

УДК 340.64:577.213.32:572.2

Б. І. Яворський

## ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ 15 АВТОСОМНИХ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ ГЕНОМНОЇ ДНК У ЗМІШАНІЙ ПОПУЛЯЦІЇ МЕШКАНЦІВ ОДЕСЬКОГО РЕГІОНУ

*Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна*

УДК 340.64:577.213.32:572.2

Б. И. Яворский

## ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ 15 АУТОСОМНЫХ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОМНОЙ ДНК В СМЕШАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЖИТЕЛЕЙ ОДЕССКОГО РЕГИОНА

*Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина*

Представлены данные о распределении частот 15 аутосомных STR-локусов (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA), составляющих мультиплексную систему для ПЦР-амплификации набора “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) у 241 жителя Одесского региона. Значение дискриминирующего потенциала (PD) изученной системы 15 микросателлитных локусов составило в исследуемой популяционной выборке 0,99999999999999988. Распределение частот и генотипов в данной популяционной выборке отвечало равновесному распределению Харди — Вайнберга. Полученные данные свидетельствуют о том, что локусы D21S11, D2S1338, D18S51, FGA относятся к числу наиболее информативных маркеров для данной популяционной выборки и могут использоваться как референтные для судебно-медицинских лабораторий Украины.

**Ключевые слова:** аутосомные микросателлитные локусы, ДНК-идентификация, популяционная выборка, генетическое разнообразие.

UDC 340.64:577.213.32:572.2

В. I. Yavorsky

## VARIABILITY OF 15 AUTOSOMAL MICROSATELLITE GENOMIC DNA LOCI IN MIXED POPULATION OF ODESA AND ODESA REGION

*The Odesa State Medical University, Odesa, Ukraine*

In this paper, we present allele frequencies at 15 autosomal STR-loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA), which form the multiplex system for PCR-amplification “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, USA), in population (n=241) of Odesa and Odesa region. The combined power of discrimination (PD) for the 15 tested STR-loci in investigated population was 0,99999999999999988. The data obtained for allele and genotype frequencies in this population conformed to Hardy — Weinberg expectations. According to the presented data loci D21S11, D2S1338, D18S51, FGA are the most informative markers for investigated population. The obtained data may be used as reference database for forensic-medicine laboratories of Ukraine.

**Key words:** autosomal microsatellite loci, DNA-identification, population, genetic diversity.

Короткі тандемно повторювані послідовності хромосомної ДНК (у англійській літературі STR-short tandem repeats), або мікросателіти, що складаються з повторюваних одиниць, кожна з яких має довжину від 2 до 7 нуклеотидних повторів, широко представлені в геномі людини. Алелі мікросателітних локусів характеризуються значним поліморфізмом довжини [1; 2].

Типування мультиплексних ампліфікаційних систем на основі мікросателітних локусів сьогодні є основним методом проведення судово-медичного молекулярно-генетичного дослідження з метою ідентифікації особи і встановлення біологічного споріднення. При розв'язанні такого роду питань доказовість і вірогідність висновків залежать від інформативності досліджуваних поліморфних локусів, яку можна оцінити на основі популяційних даних про генетичну різноманітність (частота зустрічальності та дисперсія мікросателітів). Точність оцінки буде тим вища,

чим ближча відповідність популяційних даних і даних з розподілу алелів для індивідуумів, які належать до певної популяційної вибірки населення. Наприклад, при використанні набору для ПЦР-ампліфікації “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) для досліджуваних локусів виробником реагентів пропонуються популяційні частоти зустрічальності алелів європеїдного населення США, при цьому для експертної практики пропонується використання у вірогідних розрахунках частот алелів, визначених для кожної досліджуваної популяційної вибірки і конкретно для досліджуваного індивідуума.

У сучасній літературі опубліковані наукові дані про частоти зустрічальності алелів для різних популяцій. Створені бази даних частот зустрічальності алельних варіантів серед європеїдів, які проживають на території США, для європеїдів більшості європейських країн, а також деяких популяційних груп Росії [3–8]. Інфор-

мація про варіабельність алелів застосованих у даній роботі поліморфних локусів серед населення України відсутня.

У роботі описано дослідження розподілу алелів 15 STR-локусів, які становлять мультиплексну систему для ПЛР-ампліфікації набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США): D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, — серед мешканців Одеського регіону з метою уточнення їх базових оцінних характеристик і підвищення ефективності експертного застосування індивідуалізуючих систем на основі досліджених мікросателітних локусів.

**Метою** роботи було вивчення алейної різноманітності 15 мікросателітних локусів, які становлять мультиплексну систему для ПЛР-ампліфікації набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США), у змішаній популяції мешканців Одеського регіону. Для цього проводили оцінку алейних частот і значущих статистичних параметрів, оцінювали параметри придатності 15 досліджуваних локусів для судово-медичних цілей.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Вибірка з неспоріднених представників змішаної популяції мешканців Одеського регіону — 241 особа — була сформована із зразків рідкої крові, отриманих у Одеському обласному судово-медичному бюро СМЕ під час проведення судово-медичних досліджень.

Геномну ДНК виділяли з 200,0 мкл рідкої крові зразків за допомогою набору “NucleoSpin®Blood” для виділення геномної ДНК фірми “MACHE-REY-NAGEL” (Німеччина). Виділення ДНК проводили відповідно до протоколу “Genomic DNA Purification from Blood”.

Концентрацію виділеної ДНК вимірювали флуориметрично за допомогою ДНК-флуориметра Hoefer DyNA Quant™200 (“Hoefer Scientific Instruments”, США).

Виділену геномну ДНК зразків крові типували за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за такими гіперваріабельними локусами: D8S1179 (хромосома 8); D21S11 (хромосома 21q11.2-q21); D7S820 (хромосома 7q11.21-22); CSF1PO (хромосома 5q33.3-49); D3S1358 (хромосома 3p); TH01 (хромосома 11p15.5); D13S317 (хромосома 13q22-31); D16S539 (хромосома 16q24-qter); D2S1338 (хромосома 2q35-37.1); D19S433 (хромосома 19q12-13.1); vWA (хромосома 12p12-pter); TPOX (хромосома 2p23-2pter); D18S51 (хромосома 18q21.3); D5S818 (хромосома 5q21-31); FGA (хромосома 4q28), які входять до складу мультиплексної системи набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США), згідно з інструкцією, що додається виробником реагентів. При постановці ПЛР здійснювали негативний (реакційна суміш містила всі компонен-

ти, крім ДНК) і позитивний контроль (реакційна суміш містила ДНК із відомим набором алелів з кожного локусу). Зразки контрольної ДНК надані виробником реагентів. Дослідження проводили, використовуючи систему “GeneAmp® PCR 2720” (“Applied Biosystems”, США).

Продукти ампліфікації фракціонували електрофоретично з використанням генетичного аналізатора 3130 Genetic Analyzer (“Applied Biosystems”, США) відповідно до рекомендацій виробника. Аналіз продуктів ампліфікації з встановленням алелів проводили за допомогою програми “Gene Mapper ID Software Version 3.1”.

Статистичні параметри, які становлять судово-медичний інтерес, такі як дискримінуючий потенціал, індекс поліморфізму, вірогідність випадкового збігу, потенціал виключення, розраховували з використанням комп’ютерної програми PowerStatsV12 (“Promega Corp.”, США) [9].

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

Набір для ПЛР “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) складається з 15 хромосомних локусів, що належать до класу коротких тандемних повторів і містять тетра-нуклеотидні повторювані послідовності, а також з маркера для визначення статевої належності — амелогеніну. Набір дозволяє аналізувати 13 локусів, що входять до складу індивідуалізуючої панелі, розробленої згідно з вимогами Об’єднаної системи даних ДНК (CODIS — US Combined DNA Index System), створеної для бази даних злочинців у США. Сполучення досліджених нами 15 мікросателітних локусів відповідає вимогам кількох міжнародних і європейських баз даних ДНК, що дає перевагу перед іншими індивідуалізуючими системами в плані обміну науковими й експертними даними.

Інтерпретація результатів порівняльного типування ДНК, виконаного при ідентифікаційному експертному дослідженні, цілковито залежить від частотних характеристик алейних спектрів використаних локусів. Частоти зустрічальності алейних варіантів або варіабельності алелів для кожного локусу встановлюють шляхом популяційних досліджень референтної вибірки населення. Донині бази даних частот зустрічальності алелів досліджуваних локусів системи “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) для популяційних виборок України були відсутні. З метою отримання цих характеристик для популяції мешканців Одеського регіону нами проведено масштабне дослідження розподілу алелів по досліджуваних локусах.

У таблиці наведені частоти алелів і основні популяційні характеристики поліморфізму 15 STR-локусів, які становлять мультиплексну систему для ПЛР-ампліфікації набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США):

D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, — у 241 представника змішаної популяції мешканців Одеського регіону.

Відхилень спостережуваних частот генотипів від рівноважного розподілу Харді — Вайнберга не виявлено. Дискримінаційні можливості використаної мультиплексної системи ампліфікації ДНК достатньо високі, що робить дану індивідуалізуючу панель мікросателітних локусів незамінною в експертній практиці.

Аналіз статистичних характеристик 15 досліджених мікросателітних локусів показав, що найбільш інформативними для генетичної ідентифікації є такі локуси: D21S11, D2S1338, D18S51, FGA (PIC>0,8) (див. таблицю).

Встановлено, що значення сукупного дискримінуючого потенціалу (PD) вивченої системи 15 мікросателітних локусів становило у досліджу-

ваній популяційній вибірці 0,99999999999999988, тобто вірогідність випадкового збігу мультилокусного генотипу за 15 поліморфними локусами у двох індивідуумів, обраних із дослідженої популяції, становить 1 : 10 000 000 000 000 000 людей.

### Висновки

У роботі вперше одержані популяційно-статистичні дані, які характеризують генетичну варіабельність 15 STR-локусів, що становлять мультиплексну систему для ПЛР-ампліфікації набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) у змішаній популяції мешканців Одеського регіону. Показана висока інформативність дослідженої мультилокусної системи набору “AmpFiSTR®Identifiler” (“Applied Biosystems”, США) для популяційно-генетичного аналізу та виявлений значний потенціал для прикладних судово-медичних молекулярно-генетичних досліджень.

Таблиця

**Частоти алелів і інші статистичні параметри  
15 мікросателітних локусів ДНК у змішаній популяції мешканців  
Одеського регіону, n=241**

Алель	Локуси														
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
4	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	—	—	+	+	—	0,230	—	—	—	—	—	+	—	—	—
7	—	—	0,017	+	—	0,154	—	0,002	—	—	—	0,002	+	0,002	—
8	0,006	—	0,165	0,002	—	0,098	0,127	0,021	—	—	—	0,592	—	0,002	—
9	0,006	—	0,116	0,035	—	0,197	0,077	0,083	—	+	—	0,118	+	0,052	—
9.3	—	—	—	—	—	0,315	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	0,069	—	0,293	0,276	—	0,006	0,058	0,052	—	0,002	—	0,055	0,008	0,072	—
10.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	0,080	—	0,200	0,313	0,002	+	0,390	0,258	—	0,002	+	0,212	0,008	0,335	—
11.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,002	—	—	—	—	—
11.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	0,169	—	0,169	0,298	0,002	—	0,249	0,333	—	0,104	+	0,020	0,082	0,335	—
12.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,002	—	—	—	—	—
13	0,302	—	0,036	0,062	0,002	—	0,058	0,202	—	0,225	0,002	+	0,128	0,184	—
13.2	—	—	—	—	—	+	—	—	—	0,013	—	—	+	—	—
13.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	0,237	—	0,004	0,014	0,118	—	0,041	0,046	—	0,365	0,105	—	0,165	0,014	—
14.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,023	—	—	+	—	—
15	0,102	—	+	+	0,259	—	+	0,002	+	0,146	0,103	—	0,184	0,004	—
15.2	—	—	—	—	+	—	—	—	—	0,031	—	—	—	—	—
16	0,027	—	—	—	0,247	—	—	—	0,044	0,033	0,236	—	0,167	+	+
16.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
16.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,031	—	—	—	—	—
17	0,002	—	—	—	0,243	—	—	—	0,196	0,008	0,279	—	0,119	+	0,004
17.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,004	—	—	—	—	+
18	+	—	—	—	0,122	—	—	—	0,110	—	0,192	—	0,042	—	0,013
18.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,008	—	—	—	—	+

Алель	Локуси														
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSFIPO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
19	+	—	—	—	0,004	—	—	—	0,135	—	0,072	—	0,042	—	0,074
19.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
20	—	—	—	—	+	—	—	—	0,138	—	0,008	—	0,029	—	0,165
20.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
21	—	—	—	—	—	—	—	—	0,029	—	0,002	—	0,017	—	0,175
21.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,006
22	—	—	—	—	—	—	—	—	0,010	—	+	—	0,006	—	0,179
22.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,011
22.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
23	—	—	—	—	—	—	—	—	0,077	—	+	—	0,002	—	0,167
23.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,006
24	—	+	—	—	—	—	—	—	0,121	—	+	—	+	—	0,089
24.2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
24.3	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25	—	+	—	—	—	—	—	—	0,119	—	—	—	+	—	0,078
25.2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	—	+	—	—	—	—	—	—	0,019	—	—	—	+	—	0,025
26.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
27	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	0,004
28	—	+	—	—	—	—	—	—	0,002	—	—	—	—	—	0,004
28.2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29	—	0,024	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
29.2	—	0,147	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29.3	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30	—	0,252	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
30.2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
31	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31.2	—	0,23	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
32	—	0,066	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32.2	—	0,055	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
33	—	0,101	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
33.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
34	—	0,013	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34.1	—	0,103	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34.2	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
35	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35.1	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35.2	—	0,009	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
MP	0,068	0,050	0,066	0,118	0,081	0,091	0,100	0,088	0,033	0,076	0,072	0,216	0,034	0,128	0,041
PD	0,932	0,950	0,934	0,882	0,919	0,909	0,900	0,912	0,967	0,924	0,928	0,784	0,966	0,872	0,959
PIC	0,77	0,81	0,78	0,68	0,75	0,74	0,72	0,73	0,86	0,75	0,77	0,54	0,85	0,69	0,85
PE	0,584	0,671	0,548	0,487	0,563	0,548	0,548	0,531	0,778	0,591	0,618	0,263	0,669	0,557	0,675
PI	2,40	3,08	2,19	1,90	2,27	2,19	2,19	2,11	4,62	2,45	2,63	1,18	3,06	2,24	3,12
Ho	0,802	0,833	0,8	0,73	0,78	0,776	0,76	0,767	0,87	0,78	0,8	0,587	0,87	0,86	0,73
He	0,792	0,84	0,77	0,74	0,78	0,772	0,772	0,762	0,89	0,79	0,8	0,576	0,84	0,84	0,78

Примітка. MP — вірогідність випадкового збігу генотипів; PD — дискримінуючий потенціал; PIC — інформаційний вміст поліморфізму; PE — виключаючий потенціал; PI — індекс батьківства; Ho — спостережувана гетерозиготність; He — очікувана гетерозиготність.

Дані дослідження можуть бути використані як опорні параметри (частот розподілу алелів) для стандартних вірогіднісних розрахунків при оцінюванні результатів судово-медичної молекулярно-генетичної експертизи з метою ідентифікації особи і встановлення біологічного батьківства або материнства.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Population genetic diversity in relation to microsatellite heterogeneity* / B. Brinkmann, A. Junge, A. Meyer, P. Wiegand // *Hum. Mutat.* — 1998. — N 11. — P. 135-144.
2. *Global genetic variation at nine short tandem repeat loci and implications on forensic genetics* / G. Sun, S. T. McGarvey, R. Bayoumi [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* — 2003. — N 11. — P. 39-49.
3. *Исследование с помощью капиллярного электрофореза аллельного разнообразия микросателлитных локусов D16S539, F13B, FESFPS, TH01 и TPOX у европеоидов Уральского региона России* / В. П. Пушкарев, Л. В. Рахманина, П. И. Новиков, П. Л. Иванов // *Судебно-медицинская экспертиза.* — 2004. — № 47. — С. 23-28.
4. *Исследования аллельного полиморфизма молекулярно-генетических индивидуализирующих систем на основе тетра-нуклеотидных tandemных повторов LPL, vWA и TH01 среди населения России* / И. В. Корниенко, Е. Ю. Земскова, С. А. Фролова [и др.] // Там же. — 2002. — № 45. — С. 12-14.
5. *Руководство пользователя набора для ПЦР-амплификации "AmpFiSTR@Identifiler"* ("Applied Biosystems", США). — 2005. — Гл. 4. — С. 44-54.
6. *Вариабельность 15 аутосомных микросателлитных локусов ДНК в русской популяции* / Б. А. Малярчук, М. Woźniak, J. Czarny [и др.] // *Молекулярная биология.* — 2007. — № 41. — С. 3-7.
7. *Kornienko I. V. Genetic variation of the nine Profiler Plus loci in Russians* / I. V. Kornienko, D. I. Vodolazhsky, P. L. Ivanov // *Int. J. Legal Med.* — 2002. — N 116. — P. 309-311.
8. *Генетическая вариабельность и дискриминирующий потенциал четырех микросателлитных локусов ДНК в русской популяции* / Д. А. Шорохова, В. А. Степанов, Ю. Д. Удовенко [и др.] // *Молекулярная биология.* — 2005. — № 39. — С. 965-970.
9. *Tereba A. Profiles in DNA 3, Tools for Analysis of Population Statistics*, Promega Corporation, 1999 [Электронный ресурс] / А. Tereba. — Режим доступа : <http://www.promega.com/geneticidtools/powerstats/>

*Передплачуйте  
і читайте  
журнал*

## ІНТЕГРАТИВНА АНТРОПОЛОГІЯ

У ВИПУСКАХ ЖУРНАЛУ:

**Передплата приймається  
у будь-якому  
передплатному пункті**

**Передплатний індекс 08210**

- ◆ Методологія інтегративних процесів
- ◆ Генетичні аспекти біології та медицини
- ◆ Патологічні стани і сучасні технології
- ◆ Філософські проблеми геронтології та гериатрії
- ◆ Дискусії