

توسعه سیستم‌های Multiplex PCR-STR جهت آنالیز داده‌های ژنتیکی جمعیت ایرانی

داریوش حیدری^۱، سید حمید غفاری^۲، بهرام چهاردولی^۳، احمد قره‌باغیان^۴، کامران علی مقدم^۵، اردشیر قوام‌زاده^۵

چکیده

سابقه و هدف

تکثیر لکوس‌های STR (توالی‌های تکرار شونده کوتاه، Short Tandem Repeats) به عنوان یک روش مفید در تعیین هویت انسان به کار می‌رود. در حال حاضر آنالیز پلی‌مورفیسم‌های STR نه تنها در پزشکی قانونی و تعیین ابوت بلکه در زمینه‌های مختلف تشخیص پزشکی شامل ارزیابی وضعیت کایمریسم و بررسی بیماران پس از پیوند آلوژنیک مغز استخوان (BMT) نیز معرفی می‌گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، نمونه‌های خون از ۱۰۰ نفر از جمعیت ایرانی به صورت تصادفی به دست آمد. به منظور گسترش سیستم‌های مولتی پلکس STR، ارزیابی فراوانی از نظر نحوه ترکیب و تکثیر لکوس‌ها انجام گرفت و ۳ سیستم تریپلکس STR بدون هم‌پوشانی به دست آمد. تریپلکس DDT شامل لکوس‌های TH01، D16S539، D4S2366؛ تریپلکس VFF حاوی لکوس‌های F13A01، FES/FPS، VWA و تریپلکس DTC حاوی لکوس‌های CSF1PO، TpoX و D13S317 می‌باشند.

یافته‌ها

از اطلاعات آماری رایج، در تعیین ابوت و پزشکی قانونی از قبیل هتروزیگوسیتی (H)، احتمال تشابه دو فرد در یک نمونه جمعیتی (PM)، قدرت تمایز بین افراد یک جمعیت (PD)، قدرت حذف (PE) و اندیکس ابوت (PI) و نیز فراوانی آللی برای جمعیت ایرانی با استفاده از هر ۳ سیستم مولتی پلکس و لکوس‌های نماینده‌شان تعیین شد. برای تمام لکوس‌ها هیچ انحرافی از معادله هاردی - وین برگ دیده نشد.

نتیجه‌گیری

گسترش این سیستم‌های مولتی پلکس STR، باعث ایجاد درجه بالایی از قدرت تمایز (۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۹۷) $PD=$ و احتمال تشابه دو فرد در یک نمونه جمعیتی (PM) $= 1$ در $10^9 \times 3/6$ می‌گردد که بر کاربردی بودن این سیستم‌ها در پزشکی قانونی و تعیین هویت انسان تاکید می‌نماید.

کلمات کلیدی: جمعیت، توالی‌های تکرار شونده کوتاه، پزشکی قانونی

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۸

تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۱

۱- مؤلف مسؤول: کارشناس ارشد هماتولوژی - آزمایشگاه رفرانس سازمان تامین اجتماعی - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۶۱۷۷-۳۷۵۱۵

۲- PhD ژنتیک مولکولی - دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران - کارگر شمالی - تهران - ایران

۳- دانشجوی PhD هماتولوژی - مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران - تهران - ایران

۴- PhD ایمونوهیاتولوژی بالینی - استاد دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - مرکز تحقیقات بیماری‌های مادرزادی خونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران

۵- فوق تخصص خون و انکولوژی - استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران - تهران - ایران

مقدمه

روش واکنش زنجیره پلی‌مراز در توالی‌های بسیار تکرار شونده کوتاه (PCR-STR)؛ به عنوان یک روش انتخابی در پزشکی قانونی و تعیین ابوت و هم چنین در تعیین نقشه ژنتیکی، مطالعه‌های جمعیتی، آنالیز رده‌ای، مطالعه‌های تکاملی، تهیه بانک ملی DNA و تعیین هویت سوش‌ها در کشت بافتی استفاده می‌شود (۴-۱). این روش هم چنین در زمینه‌های مختلف تشخیص پزشکی شامل ارزیابی وضعیت کایمریسم و بررسی بیماران پس از پیوند آلوژنیک مغز استخوان (BMT) معرفی می‌شود (۵). لکوس‌های STR، دارای توالی‌های بسیار تکرار شونده ۳-۷ bp هستند. ژنوم انسان ممکن است حاوی تعداد بسیار زیادی از یک STR تری‌مریک یا تترا‌مریک در هر ۲۰ kb باشد و تقریباً نصف لکوس‌های STR مطالعه شده، در تعداد تکرارها پلی‌مورفیک هستند، آن‌ها دارای یک منبع غنی از مارکرهای ژنتیکی می‌باشند (۹-۶). آزمایش PCR به وسیله آغازگرهای حاوی توالی‌های بی‌نظیر کنار هم (unique flanking sequence primers)، جهت آمپلی‌فای (تکثیر) قطعات DNA دارای لکوس‌های STR به کار گرفته شده است. در سال‌های اخیر، کشف و توسعه STR های پلی‌مورفیک به عنوان مارکرهای (نشانگرهای) ژنتیکی پیشرفت در جزئیات نقشه ژنتیکی رده‌ای، تشخیص هویت و تشخیص ژن‌های بیماری و در آسان‌سازی و دقت در تعیین نوع DNA استفاده شده است (۱۹-۱۰). خصوصیات تعداد زیادی از لکوس‌های STR با پلی‌مورفیک بالا، استفاده زیاد از این سیستم‌ها را در بررسی پزشکی قانونی، تعیین ابوت، تشخیص نوع سوش در کشت بافتی و آنالیز BMT میسر می‌سازد. مارکرهای (نشانگرهای) STR، آنالیز مقادیر بسیار کم نمونه‌های بیولوژیکی را حتی با یک روش خالص‌سازی DNA خام اجازه می‌دهد. نتیجه آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر)، قطعات لکوس‌های STR افراد از ۱۰۰ تا ۴۰۰ جفت باز می‌باشد که می‌تواند به سرعت و به طور صحیحی با استفاده از یک allelic ladder که به خوبی تعریف شده است، آنالیز شود. در جمعیت ایرانی از نقطه نظر ژنتیکی اطلاعاتی وجود ندارد و با توجه به دانش و آگاهی ما در این زمینه، این اولین مطالعه‌ای است که از ایران در زمینه

انتشار و پراکندگی STRها گزارش شده است. در این مطالعه، طراحی سیستم‌های آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر) Multiplex STR-PCR و کاربرد این سیستم‌ها از جهت بررسی انتشار فراوانی آللی ۱۰ لکوس STR در جمعیت ایرانی توصیف شد. این مطالعه به عنوان یک رویکرد اولیه نسبت به ارزیابی و معرفی تعیین DNA در ایران انجام شد. به طور رایج این روش تعیین Multiplex DNA در مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان برای ارزیابی وضعیت کایمریسم و بررسی بیماران پس از BMT تاسیس شده است (۲۱، ۲۰).

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه:

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. نمونه‌های خون محیطی از ۱۰۰ نفر غیر خویشاوند سالم (hematopoietic stem cell donors) زنده در مناطق مختلف ایران صرف نظر از زمینه نژادیشان جمع‌آوری شدند. تمام این افراد اهداکنندگان سلول‌های بنیادی خونساز (به روش برداشت از مغز استخوان) بودند که به مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران از سراسر کشور فرستاده شده بودند. DNA با وزن مولکولی بالا از سلول‌های تک هسته‌ای گلبول‌های سفید با روش استاندارد نمک اشباع (salting out) استخراج شدند (۲۴-۲۲). غلظت هر نمونه DNA توسط یک اسپکتروفتومتر UV تعیین گردید (نسبت A260/A280 که برآوردی از خلوص DNA است، بین ۱/۷-۲ بود).

آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر) STR-PCR:

بعد از تحقیقات وسیع در نشریات، ۱۵ لکوس STR تترانوکلئوتیدی که خوب تعریف شده بودند و از پلی‌مورفیسم بالایی برخوردار بودند، جهت این که به صورت مولتی‌پلکس ارزیابی شوند، انتخاب شدند. معیارهای انتخاب شامل، عدم هم‌پوشانی محصولات آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر)، مقدار بسیار کم یا نبود آرته‌فکته‌های (محصولات ناخواسته) PCR که به علت آمپلی‌فیکاسیون غیر اختصاصی ایجاد می‌شود، سهل‌انگاری

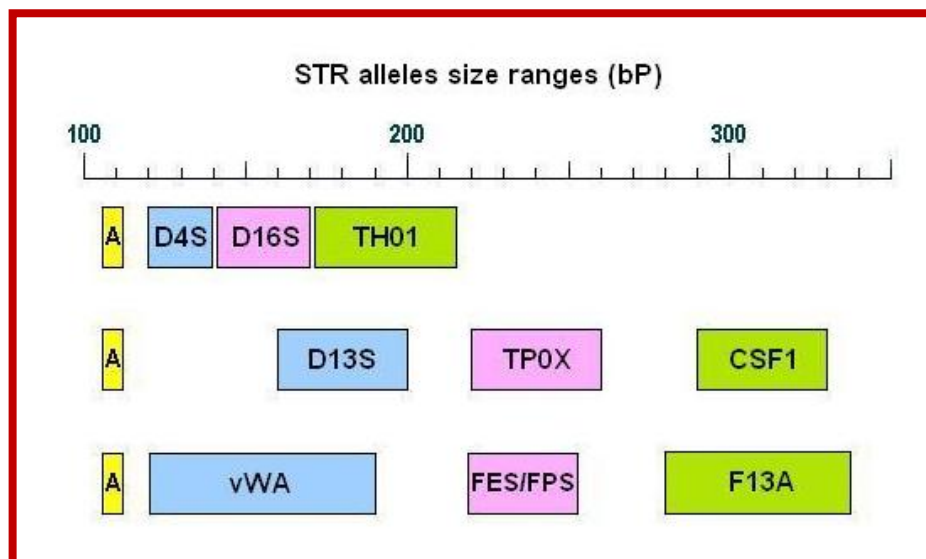
حرکت الکتروفورتیک به شکل خوبی انجام شد، این در حالی بود که جدا شدن روی PAGE مشکل بود و لکوس هایی که حرکت نزدیک به هم داشتند به علت هم پوشانی آلل ها حذف می شدند. مجموعه های مولتی پلکسی که اجازه داده شد آمپلی فیکاسیون تمام لکوس ها در یک شرایط یکسان انجام شود و آر تی فکت (محصول ناخواسته) PCR ایجاد نشود، به طور هم زمان در یک لوله واکنش آمپلی فای (تکثیر) شدند، توسط PAGE دناتوره (تغییر ماهیت داده) کننده و یا غیر دناتوره کننده جدا شده و توسط رنگ آمیزی نقره کشف شدند. آزمایش PCR دارای یک حجم نهایی ۳۰ μL شامل ۵۰-۱۰۰ ng DNA، ۱۰ μmol از هر آغازگر آمپلی فیکاسیون، یک واحد تک پلی مرز (فرمنتاز - لیتوانی)، ۳ μL بافر PCR ۱۰ X حاوی ۵۰۰ mM KCl، ۲۵ mM MgCl_2 و ۰/۱ M Tris HCL (pH ۸/۸) از هر dNTP می باشد.

PCR به صورت ۳۰ سیکل (هر سیکل حاوی ۴۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی گراد، ۴۵ ثانیه در ۶۰-۵۰ درجه سانتی گراد، بسته به سری آغازگرها و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد) با یک دناتوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

در تعیین آلل ها و وجود درجه بالای پلی مورفیسم در جمعیت ایرانی بودند. از این مطالعه های اولیه، ۹ لکوس ترانوکلئوتیدی پلی مورفیک جهت این کار انتخاب شدند. ۹ لکوس آمپلی فای شده در این مطالعه D4S2366، CSF1PO، TPOX، D13S317، TH01، D16S539، FES/FPS و F13A01 بودند (جدول ۱). به خاطر توالی های کنار هم بی نظیر هر لکوس، یک جفت آغازگر انتخاب و ساخته شد. منبع توالی الیگوساکاریدها برای هر لکوس از NCBI به دست آمد. تمام اولیگوساکاریدها توسط MWG ساخته شدند. نمونه های DNA ابتدا در واکنش های Monoplex PCR که هر یک حاوی یک سری از آغازگرها برای هر لکوس بودند، آمپلی فای شدند. سپس واکنش های مولتی پلکس PCR با استفاده از مخلوطی از ۴-۳ جفت از آغازگرهای جدا از هم برای آمپلی فیکاسیون هم زمان لکوس های مولتی پلکس در یک لوله واکنش تنها گسترش داده شد. جهت ایجاد این سری مولتی پلکس ها، ترکیب بسیار لکوس ها با هم و شرایط آمپلی فیکاسیون (تکثیر) مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر مرحله از آزمایش PCR، شرایط آمپلی فیکاسیون (تکثیر) ابتدا برای هر منوپلکس و سپس برای هر واکنش مولتی پلکس به کمک گرادیان دمایی لکوس های STR با یک اختلاف زیاد در

جدول ۱: خصوصیات ۹ لکوس STR استفاده شده همراه با نمایش آن ها در قالب ۳ سیستم تری پلکس

سیستم مولتی پلکس STR	نام لکوس	محل کروموزومی	Repeat motif	شماره آلل	Allele Range	محدوده سائز
DDT	D4S2366	۴p	GATA	۸	۵-۱۲	۱۲۰-۱۴۴
	D16S539	۱۶q۲۲-۲۴	GATA	۷	۷-۱۳	۱۴۱-۱۷۳
	TH01	۱۱p۱۵-۱۵/۵	AATG	۱۴	۳-۱۰	۱۷۱-۲۱۵
DCT	D13S317	۱۳q۲۲-۲۴	TATC	۱۰	۷-۱۳	۱۵۷-۲۰۱
	TPOX	۲p۲۳-۲pter	AATG	۸	۵-۱۲	۲۲۰-۲۵۶
	CSF1PO	۵q۳۳/۳-۳۴	AGAT	۱۰	۱۰-۱۶	۲۹۱-۳۳۱
VFF	VWA	۱۲p۱۲-pter	[TCTG][TCTA]	۱۲	۱۳-۲۰	۱۲۲-۱۸۲
	FES/FPS	۱۵q۲۵-qter	ATTT	۷	۷-۱۳	۲۲۲-۲۵۲
	F13A1	۶p۲۴-۲۴	AAAG	۸	۸-۱۵	۲۷۹-۳۳۵



شکل ۱: شرح شماتیکی دامنه‌های آللی استفاده شده در ۳ سیستم تریپلکس STR-PCR.

اندازه دامنه‌های ۹ لکوس STR و مارکر آمیلوژنین هنگامی که به صورت ۳ تریپلکس در واکنش‌های PCR آمپلی‌فای شده و توسط PAGE آنالیز گردند. اندازه دامنه هر لکوس به صورت جفت باز نمایش داده می‌شود. (A) لکوس‌های آمیلوژنین را نمایش می‌دهد. این مارکر می‌توانست به طور هم زمان در همان لاین run شود و به عنوان یک باند تنها برای زنان و دو باند برای مردان مشاهده شود. اندازه‌های مورد انتظار قطعه (جفت باز) برای آمیلوژنین ۱۰۶X و ۱۱۲Y می‌باشند (۲۵).

الکتروفورزیس:

سودمند در تعیین ابوت و پزشکی قانونی از قبیل power of discrimination (PD)، matching probability (PM)، paternity index (PI) و power of exclusion (PE) به وسیله روش‌های آماری مختلفی محاسبه شدند (۲۶). HWE با استفاده از آزمون کای دو بررسی و چک گردید.

یافته‌ها

تفسیر سیستم‌های مولتی‌پلکس:

پس از ارزیابی فراوان ترکیبات لکوسی و شرایط آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر)، ۹ لکوس STR جهت ایجاد ۳ سیستم تری‌پلکس غیر هم‌پوشاننده برای آنالیز سریع و درست، ترکیب شدند (جدول ۱). اولین تریپلکس (DDT) شامل آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر) هم زمان لکوس‌های TH01، D4S2366، D16S539؛ دومین تریپلکس (VFF) حاوی لکوس‌های F13A01، FES/FPS، VWA؛ و سومین تریپلکس (DTC) حاوی لکوس‌های CsF1po، TPOX و D13S317 می‌باشند. دامنه اندازه آلل‌ها برای سنجش‌های مولتی‌پلکس در شکل ۱ توضیح داده شده است. نمونه‌های

محصولات آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر) PCR تحت ژل پلی‌اکریلامید ۶٪ دناتوره (تغییر ماهیت داده) کننده و یا غیر دناتوره کننده الکتروفورز شدند و باندهای DNA به کمک رنگ‌آمیزی نیترا ت نقره قابل مشاهده گردید. پس از عکس‌برداری از ژل‌ها و انتقال آن‌ها به یک Bio-Ras Multi-Analyst image analyzer، اندازه باندهای لکوس‌های مولتی‌پلکس DNA توسط یک allelic ladder و مارکرهای با وزن مولکولی مشخص تعیین گردید.

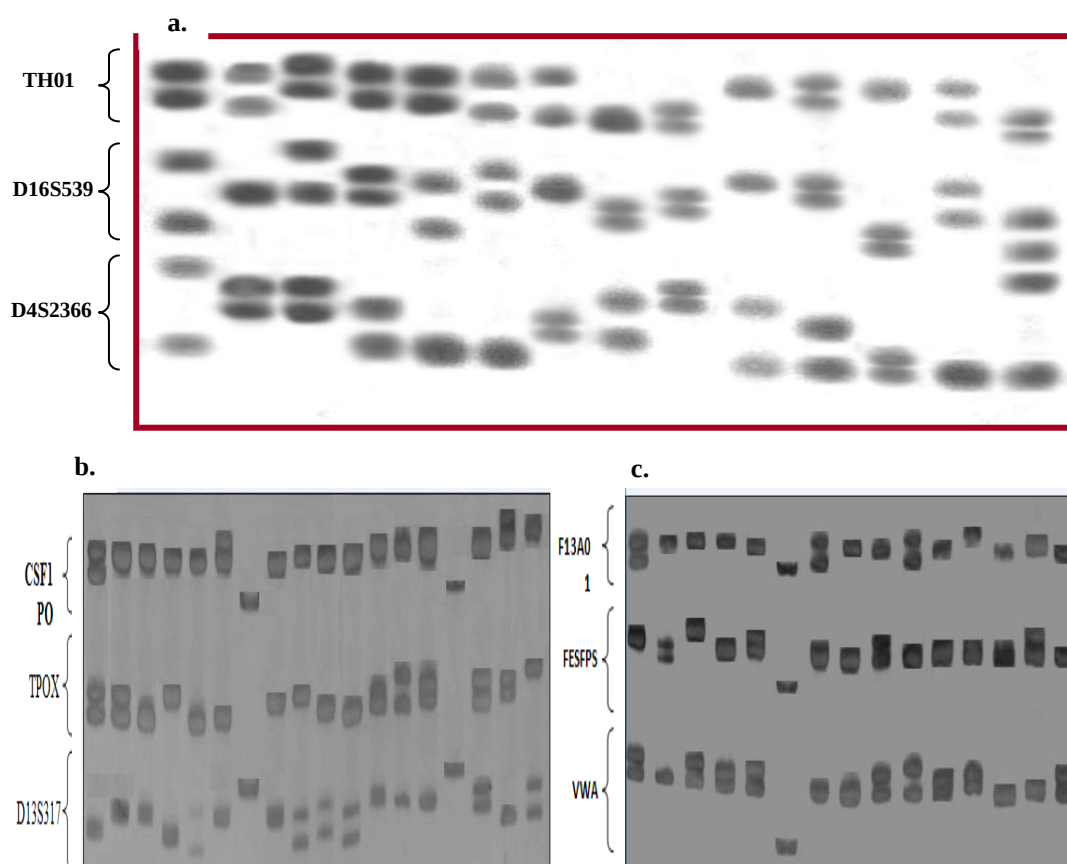
آنالیز آماری:

انتشار فراوانی آللی، درصد هتروزیگوسیتی قابل مشاهده (Ho) و مورد انتظار (He)، likelihood ratio test، Hardy-Weinberg expectations (HWE) توسط تست χ^2 به کمک برنامه GENETPOP software v. ۳/۴ انجام شد (۲۴). واگرایی ممکن از HWE با محاسبه یک تخمین مناسب از فراوانی‌های هموزیگوت به هتروزیگوت مورد انتظار تعیین شد (۲۴). تعداد دیگری از پارامترهای جمعیتی

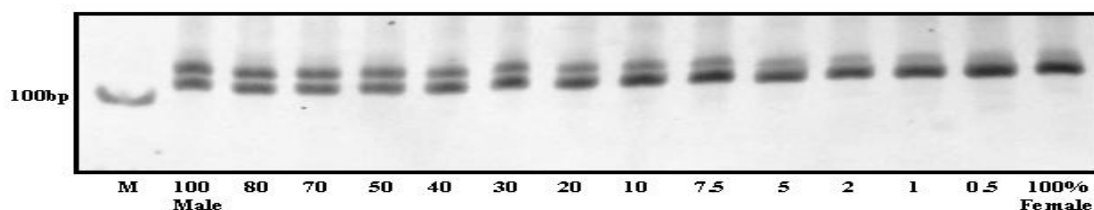
دنا توره کننده به کار می رود. نمونه های DNA آمپلی فای شده معمولاً جهت الکتروفورزیس در مجاورت با مخلوطی از allelic ladder قرار گرفتند. این رویکرد تعیین سریع، ساده و دقیق اندازه های آلی را به وسیله مقایسه بصری اجزاء allelic ladder بدون نیاز به هر دستگاه مخصوصی میسر می سازد. گر چه برای تعیین دقیق اندازه های آلی، تصویر

DNA (۵۰-۱۰۰ ng) از افراد ایرانی توسط سیستم های مولتی پلکس آمپلی فای شدند؛ محصولات PCR روی PAGE ۶٪ غیر دنا توره کننده جدا و توسط رنگ آمیزی نقره مشاهده شدند.

شکل های ۲ و ۳ پروفایل های DNA را برای هر ۳ مولتی پلکس و نیز مارکر آمیلوژنین نشان می دهند. جهت تجزیه قطعات DNA بیشتر از ۲۵۰ نوکلئوتید، یک



شکل ۲: پروفایل های DNA رنگ آمیزی شده با نقره لکوس های STR آمپلی فای شده با استفاده از سه سیستم مولتی پلکس. هتروزیگوسیتی و فراوانی آلی تک تک لکوس های موجود در مولتی پلکس های DDT، DTC و VFF در اشکال a، b و c (به ترتیب) نمایش داده شده است.



شکل ۳: ارزیابی نسبی از DNA مرد و زن. حساسیت مارکر آمیلوژنین (کمترین غلظت از DNA که تولید می کند یک باند قابل مشاهده بر روی ژل پلی اکریلامید رنگ شده با نقره ای) با مخلوط سلولی از اهدا کننده (زن) و گیرنده (مرد)، متغیر از ۰/۵٪ از جمعیت مینور تا ۸۰٪ از جمعیت های بزرگ، تعیین شد. برای این مارکر حساسیت ۱-۲٪ بود.

Matching probability (MP):

شاخصی است که اغلب در پزشکی قانونی برای تعیین قدرت تمایز یک سیستم ژنتیکی اندازه گیری می شود (۲۸)، (۲۷). جدول ۳ MP را برای ۱۰ لکوس در جمعیت ایرانی نشان می دهد. دامنه های MP در هر سیستم مولتی پلکس از $10^{-4} \times 967$ تا $10^{-6} \times 177$ می باشد. مقدار MP مرکب برای هر سه سیستم تری پلکس $10^{-17} \times 115$ برای جمعیت ایرانی است. شانس این که ۲ فرد در تمام ۹ لکوس موجود در ۳ تری پلکس مشابه باشند، ۱ در $10^9 \times 8/7$ می باشد.

Power of discrimination (PD):

تمایز کننده ترین لکوس ها TH01 ($PD = 0/9656$) و F13A01 ($PD = 0/955$) بوده و پایین ترین لکوس DTC می باشد. دامنه PD برای ۰/۹۸۵، DDT برای ۰/۹۷۲، برای VFF و ۰/۹۶۶ است. PD مرکب برای ۹ لکوس در ۳ سیستم تری پلکس $0/9999999988$ است.

Paternity index (PI):

معیاری از تمایز است که در بررسی تعیین ابوت استفاده می شود و در واقع ابزاری جهت نمایش ژنتیک احتمالی به نفع ژنوتیپ های مفروض پدری برای مادر، بچه و پدر فرضی است (۲۹). typical PI ها برای هر لکوس و تمام مولتی پلکس ها در جدول ۳ آورده شده است. typical PI مرکب برای تمام تری پلکس ها $2115/366$ می باشد.

Power of exclusion (PE):

معیار دومی از تمایز است که اغلب در بررسی ابوت به کار می رود که در واقع توانایی یک آزمایش ژنتیکی را جهت حذف فردی که به اشتباه مورد اتهام قرار گرفته است می سنجد (۲۸). PE به دست آمده به صورت ۰/۰۵۸ برای تری پلکس DDT، ۰/۰۰۲ برای VFF و ۰/۰۰۲ برای DTC است. PE مرکب برای تمام لکوس در ۳ تری پلکس $0/0002$ می باشد، که بیان کننده سودمندی این ۳ سیستم برای بررسی های ابوت و تصمیم های پزشکی قانونی است.

ژل به Quantity One programs منتقل گردید و توسط یک Multi-analyzer software (بیوراد) بررسی و آنالیز شد.

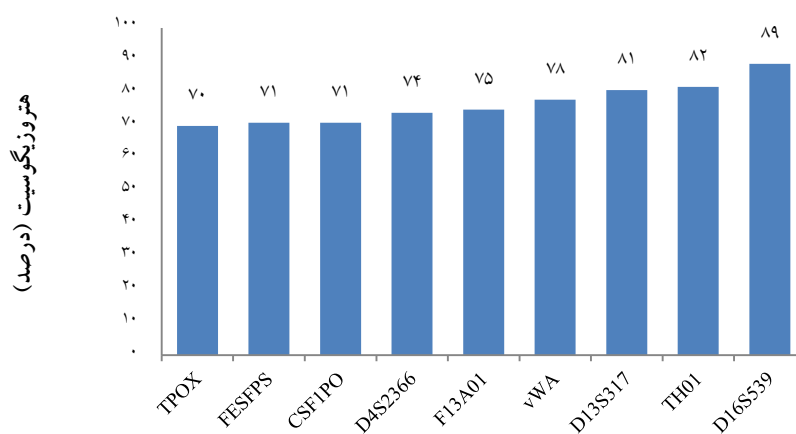
آنالیز آماری و مطالعه جمعیتی:

جدول ۲ انتشار فراوانی آللی و ارزیابی های آماری را برای هر یک از ۹ لکوس آنالیز شده در نمونه های جمعیت ایرانی نشان می دهد. فراوانی های تعدادی از آلل ها در میان جمعیت کاملاً متغیر هستند.

۷ آلل برای لکوس D4S2366، ۷ آلل برای D16S539، ۶ آلل برای TH01، ۸ آلل برای VWA، ۹ آلل برای FES/FPS، ۸ آلل برای F13A01، ۸ آلل برای D13S317، ۶ آلل برای TPOX و ۷ آلل برای CSF1PO شناسایی شدند. به علت یک زمینه پایین، نتیجه خوب محصولات آمپلی فیکاسیون و سادگی تعیین آللی در ژل غیر دنا توره و درجه بالای هتروزیگوسیتی، قدرت تمایز (PD) و آگاهی بخشی مفید، تری پلکس DDT به عنوان یک سیستم مولتی پلکس سودمند در پزشکی قانونی، آزمایش تعیین ابوت و در آنالیز BMT در جمعیت ایرانی برگزیده شد. این مولتی پلکس هم اکنون برای ارزیابی روتین کایمریسم در بیماران BMT آلورژیک این مرکز استفاده می شود. اطلاعات آماری رایج استفاده شده در آزمایشگاه های پزشکی قانونی و تعیین ابوت برای جمعیت ایرانی با استفاده از تمام ۳ سیستم مولتی پلکس و لکوس نماینده شان تعیین شده است (جدول ۳).

هتروزیگوسیتی (H):

مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و قابل انتظار (H_e) در جدول ۲ و نمودار ۱ نشان داده شده است. تمام ۹ لکوس پلی مورفیسم بالایی را در نمونه جمعیتی ایران نشان می دهند و هتروزیگوسیتی هایشان بیشتر از ۵۰٪ بوده که با بالاترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (۸۱٪) برای لکوس TH01 و پایین ترین هتروزیگوسیتی نمایش داده شده (۱۷٪ و ۲۲٪) به ترتیب برای لکوس های F13A01 و CSF1PO می باشد. برای تمام ۹ لکوس هیچ گونه انحرافی از هاردی - وین برگ کشف نگردید.



نمودار ۱: هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) ۹ لکوس تترانوکلئوتیدی STR در جمعیت ایرانی

جدول ۲: انتشار فراوانی ۹ لکوس STR در نمونه جمعیت ایرانی و مقایسه آن با مطالعه‌های مشابه

D4S2366			D16S539			TH01		
هموزیگوت	۳۶		هموزیگوت	۲۴		هموزیگوت	۳۸	
هتروزیگوت	۶۴		هتروزیگوت	۷۶		هتروزیگوت	۶۲	
جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰	
آلل	AF*	N**	آلل	AF	N	آلل	AF	N
۵	۰/۰۸۵۰	۱۷	۷	۰/۰۱۵۰	۳	۳	۰/۰۱۵۰	۳
۶	۰/۱۶۵۰	۳۳	۸	۰/۱۰۰۰	۲۰	۴	۰/۱۴۵۰	۲۹
۷	۰/۲۱۰۰	۴۲	۹	۰/۱۵۰۰	۳۰	۵	۰/۱۷۰۰	۳۴
۸	۰/۱۴۰۰	۲۸	۱۰	۰/۲۷۰۰	۵۴	۵/۳	۰/۰۹۰۰	۱۸
۹	۰/۱۵۰۰	۳۰	۱۱	۰/۲۸۵۰	۵۷	۶	۰/۰۸۵۰	۱۷
۱۰	۰/۱۴۵۰	۲۹	۱۲	۰/۱۵۰۰	۳۰	۶/۱	۰/۰۶۵۰	۱۳
۱۱	۰/۰۹۰۰	۱۸	۱۳	۰/۰۳۰۰	۶	۷	۰/۱۴۵۰	۲۹
۱۲	۰/۰۱۵۰	۳				۷/۱	۰/۰۶۰۰	۱۲
						۷/۳	۰/۰۶۵۰	۱۳
						۸	۰/۰۹۰۰	۱۸
						۸/۳	۰/۰۴۰۰	۸
						۹	۰/۰۲۰۰	۴
						۹/۳	۰/۰۰۵۰	۱
						۱۰	۰/۰۰۵۰	۱
جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰

D13S317			TPOX			CSF1PO		
هموزیگوت	۴۸		هموزیگوت	۵۶		هموزیگوت	۸۳	
هتروزیگوت	۵۲		هتروزیگوت	۴۴		هتروزیگوت	۱۷	
جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰	
آلل	AF*	N**	آلل	AF	N	آلل	AF	N
۷	۰/۰۰۵۰	۱	۵	۰/۰۴۵۰	۹	۱۰	۰/۰۱۰۰	۲
۷/۱	۰/۰۱۰۰	۲	۶	۰/۱۸۰۰	۳۶	۱۰/۱	۰/۰۰۵۰	۱
۸	۰/۰۴۵۰	۹	۷	۰/۲۱۰۰	۴۲	۱۰/۳	۰/۰۱۰۰	۲
۸/۱	۰/۰۸۵۰	۱۷	۸	۰/۲۵۰۰	۵۰	۱۱	۰/۰۱۰۰	۲
۹	۰/۱۰۵۰	۲۱	۹	۰/۱۳۰۰	۲۶	۱۲	۰/۰۳۰۰	۶
۱۰	۰/۱۴۰۰	۲۸	۱۰	۰/۱۴۰۰	۲۸	۱۲/۱	۰/۰۴۵۰	۹
۱۱	۰/۲۸۰۰	۵۶	۱۱	۰/۰۲۵۰	۵	۱۳	۰/۳۱۰۰	۶۲
۱۲	۰/۲۰۵۰	۴۱	۱۲	۰/۰۲۰۰	۴	۱۴	۰/۲۴۵۰	۴۹
۱۳	۰/۱۲۰۰	۲۴				۱۵	۰/۲۰۵۰	۴۱
۱۴	۰/۰۰۵۰	۱				۱۶	۰/۱۳۰۰	۲۶
جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰

VWA			FES/FPS			F13A01		
هموزیگوت	۴۰		هموزیگوت	۴۹		هموزیگوت	۸۸	
هتروزیگوت	۶۰		هتروزیگوت	۵۱		هتروزیگوت	۱۲	
جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰		جمع نمونه‌ها	۱۰۰	
آلل	AF*	N**	آلل	AF	N	آلل	AF	N
۱۳	۰/۰۲۵۰	۵	۷	۰/۰۳۵۰	۷	۸	۰/۰۱۵۰	۳
۱۴	۰/۰۶۰۰	۱۲	۸	۰/۰۸۵۰	۱۷	۹	۰/۰۲۵۰	۵
۱۵	۰/۰۷۰۰	۱۴	۹	۰/۱۶۵۰	۳۳	۱۰	۰/۰۶۰۰	۱۲
۱۵/۲	۰/۰۷۵۰	۱۵	۱۰	۰/۲۰۵۰	۴۱	۱۱	۰/۰۶۰۰	۱۲
۱۶	۰/۰۸۰۰	۱۶	۱۱	۰/۲۶۰۰	۵۲	۱۲	۰/۲۹۰۰	۵۸
۱۶/۱	۰/۱۵۰۰	۳۰	۱۲	۰/۱۸۰۰	۳۶	۱۳	۰/۳۳۵۰	۶۷
۱۷	۰/۲۷۵۰	۵۵	۱۳	۰/۰۷۰۰	۱۴	۱۴	۰/۱۶۰۰	۳۲
۱۸	۰/۱۴۰۰	۲۸				۱۵	۰/۰۵۵۰	۱۱
۱۸/۲	۰/۰۳۵۰	۷						
۱۸/۳	۰/۰۴۰۰	۸						
۱۹	۰/۰۱۰۰	۲						
۲۰	۰/۰۴۰۰	۸						
جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰	جمع	۱/۰۰۰	۲۰۰

AF*: Allelic Frequency

N**: Number of Alleles Observed

جدول ۳: آمار جمعیتی احتمال تشابه دو فرد در یک نمونه جمعیتی (MP)، قدرت تمایز بین افراد یک جمعیت (PD)، قدرت حذف (PE) و اندیکس ابوت (PI) با استفاده از لکوس های منفرد و سیستم های مولتی پلکس برای جمعیت ایرانی

Loci	Matching Probability (MP)	Power of Discrimination (PD)	Paternity Index (PI)	Power of Exclusion (PE)
D4S2366	۰/۰۶۲۴ (۱۶ در ۱)	۰/۹۳۷۶	۱/۹۲۳۱	۰/۴۹۲۸
D16S539	۰/۰۸۸۲ (۱۱ در ۱)	۰/۹۱۱۸	۴/۵۴۵۵	۰/۷۷۵۰
TH01	۰/۰۸۵۲ (۱۱ در ۱)	۰/۹۱۴۲	۲/۷۷۷۸	۰/۶۳۶۷
VWA	۰/۰۳۵۳ (۲۸ در ۱)	۰/۹۶۴۷	۲/۸۰۴۳	۰/۶۳۹۹
FESFPS	۰/۱۰۰۹ (۱۰ در ۱)	۰/۸۹۹۱	۲/۰۴۵۸	۰/۵۱۹۴
F13A01	۰/۰۷۶۲ (۱۳ در ۱)	۰/۹۲۳۸	۱/۹۶۳۱	۰/۵۰۱۸
D13S317	۰/۰۷۹۶ (۱۲ در ۱)	۰/۹۲۰۴	۲/۶۸۳۸	۰/۶۲۴۷
TPOX	۰/۲۰۰۸ (۵ در ۱)	۰/۷۹۹۲	۱/۶۷۱۷	۰/۴۲۹۷
CSF1PO	۰/۱۳۶۰ (۷ در ۱)	۰/۸۶۴۰	۱/۷۲۴۱	۰/۴۴۳۹
DDT	۰/۰۰۰۴۷۲ (۲۱۱۸ در ۱)	۰/۹۹۹۵۳	۲۴/۲۸۲	۰/۹۵۸۵
VFF	۰/۰۰۰۲۷۱ (۳۶۹۰ در ۱)	۰/۹۹۹۷۳	۱۱/۲۶۲۳۸	۰/۹۱۰۱
DTC	۰/۰۰۲۱۷۴ (۴۶۰ در ۱)	۰/۹۹۷۸۳	۷/۷۳۵۱۸۹	۰/۸۸۱۰
DDT+VFF+DTC	($3/6 \times 10^{-9}$) 279×10^{-12}	۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۷	۲۱۱۵/۳۶۶	۰/۹۹۹۹۶

بحث

به طور خلاصه، ما گسترش ۳ سیستم آمپلی فیکاسیون تریپلکس STR-PCR و کاربرد این سیستم ها برای بررسی انتشار فراوانی آللی ۹ لکوس STR در جمعیت ایرانی را توضیح داده ایم. این اطلاعات بیان می کند که اهمیت بالای تمایز ($PD = 0/99999998$) هنگامی که هر ۳ تری پلکس برای مشخص کردن گواهی بیولوژیک قانونی استفاده می شوند، می تواند حاصل شود. احتمال تشابه (PM) برای تمامی ۹ لکوس، ۱ در $3/6$ میلیارد تخمین زده شد که این امر بر مفید بودن این سیستم ها در پزشکی قانونی و برای کاربردهای شناسایی انسان در جمعیت ایرانی تاکید دارد.

این سیستم های مولتی پلکس حاوی اطلاعات بسیار سودمندی هستند و می توانند هم چنین برای پیگیری کایمریسم بعد از BMT آلونژیک استفاده شوند (هم اکنون در مرکز تحقیقات پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران بر همین اساس آنالیز کایمریسم بعد از BMT آلونژیک صورت می گیرد).

مقایسه با جمعیت های دیگر (غیر ایرانی):

در سال ۱۹۹۸، هالوس و همکارانش، به مطالعه نمونه جمعیتی از فیلیپین با استفاده از سه لکوس STR پرداختند. هتروزیگوسیتی این لکوس ها؛ VWA ($0/80/4$) و FES/FPS ($0/67/1$) و F13A01 ($0/66/1$) بوده است. پلی مورفیسم در این لکوس ها به جز در لکوس VWA نسبت به لکوس های مشابه در مطالعه ما، بیشتر بود (۳۰). در سال ۱۹۹۸ انترالا و همکارانش، به مطالعه روی نمونه جمعیتی در جنوب اسپانیا با استفاده از سه لکوس STR پرداختند. نتایج به دست آمده راجع به هتروزیگوسیتی این ها بدین صورت بود: لکوس D16S539 ($0/81/6$)، لکوس D13S317 ($0/79/2$) و لکوس D7S820 ($0/74/1$). این نتایج نسبت به هتروزیگوسیتی در لکوس های مشابه در تحقیق ما نشان داد که در این ها هتروزیگوسیتی بیشتر بوده است. در مورد پلی مورفیسم این لکوس ها باید گفت در لکوس های D16S539 و D13S317 پلی مورفیسم مشابه ولی در مورد لکوس D7S820 پلی مورفیسم کمتر از لکوس مشابه در مطالعه بوده است (۳۱).

نتیجه گیری

با نتایج به دست آمده از این مطالعه مشخص شد از چه لکوس‌هایی برای مطالعه کایمریسم بعد از پیوند مغز استخوان در جمعیت ایرانی، بهتر است استفاده کنیم. هم چنین با انجام آزمایش‌های آماری می‌توانیم قضاوت خوبی از جمعیت ایرانی در موارد پزشکی قانونی، رد ابوت، بررسی نژاد ایرانی و ... داشته باشیم. در این تحقیق از روش Multiplex PCR استفاده شد، به طوری که سه تریپلکس با استفاده از ۹ لکوس، تنظیم گردید که روشی ارزان، راحت و سریع می‌باشد. به خاطر این که STR-PCR بر روی نمونه سلول‌های خون محیطی در حال حاضر دقیق‌ترین و حساس‌ترین روش تحلیل کایمریسم است، با این روش می‌توان ارزیابی صحیح و کمی با سرعت بالا از وضعیت کایمریسم بعد از پیوند را در بیماران فراهم نماید. چنین اطلاعاتی می‌تواند در تصمیم‌گیری برای استفاده از درمان‌های اضافی جهت جلوگیری از رد پیوند یا سرکوب عود بیماری مفید واقع شود. از کارهای مهمی که می‌شود انجام داد (البته برخی از آن‌ها در مرکز پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی در حال اجراست) استفاده از حجم بیشتر نمونه، مطالعه روی نژادهای مختلف ایرانی و اجرای روش سکانس کردن (Sequencing) برای به دست آوردن هتروزیگوسیتی دقیق‌تر این لکوس‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از همکاری خانم‌ها دکتر شایگان، دکتر نادعلی، آسیه عشوری و آقای شهرام آذری تشکر می‌کنند. هم چنین از تمام افرادی که با سعه صدر، نمونه خون خود را برای این طرح اهدا نمودند سپاسگزارند.

در سال ۲۰۰۰، بالداسارا و نونیزو و همکارانشان به مطالعه روی یک نمونه جمعیتی در جنوب ایتالیا، با استفاده از ۸ لکوس STR پرداختند. در این تحقیق درصد هتروزیگوسیتی در این لکوس‌ها به قرار زیر بود: لکوس D16S539 (۷۵٪)، D7S820 (۸۱/۶٪)، D13S317 (۸۶/۶٪)، VWA (۷۵/۳٪)، FES/FPS (۷۵٪)، TH01 (۸۰/۴٪)، TPOX (۶۷/۸٪) و لکوس CSF1PO (۴۸/۶٪). پلی‌مورفیسم در این لکوس‌ها به نسبت لکوس‌های مشابه در مطالعه ما؛ در لکوس‌های D16S539 و VWA مشابه بوده، در لکوس D13S317 پلی‌مورفیسم بیشتر و در بقیه لکوس‌ها پلی‌مورفیسم کمتر بود (۳۲).

در سال ۲۰۰۱، C-H ژنگ و همکارانش، روی جمعیت چینی‌های مقیم تایوان، با استفاده از ۵ لکوس STR مطالعه کردند که هتروزیگوسیتی آن‌ها به قرار زیر بود: لکوس CSF1PO (۷۴/۹٪)، TH01 (۶۲/۷٪)، VWF (۸۲/۵٪)، FES/FPS (۶۵/۹٪) و F13A01 (۸۷/۷٪). پلی‌مورفیسم در این لکوس‌ها در مقایسه با پلی‌مورفیسم‌شان در مطالعه حاضر: لکوس‌های CSF1PO، VWF، F13A01 و پلی‌مورفیسم بیشتر، و در لکوس‌های TH01 و FES/FPS پلی‌مورفیسم کمتر بود (۳۳).

در سال ۲۰۰۳، کاکیر و همکارانش، به مطالعه نمونه جمعیتی از ترکیه با استفاده از ۸ لکوس STR پرداختند. هتروزیگوسیتی در این لکوس‌ها به قرار زیر می‌باشد: TH01، (۸۴/۷٪)، VWA (۸۰/۶٪)، CSF1PO (۶۹/۵٪)، F13A01 (۷۵٪)، FES/FPS (۷۰٪)، D16S539 (۷۸/۱٪)، D7S820 (۷۵/۶٪)، D13S317 (۸۵/۴٪). پلی‌مورفیسم این لکوس‌ها در مقایسه با لکوس‌های مشابه در مطالعه ما، در لکوس TH01 و D7S820 پلی‌مورفیسم کمتر، در لکوس‌های VWA و D16S539 پلی‌مورفیسم برابر و بقیه لکوس‌ها، پلی‌مورفیسم بیشتر بوده است (۳۴).

References :

- Hearne CM, Ghosh S, Todd JA. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. *Trend Genet* 1992; 8(8): 288-94.
- Kim KS, Sappington TW. Microsatellite data analysis for population genetics. *Methods in Mol Biol* 2013; 1006: 271-95.
- Foissac A, Crouau-Roy B, Fauré S, Thomsen M, Cambon-Thomsen A. Microsatellites in the HLA region: an overview. *Tissue Antigens* 1997; 49(3 Pt 1): 197-214.
- Zhang HB, Wei SG, Yu B, Li L, Lai JH. Nine polymorphic STR loci in the HLA region in the Shaanxi Han population of China. *Genet Mol Res* 2012; 11(3): 2534-8.
- Kristt D, Stein J, Yaniv I, Klein T. Assessing quantitative chimerism longitudinally: technical considerations, clinical applications and routine feasibility. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39(5): 255-

- 68.
- 6- Beckman JS, Weber JL. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics* 1992; 12(4): 627-31.
- 7- Gymrek M, Golan D, Rosset S, Erlich Y. lobSTR: A short tandem repeat profiler for personal genomes. *Genome Res* 2012; 22(6): 1154-62.
- 8- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet* 1991; 49(4): 746-56.
- 9- Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey CT, Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics* 1992; 12(2): 241-53.
- 10- Caskey CT, Pizzuti A, Fu YH, Fenwick RG Jr, Nelson DL. Triplet repeat mutations in human disease. *Science* 256(5058): 784-9.
- 11- Mirkin SM. Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 2007; 447(7147): 932-40.
- 12- Frégeau CJ, Fournay RM. DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats: a sensitive and accurate approach to human identification. *Biotechniques* 1993; 15(1): 100-19.
- 13- Hammond HA, Jin L, Zhong Y, Caskey CT, Chakraborty R. Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. *Am J Hum Genet* 1994; 55(1): 175-89.
- 14- Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 2006; 51(2): 253-76.
- 15- Huang TH, Hejtmančík JF, Edwards A, Pettigrew AL, Herrera CA, Hammond HA, *et al.* Linkage of the gene for an X-linked mental retardation disorder to a hypervariable (AGAT)_n repeat motif within the human hypoxanthine phosphoribosyltransferase (HPRT) locus (Xq26). *Am J Hum Genet* 1991; 49(6): 1312-9.
- 16- Crawford DC, Schwartz CE, Meadows KL, Newman JL, Taft LF, Gunter C, *et al.* Survey of the fragile X syndrome CGG repeat and the short-tandem-repeat and single-nucleotide-polymorphism haplotypes in an African American population. *Am J Hum Genet* 2000; 66(2): 480-93.
- 17- Kimpton CP, Gill P, Walton A, Urquhart A, Millican ES, Adams M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *PCR Methods Appl* 1993; 3(1): 13-22.
- 18- Martin JB. Molecular genetics of neurological diseases. *Science* 1993; 262(5134): 674-6.
- 19- La Spada A, Ranum LP. Molecular genetic advances in neurological disease: special review issue. *Hum Mol Genet* 2010; 19(R1): R1-3.
- 20- Antin JH, Childs R, Filipovich AH, Giralt S, Mackinnon S, Spitzer T, *et al.* Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendation from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7(9): 473-85.
- 21- Thiede C, Bornhäuser M, Oelschlägel U, Brendel C, Leo R, Daxberger H, *et al.* Sequential monitoring of chimerism and detection of minimal residual disease after allogeneic blood stem cell transplantation using multiplex PCR amplification of short tandem repeat-markers. *Leukemia* 2001; 15(2): 293-302.
- 22- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.
- 23- Gaaib JN, Nassief AF, Al-Assi AH. Simple salting-out method for genomic DNA extraction from whole blood. *Tikrit university Tikrit Journal of Pure Science* 2011; 16(2): 9-11.
- 24- Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered* 1995; 86(3): 248-9.
- 25- Nakahori Y, Takenaka O, Nakagoma Y. A human X-Y homologous region encodes "amelogenin". *Genomics* 1991; 9(2): 264-9.
- 26- Huston KA. Statistical analysis of STR data. *Profiles DNA* 1998; 1(3): 14-5.
- 27- Jones DA. Blood samples: probability of discriminations. *J Forensic Sci Soc* 1972; 12(2): 355-9.
- 28- Lins AM, Sprecher CJ, Puers C, Schumm JW. Multiplex sets for the amplification of polymorphic short tandem repeat loci-silver stain and fluorescent detection. *Biotechniques* 1996; 20(5): 882-9.
- 29- Brenner C, Morris JW. Paternity index calculations in single locus hypervariable DNA probes: validation and other studies. In: *Proceedings for the International Symposium on Human Identification*. Madison, WI: Promega Corporation. 1989; p. 21-53.
- 30- Halos SC, Fortuno ES 3rd, Ferreón AC, Chu JY, Miranda J, Harada S, *et al.* Allele frequency distributions of the polymorphic STR loci HUMVWA, HUMFES, HUMF13A01 and the VNTR D1S80 in a Filipino population from Metro Manila. *Int J Legal Med* 1998; 111(4): 224-6.
- 31- Entrala C, Lorente JA., Lorente M, Alvarez CJ, Budowle B, Villanueva E. Laboratory of Genetic Identification. Available from: <http://www.aafs.org/sites/default/files/pdf/Proceedings Dallas2004.pdf>.
- 32- Di Nunno N, Baldassarra SL, Carbonara M, Viola L, Mangiatordi S, Di Nunno C. Distribution of D1S80 and HLA-DQA1 alleles in a Southern Italian population sample. *J Forensic Sci* 2000; 45(4): 944.
- 33- Tzeng CH, Lyou JY, Chen YR, Hu HY, Lin JS, Yung CH, *et al.* Polymorphisms of twelve short tandem repeat loci in a Taiwanese population and their application in parentage testing. *J Formos Med Assoc* 1998; 97(11): 738-44.
- 34- Kalfoglu EA. Commentary on: Cakir AH, Simşek F, Açık L, Taşdelen B. Distribution of HumTPOX, HumvWA, HumTH01 alleles in a Turkish population sample. *J Forensic Sci* 2001; 46(5): 1257. *J Forensic Sci* 2002; 47(4): 922; author reply 922.

Original Article

The development of Multiplex PCR-STR system for the analysis of genetic data of the Iranian population

Heidari D.¹, Ghaffari S.H.², Chahardouli B.², Gharehbaghian A.^{3,4}, Alimoghaddam K.², Ghavamzadeh A.²

¹Reference Laboratory of Social Security Organization, Tehran, Iran

²Hematology, Oncology and Stem Cell Research Center of Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Faculty of Medical Allied Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴Pediatric Congenital Hematologic Disorders Research Center of Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Amplification of STR (Short Tandem Repeat) loci has become a useful tool for human identification applications. The STR polymorphisms analyses are not only useful for paternity and forensic identity testing but also for the evaluation of chimerism and engraftment after allogeneic BMT.

Materials and Methods

In this descriptive study, blood samples were obtained from 100 individuals among Iranian population. In order to develop STR-PCR multiplex systems, numerous STR locus combinations and amplification conditions were evaluated; as a result, three non-overlapping triplex STR systems were developed. The first triplex (DDT) includes the co-amplification of the D4S2366, D16S539 TH01 loci; the second triplex (VFF) contains the VWA, FES/FPS, F13A01 loci; and the third triplex (DTC) contains the D13S317, TPOX, CSF1PO loci.

Results

The common statistical information used in paternity and forensic sciences such as heterozygosity (H), matching probability (MP), power of discrimination (PD), paternity index (PI), and power of exclusion (PE) as well as the allele frequency distribution were determined for the Iranian population using all three multiplex systems and their representative loci. For all loci, no deviations from Hardy-Weinberg expectations (HWE) were detected.

Conclusions

In conclusion, the STR multiplex systems developed have a high power of discrimination (PD = 0.9999999997), and the matching probability (PM) across all nine loci was estimated as 1 in 3.6 billion, which underlines the usefulness of these systems in the forensic medicine as well as for human identity.

Key words: Population, Short Tandem Repeats, Forensic Sciences

Received: 17 Apr 2013

Accepted: 9 Feb 2014

Correspondence: Heidari H., MSc of Hematology & Blood Banking. Reference Laboratory of Social Security Organization.

P.O.Box: 16177-37515, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 66647242; Fax: (+9821) 66644499

E-mail: Dariush_heidari@yahoo.com