

DISTRIBUTION OF HINF I RESTRICTION FRAGMENTS IN THREE HYPERVARIABLE REGIONS: D7S21, D12S11, AND D5S110 IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND*

Renata JACEWICZ, Stefan SZRAM, Jarosław BERENT

Chair and Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Łódź

ABSTRACT: This paper is a preliminary description of three HVR-DNA markers routinely used in Poland: D7S21, D12S11, and D5S110. The distribution of phenotypes and allele frequencies in the population of central Poland is presented. The independence of inheritance within and between loci was confirmed. Our data indicate that among the screening systems the most polymorphic system is D12S11/Hinf I.

KEY WORDS: HVR; Poland; Polymorphism; RFLP; VNTR.

Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. XLV, 2001, 52–65

Received 12 December 2001; accepted 2 April 2001

INTRODUCTION

The term VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) was originally introduced by Nakamura et al. in 1987 [17] to characterise polymorphism of highly variable minisatellite regions in human DNA.

Minisatellite sequences form arrays comprised of tandemly repeated copies of length from a few hundred up to 20 000 base pairs (bp) and repeated motif ranging from 9 to 100 bp [24]. Their total number on the human genome is a few thousand, of which around one hundred demonstrate hyper-variability (so called HVR hypervariable regions) as they can appear in a few dozen to many hundred allelic forms [21]. The first locus of this type was described by Wyman and White in 1980, and labelled as D14S1 [27]. The discovery of the HVR regions commonly used in forensic analysis is thanks to the work of Wong et al. – D7S22, D1S7, D7S21, and D12S11 [26], Nakamura et al. – D2S44, D14S13, and D17S26 [17], Bragg et al. – D10S28 [5], Milner et al. – D4S139 [16], Armour et al. – D5S110 [3], Royley et al. – D16S309 [20].

* Work was supported by grant of Medical Academy, Łódź.

Though HVR regions are routinely used in paternity testing, up to now a comprehensive database of these regions has not been set up for the Polish population; such a database is essential for carrying out analysis and performing calculations.

The aim of this work was to preliminarily characterise three VNTR loci, considered highly polymorphic – D7S21, D12S11, and D5S110 – in a population sample from central Poland.

METHODS

The blood samples used in the present study were collected from people living in central Poland, during paternity testing at the Department of Forensic Medicine, the Medical Academy of Łódź in the years 1997–1999. The studies encompassed 214 to 266 unrelated adults of both genders.

DNA was extracted by the salt-out method [15], digested with *Hinf* I restriction enzyme (Promega) and electrophoretically separated on agarose gel with TBE buffer [22]. A vacuum DNA transfer onto the Hybond N+ membrane (Amersham) was performed according to the Pharmacia LKB procedure; hybridisation was carried out with MS31, MS43A, MS621, and MW100 probes, and chemiluminescent detection with LumiPhos 530 substrate and HyperfilmTM ECL radiographic film (Amersham), according to the Cellmark Diagnostics procedures. The sizes of DNA fragments were measured with reference to a NiceTM/DNA Analysis (Life Technologies) marker using BIO 1D software, made by Vilber Lourmat.

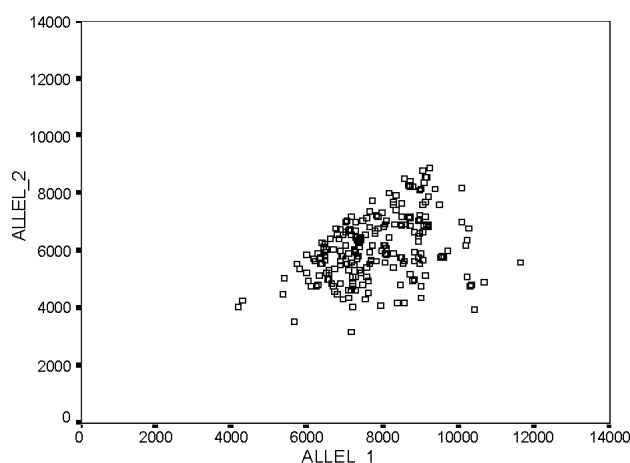


Fig. 1. Scatterplot of D7S21 (*Hinf* I) genotypes in central Poland population ($n = 214$). Fragment length in base pairs.

The correlation coefficient r , according to Weir [25], was used to assess the independence of inheritance within the locus as well as between alleles of each pair of loci.

RESULTS

Owing to the very high diversity of Hinf I restriction fragment lengths for HVR regions D7S21, D12S11 and D5S11 obtained among 214–266 unre-

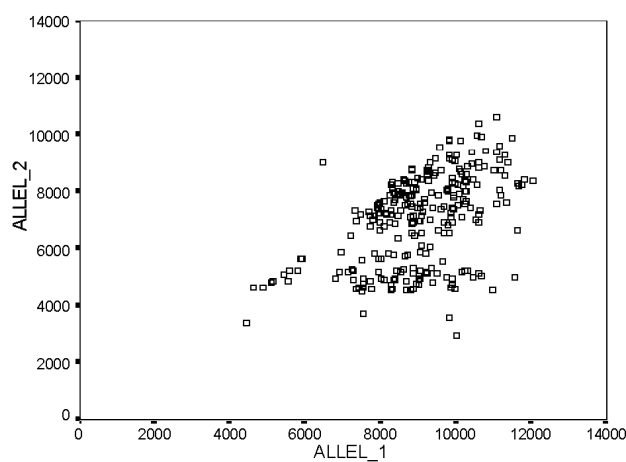


Fig. 2. Scatterplot of D12S11 (Hinf I) genotypes in central Poland population ($n = 266$). Fragment length in base pairs.

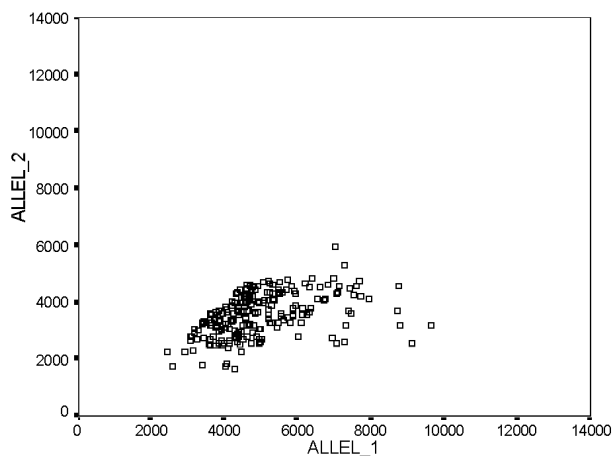


Fig. 3. Scatterplot of D5S110 (Hinf I) genotypes in central Poland population ($n = 215$). Fragment length in base pairs.

lated people from central Poland, the distribution of their phenotypes has been presented in Figures 1, 2 and 3 in the form of scatterplots.

Statistical parameters, describing the observed distribution of DNA fragment lengths in D7S21, D12S11 and D5S11 loci in the studied population are shown in Table I.

TABLE I. PARAMETERS DESCRIBING DISTRIBUTION OF RESTRICTION FRAGMENTS OBTAINED AFTER DIGESTION WITH HINF I ENZYME IN LOCI: D7S21, D12S11 AND D5S110 IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND (FRAGMENT LENGTH IN KILOBASE PAIRS)

| Central Poland | D7S21/ <i>Hinf</i> I | D12S11/ <i>Hinf</i> I | D5S110/ <i>Hinf</i> I |
|-------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Number of DNA fragments | 428 | 532 | 430 |
| Min. fragment length | 3.172 | 2.959 | 1.664 |
| Max. fragment length | 11.660 | 12.064 | 9.646 |
| Mean fragment length | 6.969 | 8.069 | 4.291 |
| Median | 6.940 | 8.299 | 4.167 |
| Standard deviation | 1.452 | 1.802 | 1.255 |

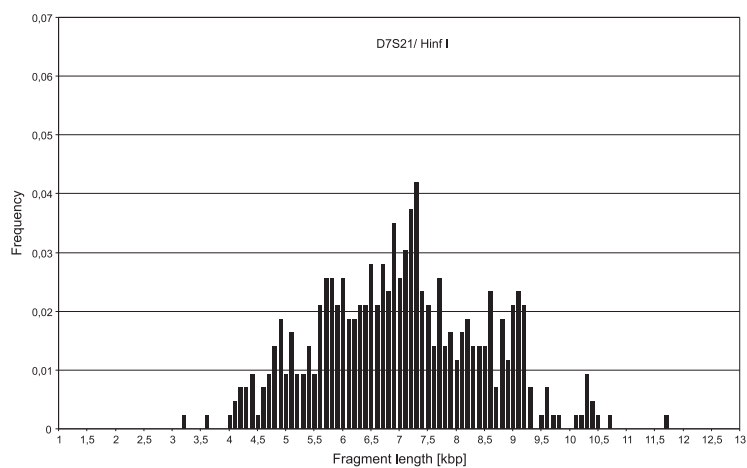


Fig. 4. Allele frequency distribution of locus D7S21 (*Hinf* I) in central Poland population ($n = 214$).

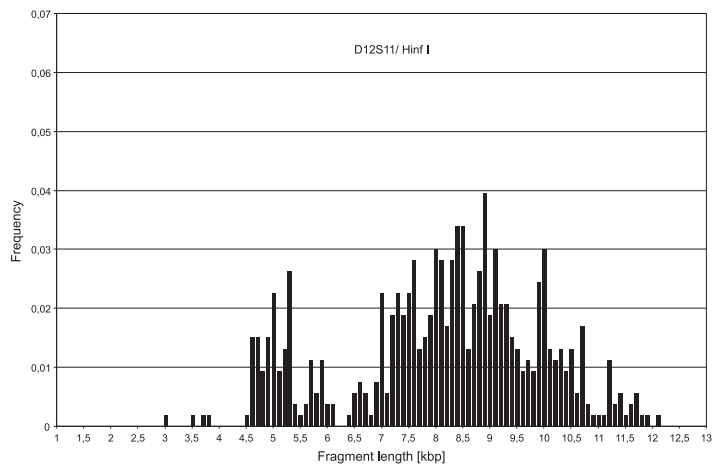


Fig. 5. Allele frequency distribution of locus D12S11 (Hinf I) in Central Poland population ($n = 266$).

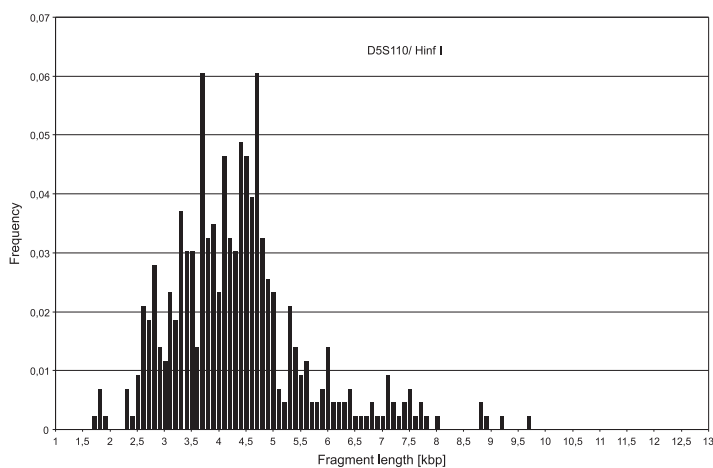


Fig. 6. Allele frequency distribution of locus D5S110 (Hinf I) in central Poland population ($n = 215$).

The distributions of 428, 430 and 532 DNA fragments of: D7S21/Hinf I, D12S11/Hinf I and D5S11/Hinf I systems, arranged in order according to length, are shown in graphs at 100 bp intervals (Figures: 4, 5, 6).

Parameters describing independence of alleles within loci and between loci D7S21, D12S11, and D5S110 in the analysed population sample are presented in Table II.

TABLE II. ESTIMATION OF ALLELES' INDEPENDENCE WITHIN AND BETWEEN LOCI: D7S21, D12S11 AND D5S110 IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND

| Locus | D7S21 7p22-pter | D12S11 12q24.3-qter | D5S110 distal 5p |
|--------|--------------------|------------------------|---------------------|
| D7S21 | $r = -0.115$ | $r = 0.000$ | $r = 0.036$ |
| D12S11 | $r = 0.000$ | $r = 0.004$ | $r = -0.040$ |
| D5S110 | $r = 0.036$ | $r = -0.040$ | $r = -0.034$ |

r – coefficient of correlation.

DISCUSSION

This work is devoted to an analysis of the D7S21/*Hinf I*, D12S11/*Hinf I* and D5S11/*Hinf I* systems in a population sample from central Poland consisting of 214, 266, and 215 unrelated individuals.

According to Odelberg et al. [18], it is difficult to establish what the sample size should be in a population study. It depends on many factors such as locus polymorphism and the statistical approach applied in analysis. However, he estimates that just 150 persons constitute a sufficiently large sample.

In the case of classical blood groups systems and STR type systems we are dealing with a small number of alleles with a discrete distribution, so, in HVR regions, because of small differences in fragment size, allele distributions are close to continuous [2, 9]. After direct measurements of restriction fragments obtained for each person, researchers conducting the study had so much data that the classical way of presenting them was impossible. Therefore it was decided to present them in the form of scatterplots, which had been used earlier by Alonso et al. [1]. This approach allows us to measure the range of sizes within which phenotypes are observed and the degree of differentiation of phenotypes within a given system, and also to compare phenotype distributions between different systems.

One can conclude from an analysis of the obtained scatterplots and the values of parameters describing these scatterplots, presented in Table I, that in the population of central Poland the widest range of lengths of restriction fragments and highest differentiation of phenotypes among unrelated persons is observed for locus D12S11. The narrowest range of lengths of these fragments and the smallest differentiation of genotypes occurs in locus D5S110.

Restriction fragments were grouped at intervals of 100 bp, which allowed the obtained allele distributions in the population of central Poland to be presented as graphs of frequencies (Figures 4, 5 and 6). This is the most frequent way of presenting data concerning highly polymorphic minisatellite DNA regions, giving an allele distribution that is closest to the real one in these loci [7, 10, 12, 14, 23, 28].

Obtained frequency distributions for the analysed fragments show that the studied VNTR systems are characterised by very high variability in the population of central Poland. DNA fragments obtained by restriction digestion using Hinf I endonuclease, grouped with 100 bp intervals, were present in 78 sections for locus D12S11, 67 sections for locus D7S21 and 64 sections for locus D5S110. Allele frequencies in these sections do not exceed a value of 0.042 for locus D7S21, 0.039 for locus D12S11 and 0.060 for locus D5S110.

Analysis of data on distributions of DNA fragments obtained after Hinf I restriction endonuclease digestion on loci: D7S21, D12S11, and D5S110 in different populations confirms that the analysed regions are highly polymorphic. Allelic distributions in compared population samples vary significantly, but in all cases we observe a high number of alleles and low frequency in particular sections. The highest allelic frequencies in 100bp sections do not exceed values of 0.070 and 0.063 for systems D7S21/Hinf I and D12S11/Hinf I respectively [7, 10, 12, 23, 28] and 0.084 for system D5S110/Hinf I [11, 14].

Alleles D7S21/Hinf I in the population of central Poland occur within the size range 3.2–11.7 kbp (Figure 4). The distribution has a unimodal pattern characteristic for different European populations [6, 12, 23, 28].

Lengths of alleles D12S11/Hinf I in the studied population sample were in the range 3.0–12.1 kbp (Figure 5). The bimodal distribution characteristic for Europeans may be observed in the following populations: Austrian [28], Swiss [6], English [23] and German [12].

Observed alleles of system D5S110/Hinf I in the population of central Poland have lengths in the range of 1.7–9.6 kbp (Figure 6). This result is very similar to the distribution gained for the population of south-east Poland [14] and for the English (Caucasian) population included in the data presented by Cellmark Diagnostics corporation.

Mean fragment lengths obtained for all three analysed systems occurring in the analysed population are very similar or even identical to values gained for populations: Austrian [28] and south-east Poland [14]. However, mean fragment lengths for system D12S11/Hinf I in the population sample from Mexico (11.4 kbp) significantly differentiates this population from European populations [4].

Analysing the data obtained, we observe the longest VNTR alleles at locus D12S11/Hinf I, and the shortest alleles at locus D5S110/Hinf I. This is

confirmed by allelic length ranges observed in different populations, which equal, for loci D7S21 and D12S11, 1.6–16.3 kbp and 2.0–19.4 kbp respectively [7, 10, 12, 23, 28] and for locus D5S110, 1.7–12.1 kbp [11, 14].

The appropriate calculations presented in Table II confirm that no significant correlation exists between DNA fragments lengths characteristic for particular persons in any of the three analysed loci, which is consistent with the rules of inheritance. The obtained values also confirm that alleles of the loci: D7S21/*Hinf* I, D12S11/*Hinf* I, and D5S110/*Hinf* I are inherited independently of each other, which is in concordance with the fact that the three systems are localised on different chromosomes [2, 21]. Independent inheritance and lack of correlation with other genomic segments were also proved for analysed loci in other European and non-European populations [8, 11, 13, 19].

CONCLUSIONS

1. Allele distributions of the three analysed HVR regions: D7S21, D12S11, and D5S110 digested using *Hinf* I endonuclease confirm the high variability of these regions in the population of central Poland.
2. Obtained data indicate locus D12S11/*Hinf* I as the most polymorphic and D5S110/*Hinf* I as the least polymorphic system.
3. The independent inheritance of the analysed systems allows their simultaneous application in research.

Another characteristics of the HVR systems: D12S11/*Hinf* I, D7S21/*Hinf* I, and D5S110/*Hinf* I, encompassing analysis of the Hardy-Weinberg equilibrium, calculations of parameters describing their usefulness in forensic sciences and comparison of the database obtained with data for other populations will be the subject of further work.

References:

1. Alonso S., Castro A., Fernández I. [et al.], Short alleles revealed by PCR demonstrate no heterozygote deficiency at minisatellite loci D1S7, D7S21, and D12S11, *American Journal of Human Genetics* 1997, vol. 60, pp. 417–425.
2. Armour J. A., Crosier M., Jeffreys A. J., Distribution of tandem repeat polymorphism within minisatellite MS 621 (D5S110), *Annals of Human Genetics* 1996, vol. 60, pp. 11–20.
3. Armour J. A., Povey S., Jeremiah S. [et al.], Systematic cloning of human minisatellites from ordered array charomid libraries, *Genomics* 1990, vol. 8, pp. 501–512.
4. Berumen-Campos J., Casas-Avila L., Hernández-Mendoza A. [et al.], Diversidad genética de tres sondas de DNA en la huella digital de DNA de

- una población mexicana, *La Revista de Investigación Clínica* 1994, vol. 46, p. 457–464.
5. Bragg T., Nakamura Y., Jones C. [et al.], Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (cTBQ7) on chromosome 10 [D10S28], *Nucleic Acids Research* 1988, vol. 23, p. 11395.
 6. Brandt-Casadevall C., Dimo-Simonin N., Sutter A. [et al.], Iserables: a Bedouin village in Switzerland?, [in:] DNA fingerprinting: state of the science, Pena S. D. J., Chakraborty R., Epplen J. T., Jeffreys A. J. [eds.], Birkhäuser Verlag Basel, Basel 1993.
 7. Brinkmann B., Rand S., Wiegand P., Population and family data of RFLP's using selected single- and multi- locus systems, *International Journal of Legal Medicine* 1991, vol. 104, pp. 81–86.
 8. Budowle B., Giusti A. M., Fixed bin frequency distribution for the VNTR locus D5S110 in general United States reference databases, *Journal of Forensic Sciences* 1995, vol. 40, pp. 236–238.
 9. Budowle B., Giusti A. M., Wayne J. S. [et al.], Fixed bin analysis for statistical evaluation of continuous distributions of allelic data from VNTR loci for use in forensic comparisons, *American Journal of Human Genetics* 1991, vol. 48, pp. 841–855.
 10. Buffery C., Burrige F., Greenhalgh M. [et al.], Allele frequency distributions of four variable number tandem repeat (VNTR) loci in the London area, *Forensic Science International* 1991, vol. 52, pp. 53–64.
 11. Hamilton J. F., Starling L., Cordiner S. J. [et al.], New Zealand population data at five VNTR loci: validation as databases for forensic identity testing, *Science and Justice* 1996, vol. 36, pp. 109–117.
 12. Henke L., Cleef S., Zakrzewska M. [et al.], Population genetic data determined for five different single locus minisatellite probes, [in:] Burke T., Dolf G., Jeffreys A. J., Wolff R. [eds.], DNA fingerprinting. Approaches and applications, Birkhäuser Verlag Basel, Basel 1991.
 13. Huang N. E., Budowle B., Fixed bin population data for the VNTR loci D1S7, D2S44, D4S139, D5S110 and D17S79 in Chinese from Taiwan, *Journal of Forensic Sciences* 1995, vol. 40, pp. 287–290.
 14. Koziół P., Tokarzewska J., Krajka A. [i in.], Polimorfizm locus D5S110 w populacji Polski południowo-wschodniej i ocena przydatności w ekspertyzie genetycznej ojcostwa, [w:] Postępy medycyny sądowej i kryminologii, Świątek B., Parkitna-Cegła Z. [red.], t. 3, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wrocław 1997.
 15. Lahiri D. K., Nurnberger Jr. J. I., A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood RFLP studies, *Nucleic Acids Research* 1991, vol. 19, p. 5444.
 16. Milner E. C. B., Lotshaw C. L., Willems van Dijk K. [et al.], Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence pH30 on chromosome 4 (HGM provisional no. D4S139), *Nucleic Acids Research* 1989, vol. 17, p. 4002.
 17. Nakamura Y., Leppert M., O'Connell P., [et al.], Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping, *Science* 1987, vol. 235, pp. 1616–1622.
 18. Odelberg S. J., Plaetke R., Eldridge J. R. [et al.], Characterization of eight VNTR loci by agarose electrophoresis, *Genomics* 1989, vol. 5, pp. 915–924.

19. Papiha S. S., Calderon R., Sertedaki A. [et al.], Study of three hypervariable DNA loci (D1S7, D7S22 and D12S11) in three European populations, *Annals of Human Biology* 1998, vol. 25, pp. 29–41.
20. Royle N. J., Armour J. A. L., Webb M. [et al.], A hypervariable locus D16S309 located at the distal end of 16 p, *Nucleic Acids Research* 1992, vol. 20, p. 1164.
21. Royle N. J., Clarkson R. E., Wong Z. [et al.], Clustering of hypervariable minisatellites in the proterminal regions of human autosomes, *Genomics* 1988, vol. 3, pp. 352–360.
22. Sembrook J., Fritsh E. F., Maniatis T., Molecular cloning. Cold Spring Harbour Laboratory Press 1989, 6.3–6.17.
23. Smith J. C., Anwar R., Riley J. [et al.], Highly polymorphic minisatellite sequences: allele frequencies and mutation rates for five locus-specific probes in Caucasian population, *Journal of the Forensic Science Society* 1990, vol. 30, pp. 19–32.
24. Tautz D., Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences, [in:] Pena S. D. J., Chakraborty R., Epplen J. T., Jeffreys A. J. [eds.], DNA fingerprinting: state of the science, Birkhäuser Verlag Basel, Basel 1993.
25. Weir B. S., Independence of VNTR alleles defined as fixed bins, *Genetics* 1992, vol. 130, pp. 873–887.
26. Wong Z., Wilson V., Patel I. [et al.], Characterization of a panel of highly variable minisatellites cloned from human DNA, *Annals of Human Genetics* 1987, vol. 51, pp. 269–288.
27. Wyman A. R., White R., A highly polymorphic locus in human DNA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1980, vol. 77, pp. 6754–6758.
28. Zehethofer K., Ambach E., Scheithauer R., Populationsstudie in West-Österreich unter Verwendung von DNA-Single-Locus-Sonden, *Wiener Klinische Wochenschrift* 1995, Bd. 107, S. 574–577.

ROZKŁADY FRAGMENTÓW RESTRYKCYJNYCH HINF I W TRZECH WYSOCE ZMIENNYCH REGIONACH DNA: D7S21, D12S11, D5S110 W POPULACJI CENTRALNEJ POLSKI*

Renata JACEWICZ, Stefan SZRAM, Jarosław BERENT

WPROWADZENIE

Termin VNTR (ang. Variable Number of Tandem Repeats) oznaczający zmienność w liczbie tandemowych powtórzeń został pierwotnie wprowadzony przez Nakamurę i in. w roku 1987 [17] dla określenia polimorfizmu wysoce zmiennych regionów minisatelitarnych w ludzkim DNA. Sekwencje minisatelitarne tworzą ciągi tandemowych kopii o długości od kilkuset do ponad 20 000 par zasad (pz) z jednostką repetytywną o długości 9–100 pz [24]. Ich całkowita liczba w genomie wynosi kilka tysięcy, z czego ok. 100 to sekwencje wykazujące nadzmiennność, czyli tzw. regiony HVR (ang. hypervariable regions), występujące w jednej z kilkudziesięciu do kilkuset form allelicznych [21]. Pierwszy tego typu locus opisany przez Wymana i White'a w roku 1980, został oznaczony symbolem D14S1 [27]. Odkrycie powszechnie wykorzystywanych do badań sądowych regionów HVR zawdzięczamy badaniom Wonga i in. – D7S22, D1S7, D7S21, D12S11 [26], Nakamury i in. – D2S44, D14S13, D17S26 [17], Bragga i in. – D10S28 [5], Milnera i in. – D4S139 [16], Armoura i in. – D5S110 [3], Royle'a i in. – D16S309 [20].

Choć regiony HVR są rutynowo stosowane w ustalaniu spornego ojcostwa, dotychczas nie opracowano kompleksowej bazy danych o tych regionach dla populacji polskiej, niezbędnej do prowadzenia badań oraz wykonywania obliczeń.

W pracy została podjęta wstępna charakterystyka trzech, uważanych za wysoce polimorficzne, *loci* VNTR: D7S21, D12S11, D5S110 w próbie populacyjnej z obszaru Polski centralnej.

METODYKA

Do badań użyto krwi pobranej od mieszkańców centralnej Polski, którzy brali udział w ekspertyzach dotyczących spornego ojcostwa, a wykonywanych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Łodzi w latach 1997–1999. Badania te objęły od 214 do 266 niespokrewnionych dorosłych osób obojga płci.

Przeprowadzono: izolację DNA metodą solną [15], trawienie restryktazą Hinf I (Promega) oraz agarozowy rozdział elektroforetyczny w buforze TBE [22]. Próżniowego transferu DNA na membranę Hybond N+ (Amersham) dokonywano wg procedury firmy Pharmacia LKB, a hybrydyzację z sondami: MS31, MS43A, MS621, MW100 i chemiluminescencyjną detekcję z zastosowaniem substratu Lumi Phos 530

* Temat opracowany w ramach prac własnych uczelni, nr 502-11-465(54).

oraz klisz radiograficznych HyperfilmTM ECL (Amersham) zgodnie z firmową procedurą Cellmark Diagnostics. Wielkości fragmentów DNA mierzono w odniesieniu do markera wielkości NiceTM/DNA Analysis (Life Technologies) przy użyciu oprogramowania BIO 1D firmy Vilber Lourmat. Do oceny niezależności dziedziczenia w obrębie lokus oraz między allelami każdej pary loci posłużono się współczynnikiem korelacji r według Weira [25].

WYNIKI BADAŃ

Z uwagi na bardzo duże zróżnicowanie wielkości fragmentów restrykcyjnych *Hinf I* w regionach HVR: D7S21, D12S11 i D5S110 uzyskane wśród 214–266 niespokrewnionych osób z centralnej Polski, rozkłady ich fenotypów przedstawiono w postaci wykresów rozkładów rozproszenia na rycinach 1, 2 i 3.

Parametry statystyczne opisujące obserwowane w badanej populacji rozkłady fragmentów DNA w *loci*: D7S21, D12S11, D5S110 zebrano w tabeli I.

Po uszeregowaniu pod względem wielkości odpowiednio: 428, 430, 532 fragmentów DNA w układach: D7S21/ *Hinf I*, D12S11/ *Hinf I*, D5S110/ *Hinf I*, rozkłady ich częstości przedstawiono na wykresach w przedziałach co 100 pz (ryciny: 4, 5, 6).

Parametry oceny niezależności alleli w obrębie *loci* i pomiędzy *loci* D7S21, D12S11 i D5S110 w badanej populacji, przedstawiono w tabeli II.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I Dyskusja

W niniejszej pracy zaprezentowano analizę układów: D7S21/*Hinf I*, D12S11/*Hinf I* oraz D5S110/*Hinf I* w próbie populacyjnej pochodzącej z obszaru centralnej Polski. Próbę tę przeprowadzoną w oparciu o badanie odpowiednio: 214, 266 oraz 215 niespokrewnionych osób. Zdaniem Odelberga i in. [18], trudno ustalić, jaka powinna być liczebność próby przy ocenie populacji. Zależy jest to od wielu czynników, takich jak polimorficzność lokus czy też rodzaj statystycznego podejścia do analizy. Ocenia on jednak, że już 150 osób jest wystarczającą wielkością próby.

O ile w przypadku klasycznych układów grupowych krwi oraz układów typu STR mamy do czynienia z niewielką ilością alleli o rozkładzie dyskretnym, o tyle rozkłady alleli w regionach HVR na skutek małych różnic w wielkości fragmentów mają charakter zbliżony do ciągłego [2, 9]. Po bezpośrednich pomiarach fragmentów restrykcyjnych uzyskanych dla poszczególnych osób prowadzący badanie mieli do czynienia z tak dużą ilością danych, iż klasyczny sposób ich ukazania nie był możliwy. Wybrano zatem formę prezentacji w postaci rozkładów rozproszenia (ang. scatterplots) wykorzystanych wcześniej przez Alonso i in. [1]. Pozwalają one na odczyt zakresu wielkości, w jakim obserwujemy fenotypy, stopnia zróżnicowania fenotypów w obrębie układu oraz na porównywanie ich rozkładów między różnymi układami.

Jak wynika z analizy uzyskanych rozkładów rozproszenia oraz wartości parametrów opisujących te rozkłady, zebranych w tabeli I, w populacji centralnej Polski najszerszy zakres wielkości fragmentów restrykcyjnych i największe zróżnicowanie fenotypów u niespokrewnionych osób obserwujemy w lokus D12S11, a najwęższy zakres wielkości tych fragmentów i najmniejsze zróżnicowanie genotypów w lokus D5S110.

Pogrupowanie fragmentów DNA w przedziały co 100 pz pozwoliło na przedstawienie uzyskanych rozkładów alleli w populacji centralnej Polski w formie wykresów częstości (ryciny 4, 5, i 6). Jest to najczęściej spotykany sposób prezentacji danych dotyczących wysoce zmiennych regionów minisatelitarnych, oddający najbardziej zbliżony do faktycznego rozkład alleli w tych *loci* [7, 10, 12, 14, 23, 28].

Uzyskane rozkłady częstości fragmentów wskazują na to, iż badane układy VNTR charakteryzują się bardzo wysoką zmiennością w populacji centralnej Polski. Fragmenty uzyskane w wyniku trawienia restryktazą Hinf I, pogrupowane co 100 pz, w lokus D12S11 obecne były w 78, w lokus D7S21 w 67, a w lokus D5S110 w 64 przedziałach. Częstości alleli w tych przedziałach nie przekraczają 0,042 dla lokus D7S21, 0,039 dla lokus D12S11 i 0,060 dla lokus D5S110.

Analiza danych o rozkładach fragmentów uzyskanych w wyniku trawienia restryktazą Hinf I w *loci*: D7S21, D12S11, D5S110 w różnych populacjach potwierdza, że mamy do czynienia z regionami wysoce zmiennymi. Choć rozkłady alleli w porównywanych populacjach różnią się znacznie między sobą, to wszędzie obserwujemy dużą liczbę alleli i niską częstość w poszczególnych przedziałach. Najwyższe częstości alleli w przedziałach co 100 pz nie przekraczają wartości 0,070 i 0,063 odpowiednio dla układów D7S21/Hinf I i D12S11/Hinf I [7, 10, 12, 23, 28] oraz 0,084 dla układu D5S110/Hinf I [11, 14].

Przedział wielkości, w którym występują allele D7S21/Hinf I w populacji centralnej Polski, to 3,2–11,7 kpz (rycina 4). Rozkład ma charakterystyczny dla wielu populacji europejskich unimodalny zarys [6, 12, 23, 28].

Rozdział alleli D12S11/Hinf I w badanej populacji zawiera się w zakresie 3,0–12,1 kpz (rycina 5). Charakterystyczny dla Europejczyków bimodalny rozkład obserwujemy również w populacjach: austriackiej [28], szwajcarskiej [6], angielskiej [23] i niemieckiej [12].

W układzie D5S110/Hinf I w populacji centralnej Polski allele rozmieszczone są w przedziale 1,7–9,6 kpz (rycina 6). Rozkład ten jest bardzo zbliżony do rozkładu uzyskanego dla populacji Polski południowo-wschodniej [14] oraz dla populacji angielskiej (kaukaskiej) uwzględnionej w danych zawartych w materiałach firmy Cellmark Diagnostics.

Średnie wielkości fragmentów dla wszystkich trzech układów występujące w badanej populacji są bardzo zbliżone bądź identyczne z wartościami uzyskanymi dla populacji austriackiej [28] i Polski południowo-wschodniej [14]. Natomiast wartość parametru średniej dla układu D12S11/Hinf I w populacji meksykańskiej, wynosząca 11,4 kpz, znacznie odróżnia tę populację od europejskich [4].

Jak wynika z analizy uzyskanych danych, najdłuższe allele VNTR obserwujemy w układzie D12S11/Hinf I, a najkrótsze allele skupia układ D5S110/Hinf I. Potwierdzają to obserwowane zakresy wielkości w różnych populacjach, które wynoszą dla *loci* D7S21 i D12S11 odpowiednio: 1,6–16,3 kpz i 2,0–19,4 kpz [7, 10, 12, 23, 28] oraz dla lokus D5S110 1,7–12,1 kpz [11, 14].

Odpowiednie obliczenia przedstawione w tabeli II świadczą o tym, że nie występuje znacząca korelacja pomiędzy wielkością fragmentów DNA u poszczególnych osób w żadnym z trzech analizowanych *loci*, co jest zgodne z regułami dziedziczenia. Uzyskane wartości świadczą również o tym, że allele układów: D7S21/Hinf I, D12S11/Hinf I, D5S110/Hinf I dziedziczą się niezależnie od siebie, na co wskazuje lokalizacja badanych regionów HVR na odrębnych chromosomach [2, 21]. Niezależ-

ność dziedziczenia, a także brak korelacji z innymi miejscami w genomie, zostały również wykazane dla badanych *loci* w innych populacjach europejskich i pozaeuropejskich [8, 11, 13, 19].

PODSUMOWANIE

1. Rozkłady alleli *Hinf I* w 3 badanych regionach HVR: D7S21, D12S11, D5S110 świadczą o wysokiej zmienności tych regionów w populacji centralnej Polski.
2. Uzyskane dane wskazują na najwyższy stopień polimorfizmu w układzie D12S11/*Hinf I*, a najniższy w układzie D5S110/*Hinf I*.
3. Wykazano brak zależności pomiędzy badanymi układami, co pozwala na ich łączne wykorzystanie w badaniach.

Dalsza charakterystyka układów HVR: D12S11/*Hinf I*, D7S21/*Hinf I*, D5S110/*Hinf I* obejmująca analizę równowagi Hardy'ego-Weinberga, obliczenia parametrów charakteryzujących ich przydatność, porównanie uzyskanej bazy danych z danymi dla innych populacji, będzie przedmiotem dalszych badań.