

## POPULATION STUDY OF LOCUS DYS19 IN A POPULATION SAMPLE FROM SOUTH-EAST POLAND

Roman MADRO, Dorota MONIES, Marzanna CIESIELKA, Piotr KOZIOŁ  
*Chair and Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Lublin*

**ABSTRACT:** The population study was carried out on 200 unrelated male individuals from south-east Poland. Amplification products were separated using polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining method. During the population study five different alleles were identified, the most frequent of which were alleles 15 (0.285) and 16 (0.280). Statistically significant differences in frequency of alleles of locus DYS19 between the population of south-east and five other European populations were demonstrated. A similar distribution of alleles was found only in males from Northern Poland and Bratislava. The highly informative quality of the DYS 19 system was confirmed by PIC (0.731) and D (0.7559) values, which were calculated on the basis of the results of the study.

**KEY WORDS:** DYS19; South-east Poland; Population studies.

*Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. XL, 1999, 27–32*  
*Received 4 May 1999; accepted 26 July 1999*

### INTRODUCTION

DNA on the Y chromosome is haploid and free of genetic recombination along almost its entire length. To this day over 14 highly polymorphic Y chromosome specific STR systems have been described (R. Pawłowski, T. Kupiec, W. Branicki: "Allele frequencies of the DYS390 STR system in the population of Northern Poland" – poster presented at the First European Meeting of Forensic Science in Lausanne, 1997).

Statistically most criminal offences are committed by men, which makes Y chromosome STR systems a very useful tool in the forensic examination of evidence. Application of Y-STR typing systems enables identification of male DNA in cases where mixtures of male and female DNA have to be analysed or in cases of sexual crimes in which more than one male offender is involved [9].

Locus DYS19 is one of the most polymorphic systems of the Y-STR type [3]. It is located on the short arm of chromosome Y. The alleles of this STR system contain uniform 4 bp motif structure "GATA" repeated from 10 to 19 times and forming 10 alleles [4].

The present study was performed to determine allele frequencies of the DYS19 system in a population sample from south-east Poland. Before any new locus is applied in forensic casework, it is necessary to carry out population studies; up to the present day no data has been collected concerning frequencies of the DYS19 alleles in Polish subpopulations.

#### MATERIALS AND METHODS

The population studied consisted of 200 DNA samples. Blood was taken from male donors living in south-east Poland involved in disputed paternity cases. DNA was extracted from blood using a phenol-chloroform extraction method according to Künkel et al. [4]. Primer sequences used for DYS19 locus amplification were as follows: I – 5' CTA CTg AgT TTC TgT TAT AgT 3'; II – 5' ATg gCA TgT AgT gAg gAC A 3'.

Each PCR reaction was conducted in 15  $\mu$ l and consisted of 5–10 ng of DNA matrix, 0.7 U Taq DNA polymerase, 200  $\mu$ M of each dNTPs, 1  $\mu$ M of each primer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl and 10 mM Tris-HCl pH 8.3. Amplification products were electrophoretically separated on denaturing polyacrylamide gels [6] and silver stained according to Bassam et al. [1]. Phenotypes were determined using an allelic ladder kindly supplied by Ryszard Pawłowski, M.D., the Chair of Forensic Medicine in Gdańsk.

Values for polymorphism information content (PIC) and gene diversity (D) were calculated according to Botstein et al. [2] and Nei [7] respectively. Analysis of homogeneity of allele distribution was performed using CARMODY's program with  $\chi^2$  and G-statistics.

#### RESULTS AND DISCUSSION

Allele frequencies of the DYS19 system are presented in Table 1. Based on the size differences of amplified fragments five alleles were identified. The most frequent alleles in the investigated population sample are alleles 15 (0.285) and 16 (0.280).

TABLE I. ALLELE FREQUENCY OF DYS19 IN THE POPULATION OF SOUTH-EAST POLAND.

Allele	Number of alleles	Frequency of alleles
13	7	0.035
14	32	0.285
15	57	0.285
16	56	0.280
17	48	0.240

TABLE II. ALLELE FREQUENCY OF *DYS19* IN EIGHT POPULATIONS.

Population	Alleles						Number of individuals
	13	14	15	16	17	18	
South-east Poland	0.04	0.16	0.29	0.28	0.24	0.00	200
North Poland [8]	0.03	0.18	0.29	0.29	0.20	0.01	213
Bern [9]	0.14	0.56	0.23	0.06	0.01	0.00	100
Innsbruck [9]	0.11	0.49	0.26	0.11	0.01	0.00	72
Berlin [9]	0.07	0.39	0.27	0.21	0.06	0.00	233
British [9]	0.05	0.80	0.10	0.02	0.02	0.00	41
Bratislava [9]	0.07	0.19	0.21	0.31	0.21	0.00	57
Roma [9]	0.13	0.52	0.26	0.05	0.03	0.00	100

TABLE III. COMPARISON OF *DYS19* ALLELE FREQUENCY IN SOUTH-EAST POLAND AND OTHER EUROPEAN POPULATIONS.

Populations compared	$\chi^2$	P	G-test	P
South-east Poland x north Poland	2.7911	0.7652	3.5623	0.7073
South-east Poland x Bern	84.8246	0.0000	94.6391	0.0000
South-east Poland x Innsbruck	52.7230	0.0000	57.4499	0.0000
South-east Poland x Berlin	49.0040	0.0000	51.0821	0.0000
South-east Poland x British	74.5380	0.0000	70.8436	0.0000
South-east Poland x Bratislava	2.8494	0.5841	2.7489	0.6108
South-east Poland x Roma	76.6711	0.0000	83.7590	0.0000

TABLE IV. GENE DIVERSITIES (D) OF *DYS19* IN SIX EUROPEAN POPULATIONS.

Population	Number of individuals	Gene diversity
Leipzig [5]	250	0.698
Jena [5]	143	0.632
Magdeburg [5]	210	0.682
Berlin [5]	233	0.722
South-east Poland	200	0.756
North Poland [8]	213	0.759

A comparison of allele distributions of the *DYS 19* system was also carried out between the analysed population and seven other European populations. The comparison revealed statistically significant differences between the population of south-east Poland and five European population samples. For these population samples of Bern, Innsbruck, Berlin, Great Britain and Rome the most frequent allele was allele 14, while in the population of south-east Poland, north Poland and Bratislava the frequency of this allele is considerably lower (0.16, 0.18 and 0.19 respectively). Allele 18 was only found in the population of northern Poland. A similar allele frequency of the

DYS19 system was only found in males from northern Poland and Bratislava.

Genetic informativeness, which determines the usefulness of a genetic marker for forensic genetic examinations may be described by PIC and D coefficients. Gene diversity (D) corresponds to the discrimination index (DI), which determines differentiating value of markers located on autosomal chromosomes [3]. The D (0.7559) and PIC (0.731) values calculated for the analysed population indicate that the DYS19 system is a highly informative marker [2]. As is shown in Table IV the D value obtained is very similar to the D values calculated for other European populations.

#### References:

1. Bassam B. J., Caetano-Anolles G., Gresshoff P. M., Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels, *Analytical Biochemistry* 1991, vol. 196, pp. 80–83.
2. Botstein D., White R. L., Skolnick M. [et al.], Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism, *American Journal of Human Genetics* 1980, vol. 32, pp. 182–190.
3. Kayser M., Caglia A., Corach D. [et al.], Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study, *International Journal of Legal Medicine* 1997, vol. 110, pp. 125–133.
4. Künkel L. M., Smith K. D., Boyer S. H. [et al.], Analysis of human Y chromosome – specific reiterated DNA in chromosome variants, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1987, vol. 74, pp. 1245–1249.
5. Lessig R., Edelmann J., Y chromosome polymorphisms and haplotypes in West Saxony (Germany), *International Journal of Legal Medicine* 1988, vol. 111, pp. 215–218.
6. Monies D., Ciesielka M., Koziol P., Mądro R., Allele frequency distribution of three STR's loci F13A01, FESFPS and vWA in South-East Poland, Proceedings from the first European Symposium on Human Identification, 1996, pp. 165.
7. Nei M., Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1973, vol. 70, pp. 3321–3323.
8. Pawłowski R., Kupiec T., Branicki W., Polish population studies of DYS19, DYS390 and DYS393 polymorphic loci. The new allelic variant of DYS393 locus, *Electrophoresis* [in press].
9. Reference tables to: Evaluation of Y-chromosomal STRs: a multicenter study (Kayser et al.) and Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects (de Knijff et al.), *International Journal of Legal Medicine* 1997, vol. 110, pp. 141–149.

## **LOCUS DYS19 W POPULACJI POLSKI POŁUDNIOWO- WSCHODNIEJ**

Roman MAĐRO, Dorota MONIES, Marzanna CIESIELKA, Piotr KOZIOŁ

### WSTĘP

Materiał genetyczny zawarty w chromosomie Y na prawie całej jego długości jest haploidalny i nie podlega rekombinacji. Obecnie poznano ponad 14 układów typu STR, które zlokalizowane są poza pseudoautosomalnym regionem chromosomu Y (por. R. Pawłowski, T. Kupiec, W. Branicki: „Allele frequencies of the DYS390 STR system in the population of northern Poland” – plakat prezentowany na pierwszej Europejskiej Konferencji Nauk Sądowych w Lozannie w 1997 roku).

Ze względu na to, że większość przestępstw popełniają mężczyźni, układy te są bardzo przydatne w ekspertyzie kryminalistycznej śladów biologicznych. Umożliwiają one identyfikację DNA mężczyzny w mieszaninie plemników i komórek nabłonkowych kobiet, a także dają szansę wykazania, że mamy do czynienia z połączeniem nasienia dwu lub więcej mężczyzn [9].

*Locus* DYS19 to jeden z najbardziej polimorficznych układów typu Y-STR [3]. Zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu Y. Jego polimorfizm wynika z różnej ilości czteronukleotydowego motywu GATA, który powtarza się od 10 do 19 razy, tworząc 10 alleli [4].

Celem pracy było wykonanie badań populacyjnych dotyczących regionu Polski południowo-wschodniej, co jest niezbędnym elementem oceny wartości tego markera w rutynowej ekspertyzie kryminalistycznej, zwłaszcza że do tej pory brakuje odpowiednich danych dla subpopulacji polskich.

### MATERIAŁY I METODY

Przebadano 200 próbek DNA, które uzyskano metodą ekstrakcji fenol – chloroform wg Künkela i in. [4] z krwi niespokrewnionych mężczyzn (badanych w związku z procesem spornego ojcostwa), a zamieszkałych w obszarze Polski południowo-wschodniej. *Locus* DYS19 amplifikowano przy użyciu następujących starterów: I – 5' CTA CTg AgT TTC TgT TAT AgT 3'; II – 5' ATg gCA TgT AgT gAg gAC A 3'.

Reakcję PCR prowadzono w 15  $\mu$ l objętości mieszaniny reakcyjnej. Mieszanina ta zawierała 10 ng matrycy DNA, 0,7 U Taq DNA polimerazy, 200  $\mu$ M każdego z dNTP, dwa startery w stężeniu 1  $\mu$ M każdy oraz 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl i 10 mM Tris Hcl o pH = 8.3. Produkty amplifikacji rozdzielano na denaturujących żelach poliakrylamidowych [6], które barwiono metodą srebrową wg Bassama [1]. Fenotypy ustalano przy użyciu drabiny alleli udostępnionej przez dr hab. n. med. Ryszarda Pawłowskiego (Katedra i Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Gdańsku).

Wartości współczynników informacji o polimorfizmie (ang. polymorphism information content – PIC) i różnorodności genetycznej (ang. gene diversity – D) obliczono wg Botsteina i in. [2] oraz Neia [7]. Analizę homogenności rozkładu alleli przeprowadzono przy zastosowaniu programu Carmody'ego testem  $\chi^2$  oraz G-testem.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Częstości alleli układu DYS19 przedstawia tablica I. W oparciu o różnice wielkości zamplifikowanych fragmentów zidentyfikowano pięć alleli. Okazało się, że w przebadanej populacji najczęściej występują allele 15 (0,285) i 16 (0,280).

Częstości alleli układu DYS19 w populacji Polski południowo-wschodniej porównano z częstościami alleli tego układu w siedmiu innych populacjach Europy. Analiza ta wykazała znamienne statystycznie różnice pomiędzy populacją Polski południowo-wschodniej a pięcioma innymi populacjami z krajów europejskich. Układ DYS19 w pięciu populacjach europejskich: Brna, Innsbrucka, Berlina i Rzymu oraz Anglii (które są zdecydowanie heterogenne w porównaniu do badanej populacji) charakteryzuje się wysoką częstością występowania allele 14, podczas gdy w populacji Polski południowo-wschodniej, północnej Polski i Bratysławy częstość pojawiania się tego allele jest zdecydowanie niższa i wynosi odpowiednio 0,16, 0,18 i 0,19. Allel 18 zidentyfikowano wyłącznie w populacji Polski północnej. Podobną częstość występowania alleli układu DYS19 stwierdzono jedynie u mężczyzn z Polski północnej i Bratysławy (tablica II i III).

Miarą informatywności genetycznej, która decyduje o przydatności danego markera genetycznego do badań z zakresu genetyki sądowej, są współczynniki D oraz PIC. W przypadku polimorficznych markerów chromosomu Y oblicza się pierwszy z nich. Jest on odpowiednikiem indeksu dyskryminacji (DI), który określa wartość różnicującą markerów zlokalizowanych na chromosomach autosomalnych [3]. Okazało się, że dla badanej populacji  $D = 0,7559$ , a  $PIC = 0,731$ , co oznacza, że system DYS19 zaliczyć należy do grupy markerów wysoce informatywnych [2]. Z tablicy IV wynika ponadto, że otrzymana wartość D jest zbliżona do tych wartości, które uzyskano w innych populacjach europejskich.