Problems of Forensic Sciences 2009, vol. LXXVII, 98–107

ISSN 1230-7483

VARIATION OF 25 SNP POLYMORPHISMS IN THE LOWER SILESIAN POPULATION (SOUTH-WEST POLAND)

Iwona CHROMIK[1], Małgorzata MAŁODOBRA[1], Arleta LEBIODA[1], Anna JONKISZ[1], Magdalena ŻOŁĘDZIEWSKA[1], Robert ŚMIGIEL[2], Barbara TURCZYN[3], Tadeusz ŁUKIEŃCZUK[4], Małgorzata RADWAN-OCZKO[5], Edyta PAWLAK[6], Anna SADAKIERSKA-CHUDY[1], Marcelina ŻABIŃSKA[1]

[1] *Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Wrocław, Poland*
[2] *Department of Genetics, Medical Academy, Wrocław, Poland*
[3] *Department of Internal Medicine, Medical Academy, Wrocław, Poland*
[4] *Division of Clinical Procedures, Medical Academy, Wrocław, Poland*
[5] *Department of Periodontology, Medical Academy, Wrocław, Poland*
[6] *Department of Hematology, Medical Academy, Wrocław, Poland*

Abstract

The most frequent type of human genetic variation – SNP (single nucleotide polymorphism) represents 90% of all alterations in the human genome. Genomic variability is responsible for the diversity observed in the human species. In the presented study, the frequencies of 25 SNPs were estimated from the Lower Silesian Population. Three of them showed high heterozygosity and might serve as future relevant identification markers, in spite of their medical connotations.

Key words

Forensic genetics; Genetic identification; Single nucleotide polymorphism (SNP); SNP genotyping.

Received 2 December 2008; accepted 4 February 2009

1. Introduction

Single nucleotide polymorphism (SNP) represents the most frequent type of genetic variation in humans. SNPs are located in both coding and non-coding sequences. They are of particular interest to geneticists since they are connected with susceptibility to particular diseases and might influence individual response to medical therapies and thus might be used in medical diagnostics. Moreover, most of them are not connected with disease and can serve as identification markers e.g. for forensic purposes [1, 6]. The aim of this study was to analyse the genotype frequency of 25 various SNPs. The study included the following SNPs: rs1801177, rs328, rs1800206, rs1800204, rs4135303, rs1805192, rs1801282, rs2236418, rs16989673, rs17847901, rs1800859, rs1800862, rs3026746, rs1799939, rs1800860, rs1800863, rs1800861, rs1800858, rs1800471, rs1799990, rs231775, rs5742909, rs3087243, rs11571302 and rs3116496.

2. Material and methods

2.1. Study design

The research was performed by various authors over a 3 year period in the Molecular Techniques Unit

TABLE I. SEQUENCE OF PRIMERS USED IN PCR REACTION

SNP	Sequence of primers (5' – 3' orientation)	Length of products
rs1800206 rs1800204	Forward: TGTGTATTACCCTCACAGGGCTTCTTTC Reverse: CGTTGTGTGACATCCCGACAGAAA	428 bp
rs4135303 rs1805192 rs1801282	Forward: ACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC Reverse: ACCCTTCAAGTCTAAAAAGCCCT	420 bp
rs1800471	Forward: ACTGCGCCCTTCTCCCTG Reverse: CTTCACCAGCTCCATGTCGATAG	275 bp
rs5742909	Forward: TTGCCTTGGATTTCAGCGGCACAA Reverse: CACCTCCTCCATCTTCATGCTCC	142 bp
rs231775	Forward: TGGTTAAGGATGCCCAGAAGATTG Reverse: TGGTTTTACGAGAAAGGAAGCCGT	247 bp
rs3087243	Forward: CTTCACCACTATTTGGGATATAAC Reverse: AGCAACATAGGACCACAGGT	290 bp
rs11571302	Forward: AATAAACAGTCTGTCAGCAAAGCC Reverse: ATTCCTCTCAGAGGAAGCTGCTTC	214 bp
rs3116496	Forward: CCTGTATCATTTAATCCACT Reverse: TGGAAAAGTTACATAAAACC	198 bp
rs1800858	Forward: CCTTATTCTCACCATCCCTCACTC Reverse: CCTGGATGCAGATCCAGTTGTTCT	238 bp
rs1800859	Forward: GGCCTCTAAGCCAAGAACTGAATG Reverse: GCTGGAAAGGAGGTGTTGAAGAAG	372 bp
rs1800860	Forward: AAGGGCAGTAAAGGGTTGAGTCAG Reverse: TCATTCACAAACAGGATCCCCGAG	474 bp
rs1799939	Forward: GCATCCACTGCTACCACAAGTTTG Reverse: TAGATGGGAACGGCACCTCATCAC	375 bp
rs1800861	Forward: CGACCGAGGAGTCCCACGAAGAAG Reverse: GCAGTGGCTGCCCACCTCACCCTG	354 bp
rs1800862	Forward: CTCATCGTGGAGTACGCCAAATAC Reverse: TTCATCTCGGCCAGATACTGCATC	203 bp
rs1800863	Forward: CGTGCTATTTTTCCTCACAGCTCG Reverse: GAGCGGAGTTCTAATTGGGTCCTT	323 bp
rs1801177	Forward: AATCAAGCAACCCTCCAGTTAACC Reverse: TCATGAACCTGTGGATTCAGATCC	382 bp
rs328	Forward: AACAGTCCTGACAGAACTGTACCT Reverse: AATGCATGAAGCTGCCTCCCTTAG	258 bp
rs1799990	Forward: CTCTGCAAGAAGCGCCCGAAGCCT Reverse: GCCTGCTCATGGCACTTCCCAGCA	349 bp
rs2236418	Forward: CCCTCTCTCGTGTTTTTTTCCTCC Reverse: GTTTAGGGACGTGGCAACCCTTTG	176 bp
rs16989673 rs17847901	Forward: TAGGTAAGGGCCGCCCCGCG Reverse: GGCGCAGAGGGAGGGGGCCTACA	206 bp

TABLE II. SEQUENCE OF PRIMERS USED IN SNaPshot REACTION

	SNP	Sequence of primers (5' – 3' orientation)
1	rs1800206	Forward: ATTGTCGATTTCACAAGTGC Reverse: CATACACCAGCTTGAGTCGAATCGTTTGC
2	rs1800204	Forward not used Reverse: CGTTGTGTACATCCCGACAGAAA
3	rs4135303	Forward: TTAATGCTTAGCTCGTTG Reverse: AGGTTCTGAACATGTTTTTAAATGAACGCGATA
4	rs1805192	Forward: GACACAGAGATGCCATTCTGG Reverse: TCCACGGAGCTGATCCCAAATTGGTGG
5	rs1801282	Forward: $(gact)_4$ACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC Reverse: $(gact)_6$TGTATCAGTGAAGGAATCGCTTTCTG
6	rs1800471	Forward not used Reverse: TTGCAGGTGGATAGTCCCGCGGCCGGC
7	rs231775	Forward: GGCTCAGCTGAACCTGGCT Reverse: AGTGCAGGGCCAGGTCCTGG
8	rs5742909	Forward: CACTTAGTTATCCAGATCCT Reverse: TGAAGCTTCATGTTCACTTT
9	rs3087243	Forward: GACTGCTATGTCTGTGTTAACCCA Reverse: not used
10	rs11571302	Forward: ATAGGAGCTTTCTCAGTGTACTGC Reverse not used
11	rs3116496	Forward: TCTGGGTAAGAGAAGCAGCAC Reverse not used
12	rs1800858	Forward: GAAGCTGTATGTGGACCAGGC Reverse: GACGTACAGCAAGGGCGTGCCGGCGGC
13	rs1800859	Forward: CACCGTCTACCTCAAGGT Reverse: TGTGGGTGACAGGAA
14	rs1800862	Forward: GGGCAGTGGAGGCAGCCGCAACTCCAG Reverse: GAGGGCCCGCTCATCCGGGTGGTCCAGGGA
15	rs3026746	Forward: AAGGGCAGTAAAGGGTTGAGTCAG Reverse: GAAAAGCCCCAGGC
16	rs1799939	Forward: AGCTACTCCTCTTCC Reverse: CATGGAGTCCAGCGAGGGCCGGCGGGCAC
17	rs1800860	Forward: CTGTGTGGAAAACTGCCAGGC Reverse: CTTGTACTGGACGTTGATGCCACTGAA
18	rs1800861	Forward: CGTAAAGTCTCTTGCGGAGGGGCTCACTCGA Reverse: GACTGACTCAGGACGTTGAACTCTGACAGCAGGTCTCG
19	rs1800863	Forward: AGATGTTTATGAAGAGGATTC Reverse: GGGCACCTGGCTCCTCTTCACGTA
20	rs1801177	Forward: CCAGAAAGAAGAGATTTTATC Reverse: GACTGACTCAAATTTACTTTCGATGT
21	rs328	Forward: GACTGACTGACTACAAGTCTCTGAATAAGAAGT Reverse: GACTGACTGACTGACTTTAGCCCAGAATGCTCACCAGCCT

TABLE II. SEQUENCE OF PRIMERS USED IN SNaPshot REACTION (cont.)

	SNP	Sequence of primers (5' – 3' orientation)
22	rs1799990	Forward: TGGTGGGGGGCCTTGGCGGCTAC Reverse: GCCTGCTCATGGCACTTCCCAGCA
23	rs2236418	Forward: GACTGACTCTTAGGTAGTCCCGGTCTCTTTTAA Reverse: GACTGACTACCCTTTGGAAGCCGGGGAGC
24	rs16989673	Forward: TAGGTAAGGGCCGCCGGACCGCG Reverse not used
25	rs17847901	Forward: GAGTGAAACAGAGTACCATGCTGG Reverse: GGCGCAGAGGGAGGGGGCCTACA

of Medical Academy of Wrocław. The study encompassed 25 SNPs which are widely used in medical genetics and are also significant for molecular diagnostics. The number of tested subjects was 100 for each SNP.

2.2. DNA extraction and genotyping

DNA was isolated from blood samples utilising the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Target fragments of DNA were amplified in a PCR reaction using the ready-to-use Qiagen Multiplex PCR Kit, according to the manufacturer's instructions. Sequences of designed primers used in the PCR reaction and lengths of the PCR products are presented in Table I. The PCR protocol was as follows: initial step at 95°C for 5 min; 30 cycles of denaturation at 94°C for 60 s; annealing at 55°C for 120 s; elongation at 72°C for 60 s. DNA fragments encompassing target sites were amplified in separate reactions for each SNP. The quality of the PCR product was verified using 1.7% agarose gel electrophoresis. The PCR products were purified with shrimp alkaline phosphatase (SAP) and exonuclease I treatment (ExoSAP-IT, USB). Minisequencing reactions were performed using a SNaPshot™ Multiplex Kit (Applied Biosystems) according to the manufacturer's instructions. The sequences of designed primers used in the SNaPshot reaction are presented in Table II. Reactions were performed separately for each polymorphic size. Primer extension products were analysed by capillary electrophoresis together with LIZ 120 as a site standard, on an ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

2.3. Statistical calculations

Allele frequencies were determined and expected heterozygosity was calculated for all the analysed polymorphisms. Hardy-Weinberg Equilibrum (*HWE*) for each SNP was assessed using the ^{2} test. Forensic parameters including power of discrimination (*PD*), polymorphism information content (*PIC*), chance of exclusion (*CE*) and heterozygosity value (*H*) were calculated using POWER STATS v. 12 (program).

3. Results and discussion

Results, i.e. observed and expected heterozygosity and *HWE* as well as statistical parameters of forensic interest are presented in Table III.

Agreement with Hardy-Weinberg equilibrium was confirmed for all SNPs. The highest heterozygosity was observed for rs1800858 (57.5%), rs1800860 (50%) and rs1800861 (50%). Five SNPs (rs1800204, rs4135303, rs1805192, rs17847901 and rs3026746) were found to be monomorphic in the studied population sample.

Currently SNPs are interesting for medical genetics and are useful as identification markers, especially in human forensic identification testing. SNPs have some advantages over STR (short tandem repeats) sequences (which are routinely used for identification purposes), such as lower mutation rate, possibility of amplification of very short amplicons surrounding the target site and various typing technologies [3, 5]. The number of reported examples of SNP multiplexes used in human identification is continuously increasing [2, 4, 5, 7, 8]. Summarising, we analysed the frequency of 25 SNPs in a population sample from the lower Silesia. Three of them (rs1800858, rs1800860 and rs1800861) showed high heterozygosity (50% and higher) and might serve as a good markers for human identification testing.

TABLE III. ALELLE FREQUENCY DISTRIBUTION OF SELECTED GENES IN THE LOWER SILESIAN POPULATION

SNP	Genotype and allele	*Ho*	*He*	Alleles frequency	^{2}	*p*	*PD*	*PIC*	*CE*	*H*
rs1801177 (G/A)	G/G	0.98	0.98	–	0.1526	0.9999	0.039	0.02	0.00	0.02
	G/A	0.02	0.019	–						
	A/A	0.00	0.0001	–						
	G	–	–	0.99						
	A	–	–	0.1						
rs328 (C/G)	C/C	0.90	0.90	–	0.0027	0.9986	0.18	0.09	0.01	0.10
	G/C	0.10	0.095	–						
	G/G	0.00	0.005	–						
	C	–	–	0.95						
	G	–	–	0.05						
rs1800206 (G/C)	G/G	0.94	0.94	–	0.002	0.9990	0.113	0.06	0.00	0.06
	G/C	0.06	0.06	–						
	C/C	0.00	0.00	–						
	G	–	–	0.97						
	C	–	–	0.03						
rs1800204 (G/A)	G/G	1.00	1.00	–	Not calculated					
	G/A	0.00	0.00	–						
	A/A	0.00	0.00	–						
	G	–	–	1.00						
	A	–	–	0.00						
rs4135303 (C/T)	C/C	1.00	1.00	–	Not calculated					
	C/T	0.00	0.00	–						
	T/T	0.00	0.00	–						
	C	–	–	1.00						
	T	–	–	00						
rs1805192 (C/G)	C/C	1.00	1.00	–	Not calculated					
	C/G	0.00	0.00	–						
	G/C	0.00	0.00	–						
	C	–	–	1.00						
	G	–	–	0.00						
rs1801282 (C/G)	C/C	0.7	0.72	–	0.0334	0.9834	0.414	0.22	0.006 1	29.30%
	C/G	0.3	0.255|	–						
	G/G	0	0.025	–						
	C	–	–	0.85						
	G	–	–	0.15						
rs2236418 (A/G)	A/A	0.72	0.69	–	0.0334	0.9834	0.43	0.24	0.035	22%
	A/G	0.22	0.287	–						
	G/G	0.06	0.023	–						
	A	–	–	0.83						
	G	–	–	0.17						
rs16989673 (–/G)	–/–	0.09	0.9	–	0.0027	0.9986	0.18	0.09	0.008	10%
	–/G	0.10	0.095	–						
	G/G	0.00	0.0025	–						
	lack of insG	–	–	0.95						
	insG	–	–	0.05						

TABLE III. ALELLE FREQUENCY DISTRIBUTION OF SELECTED GENES IN LOWER SILESIAN POPULATION (cont.)

SNP	Genotype and allele	*Ho*	*He*	Alleles frequency	^{2}	*p*	*PD*	*PIC*	*CE*	*H*
rs17847901 (C/T)	C/C	0.375	0.439	–	Not calculated					
	C/T	0.575	0.447	–						
	T/T	0.05	0.114	–						
	C	–	–	1.00						
	T	–	–	0.00						
rs1800858 (G/A)	G/G	0.975	0.975	–	0.08	0.9598	0.526	0.35	0.262	57.50%
	G/A	0.025	0.025	–						
	A/A	0	0	–						
	G	–	–	0.6625						
	A	–	–	0.3375						
rs1800859 (C/A)	C/C	0.925	0.927	–	0	1	0.049	0.02	0.001	2.50%
	C/A	0.075	0.073	–						
	A/A	0.00	0	–						
	C	–	–	0.99						
	A	–	–	0.01						
rs1800862 (C/T)	C/C	0.925		–	0.5911	0.9999	0.139	0.07	0.005	7.50%
	C/T	0.075		–						
	T/T	0		–						
	C	–	–	0.96						
	T	–	–	0.04						
rs3026746 (G/T)	G/G	1	1	–	Not calculated					
	G/T	0	0	–						
	T/T	0	0	–						
	G	–	–	1.00						
	T	–	–	0.00						
rs1799939 (G/A)	G/G	0.65	0.66	–	0	1	0.471	0.26	0.074	32.50%
	G/A	0.325	0.3	–						
	A/A	0.025	0.04	–						
	G	–	–	0.8125						
	A	–	–	0.1875						
rs1800860 (G/A)	G/G	0.35	0.36	–	0.0017	0.9991	0.605	0.36	0.188	50%
	G/A	0.5	0.48	–						
	A/A	0.15	0.16	–						
	G	–	–	0.60						
	A	–	–	0.40						
rs1800863 (C/G)	C/C	0.6	0.62	–	0.0145	0.9928	0.499	0.28	0.099	37.50%
	G/C	0.375	0.3345	–						
	G/G	0.025	0.045	–						
	C	–	–	0.79						
	G	–	–	0.21						
rs1800861 (A/C)	A/A	0.45	0.49	–	0.0363	0.9820	0.455	0.33	0.188	50%
	A/C	0.5	0.42	–						
	C/C	0.05	0.09	–						
	A	–	–	0.70						
	C	–	–	0.30						

TABLE III. ALELLE FREQUENCY DISTRIBUTION OF SELECTED GENES IN LOWER SILESIAN POPULATION (cont.)

SNP	Genotype and allele	*Ho*	*He*	Alleles frequency	^{2}	*p*	*PD*	*PIC*	*CE*	*H*
rs1800471 (G/C)	G/G	0.861	0.8752	–	0.0011	0.9994	0.239	0.12	0.015	13,9%
	G/C	0.139	0.128	–						
	C/C	0	0	–						
	G	–	–	0.9325						
	C	–	–	0.0675						
rs1799990 (A/G)	A/A	0.467	0.497	–	0.0205	0.9897	0.448	0.33	0.168	47.90%
	A/G	0.476	0.416	–						
	G/G	0.057	0.087	–						
	A	–	–	0.71						
	G	–	–	0.29						
rs231775 (A/G)	A/A	0.295	0.287	–	0.0006	0.9995	0.634	0.37	0.168	47.70%
	A/G	0.482	0.497	–						
	G/G	0.223	0.2153	–						
	A	–	–	0.54						
	G	–	–	0.46						
rs5742909 (C/T)	C/C	0.785	0.7805	–	0.0047	0.9976	0.345	0.19	0.028	19.40%
	C/T	0.194	0.2058	–						
	T/T	0.021	0.0136	–						
	C	–	–	0.8835						
	T	–	–	0.1165						
rs3087243 (G/A)	G/G	0.39	0.39	–	0.00	1	0.607	0.36	0.163	47.10%
	G/A	0.47	0.47	–						
	A/A	0.14	0.14	–						
	G	–	–	0.625						
	A	–	–	0.375						
rs11571302 (A/C)	A/A	0.361	0.3715	–	0.0012	0.9990	0.602	0.36	0.185	49.70%
	A/C	0.497	0.476	–						
	C/C	0.142	0.1525	–						
	A	–	–	0.6195						
	C	–	–	0.3905						
rs3116496 (T/C)	T/T	0.807	0.81	–	0.00	1	0.315	0.17	0.025	18.30%
	T/C	0.183	0.18	–						
	C/C	0.01	0.01	–						
	T	–	–	0.90						
	C	–	–	0.10						

Ho – observed heterozygosity, *He* – expected heterozygosity; P – value; ^{2} test; *PD* – power of discrimination; *PIC* – polymorphism information content; *CE* – chance of exclusion; *H* – heterozygosity value.

References

1. Brookes A. J., The essence of SNPs, *Gene* 1999, 234, 177–186.
2. Inagaki S., Yamamoto Y., Doi Y. [et al.], A new 39-plex analysis method for SNPs including 15 blood group loci, *Forensic Science International* 2004, 144, 45–57.
3. Payseur B. A., Cutter A. D., Integrating patterns of polymorphism at SNPs and STRs, *Trends in Genetics* 2006, 22, 424–429.
4. Phillips C., Fang R., Ballard D. [et al.], SNPforID Consortium. Evaluation of the Genplex SNP typing system and a 49plex forensic marker panel, *Forensic Science International: Genetics* 2007, 1, 180–185.

5. Sanchez J. J., Phillips., Břrsting C. [et al.], A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification, *Electrophoresis* 2006, 27, 1713–1724.
6. Sobrino B., Brión M., Carracedo A., SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies, *Forensic Science International* 2005, 154, 181–194.
7. Turchi C., Onofri V., Alessandrini F. [et al.], Multiplex genotyping of 22 autosomal SNPs and its application in the forensic field, *International Congress Series* 2006, 1288, 40–42.
8. Vallone P. M., Decker A. E., Coble M. D. [et al.], The evaluation of an autosomal SNP 12-plex assay, *International Congress Series* 2006, 1288, 61–63.

Corresponding author
Iwona Chromik
Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich
Katedra Medycyny Sądowej
ul. J. Mikulicza-Radeckiego 4
PL 50-368 Wrocław
e-mail: ichromik@forensic.am.wroc.pl

ZMIENNOŚĆ 25 POLIMORFIZMÓW TYPU SNP W POPULACJI DOLNEGO ŚLĄSKA

1. Wstęp

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP) to najczęstszy typ zmienności genetycznej u człowieka. Polimorfizm typu SNP występuje zarówno w regionach kodujących, jak i niekodujących. Zmienność SNP stanowi przedmiot szczególnego zainteresowania genetyków, ponieważ poszczególne pozycje są związane m.in. z predyspozycją do różnego typu chorób i indywidualną odpowiedzią na terapie medyczne, a przez to mogą być wykorzystywane w diagnostyce medycznej. Co więcej, większość z polimorfizmów typu SNP nie jest związana z chorobami i może zostać zastosowana w charakterze markerów identyfikacyjnych użytecznych np. w badaniach sądowych [1, 6]. Celem niniejszych badań była analiza częstości genotypów 25 różnych pozycji typu SNP. Badaniami objęto następujące polimorfizmy: rs1801177, rs328, rs1800206, rs1800204, rs4135303, rs1805192, rs1801282, rs2236418, rs16989673, rs17847901, rs1800859, rs1800862, rs3026746, rs1799939, rs1800860, rs1800863, rs1800861, rs1800858, rs1800471, rs1799990, rs231775, rs5742909, rs3087243, rs11571302 oraz rs3116496.

2. Materiały i metody

2.1. Projekt badań

Prezentowane wyniki badań uzyskali różni autorzy w ciągu 3 lat pracy w Jednostce Technik Molekularnych Akademii Medycznej we Wrocławiu. Analizowano 25 polimorfizmów typu SNP będących przedmiotem badań genetyki medycznej, a istotnych z punktu widzenia diagnostyki molekularnej. Liczba badanych osób dla każdego analizowanego polimorfizmu była równa 100.

2.2. Ekstrakcja DNA i genotypowanie

DNA izolowano z krwi z zastosowaniem zestawu QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Docelowe fragmenty DNA amplifikowano za pomocą reakcji PCR z zastosowaniem zestawu Qiagen Multiplex PCR Kit (Qiagen) zgodnie z protokołem zalecanym przez producenta. Sekwencje zaprojektowanych starterów reakcji PCR oraz długości produktów PCR przedstawiono w tabeli I. Stosowano następujący protokół reakcji PCR: denaturacja wstępna – 95^{o}C przez 5 minut; 30 cykli: denaturacja – 94^{o}C przez 60 s; przyłączanie starterów – 55^{o}C przez 120 s; wydłużanie – 72^{o}C przez 60 s. Fragmenty DNA obejmujące badane polimorfizmy SNP amplifikowano w oddzielnych reakcjach PCR. Jakość produktów PCR sprawdzano za pomocą 1,7% elektroforezy w żelu agarozowym. Produkty PCR oczyszczano za pomocą mieszaniny enzymów: alkaliczna fosfataza z krewetki (SAP) oraz egzo-nukleaza I (ExoSAP-IT, USB). Reakcje minisekwencjonowania prowadzono z zastosowaniem zestawu SNaPshot™ Multiplex Kit (Applied Biosystems) zgodnie z protokołem zalecanym przez producenta. Sekwencje zaprojektowanych starterów wykorzystywanych w reakcji SNaPshot przedstawiono w tabeli II. Reakcje minisekwencjonowania przeprowadzono, stosując oddzielne reakcje dla każdej badanej pozycji SNP. Produkty reakcji wydłużania starterów analizowano za pomocą elektroforezy kapilarnej przy zastosowaniu LIZ 120 jako standardu długości, stosując aparat ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

2.3 Analizy statystyczne

Dla wszystkich analizowanych polimorfizmów obliczono częstości alleli oraz oczekiwaną heterozygotyczność. Zgodność z równowagą Hardy'ego-Weinberga (*HWE*) dla każdego polimorfizmu SNP testowano za pomocą testu ^{2}. Parametry istotne z punktu widzenia nauk sądowych, w tym siłę dyskryminacji (ang. power of discrimination, *PD*), zawartość informacji polimorficznej (ang. polymorphism information content, *PIC*), szansę wykluczenia (ang. chance of exclusion, *CE*) i heterozygotyczność (*H*) obliczano z wykorzystaniem programu komputerowego POWER STATS, wersja 12.

3. Wyniki i dyskusja

Wyniki w postaci obserwowanej i oczekiwanej heterozygotyczności, równowagi Hardy'ego-Weinberga (*HWE*), jak również statystycznych parametrów użytecznych z punktu widzenia nauk sądowych, przedstawiono w tabeli III. Dla wszystkich badanych polimorfizmów wykazano zgodność z regułą Hardy'ego-Weinberga. Najwyższą heterozygotyczność wykaza-

no dla pozycji rs1800858 (57,5%), rs1800860 (50%) oraz rs1800861 (50%). Pięć badanych pozycji SNP (rs1800204, rs4135303, rs1805192, rs17847901, rs3026746) okazało się monomorficznych w badanej próbie populacyjnej. Obecnie polimorfizmy typu SNP są przedmiotem zainteresowania genetyki medycznej oraz mogą być użyteczne w charakterze markerów identyfikacyjnych zwłaszcza do identyfikacji osobniczej w laboratoriach sądowych. Polimorfizmy SNP mają kilka zalet w porównaniu do rutynowo stosowanych dla celów identyfikacyjnych sekwencji STR (ang. short tandem repeats), jak niższe tempo mutacji, możliwość amplifikacji bardzo krótkich amplikonów zawierających badaną pozycję zmienną czy możliwość zastosowania różnego typu metod analizy [3, 5]. Liczba prac przedstawiających przykłady testów do analizy polimorfizmów SNP w reakcjach typu multipleks znajdujących zastosowanie do identyfikacji człowieka nieustannie rośnie [2, 4, 5, 7, 8]. Podsumowując, analizie poddano 25 pozycji SNP w próbie populacyjnej z Dolnego Śląska. W przypadku trzech (rs1800858, rs1800860, rs1800861) stwierdzono wysoką heterozygotyczność (co najmniej 50%), a więc mogą one służyć jako użyteczne markery w identyfikacyjnych badaniach człowieka.