



POLYMORPHISM OF X-CHROMOSOME STR LOCI: DXS8378, DXS7132, HPRTB, DXS7423 IN A POPULATION OF CENTRAL POLAND*

Maciej JEŃDRZEJCZYK, Renata JACEWICZ, Jarosław BERENT

Chair and Department of Legal Medicine, Medical University, Łódź, Poland

Abstract

This study presents allele frequency distribution and analysis of biostatistical parameters of a set of four X-chromosome STR loci, determined in a sample of 120 unrelated individuals from the central region of Poland. No deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (*HWE*) were revealed at any of the investigated loci within the female population. No significant differences were observed between allele distributions in the female and male population. Obtained values of biostatistical parameters of the set of investigated X-chromosome STR loci proved their usefulness in forensic genetics.

Key words

Forensic genetics; X-chromosome; STRs; Central Poland.

Received 3 April 2008; accepted 14 April 2008

1. Introduction

STR markers are widely used in analyses in the field of medico-legal genetics. Most examinations rely on application of multiplex kits designed specifically for amplification of autosomal and Y chromosome DNA loci. The wide range of available STR markers allows unambiguous interpretation of results in most typical disputed paternity and identification cases. However, in some complex cases, especially those concerning parentage testing, application of the standard panel of STR markers may be insufficient. In such instances, genetic examination can now be supplemented with X chromosome markers. These markers are characterised by a very special inheritance mode – women inherit one X chromosome from the mother and the second from the father and men inherit

only one X chromosome from the mother as the father passes on a Y chromosome instead. Therefore, markers such as X-STRs may be useful in direct examinations of father-daughter and mother-son relationships and also in more distant relationships testing [1, 6]. The relatively wide range of potential applications makes the X chromosome polymorphic loci valuable additions to routinely exploited STR markers.

Hence, the aim of the present work was to examine the allele frequency distribution of four human X chromosome STR loci in a population of central Poland and to assess their usefulness in forensic genetics by analysing the obtained biostatistical parameters.

* Research funded by grant of the Medical University in Łódź, no. 502-17-693.

2. Materials and methods

2.1. Genetic analysis

Buccal swabs were collected from 120 unrelated individuals (60 females and 60 males) inhabiting central Poland. DNA was extracted using a Sherlock AX DNA extraction kit (A & A Biotechnology). Approximately 1 ng of template DNA was then used for amplification reactions, which were set up using a Mentype Argus X-UL PCR amplification kit (Biotype) in accordance with manufacturer's recommendations and conducted on a GeneAmp 9700 PCR Amplification System (Applied Biosystems). The PCR products were subjected to electrophoretic separation on an ABI Prism 377 (Applied Biosystems) with size standard ROX550 (Applied Biosystems). Genotyping was performed with GeneScan software according to the allelic ladder included in the Mentype Argus X-UL kit.

2.2. Statistical analysis

Allele frequencies were calculated for each of the analysed loci (Arlequin v. 2.0) [5] separately for groups of females and males (120 and 60 alleles, respectively). Comparative analysis of these two groups was then performed using contingency table R C (G. Carmody, Ottawa, Canada). Analysis of concordance with Hardy-Weinberg expectations and evaluation of linkage equilibrium between analysed loci were carried out using the Fisher exact test (GDA v.1.2) [3]. Additionally, the following statistical parameters were calculated: expected heterozygosity

(H_{exp}), observed heterozygosity (H_o) [4], discrimination power characteristic for females (PD_f) and for males (PD_m), polymorphism information content (PIC) and power of exclusion (PE) [2, 8].

3. Results and discussion

The analysed loci (DXS8378, DXS7132, HPRTB, DXS7423) constitute the so-called core markers for 4 linkage groups which were separated on the human X chromosome (1, 2, 3 and 4, respectively) [7]. The allele frequency distribution of the analysed X-chromosome STR loci ascertained for the studied population samples of females and males is shown in Table I.

The performed comparative analysis did not reveal statistically significant differences ($0.6230 < P < 0.8460$) in allele frequency distributions between the studied population groups of females and males and due to this the total values of allele frequencies are presented. No deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was found for the analysed loci based on the genotype distribution in the studied population of females ($P > 0.05$). Statistical analysis revealed no relationships between alleles of the analysed loci (Table II), hence they could be treated as independent loci, as in the case of other unlinked genetic markers.

Examination of the total number of 180 alleles did not reveal new variants that were not present in the allelic ladder. The total discrimination power for the investigated set of 4 chromosome X loci equals 0.9997 for females and 0.9936 for males. The calculated total value of PE is 0.9325 (Table III).

TABLE I. ALLELE FREQUENCIES OF FOUR X-CHROMOSOMAL LOCI IN A POPULATION SAMPLE OF CENTRAL POLAND

Allel	DXS8378			HPRTB			DXS7423			DXS7132		
	F	M	T	F	M	T	F	M	T	F	M	T
8	0.008	–	0.006									
9	0.025	0.017	0.022	0.025	0.067	0.039						
10	0.033	0.417	0.361	–	–	–						
11	0.275	0.317	0.289	0.100	0.117	0.106				0.008	0.017	0.011
12	0.292	0.200	0.261	0.350	0.317	0.339				0.100	0.067	0.089
13	0.058	0.050	0.056	0.358	0.283	0.333	0.133	0.083	0.117	0.300	0.400	0.333
14	0.008	–	0.006	0.125	0.167	0.139	0.350	0.367	0.356	0.367	0.300	0.344
15				0.033	0.033	0.033	0.367	0.400	0.378	0.167	0.150	0.161
16				0.008	0.017	0.011	0.142	0.117	0.133	0.050	0.050	0.050
17							0.008	0.033	0.017	0.008	0.017	0.011

TABLE II. LINKAGE DISEQUILIBRIUM RESULTS OF INVESTIGATED X-STR LOCI IN A POPULATION SAMPLE OF CENTRAL POLAND

Loci pair	Exact test probability P
DXS378/HPRTB	0.376
DXS8378/DXS7423	0.739
DXS8378/DXS7132	0.476
HPRTB/DXS7423	0.257
HPRTB/DXS7132	0.355
DXS7423/DXS7132	0.450

TABLE III. BIOSTATISTICAL PARAMETERS OF INVESTIGATED X-STR LOCI IN A POPULATION SAMPLE OF CENTRAL POLAND

	DXS8378	HPRTB	DXS7423	DXS7132
P_{HWE}	0.077	0.241	0.772	0.744
PIC	0.670	0.680	0.650	0.690
H_{exp}	0.730	0.728	0.711	0.741
H_o	0.850	0.683	0.667	0.683
PD_f	0.831	0.866	0.865	0.890
PD_m	0.683	0.772	0.684	0.720
PE	0.695	0.403	0.379	0.403

4. Conclusions

The investigated chromosome X STR markers are in agreement with Hardy-Weinberg expectations, which makes them suitable for forensic genetics studies. Also, the assessed values of statistical parameters confirm the usefulness of the analysed marker set, which can therefore be considered as a valuable supplement to currently utilised standard genetic markers. The analysed chromosome X polymorphic loci seem to be particularly applicable to untypical and complex cases concerning parentage relationship testing.

References

1. Barbaro A., Cormaci P., X-STR typing for an identification casework, *International Congress Series* 2006, 1288, 513–515.

2. Desmarais D., Zhong Y., Chakraborty R. [et al.], Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA), *Journal of Forensic Sciences* 1998, 43, 1046–1049.
3. Lewis P. O., Zaykin D., Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data, version 1.1, 2003, <http://www.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>.
4. Nei M., Roychoudhury A. K., Sampling variances of heterozygosity and genetic distance, *Genetics* 1974, 76, 379–390.
5. Schneider S., Kueffer J. M., Roessli D. [et al.], Arlequin version 2.0: a software for population genetic data analysis, Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva 2000.
6. Szibor R., Krawczak M., Hering S. [et al.], Use of X-linked markers for forensic purposes, *International Journal of Legal Medicine* 2003, 117, 67–74.
7. Szibor R., X-chromosomal markers: Past, present and future, *Forensic Science International: Genetics* 2007, 1, 93–99.
8. Tereba A., Profiles in DNA vol. 2, no. 3, Tools for analysis of population statistics, Promega Corporation 1999, <http://www.promega.com/geneticidtools/powerstats>.

Corresponding author:

Renata Jacewicz
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Uniwersytetu Medycznego
ul. Sędziowska 18 a
91-304 Łódź
e-mail: r.jacewicz@post.pl

POLIMORFIZM *LOCI* STR CHROMOSOMU X: DXS8378, DXS7132, HPRTB, DXS7423 W POPULACJI POLSKI CENTRALNEJ*

1. Wstęp

Markery STR są szeroko stosowane w badaniach z zakresu genetyki sądowo-lekarskiej. Większość analiz jest wykonywana w oparciu o multipleksowe zestawy do amplifikacji *loci* autosomalnego DNA oraz *loci* chromosomu Y. Szeroki wachlarz dostępnych markerów STR pozwalała na jednoznaczna interpretację wyników w większości typowych analiz z zakresu ustalania spornego ojcostwa czy identyfikacji osobniczej. Jednak w sprawach o dużej skali trudności, szczególnie w analizie pokrewieństwa, w których standardowy zakres markerów nie daje rozstrzygnięcia, pojawia się możliwość uzupełnienia badań o markery zlokalizowane na chromosomie X. Są one dziedziczone według szczególnego schematu – kobiety otrzymują jeden chromosom X od ojca i jeden chromosom X od matki, natomiast mężczyźni otrzymują tylko jeden chromosom X od matki, niezależnie od chromosomu Y dziedziczonego po ojcu. Markery typu X-STR mogą więc mieć zastosowanie przy bezpośrednim badaniu par ojciec-córka lub matka-syn, a także pozwalają na ustalanie dalszego pokrewieństwa [1, 6]. Szeroki zakres zastosowań sprawia, że stanowią one cenne uzupełnienie dla rutynowo stosowanych markerów typu STR. Dlatego celem niniejszej pracy było określenie częstości występowania alleli czterech *loci* STR chromosomu X człowieka w populacji centralnej Polski oraz określenie ich przydatności w genetyce sądowej poprzez analizę uzyskanych parametrów biostatystycznych.

2. Materiał i metody

2.1. Analiza genetyczna

Materiał biologiczny stanowiły wymazy nabłonka jamy ustnej pobrane od 120 niespokrewnionych osób (60 kobiet i 60 mężczyzn) pochodzących z rejonu Polski centralnej. DNA izolowano przy użyciu zestawu do izolacji Sherlock AX (A & A Biotechnology). Amplifikację ok. 1 ng DNA przeprowadzono w termocyklerze GeneAmp 9700 PCR Amplification System (Applied Biosystems), stosując zestaw Mentype Argus X PCR Amplification Kit (Biotype) według zaleceń producenta. Uzyskane produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w automatycznym sekwenatorze ABI Prism 377 (Applied Biosystems), wykorzystując standard wiel-

kości ROX550. Do genotypowania posłużono się oprogramowaniem GeneScan w odniesieniu do drabiny allelicznej dołączonej do zestawu.

2.2. Analiza statystyczna

Dla każdego z analizowanych *loci* obliczono częstości uzyskanych rozkładów alleli (Arlequin v. 2.0) [5] osobno dla populacji kobiet oraz mężczyzn (odpowiednio 120 oraz 60 alleli). Porównano ze sobą te populacje wykorzystując tabelę kontyngencji R × C (G. Carmody, Ottawa, Kanada). Do analizy zgodności z rozkładem Hardy-Weinberga (*HWE*) oraz sprawdzenia równowagi sprzężeń *loci* wykorzystano test dokładny Fishera (GDA v.1.2) [3]. Ponadto obliczono następujące parametry biostatystyczne: heterozygotyczność oczekiwaną (H_{exp}), heterozygotyczność obserwowaną (H_o) [4], siłę dyskryminacji dla populacji kobiet (PD_f) i mężczyzn (PD_m), współczynnik informacji o polimorfizmie (*PIC*) oraz siłę wykluczenia (*PE*) [2, 8].

3. Wyniki i dyskusja

Analizowane w pracy *loci* (DXS8378, DXS7132, HPRTB, DXS7423) stanowią tzw. markery rdzeniowe 4 grup sprzężeniowych, które zostały wyodrębnione na chromosomie X człowieka (odpowiednio 1, 2, 3 i 4) [7]. Uzyskane dla populacji kobiet i mężczyzn rozkłady częstości alleli badanych *loci* X-STR chromosomu X zawarto w tabeli I.

W wyniku przeprowadzonej analizy porównawczej nie odnotowano różnic statystycznie istotnych ($0,6230 < P < 0,8460$) w rozkładach uzyskanych dla populacji kobiet i mężczyzn, co pozwoliło na podanie łącznej wartości częstości alleli. Rozkłady genotypów w populacji kobiet dla wszystkich *loci* nie wykazały odchylenia od reguły Hardy-Weinberga ($P > 0,05$). Przeprowadzona analiza statystyczna wskazała na brak zależności pomiędzy allelami analizowanych *loci* (tabela II). Pozwoliło to na potraktowanie badanych *loci* niezależnie od siebie, tak jak w przypadku markerów niesprzężonych.

W badanej próbie 180 alleli nie odnotowano nowych alleli nie zawartych w drabinie allelicznej. Dla analizowanego zestawu 4 *loci* chromosomu X łączna wartość siły dyskryminacji wyniosła 0,9997 oraz 0,9936 (odpowiednio dla kobiet i mężczyzn), natomiast łączna wartość *PE* wyniosła 0,9325 (tabela III).

* Temat opracowany w ramach prac własnych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, nr 502-17-693.

4. Wnioski

Badane markery STR chromosomu X wykazują zgodność z regułą Hardy-Weinberga, co pozwala na ich zastosowanie w genetyce sądowej. Uzyskane wartości parametrów biostatystycznych wskazują na przydatność analizowanego zestawu *loci*. Może on stanowić cenne uzupełnienie dla dotychczas stosowanych markerów, szczególnie przy nietypowych i trudnych sprawach z zakresu ustalania pokrewieństwa.