	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus vWA				
11	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
13	0,2664	b.d.	b.d.	0,6300
14	0,0671	0,0751	0,4965	2,0541*
15	0,2253	0,2705	1,9970*	2,1825*
16	0,3455	0,9190	0,5067	2,8304**
17	1,689	1,1094	0,9209	4,4836**
18	2,0724*	1,3792	2,1109*	0,2652
19	1,3601	0,7196	1,1430	2,6924**
20	0,0488	0,7569	0,7868	0,8440
21	0,2227	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D16S539				
7	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
8	1,0035	0,6404	1,0642	0,6721
9	0,1192	0,7684	0,5525	0,2313
10	0,3606	0,0445	0,5881	0,1757

11	0,4891	0,3589	0,0026	0,4882
12	0,2020	0,3983	0,5944	0,7562
13	0,5270	0,8048	0,0910	0,2922
14	1,5792	1,7543	0,0600	1,4942
15	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D2S1338				
15	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
16	1,3241	1,1374	1,4885	0,9726
17	0,0923	0,9391	0,1947	0,4369
18	1,3256	1,0275	0,1398	1,0365
19	0,8177	1,0988	0,5494	1,1216
20	0,5675	0,6105	0,4589	0,0415
21	1,3584	1,2042	0,6798	1,0267
22	0,1560	0,6283	0,7820	0,1054
23	0,3597	0,1864	0,3863	0,0027
24	0,3362	0,1722	0,1406	0,0716
25	0,3064	0,0325	0,3372	0,0761
26	2,143*	0,6237	0,0736	1,4368
27	0,5192	0,2496	0,3469	0,7349
28	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
29	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D8S1179				
8	0,3497	0,2495	0,4346	0,4119
9	1,9997*	0,7134	b.d.	1,726
10	0,2522	0,0008	1,3139	0,866
11	0,3097	1,1730	1,0413	0,4940
12	1,8638	1,641	1,0933	2,4457*
13	0,1888	0,4884	1,4018	0,1047
14	1,585	1,7015	1,6826	1,419
15	0,2343	0,2243	0,0013	0,2609
16	1,1540	1,4145	1,5533	0,4933
17	0,7779	0,6237	1,2858	0,6989
18	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D21S11				
23.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
24.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.

25	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
26	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
27	0,0549	0,9330	b.d.	0,3975
28	1,7064	2,3428*	0,4112	1,2681
28.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
29	0,4615	1,0365	1,3583	0,4561
29.2	b.d.	b.d.	0,4730	b.d.
30	0,2520	1,0833	2,1275*	1,0478
30.2	0,8533	1,4466	0,2695	0,1795
31	0,0607	1,1960	0,3449	0,3024
31.2	0,4985	0,1190	1,2394	0,2817
32	0,0750	0,3538	2,1493*	0,6434
32.2	0,5033	1,8056	1,4006	0,2221
33	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
33.1	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
33.2	1,1276	1,4747	0,6622	0,4121
34.2	0,9108	b.d.	0,3469	0,8485
39	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D18S51				
9	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
10	0,3154	b.d.	0,7592	3,5523**
10.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
11	0,8894	2,5681*	1,3190	0,4119
12	1,6854	0,3624	1,1920	1,4216
13	0,1340	0,8106	0,7833	0,7770
13.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
14	0,6975	0,8571	0,6263	0,0952
14.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
15	0,2125	1,0028	1,420	1,0017
16	0,0091	1,7550	0,0177	0,3810
17	0,2640	1,1678	1,1767	0,6973
17.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
18	0,4888	1,0660	1,1032	0,2465
18.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
19	0,2116	0,5570	0,5587	0,5737

20	0,0192	0,3550	0,3683	0,5077
21	1,4279	0,0253	0,2080	1,6886
22	0,6709	0,3538	1,0523	0,6888
23	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
24	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
25	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
26	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
Locus D19S433				
9	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
9.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
10	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
11	0,4348	b.d.	0,8208	0,0506
11.1	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
11.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
12	0,1265	0,5689	0,2158	0,3175
12.1	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
12.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
13	1,8242	1,8551	0,8273	2,0741*
13.2	1,1624	0,2743	b.d.	0,1674
14	0,3420	0,2760	2,1494*	0,850
14.2	0,5808	0,9330	1,3084	0,1948
15	1,0790	0,5834	0,6704	1,8856
15.2	1,2980	0,4917	1,5138	1,2487
16	0,9685	0,5144	1,5433	0,6620
16.2	0,1960	0,5007	0,2709	0,5255
17	0,8496	0,9262	0,1933	0,3762
17.2	0,8754	0,6237	0,3358	0,3699
18	b.d.	0,2496	b.d.	b.d.
18.2	0,1432	0,4724	0,7592	0,4535
19.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
TH01				
5	0,8496	0,9295	0,3683	1,1512
6	1,3557	1,0282	0,5074	1,4804
7	0,3639	0,1737	0,7918	0,7309
8	0,0694	0,4724	0,8417	0,8095

9	0,8133	0,3260	0,6455	0,3737
9.3	0,7443	0,6699	0,0840	0,1500
10	0,1558	1,1893	0,7868	0,3156
Locus FGA				
14	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
16	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
17	b.d.	b.d.	b.d.	2,9219**
18	1,9858*	2,0062*	1,5127	2,0608*
19	0,9028	2,0835*	1,5419	1,0927
20	1,3032	0,6634	1,7040	1,3192
20.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
21	0,9573	1,3961	1,8059	0,8632
21.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
22	0,5460	0,1407	0,1384	0,1550
22.2	0,9719	1,2817	1,1057	1,3023
23	0,2864	0,4337	0,1185	0,0175
23.2	0,2864	b.d.	0,1466	0,5364
24	0,2484	0,1212	0,2776	0,6603
24.2	0,6886	b.d.	0,1933	0,0506
25	0,0344	0,6010	0,4029	0,705
25.2	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.
26	1,0294	2,1583*	0,2610	0,3973
27	1,4461	0,2496	0,1466	0,9877
28	b.d.	b.d.	b.d.	b.d.

* – istotna różnica

** – wysoce istotna różnica

b.d. – brak danych do porównania

Obliczono prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności (RMP), siłę dyskryminacji (PD), typowy indeks ojcostwa (TPI). Obliczona łączna wartość parametru RMP wyniosła $5,4 \times 10^{-13}$, tj. jak u 1 osoby na 1 835 874 046 874 osób; PD: 0,999999999999 46, a PE 0,989657632653. Wyniki obliczeń tych parametrów dla poszczególnych markerów genetycznych oraz dla całego zestawu dla AmpFISTR® SGM Plus™ przedstawiono w tabeli 3.

Następnie frekwencje i liczebności markerów genetycznych zestawu AmpFISTR® SGM Plus™ uzyskane

dla próby z populacyjnej Wielkopolski porównano z wcześniej opublikowanymi wynikami dla populacji Polski Zachodniej, Polski Północnej, Małopolski oraz danymi dla populacji polskiej opublikowanymi na stronie internetowej Wydziału Biologii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP.

Wyniki analizy statystycznej z zastosowaniem z-testu frakcji zawarto w tabeli 4. Wartości umieszczone w tabeli przedstawiają wielkość różnic pomiędzy porównywanymi populacjami wymienionymi w nagłówku tabeli.

Omówienie wyników i dyskusja

W niniejszej pracy podjęto próbę przeprowadzenia badań z zakresu genetyki populacji obejmującej 214 osób z terenu Wielkopolski. Największą liczbę alleli oznaczono w locus D19S433 (14 alleli), natomiast najmniejszą w loci D16S539 oraz TH01 (po 7 alleli), co jest zgodne z sugestiami Chakraborty (1992), że na podstawie 100–150 próbek DNA pochodzących od niespokrewnionych osób można ujawnić od 5 do 15 alleli dla poszczególnych loci STR. Obliczone na podstawie frekwencji analizowanych loci siła dyskryminacji (PD) wynosząca 0,99999999999946, siła wykluczenia (PE) wynosząca 0,989657632653 oraz prawdopodobieństwo przypadkowej zgodności (RMP) wynoszące $5,4 \times 10^{-13}$, tj. jak u 1 osoby na 1 835 874 046 874 osób, jednoznacznie wskazują, że badany zestaw loci STR charakteryzuje się bardzo dobrymi parametrami biostatystycznymi i wskazuje, że multipleksowa reakcja amplifikacji tych loci jest wysoce przydatnym narzędziem w identyfikacji materiału biologicznego.

W celu stwierdzenia ewentualnych różnic rozkład frekwencji alleli loci STR badanej próby z populacji Wielkopolski porównano z danymi dotyczącymi populacji Polski Zachodniej, Polski Północnej, Małopolski i całej Polski, stosując test statystyczny z-test frakcji.

W locus D3S1358 w populacji Wielkopolski wśród ujawnionych alleli stwierdzono allel 12 (częstość 0,002336), który nie został ujawniony w żadnej z porównywanych populacji. W porównaniu z populacją Polski Północnej ujawniono także allel 10 (częstość 0,007009), nie stwierdzono natomiast allela 10 występującego w populacji Polski Północnej z częstością 0,010. Podobnie w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono alleli 20 i 21 występujących w populacji Polski z częstościami odpowiednio 0,0004 i 0,0002. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, że z wyjątkiem allela 11 wykazującego wysoce istotne różnice między populacją Wielkopolski i całej Polski ($u = 3,5793$) porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleli.

W locus vWA w populacji z Wielkopolski, wśród ujawnionych alleli stwierdzono allel 13 (częstość 0,004673), który zaobserwowano w populacji Polski Zachodniej i populacji Polski, natomiast nie został ujawniony w populacjach Polski Północnej i Małopolski. W badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono allela 11 występującego w populacji Polski Zachodniej i populacji Polski z częstościami odpowiednio 0,001 i 0,0007. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, że populacje Wielkopolski i Polski Północnej nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleli, natomiast między po-

pulacją Wielkopolski i Polski Zachodniej stwierdzono statystycznie istotną różnicę jedynie we frekwencji allela 18 ($u = 2,0724$). Porównanie populacji Wielkopolski z Małopolską wykazało statystycznie istotne różnice we frekwencji alleli 15 ($u = 1,9970$) i 18 ($u = 2,1109$). Najwięcej różnic stwierdzono między populacją Wielkopolski a Polski, tj. wysoce istotne dla alleli 16, 17, 19 (odpowiednio $u = 2,8304$, $u = 4,4836$, $u = 2,6924$) oraz istotne dla alleli 14 i 15 (odpowiednio $u = 2,0541$ i $u = 2,1825$).

W locus D16S539 w populacji Wielkopolski nie stwierdzono allela 7 występującego w populacji Polski Zachodniej (częstość 0,01) i w populacji Polski (częstość 0,0002), a także allela 15 występującego w populacjach Polski Zachodniej, Małopolski i Polski z częstościami odpowiednio 0,002, 0,003 i 0,0013. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, że porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleli.

W locus D2S1338 w badanej próbie populacji z Wielkopolski nie stwierdzono allela 15 występującego w populacji Polski Północnej (częstość 0,0033) i w populacji Małopolski (częstość 0,004), a także allela 28 występującego w populacjach Polski (częstość 0,0002) oraz allela 29 występującego w populacji z Polski Zachodniej (0,001). Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, że z wyjątkiem allela 26 wykazującego istotne statystycznie różnice między populacjami Wielkopolski i Polski Zachodniej ($u = 2,143$), porównywane populacje nie różnią się statystycznie istotnie między sobą pod względem frekwencji alleli.

W locus D8S1179 w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono allela 18 występującego w populacji Polski (częstość 0,0002). Natomiast w przeciwieństwie do populacji Małopolski stwierdzono allel 9 (częstość 0,021028), występujący także w populacjach Polski Zachodniej (częstość 0,009), Polski Północnej (częstość 0,014) i Polski (częstość 0,114). Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, z wyjątkiem allela 9 wykazującego istotne statystycznie różnice między populacjami Wielkopolski i Polski Zachodniej ($u = 1,9997$) oraz allela 12 wykazującego istotne statystycznie różnice między populacjami Wielkopolski i Polski ($u = 24457$), że porównywane populacje nie różnią się statystycznie istotnie między sobą pod względem frekwencji alleli.

W locus D21S11 w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono alleli 24.2 i 25 występujących w populacji Polski z częstością 0,0002, a także allela 26 występującego w populacji Polski Zachodniej z częstością 0,001, w populacji Polski Północnej z częstością 0,003 i w populacji Polski z częstością 0,016. Nie zaobserwowano także allela 28.2 występującego w populacji

Polski Zachodniej (częstość 0,001), populacji Małopolski (częstość 0,025) i populacji Polski (częstość 0,0002). Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono statystycznie istotne różnice między populacjami Wielkopolski i Polski Północnej dla allelela 28 ($u = 2,3428$) oraz między populacjami Wielkopolski i Małopolski dla alleleli 30 i 32 (odpowiednio $u = 2,1275$ i $u = 2,1493$). Poza tym porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleleli.

W locus D18S51 w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono alleleli 9, 10.2, 13.2 i 14.2 występujących w populacji Polski z częstością 0,0002. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono wysoce istotną różnicę między populacjami Wielkopolski i Polski dla allelela 10 ($u = 3,5523$) oraz istotną statystycznie różnicę między populacjami Wielkopolski i Polski Północnej dla allelela 11 ($u = 2,5681$). Poza tym porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleleli.

W locus D19S433 w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono alleleli 9, 10, 11.1, 11.2, 12.1 występujących w populacji Polski z częstością 0,0002, alleleli 12.2 i 18 występujących w populacji Polski z częstością 0,0004, a także allelela 19.2 występującego w populacji Polski z częstością 0,0007. Stwierdzono natomiast allelel 9.2 o częstości 0,002336, którego nie obserwowano w żadnej z porównywanych populacji. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono statystycznie istotną różnicę między populacjami Wielkopolski i Małopolski dla allelela 14 ($u = 2,1494$) oraz między populacjami Wielkopolski i Polski dla allelela 13 ($u = 2,0741$). Poza tym porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleleli.

W locus TH01 w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono allelela 8.3 występującego w populacji Polski z częstością 0,0002 oraz allelela 11 występującego w populacji Małopolski z częstością 0,0009 i w populacji Polski z częstością 0,0002. Stwierdzono natomiast allelel 5 o częstości 0,002336 występujący w populacjach Polski Zachodniej (częstość 0,001) i Polski Północnej (częstość 0,007), a nieujawniony w populacji Małopolski. Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono, że porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleleli.

W locus FGA w badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono allelela 14 występującego w populacji Małopolski z częstością 0,003 oraz allelela 16 występującego w populacji Polski Zachodniej z częstością 0,002 i w populacji Polski z częstością 0,0007. Nie zaobserwowano także allelela 20.2 występującego w populacji Polski Północnej z częstością 0,010 i w populacji Pol-

ski z częstością 0,0004. Nie stwierdzono także allelela 21.2 występującego w populacjach Polski Zachodniej (częstość 0,002), Polski Północnej (częstość 0,007), Małopolski (częstość 0,003) i Polski (częstość 0,0027). W badanej próbie z Wielkopolski nie stwierdzono także allelela 25.2 obserwowanego w populacji Polski z częstością 0,0004 i allelela 28 występującego w populacjach Polski Zachodniej (częstość 0,0002), Polski Południowej (częstość 0,007) i Polski (częstość 0,0004). Na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji stwierdzono wysoce istotną różnicę między populacjami Wielkopolski i Polski dla allelela 17 ($u = 2,9219$) oraz istotną różnicę dla allelela 18 ($u = 2,0608$) między tymi populacjami. Ponadto stwierdzono statystycznie istotne różnice między populacją Wielkopolski i populacją z Polski Zachodniej dla allelela 18 ($u = 1,9858$), a także populacją Wielkopolski i Polski Północnej dla allelela 18 ($u = 2,0062$), allelela 19 ($u = 2,0835$) i allelela 26 ($u = 2,1583$). Poza tym porównywane populacje nie różnią się istotnie między sobą pod względem frekwencji alleleli.

Wnioski

1. Wyniki testu „exact” wskazują, że otrzymane częstości genotypów w próbie populacji ludności Wielkopolski dla wszystkich 10 loci STR nie są istotnie różne od częstości oczekiwanych (poziom istotności 0,05), a zatem są zgodne z prawem równowagi Hardy’ego–Weinberga.
2. Obliczone parametry biostatystyczne potwierdzają dużą przydatność zestawu SGM Plus w badaniach kryminalistycznych do identyfikacji materiału biologicznego (PD = 0,999999999999946; PE = 0,989657632653; RMP = $5,4 \times 10^{-13}$).
3. Wśród analizowanych układów STR najbardziej polimorficzne loci to D2S1338 (PIC = 0,86311) i D18S51 (PIC = 0,86013).
4. Stwierdzone na podstawie oszacowanych wartości u dla z-testu frakcji istotne lub wysoce istotne różnice w liczebnościach i frekwencjach pojedynczych alleleli między populacją Wielkopolski a populacjami Polski Zachodniej, Polski Północnej, Małopolski i Polski oraz zaobserwowane niewielkie różnice w zakresie ujawnionych dla poszczególnych loci STR alleleli mogą wynikać z różnych liczebności porównywanych populacji.
5. W świetle uzyskanych wyników analizy biostatystycznej wskazane jest prowadzenie dalszych badań obejmujących populację Wielkopolski w celu monitorowania ewentualnych zmian zachodzących w jej strukturze genetycznej oraz dalsze badania porównawcze z populacjami innych regionów Polski.

BIBLIOGRAFIA

1. **Bootstein D., White R., Skolnick M., Davies R.:** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, „American Journal of Human Genetics” 1980, 32: 314.
2. **Brenner C., Morris J.:** Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes: validation and other studies, In Proceedings for the International Symposium on Human Identification 1989, Prometheus Corporation, Madison, WI 1989: 21.
3. **Chakraborty R.:** Sample size requirements for addressing the population genetic issues of forensic use of DNA typing, „Human Biology” 1992, 64: 141.
4. **Czarny J., Grzybowski T., Derenko M., Malyarchuk B., Miścicka-Sliwka D.:** Genetic variation of 15 STR loci (D3S1358, vWA, FGA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, D2S1338, D8S1179, D21S11, D18S51 and D19S433) in populations of north and central Poland, „Forensic Science International” 2005, 147: 97.
5. **Greń J.:** Statystyka matematyczna – modele i zadania, PWN, Warszawa 1976, 79.
6. **Guo S., Thompson E.:** Performing the exact test of Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles, „Biometrics” 1992, 48: 361.
7. **Jacewicz R., Berent J., Bąbol K., Szram S.:** Rozkład częstości alleli w 10 loci STR w regionie centralnej Polski, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2004, LIV: 25.
8. **Janica J., Pepiński W., Skawrońska M., Niemcunowicz-Janica A., Koc-Żórawska E.:** Polimorfizm 10 autosomalnych loci STR w populacji Podlasia – rozszerzenie typowego panelu badawczego, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2007, LVII: 248.
9. **Jones D.:** Blood samples: Probability of discrimination, „Journal of the Forensic Science Society” 1972, 12: 355.
10. **Kozioł P., Ciesielka M., Chocholska S., Mądro R.:** Badania populacyjne tripleksu STR (D3S1744, D12S1090 i D18S849) w południowo-wschodnim regionie Polski, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2001, LI: 305.
11. **Kozioł P., Ciesielka M., Mądro R., Krajka A.:** Genetic data on 19 STR loci in south-east Poland, „Forensic Science International” 2004, 139: 89.
12. **Krzyżńska A., Kowalczyk E., Markowska J., Dobosz T.:** Loci STR D2S1338 i D19S433 w próbie populacyjnej z terenu Dolnego Śląska, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2006, LVI: 236.
13. **Kuźniar P., Płoski R.:** STR data for the power plex-16 loci in a population from Central Poland, „Forensic Science International” 2004, 139: 261.
14. **Lewis P., Zaykin D.:** Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data V 1.1 (d16c), Free program distributed by the authors over internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.htm/>
15. **Nei K.:** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, „Genetics” 1978, 89: 583.
16. **Pawłowski R., Dettlaff-Kąkol A., Jezierski G., Maciejewska A., Paszkowska R., Reichert M.:** Genetyka populacyjna dziewięciu loci typu STR z zestawu Profiler Plus w próbie populacyjnej z obszaru Polski, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2000, L: 207.
17. **Pepiński W., Skawrońska M., Janica J., Niemcunowicz-Janica A., Sołtyszewski I., Wardaszka Z.:** Genetyka populacyjna 10 loci typu STR w próbie populacyjnej Podlasia (Polska północno-wschodnia), „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2003, LIII: 49.
18. **Piątek J., Jacewicz R., Ossowski A., Parafiniuk M., Berent J.:** Population genetics of 15 autosomal STR loci in the population of Pomorze Zachodnie (NW Poland), „Forensic Science International: Genetics” 2008, 2: e41.
19. **Sadowska E., Lech M., Sołtyszewski I.:** Analiza 10 loci zestawu SGM Plus w próbie populacyjnej Małopolski, „Problemy Kryminalistyki” 2004, 244: 49.
20. **Sołtyszewski I., Pepiński W., Piątek J., Żuk J., Józwiak R., Janica J.:** Genetic data on 10 STR loci a population of western Poland, „Forensic Science International” 2006, 161: 69.
21. **Szczerkowska Z., Kapińska E., Wysocka J., Cybulska L.:** Northern Polish population data and forensic usefulness of 15 autosomal STR loci. frekwencji 15 loci, „Forensic Science International” 2004, 144: 69.
22. **Szczerkowska Z., Wysocka J., Kapińska E., Cybulska L.:** Genetyczna zmienność w obrębie 14-tu loci typu VNTR w populacji Polski Północnej, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2001, LI: 227.
23. **Turowska B., Sanak M.:** Badanie częstości alleli niektórych systemów typu STR w populacji Polski Południowej, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 1998, XLVIII: 97.
24. **Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.:** Wstępne badanie populacji Polski Południowej w zakresie 10 STR loci z zestawu AmpFISTR SGM Plus, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2001, LI: 93.
25. **Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.:** Częstości alleli układów STR: LPL, F13B i HPRTB w populacji Polski Południowej, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 1999, XLIX: 149.
26. **Turowska B., Sanak M., Opolska-Bogusz B.:** Wstępne badanie populacji Polski Południowej w zakresie 10 STR loci z zestawu AmpFISTR SGM Plus, „Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii” 2001, 51: 93.

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań częstości alleli 10 loci typu STR uzyskane dla próby populacyjnej ludności z terenu Wielkopolski. Wyizolowane metodą organiczną DNA z 214 próbek w postaci krwi i wymazów z jamy ustnej amplifikowano me-

todą PCR z użyciem zestawu odczynników AmpFISTR® SGM Plus™ firmy Applied Biosystems. Produkty amplifikacji poddano elektroforezie płytkowej w żelu poliakrylamidowym z użyciem sekwenatora ABI PRISM® 377. Analizę otrzymanych wyników przeprowadzono z użyciem programu GeneScan® i Genotyper® 3.7 NT. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem arkuszy kalkulacyjnych PowerStatsV12 oraz PowerStatsV12_THO1_Data (Promega Corp.) oraz GDA v.1.1 pod kątem ich przydatności w badaniach kryminalistycznych i medyczno-sądowych. Następnie wyniki uzyskane dla próby populacyjnej Wielkopolski porównano z wynikami dla populacji Polski Zachodniej, Polski Północnej, Małopolski oraz danymi dla populacji polskiej opublikowanymi na stronie internetowej Wydziału Biologii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP, stosując test statystyczny z-test frakcji.

Słowa kluczowe: Short Tandem Repeats (STRs), AmpFISTR SGM Plus, badania populacyjne, Wielkopolska

Summary

The article presents the results of a research on allelic frequencies of the 10 STR loci in a Greater Poland population sample. The DNA, isolated from 214 samples of blood and buccal swabs using the organic method, was amplified with the help of PCR method using the AmpFISTR SGM Plus reagents, produced by Applied Biosystems. Then, the products of amplification were subject to electrophoresis.

Subsequently, the obtained data was statistically analyzed, taking into account their usefulness in forensic examinations. Then, the results obtained in the Greater Poland population sample were compared with the results achieved for the population of Western and Northern Poland, the Lesser Poland as well as the data published on the official site of Biology Department of Central Forensic Laboratory of the Polish Police.

Keywords: Short Tandem Repeats (STRs) ampFISTR SGM Plus, population-based study, Greater Poland.