

AN EVALUATION OF THE HARDY-WEINBERG EQUILIBRIUM (HWE) AT THREE HYPERVARIABLE LOCI: D7S21, D12S11, D5S110 IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND¹

Renata JACEWICZ, Jarosław BERENT, Stefan SZRAM

Chair and Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Łódź

ABSTRACT: In this study, the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) in the population of central Poland was evaluated for three extremely polymorphic DNA markers (HVR) used in forensic investigations: D7S21, D12S11, D5S110. This was carried out using two different statistical approaches. Our data indicate that analysed loci are in HWE in spite of their hypervariability.

KEY WORDS: HWE; HVR; D7S21; D12S11; D5S110; Polish population.

*Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. LI, 2002, 45–55
Received 16 May 2002; accepted 6 September 2002*

INTRODUCTION

In 1908, the English mathematician G. H. Hardy and the German biologist W. Weinberg independently reached the conclusion that the genetic structure of a population which fulfils defined criteria: i.e. has a considerable number of individuals, random mating, a lack of selection and mutation events, lack of migration, is characterised by a state of dynamic equilibrium which can be mathematically analysed [14].

The use of a given genetic system in forensic science is dependent on an evaluation of the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE), named after its discoverers. If the HWE state exists in a population then there is a mathematical link between allele and genotype frequencies. This permits calculation of frequencies of occurrence of a given genotype as well as evaluation of the probability of a random match [5, 6, 8].

In the presented work, analysis of the Hardy-Weinberg equilibrium for three hypervariable loci HVR of the human genome: D7S21, D12S11 and D5S110 in the central Polish population was performed. This study is a continuation of the characterisation of these extremely polymorphic markers, which are widely used in kinship analysis [12].

¹ This study was carried out as part of Medical Academy research project no. 502-11-702(36).

MATERIAL AND METHODS

The study was performed on blood samples which had been taken from persons undergoing disputed paternity investigations at the Department of Forensic Medicine, the Medical Academy in Łódź. Analysis encompassed 300 unrelated adult persons of both genders and 150 unrelated children.

Distributions of Hinf I restriction fragments for D7S21, D12S11 and D5S110 loci, obtained as described previously [12], were grouped in fixed bins with borders established every 4.6% of size of fragments. This value, 4.6%, corresponds to the maximum level of measurement error of DNA fragment size in the laboratory [11]. For fragment size sets created in this way, additionally rebinned when the fragment number was less than 5, the frequency of alleles and upper confidence limit (*UCL*) for confidence level 0.95, was established according to Budowle and Manson [3]. The conducted statistical analysis of the HWE state within the analysed bins encompassed:

- evaluation of the concordance between the observed and expected distribution in the population of adults based on the exact test using GDA software [15], homozygosity test and the Likelihood Ratio LR according to Weir [17, pp. 37–40; 18];
- evaluation of the significance of differences between child and adult populations based on the χ^2 test and Carmody's (G) test using his RXC software.

RESULTS

The distributions of restriction fragment lengths of chosen HVR regions amongst unrelated adults, obtained in order to evaluate the Hardy-Weinberg equilibrium of the population of central Poland, are presented in Table I, II, III.

Probability values calculated with the χ^2 test, the exact test and LR test for each of the three analysed systems indicate that the population of central Poland shows no deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium (Table IV).

The next step of the analysis of the HWE state in the central Polish population was a comparison of the restriction fragment distribution between adult and child populations i.e. between two consecutive generations. The analysed population of unrelated children was insufficiently numerous to perform comparison using 22 and 28 size bins. Therefore comparative statistical analysis was performed with new fragment sets numbering 19, 18, and 24 for D7S21, D12S11 and D5S110 loci respectively, constructed by joining primary sets containing less than 5 restriction fragments (data not presented).

TABLE I. THE DISTRIBUTION OF RESTRICTION FRAGMENTS IN LOCUS D7S21 FOR UNRELATED ADULTS IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND

Bin designation	Bin dimension [bp]	Allele number (frequency)	Confidence limit
I*	3172–4156	8 (0.01333)	0.00918
II	4157–4348	8 (0.01333)	0.00918
III	4349–4549	6 (0.01000)	0.00796
IV	4550–4759	7 (0.01167)	0.00859
V	4760–4978	23 (0.03833)	0.01536
VI	4979–5208	20 (0.03333)	0.01436
VII	5209–5448	18 (0.03000)	0.01365
VIII	5449–5699	36 (0.06000)	0.01900
IX	5700–5962	33 (0.05500)	0.01824
X	5963–6237	30 (0.05000)	0.01744
XI	6238–6524	44 (0.07333)	0.02086
XII	6525–6825	43 (0.07167)	0.02064
XIII	6826–7139	62 (0.10333)	0.02436
XIV	7140–7468	58 (0.09667)	0.02364
XV	7469–7812	34 (0.05667)	0.01850
XVI	7813–8172	33 (0.05500)	0.01824
XVII	8173–8548	34 (0.05667)	0.01850
XVIII	8549–8942	38 (0.06333)	0.01949
XIX	8943–9354	36 (0.06000)	0.01900
XX	9355–9785	9 (0.01500)	0.11973
XXI	9786–10236	5 (0.00833)	0.00727
XXII**	10237–11716	15 (0.02500)	0.01249
Total	3172–11716	600 (1.00000)	

*Bin I was obtained from amalgamation of five bins: 3172–3317 ($n = 1$), 3318–3470 ($n = 0$), 3471–3798 ($n = 1$), 3799–3973 ($n = 2$), 3974–4156 ($n = 4$).

** Bin XXII was obtained from amalgamation of three bins: 10237–10707 ($n = 12$), 0708–11200 ($n = 2$), 11201–11716 ($n = 1$).

High probability values obtained in Carmody's test as well as in the χ^2 test for analysed markers: D7S21: $G = 7.5865$ ($p = 0.9820 \pm 0.0042$), $\chi^2 = 7.2910$ ($p = 0.9820 \pm 0.0042$); D12S11: $G = 7.3926$ ($p = 0.9850 \pm 0.0038$), $\chi^2 = 7.4610$ ($p = 0.9790 \pm 0.0045$); D15S110: $G = 8.4864$ ($p = 0.9970 \pm 0.0017$), $\chi^2 = 8.5358$ ($p = 0.9970 \pm 0.0017$) indicate no statistically significant difference between adult and child populations.

DISCUSSION

In the case of a system with discrete distribution, such as the STR system, assessment of the Hardy-Weinberg equilibrium in the population is a constant element of statistical evaluations. However, such assessment for

microsatellite hypervariable regions is more difficult because the distribution of alleles (restriction fragments) in these loci is close to continuous.

TABLE II. THE DISTRIBUTION OF RESTRICTION FRAGMENTS IN LOCUS D12S11 FOR UNRELATED ADULTS IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND

Bin designation	Bin dimension [bp]	Allele number (frequency)	Confidence limit
I*	2959–3878	5 (0.00833)	0.00727
II**	3879–4645	22 (0.03667)	0.01504
III	4646–4859	9 (0.01500)	0.00973
IV	4860–5083	24 (0.04000)	0.01568
V	5084–5317	23 (0.03833)	0.01536
VI	5318–5562	6 (0.01000)	0.00796
VII	5563–5818	12 (0.02000)	0.01120
VIII	5819–6086	8 (0.01333)	0.00918
IX***	6087–6660	10 (0.01667)	0.01024
X	6661–6967	21(0.03500)	0.01470
XI	6968–7288	31(0.05167)	0.01771
XII	7289–7624	43 (0.07167)	0.02064
XIII	7625–7975	42 (0.07000)	0.02042
XIV	7976–8342	53 (0.08833)	0.02271
XV	8343–8726	60 (0.10000)	0.02400
XVI	8727–9128	66 (0.11000)	0.02504
XVII	9129–9548	41(0.06833)	0.02019
XVIII	9549–9988	42 (0.07000)	0.02042
XIX	9989–10448	34 (0.05667)	0.01850
XX	10449–10929	21(0.03500)	0.01470
XXI	10930–11432	17 (0.00283)	0.01328
XXII****	11433–12509	10 (0.01667)	0.01024
Total	2959–12509	600 (1.00000)	

*Bin I was obtained from amalgamation of six bins: 2959–3095 ($n = 1$), 3096–3238 ($n = 0$), 3239–3387 ($n = 0$), 3388–3543 ($n = 2$), 3544–3707 ($n = 1$), 3708–3878 ($n = 1$).

**Bin II was obtained from amalgamation of four bins: 3879–4057 ($n = 0$), 4058–4244 ($n = 0$), 4245–4440 ($n = 0$), 4441–4645 ($n = 22$).

***Bin IX was obtained from amalgamation of two bins: 6087–6367 ($n = 2$), 6368–6660 ($n = 8$).

****Bin XXII was obtained from amalgamation of two bins: 11433–11958 ($n = 7$), 11959–12509 ($n = 3$).

In spite of the high usefulness of HVR regions in kinship analysis, up to now no analysis of the equilibrium state in these regions for the Polish population has been published, except a preliminary assessment in the D5S110 region in a small 155-person population sample [13].

Binning of the restriction fragments in order to create size classes which are equivalent to alleles in discrete systems plays a key role in the analysis of the Hardy-Weinberg equilibrium in HVR systems.

TABLE III. THE DISTRIBUTION OF RESTRICTION FRAGMENTS IN LOCUS D5S110 FOR UNRELATED ADULTS IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND

Bin designation	Bin dimension [bp]	Allele number (frequency)	Confidence limit
I*	1664–2181	5 (0.00833)	0.00727
II**	2182–2388	5 (0.00833)	0.00727
III	2389–2498	7 (0.01167)	0.00859
IV	2499–2613	14 (0.02333)	0.01208
V	2614–2734	15 (0.02500)	0.01249
VI	2735–2860	15 (0.02500)	0.01249
VII	2861–2992	12 (0.02000)	0.01120
VIII	2993–3130	18 (0.03000)	0.01365
IX	3131–3275	25 (0.04167)	0.01599
X	3276–3426	25 (0.04167)	0.01599
XI	3427–3584	21 (0.03500)	0.01470
XII	3585–3749	57 (0.09500)	0.02346
XIII	3750–3922	31(0.05167)	0.01771
XIV	3923–4103	41(0.06833)	0.02019
XV	4104–4292	41(0.06833)	0.02019
XVI	4293–4490	53 (0.08833)	0.02271
XVII	4491–4697	60 (0.10000)	0.02400
XVIII	4698–4914	36 (0.06000)	0.01900
XIX	4915–5141	18 (0.03000)	0.01365
XX	5142–5378	23 (0.03833)	0.01536
XXI	5379–5626	12 (0.02000)	0.01120
XXII	5627–5885	11(0.01833)	0.01073
XXIII	5886–6156	13 (0.02167)	0.01165
XXIV	6157–6440	8 (0.01333)	0.00918
XXV***	6441–7047	9 (0.01500)	0.00973
XXVI	7048–7372	7 (0.01167)	0.00859
XXVII	7373–7712	6 (0.01000)	0.00796
XXVIII****	7713–9660	12 (0.02000)	0.01120
Total	1664–9660	600 (1.00000)	

* Bin I was obtained from amalgamation of three bins: 1664–1740 ($n = 1$), 1741–1821 ($n = 3$), 1822–2181 ($n = 1$).

** Bin II was obtained from amalgamation of two bins: 2182–2282 ($n = 2$), 2283–2388 ($n = 3$).

*** Bin XXVI was obtained from amalgamation of two bins: 6441–6737 ($n = 2$), 6738–7047 ($n = 7$).

**** Bin XXVIII was obtained from amalgamation of four bins: 7713–8439 ($n = 4$), 8440–8828 ($n = 4$), 8829–9235 ($n = 3$), 9236–9660 ($n = 1$).

In 1991 Budowle et al. [2] proposed the fixed binning method. In this method the bin limits are established *a priori* based on size of standard fragment, and constitute between 3.0 to 9.4% of the fragment size. An alternative method of grouping is the floating binning method, in which, after defining the fragment size, regular bins with size corresponding to the experimentally determined value of measurement error are defined [4].

TABLE IV. HWE EVALUATION FOR UNRELATED ADULTS IN THE POPULATION OF CENTRAL POLAND

Locus	Homozygosity test	Exact test	LR test
D7S21	$\div 2 = 1.496$ $df = 1$ $p = 0.221$	$p = 0.231$	$-2\ln(L) = 240.8$ $df = 231$ $p = 0.315$
D12S11	$\div 2 = 1.980$ $df = 1$ $p = 0.159$	$p = 0.670$	$-2\ln(L) = 217.1$ $df = 231$ $p = 0.735$
D5S110	$\div 2 = 1.698$ $df = 1$ $p = 0.192$	$p = 0.353$	$-2\ln(L) = 348.5$ $df = 378$ $p = 0.858$

In order to analyse the state of the Hardy-Weinberg equilibrium in the studied population, taking into consideration own measurements error, restriction fragments in D7S21, D12S11 and D5S110 loci were grouped in fixed bins. On the basis of the performed evaluation, the measurements error does not exceed $\pm 2.3\%$, thus the complete maximum error value amounts to 4.6% [11].

Therefore in the present study allele size bins were created every 4.6% and then, according to generally accepted rules, bins consisting of less than 5 fragments were joined together [2, 18, 20].

A universally applied method for evaluation of the HWE state is the assessment of concordance of the observed and expected distribution in a studied population sample. The 300-person group of unrelated adults from central Poland constituted such a sample. The results of three statistical tests, including the exact test, recommended for analysis of highly polymorphic regions of HVR by Guo and Thompson [7], are unambiguous and attest to the existence in the population of a state of concordance with the Hardy-Weinberg equilibrium. The results gained at locus D5S110 in our own 300 person population group are consistent with those which were gained for an analogous sample of half the size [12]. On the basis of the exact and LR tests at the D5S110 locus, this equilibrium was shown to exist in 4 American populations [1], and a Chinese population [10] as well. However, Papiha et al. [16] at locus D12S11 in three European populations: English, Spanish and Basque showed deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium in the exact and LR tests. The probable cause of the disturbance of the HWE state was the fact many short fragments of DNA in the region of the locus were not discovered due to limitations of the research technique.

Another way of assessing the Hardy-Weinberg equilibrium is to compare distributions of restriction fragments in the adult and child population. The Hardy-Weinberg Law states that a population finds itself in a state of equilibrium when the frequencies of alleles remain constant from one generation

to the next [19]. On the basis of this principle, Henke et al. [9] carried out HWE analysis in the German population. Neither analysis by this author nor our own comparative analysis of two successive generations from the central Polish region showed deviations from the HWE state in hyper-variable loci of DNA, which confirms the results of earlier calculations.

SUMMARY

1. It was shown that highly polymorphic loci: D7S21, D12S11 and D5S110 conform to the Hardy Weinberg equilibrium in the population of central Poland.
2. The usefulness – in assessment of the HWE state – of the statistical significance of differences between two consecutive generations was demonstrated, beside the classical method of evaluation of concordance between observed and expected distribution in a given population.
3. The obtained allele distributions of HVR systems in which a state of HWE was demonstrated can be used as a basis for calculating frequencies of occurrence of any DNA profile and for evaluating its random match in the analysed population.

References:

1. 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.
2. 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.
3. Budowle B., Monson K.L., Perspectives on the fixed bin method and the floor approach/ceiling principle, Proceedings from the Fourth International Symposium on Human Identification, Promega Corporation, Madison 1992, pp. 391–406.
4. Chakraborty R., Jin L., Zhong Y. [et al.], On allele frequency computation from DNA typing data, *International Journal of Legal Medicine* 1993, vol. 106, pp. 103–106.
5. Eriksen B., Svensmark O., Analysis of a Danish Caucasian population sample of single locus DNA-profiles. Allele frequencies, frequencies of DNA-profiles and heterozygosity, *Forensic Science International* 1993, vol. 59, pp. 119–129.

6. Gill P., Evert I. W., Woodroffe S. [et al.], Databases, quality control and interpretation of DNA profiling in the Home Office Forensic Science Service, *Electrophoresis* 1991, vol. 12, pp. 204–209.
7. Guo S. W., Thompson E. A., Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles, *Biometrics* 1992, vol. 48, pp. 361–372.
8. 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.
9. Henke L., Cleef S., Tahar M. [et al.], Population genetic and family data for the human minisatellite locus D16S309 (MS 205) in Germans, *International Journal of Legal Medicine* 1996, vol. 109, pp. 178–180.
10. 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.
11. Jacewicz R., Polimorfizm DNA trzech systemów VNTR: D7S21, D12S11, D5S110 w populacji centralnej Polski i jego wykorzystanie w dochodzeniu ojcostwa, Akademia Medyczna w Bydgoszczy, Bydgoszcz 2001 [nieopublikowana rozprawa doktorska].
12. Jacewicz R., Szram S., Berent J., Distribution of Hinf I restriction fragments in three hypervariable regions: D7S21, D12S11 and D5S110 in the population of Central Poland, *Problems of Forensic Sciences* 2001, vol. 45, pp. 52–61.
13. Jacewicz R., Wołkanin P., Szram S., Genetyczne zróżnicowanie układu DNA-VNTR: D5S110 w populacji centralnej Polski i jego zastosowanie w dochodzeniu ojcostwa, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1999, t. XLIX, s. 1–10.
14. Krzanowska H., Łomnicki A., Rafiński J., Wprowadzenie do genetyki populacji, PWN, Warszawa 1982.
15. Lewis P. O., Zaykin D., Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0, <http://chee.unm.edu/gda/224>.
16. 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.
17. Weir B. S., Genetic Data Analysis II. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sutherland 1996.
18. Weir B. S., Independence of VNTR alleles defined as fixed bins, *Genetics* 1992, vol. 130, pp. 873–887.
19. Winter P. C., Hickey G. I., Fletcher H. L., Genetyka, Augustyniak J., Prus-Głowacki W. [red.], PWN, Warszawa 2000.
20. Zaborski L., Statystyczne opracowanie wyników badań doświadczalnych, Instytut Medycyny Społecznej, Zakład Biostatystyki, Gdańsk 1989.

ANALIZA STANU RÓWNOWAGI HARDY'EGO-WEINBERGA (HWE) W TRZECH WYSOCE ZMIENNYCH *LOCI* DNA: D7S21, D12S11, I D5S110 W POPULACJI CENTRALNEJ POLSKI¹

Renata JACEWICZ, Jarosław BERENT, Stefan SZRAM

WPROWADZENIE

W roku 1908 angielski matematyk G. H. Hardy i niemiecki przyrodnik W. Weinberg niezależnie od siebie doszli do wniosku, że struktura genetyczna populacji spełniającej określone założenia, tj. o znacznej liczebności, losowym kojarzeniu, przy braku procesów selekcji, mutacji i migracji charakteryzuje się stanem dynamicznej równowagi, który można poddać analizie matematycznej [14].

Ocena stanu równowagi określanej od nazwisk autorów jako równowaga Hardy'ego i Weinberga (HWE) jest warunkiem wykorzystania danego układu do badań na użytek medycyny sądowej. Wykazanie stanu HWE w populacji świadczy o tym, iż istnieje matematyczna zależność między częstościami alleli i genotypów, która pozwala na obliczenia częstości pojawienia się określonego genotypu, jak i na ocenę prawdopodobieństwa przypadkowej zgodności [5, 6, 8].

W pracy podjęto analizę stanu równowagi Hardy'ego i Weinberga w zakresie trzech wysoce zmiennych *loci* HVR (ang. hypervariable regions) genomu człowieka: D7S21, D12S11 i D5S110 w populacji Polski centralnej, która stanowi kontynuację charakterystyki tych ekstremalnie polimorficznych markerów stosowanych w badaniach pokrewieństwa [12].

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań była krew pochodząca od osób uczestniczących w ekspertyzach związanych z dochodzeniem spornego ojcostwa, a wykonywanych w Katedrze Medycyny Sądowej Akademii Medycznej w Łodzi. Badania objęły 300 niespokrewnionych dorosłych osób obojga płci oraz 150 niespokrewnionych ze sobą dzieci. Użyte zgodnie z metodyką opisaną we wcześniejszym opracowaniu [12] rozkłady fragmentów restrykcyjnych Hinf I w *loci*: D7S21, D12S11 i D5S110 pogrupowano w stałe przedziały, których granice ustalono co 4,6% wielkości fragmentów. Wartość ta odpowiada wartości maksymalnego błędu pomiaru fragmentów DNA w pracowni [11]. Dla utworzonych w ten sposób zestawów wielkości alleli dodatkowo rebinowanych przy liczebnościach mniejszych od pięciu podano częstości alleli oraz górny przedział ufności *UCL* (ang. upper confidence limit) dla poziomu ufności 0,95 wg Budowle i Monsona [3]. Przeprowadzona analiza statystyczna stanu HWE w obrębie analizowanych przedziałów obejmowała:

- ocenę zgodności rozkładu obserwowanego i oczekiwanego w populacji dorosłych w oparciu o test „exact” z zastosowaniem programu komputerowego GDA [15]

¹ Temat opracowany w ramach prac własnych uczelni, nr 502-11-702(36).

- oraz test homozygotyczny i test ilorazu największej wiarygodności LR według Weira [17, s. 37–40; 18];
- ocenę znamienności różnic między populacją dorosłych a populacją dzieci w oparciu o test χ^2 i test Carmody’ego (G) z pakietu RXC jego autorstwa.

WYNIKI

Skonstruowane do oceny równowagi Hardy’ego i Weinberga w populacji centralnej Polski rozkłady wielkości fragmentów restrykcyjnych uzyskanych wśród niespokrewnionych dorosłych osób w wybranych regionach HVR przedstawiono w tabelach I, II i III. Obliczone wartości prawdopodobieństw zarówno w teście χ^2 , teście „exact”, jak i teście LR wskazują na to, iż populacja Polski centralnej znajduje się w stanie równowagi Hardy’ego i Weinberga, biorąc pod uwagę każdy z trzech badanych układów (tabela IV).

Kolejnym etapem analizy stanu HWE w populacji Polski centralnej było porównanie rozkładów fragmentów restrykcyjnych między populacją dorosłych i dzieci, tj. między dwoma kolejnymi pokoleniami. Badana populacja niespokrewnionych dzieci nie była dostatecznie liczna, aby przeprowadzić porównanie w pierwotnych 22 i 28 przedziałach wielkości. Przeprowadzono zatem porównawczą analizę statystyczną, konstruując nowe zestawy fragmentów w liczbie 19, 18 oraz 24 odpowiednio dla *loci* D7S21, D12S11 oraz D5S110, powstałe po połączeniu pierwotnych, zawierających mniej niż 5 fragmentów (nieprezentowane dane). Wysokie prawdopodobieństwa uzyskane zarówno w teście Carmody’ego, jak i χ^2 dla analizowanych markerów: D7S21: $G = 7,5865$ ($p = 0,9820 \pm 0,0042$), $\chi^2 = 7,2910$ ($p = 0,9820 \pm 0,0042$); D12S11: $G = 7,3926$ ($p = 0,9850 \pm 0,0038$), $\chi^2 = 7,4610$ ($p = 0,9790 \pm 0,0045$); D15S110: $G = 8,4864$ ($p = 0,9970 \pm 0,0017$), $\chi^2 = 8,5358$ ($p = 0,9970 \pm 0,0017$) wskazują na to, że populacja osób dorosłych nie różni się w sposób statystycznie znamienny od populacji dzieci.

DYSKUSJA I OMÓWIENIE

O ile w przypadku układów dyskretnych, takich jak układy typu STR, ocena równowagi Hardy’ego i Weinberga w populacji jest stałym elementem opracowań statystycznych, o tyle ocena HWE w wysocezmiennych regionach minisatelitarnych napotyka na trudności ze względu na zbliżone do ciągłych rozkłady alleli (fragmentów restrykcyjnych) w tych *loci*. Mimo dużej przydatności regionów HVR w badaniach pokrewieństwa, nie opublikowano dotąd analizy stanu równowagi w tych regionach w populacji polskiej za wyjątkiem wstępnej jej oceny w regionie D5S110 w nielicznej 155-osobowej próbie populacyjnej [13].

Kluczowe znaczenie w analizie równowagi Hardy’ego i Weinberga układów HVR odgrywa binowanie fragmentów restrykcyjnych celem stworzenia przedziałów wielkości będących odpowiednikiem alleli układów dyskretnych. W 1991 r. Budowle i in. [2] zaproponowali metodę stałych przedziałów wielkości (ang. fixed binning). Granice przedziałów są tu określane arbitralnie *a priori* w oparciu o wielkości fragmentów wzorca i stanowią od 3,0 do 9,4% wielkości fragmentów. Alternatywną metodą grupowania jest metoda tzw. ruchomych przedziałów (ang. floating binning),

w której z chwilą określenia wielkości fragmentu definiowane są regularne przedziały o wielkości odpowiadającej eksperymentalnie ustalonej wartości błędu pomiaru [4]. Do przeprowadzenia analizy stanu równowagi Hardy'ego i Weinberga w badanej populacji zastosowano grupowanie fragmentów restrykcyjnych w *loci* D7S21, D12S11 i D5S110 w stałe przedziały wielkości uwzględniające własny błąd pomiaru. Jak wynika z przeprowadzonych pomiarów, nie przekracza on $\pm 2,3\%$, a więc całkowita maksymalna wartość tego błędu wynosi $4,6\%$ [11]. Dlatego też utworzono przedziały wielkości alleli co $4,6\%$, a następnie – zgodnie z powszechnie przyjętymi zaleceniami – łączono te, w których liczebność była niższa od pięciu [2, 18, 20].

Powszechnie stosowana metoda do oceny stanu HWE to ocena zgodności rozkładu obserwowanego i oczekiwanego w badanej próbie populacyjnej. Taką próbę stanowiła 300-osobowa grupa niespokrewnionych dorosłych osób z regionu Polski centralnej. Wyniki trzech testów statystycznych, w tym również zalecanego do analizy wysoce polimorficznych regionów HVR przez Guo i Thompson testu „exact” [7], są jednoznaczne i świadczą o istnieniu stanu zgodności z równowagą Hardy'ego i Weinberga w populacji. Uzyskane wyniki w lokus D5S110 we własnej 300-osobowej grupie populacyjnej są zbliżone z tymi, które uzyskano dla analogicznej próby o połowę mniejszej liczebności [12]. W oparciu o wyniki testu „exact” i LR w lokus D5S110 równowaga ta wykazana została również w czterech populacjach amerykańskich [1] oraz w populacji chińskiej [10]. Natomiast Papiha i in. [16] w lokus D12S11 w trzech populacjach europejskich: angielskiej, hiszpańskiej i baskijskiej ujawnili odchylenia od stanu równowagi Hardy'ego i Weinberga w teście „exact” i LR. Prawdopodobną przyczyną naruszenia stanu HWE był fakt niewykrycia wielu krótkich fragmentów DNA w obrębie lokus wskutek ograniczeń techniki badawczej.

Innym sposobem oceny równowagi Hardy'ego i Weinberga jest porównywanie rozkładów fragmentów restrykcyjnych w populacji dorosłych i dzieci. Prawo Hardy'ego i Weinberga mówi, że populacja znajduje się w stanie równowagi wtedy, kiedy częstości alleli przy przechodzeniu z jednej generacji do drugiej pozostają niezmiennic [19]. W oparciu o to założenie analizę HWE w populacji niemieckiej przeprowadził wcześniej Henke i in. [9]. Zarówno analiza tego autora, jak i własna analiza porównawcza dwóch kolejnych pokoleń regionu Polski centralnej, nie wykazała odchyień od stanu równowagi HWE w wysocezmiennych *loci* DNA, co potwierdza rezultaty wcześniejszych obliczeń.

PODSUMOWANIE

1. Wykazano, iż wysoce polimorficzne *loci*: D7S21, D12S11, D5S110 podlegają równowadze Hardy'ego i Weinberga w populacji Polski centralnej.
2. Wykazano przydatność w ocenie HWE statystycznej znamienności różnic między dwoma kolejnymi pokoleniami obok klasycznej oceny zgodności rozkładów: obserwowanego i oczekiwanego w danej populacji.
3. Uzyskane rozkłady alleli układów HVR, dla których wykazano stan HWE, mogą stanowić dane do obliczeń częstości pojawienia się dowolnego profilu DNA oraz do oceny jego przypadkowej zgodności w analizowanej populacji.