خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۱ شماره ۴ زمستان ۹۳ (۳۱۷-۳۰۶)

مقاله پژوهشی

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 ، D4S2366 ، D16S539 ؛تریپلکس VFF حاوی لکوس‌های F13A01 ، FES/FPS و 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 مولتی‌پلکس و لکوس‌های نماینده‌شان تعیین شد. برای تمام لکوس‌ها هیچ انحرافی از معادله هاردی ـ وین‌برگ دیده نشد.

نتیجه گیری

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 = ۱ در $۱۰^{۹} \times ۳/۶$) 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 ـ آزمایشگاه رفرانس سازمان تامین اجتماعی ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۳۷۵۱۵-۱۶۱۷۷
۲- PhD ژنتیک مولکولی ـ دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ کارگر شمالی ـ تهران ـ ایران
۳- دانشجوی PhD هماتولوژی ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران
۴- PhD ایمونوهماتولوژی بالینی ـ استاد دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ مرکز تحقیقات بیماری‌های مادرزادی خونی کودکان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ـ تهران ـ ایران
۵- فوق تخصص خون و انکولوژی ـ استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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 bp ۷-۳ هستند. ژنوم انسان ممکن است حاوی تعداد بسیار زیادی از یک STR تری‌مریک یا تترامریک در هر kb ۲۰ 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 آمپلی فیکاسیون(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 آمپلی فیکاسیون(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 ۲-۱/۷ بود).

آمپلی فیکاسیون(تکثیر) STR-PCR :

بعد از تحقیقات وسیع در نشریات، ۱۵ لکوس STR ترانوکلئوتیدی 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 آرتی‌فکت‌های(محصولات ناخواسته) PCR که به علت آمپلی‌فیکاسیون غیر اختصاصی ایجاد می‌شود، سهل‌انگاری

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

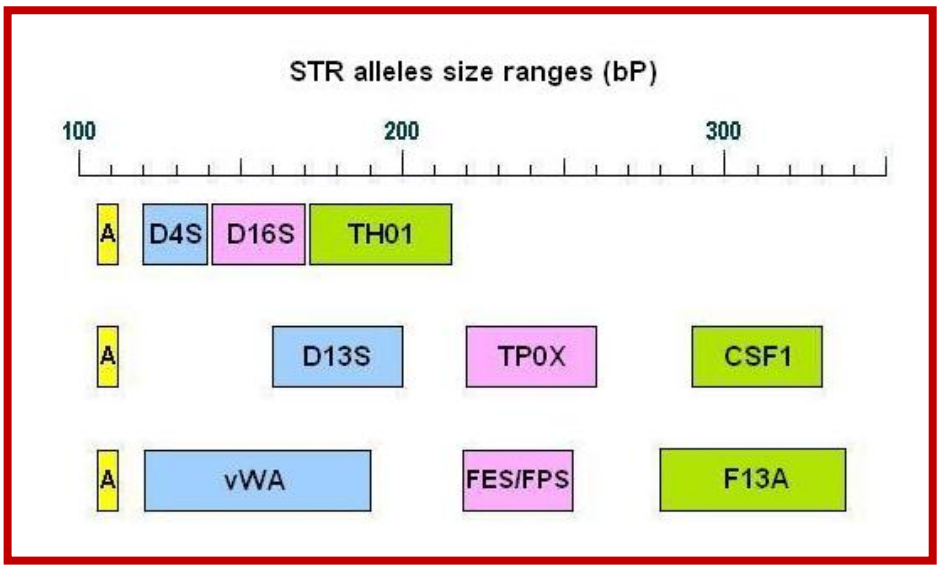
در تعیین آلل‌ها و وجود درجه بالای پلی‌مورفیسم در جمعیت ایرانی بودند. از این مطالعه‌های اولیه، ۹ لکوس تترانوکلئوتیدی پلی‌مورفیک جهت این کار انتخاب شدند. ۹ لکوس آمپلی‌فای شده در این مطالعه D4S2366 ، D16S539 ، TH01 ، D13S317 ، TPOX ، CSF1PO ، VWA ، FES/FPS و F13A01 بودند(جدول ۱). به خاطر توالی‌های کنار هم بی‌نظیر 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. نمونه‌های DNA ابتدا در واکنش‌های Monoplex PCR که هر یک حاوی یک سری از آغازگرها برای هر لکوس بودند، آمپلی‌فای شدند. سپس واکنش‌های مولتی‌پلکس PCR با استفاده از مخلوطی از ۴-۳ جفت از آغازگرهای جدا از هم برای آمپلی‌فیکاسیون هم زمان لکوس‌های مولتی‌پلکس در یک لوله واکنش تنها گسترش داده شد. جهت ایجاد این سری مولتی‌پلکس‌ها، ترکیب بسیار لکوس‌ها با هم و شرایط آمپلی‌فیکاسیون (تکثیر) مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر مرحله از آزمایش PCR ، شرایط آمپلی‌فیکاسیون(تکثیر) ابتدا برای هر منوپلکس و سپس برای هر واکنش مولتی‌پلکس به کمک گرادیان دمایی لکوس‌های STR با یک اختلاف زیاد در حرکت الکتروفورتیک به شکل خوبی انجام شد، این در حالی بود که جدا شدن روی PAGE مشکل بود و لکوس‌هایی که حرکت نزدیک به هم داشتند به علت هم پوشانی آلل‌ها حذف می‌شدند. مجموعه‌های مولتی‌پلکسی که اجازه داده شد آمپلی‌فیکاسیون تمام لکوس‌ها در یک شرایط یکسان انجام شود و آرتی‌فکت (محصول ناخواسته) PCR ایجاد نشود، به طور هم زمان در یک لوله واکنش آمپلی‌فای (تکثیر) شدند، توسط PAGE دناتوره (تغییر ماهیت داده) کننده و یا غیر دناتوره‌کننده جدا شده و توسط رنگ‌آمیزی نقره کشف شدند.آزمایش PCR دارای یک حجم نهایی ۳۰ µL شامل ۱۰-۵۰ ng DNA ، ۱۰ µmoL از هر آغازگر آمپلی‌فیکاسیون، یک واحد تک پلی‌مراز (فرمنتاز ـ لیتوانی)، ۳ µL بافر ۱۰ X PCR حاوی ۵۰۰ mM KCl ، (pH ۸/۸) ۰/۱ M Tris HCL و ۲۵ mM $MgCl_2$ و ۲ mM از هر dNTP می‌باشد.

PCR به صورت ۳۰ سیکل(هر سیکل حاوی ۴۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد، بسته به سری آغازگرها و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) با یک دناچوراسیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

جدول ۱: خصوصیات ۹ لکوس STR استفاده شده همراه با نمایش آن‌ها در قالب ۳ سیستم تری‌پلکس

سیستم مولتی‌پلکس STR	نام لکوس	محل کروموزومی	Repeat motif	شماره آلل	Allele Range	محدوده سایز
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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]



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:

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 نیترات 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 ration test, و Hardy-Weinberg expectations (HWE) توسط تست $\chi 2$ به کمک برنامه GENEPOP 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 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 کای‌دو بررسی و چک گردید.

یافته‌ها

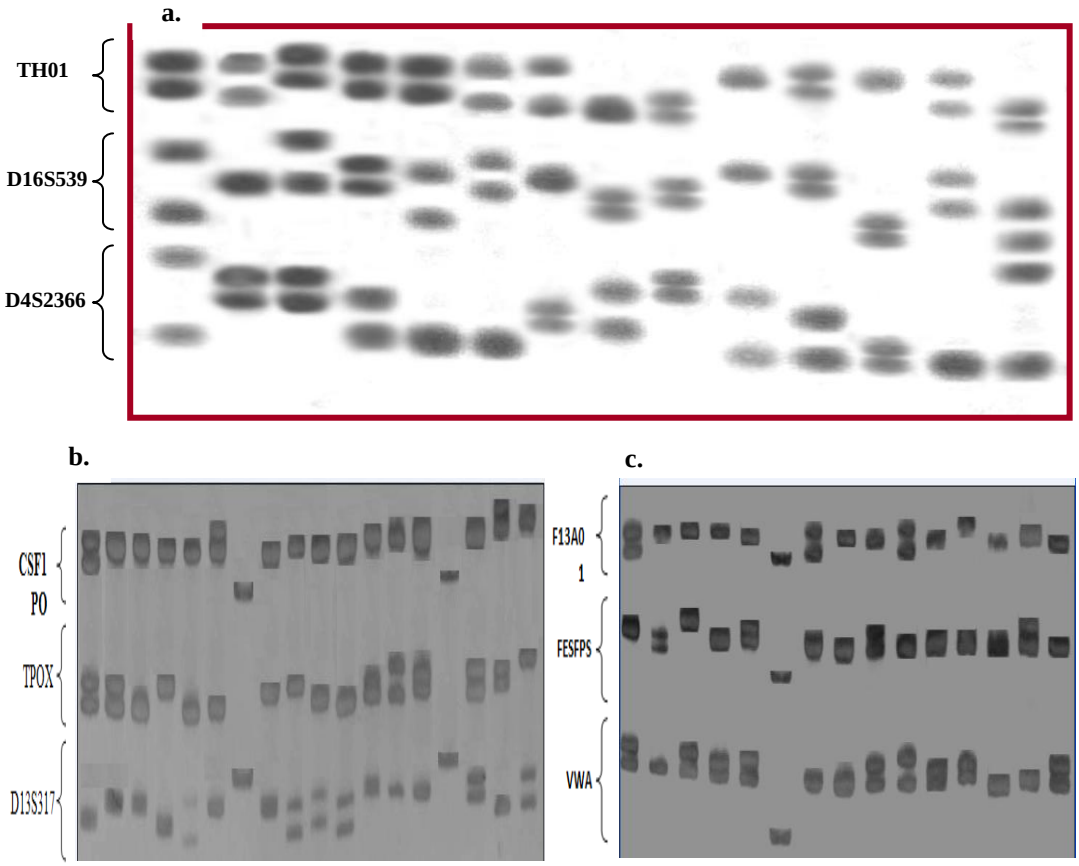
تفسیر سیستم‌های مولتی‌پلکس:

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

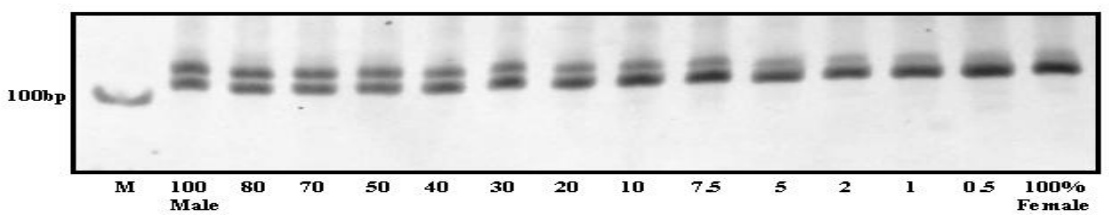
[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

DNA (۵۰–۱۰۰ng) از افراد ایرانی توسط سیستم‌های مولتی‌پلکس آمپلی‌فای شدند؛ محصولات PCR روی PAGE ۶٪ غیر دناتوره‌کننده جدا و توسط رنگ‌آمیزی نقره مشاهده شدند.

شکل‌های ۲ و ۳ پروفایل‌های DNA را برای هر ۳ مولتی‌پلکس و نیز مارکر آمیلوژنین نشان می‌دهند. جهت تجزیه قطعات DNA بیشتر از ۲۵۰ نوکلئوتید، یک PAGE دناتوره‌کننده به کار می‌رود. نمونه‌های DNA آمپلی‌فای شده معمولاً جهت الکتروفورزیس در مجاورت با مخلوطی از allelic ladderها برای لکوس‌های مربوطه یا سایز مارکر قرار گرفتند. این رویکرد تعیین سریع، ساده و دقیق اندازه‌های آللی را به وسیله مقایسه بصری اجزاء allelic ladder بدون نیاز به هر دستگاه مخصوصی میسر می‌سازد. گر چه برای تعیین دقیق اندازه‌های آللی، تصویر



شکل ۲: پروفایل‌های DNA رنگ‌آمیزی شده با نقره لکوس‌های STR آمپلی‌فای شده با استفاده از سه سیستم مولتی‌پلکس. هتروزیگوسیتی و فراوانی آللی تک تک لکوس‌های موجود در مولتی‌پلکس‌های 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 آمیلوژن(کمترین غلظت از DNA که تولید می‌کند یک باند قابل مشاهده بر روی ژل پلی‌اکریلامید رنگ شده با نقره‌ای) با مخلوط سلولی از اهداکننده(زن) و گیرنده(مرد)، متغیر از ۰/۵٪ از جمعیت مینور تا ۸۰٪ از جمعیت‌های بزرگ، تعیین شد . برای این مارکر حساسیت ۲–۱٪ بود.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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 ارزیابی‌های آماری را برای هر یک از ۹ لکوس آنالیز شده در نمونه‌های جمعیت ایرانی نشان می‌دهد. فراوانی‌های تعدادی از آلل‌ها 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 آمپلی‌فیکاسیون و سادگی تعیین آللی در ژل غیر دناتوره و درجه بالای هتروزیگوسیتی، قدرت تمایز(PD) و آگاهی بخشی مفید، تریپلکس DDT به عنوان یک سیستم مولتی پلکس سودمند در پزشکی قانونی، آزمایش تعیین ابوت و در آنالیز BMT در جمعیت ایرانی برگزیده شد. این مولتی‌پلکس هم اکنون برای ارزیابی روتین کایمریسم در بیماران BMT آلوژنیک این مرکز استفاده می‌شود. اطلاعات آماری رایج استفاده شده در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی و تعیین ابوت برای جمعیت ایرانی با استفاده از تمام ۳ سیستم مولتی‌پلکس و لکوس نماینده‌شان تعیین شده است(جدول ۳).

هتروزیگوسیتی(H):

مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده(Ho) و قابل انتظار(He) در جدول ۲ و نمودار ۱ نشان داده شده است. تمام ۹ لکوس پلی‌مورفیسم بالایی را در نمونه جمعیتی ایران نشان می‌دهند و هتروزیگوسیتی‌هایشان بیشتر از ۵۰٪ بوده که با بالاترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده(۸۱٪) برای لکوس TH01 و پایین‌ترین هتروزیگوسیتی نمایش داده شده(۱۷٪ و ۲۲٪) به ترتیب برای لکوس‌های F13A01 و CSF1PO می‌باشد. برای تمام ۹ لکوس هیچ‌گونه انحرافی از هاردی ـ وین‌برگ کشف نگردید.

Matching probability (MP):

شاخصی است که اغلب در پزشکی قانونی برای تعیین قدرت تمایز یک سیستم ژنتیکی اندازه‌گیری می‌شود(۲۸، ۲۷). جدول ۳ MP را برای ۱۰ لکوس در جمعیت ایرانی نشان می‌دهد. دامنه‌های MP در هر سیستم مولتی‌پلکس از $۱۰^{-۴} \times ۹۶۷$ تا $۱۰^{-۶} \times ۱۷۷$ می‌باشد. مقدار MP مرکب برای هر سه سیستم تری‌پلکس $۱۰^{-۱۷} \times ۱۱۵$ برای جمعیت ایرانی است. شانس این که ۲ فرد در تمام ۹ لکوس موجود در ۳ تری‌پلکس مشابه باشند، ۱ در $۱۰^{۹} \times ۸/۷$ می‌باشد.

Power of discrimination (PD):

متمایز کننده‌ترین لکوس‌ها TH01 (PD = ۰/۹۶۵۶) و VWA (PD = ۰/۹۵۵) بوده و پایین‌ترین لکوس F13A01 می‌باشد. دامنه PD ۰/۹۸۵ برای DDT ، ۰/۹۷۲ برای DTC و ۰/۹۶۶ برای VFF است. PD مرکب برای ۹ لکوس در ۳ سیستم تری‌پلکس ۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۸۸ است.

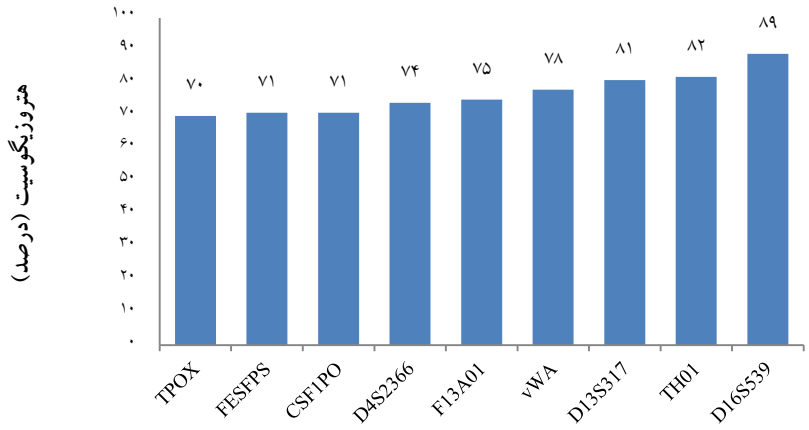
Paternity index (PI):

معیاری از تمایز است که در بررسی تعیین ابوت استفاده می‌شود و در واقع ابزاری جهت نمایش ژنتیک احتمالی به نفع ژنوتیپ‌های مفروض پدری برای مادر، بچه و پدر فرضی است(۲۹). typical PI ها برای هر لکوس و تمام مولتی‌پلکس‌ها در جدول ۳ آورده شده است. typical PI مرکب برای تمام تریپلکس‌ها ۲۱۱۵/۳۶۶ می‌باشد.

Power of exclusion (PE):

معیار دومی از تمایز است که اغلب در بررسی ابوت به کار می‌رود که در واقع توانایی یک آزمایش ژنتیکی را جهت حذف فردی که به اشتباه مورد اتهام قرار گرفته است می‌سنجد(۲۸). PE به دست آمده به صورت ۰/۰۵۸ برای تریپلکس DDT ، ۰/۰۰۲ برای VFF و ۰/۰۰۲ برای DTC است. PE مرکب برای تمام لکوس در ۳ تری‌پلکس ۰/۰۰۰۲ می‌باشد، که بیان‌کننده سودمندی این ۳ سیستم برای بررسی‌های ابوت و تصمیم‌های پزشکی قانونی است.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]



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

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

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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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

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

AF* : Allelic Frequency
N**: Number of Alleles Observed

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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 لکوس‌های منفرد و سیستم‌های مولتی‌پلکس برای جمعیت ایرانی

Loci	Matching Probability (MP)	Power of Discrimination (PD)	Paternity Index (PI)	Power of Exclusion (PE)
D4S2366	۰/۰۶۲۴ (۱ در ۱۶)	۰/۹۳۷۶	۱/۹۲۳۱	۰/۴۹۲۸
D16S539	۰/۰۸۸۲ (۱ در ۱۱)	۰/۹۱۱۸	۴/۵۴۵۵	۰/۷۷۵۰
TH01	۰/۰۸۵۲ (۱ در ۱۱)	۰/۹۱۴۲	۲/۷۷۷۸	۰/۶۳۶۷
VWA	۰/۰۳۵۳ (۱ در ۲۸)	۰/۹۶۴۷	۲/۸۰۴۳	۰/۶۳۹۹
FESFPS	۰/۱۰۰۹ (۱ در ۱۰)	۰/۸۹۹۱	۲/۰۴۵۸	۰/۵۱۹۴
F13A01	۰/۰۷۶۲ (۱ در ۱۳)	۰/۹۲۳۸	۱/۹۶۳۱	۰/۵۰۱۸
D13S317	۰/۰۷۹۶ (۱ در ۱۲)	۰/۹۲۰۴	۲/۶۸۳۸	۰/۶۲۴۷
TPOX	۰/۲۰۰۸ (۱ در ۵)	۰/۷۹۹۲	۱/۶۷۱۷	۰/۴۲۹۷
CSF1PO	۰/۱۳۶۰ (۱ در ۷)	۰/۸۶۴۰	۱/۷۲۴۱	۰/۴۴۳۹
DDT	۰/۰۰۰۴۷۲ (۱ در ۲۱۱۸)	۰/۹۹۹۵۳	۲۴/۲۸۲	۰/۹۵۸۵
VFF	۰/۰۰۰۲۷۱ (۱ در ۳۶۹۰)	۰/۹۹۹۷۳	۱۱/۲۶۲۳۸	۰/۹۱۰۱
DTC	۰/۰۰۲۱۷۴ (۱ در ۴۶۰)	۰/۹۹۷۸۳	۷/۷۳۵۱۸۹	۰/۸۸۱۰
DDT+VFF+DTC	(۱ در $۳/۶ \times ۱۰^{۹}$) ۲۷۹×۱۰^{-۱۲}	۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۹۷	۲۱۱۵/۳۶۶	۰/۹۹۹۶

بحث

به طور خلاصه، ما گسترش ۳ سیستم آمپلی فیکاسیون تریپلکس STR-PCR و کاربرد این سیستم‌ها برای بررسی انتشار فراوانی آللی ۹ لکوس STR در جمعیت ایرانی را توضیح داده‌ایم. این اطلاعات بیان می‌کند که اهمیت بالای تمایز(PD= ۰/۹۹۹۹۹۹۹۸۸) هنگامی که هر ۳ تری‌پلکس برای مشخص کردن گواهی بیولوژیک قانونی استفاده می‌شوند، می‌تواند حاصل شود. احتمال تشابه(PM) برای تمامی ۹ لکوس، ۱ در ۳/۶ میلیارد تخمین زده شد که این امر بر مفید بودن این سیستم‌ها در پزشکی قانونی و برای کاربردهای شناسایی انسان در جمعیت ایرانی تاکید دارد.

این سیستم‌های مولتی‌پلکس حاوی اطلاعات بسیار سودمندی هستند و می‌توانند هم‌چنین برای پیگیری کایمریسم بعد از BMT آلوژنیک استفاده شوند(هم اکنون در مرکز تحقیقات پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران بر همین اساس آنالیز کایمریسم بعد از BMT آلوژنیک صورت می‌گیرد).

مقایسه با جمعیت‌های دیگر(غیر ایرانی):

در سال ۱۹۹۸، هالوس و همکارانش، به مطالعه نمونه جمعیتی از فیلیپین با استفاده از سه لکوس STR پرداختند. هتروزیگوسیتی این لکوس‌ها؛ VWA(۸۰/۴٪) و FES/FPS (۶۷/۱٪) و F13A01 (۶۶/۱٪) بوده است. پلی‌مورفیسم در این لکوس‌ها به جز در لکوس VWA نسبت به لکوس‌های 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 این‌ها بدین صورت بود: لکوس D16S539 (۸۱/۶٪)، لکوس D13S317 (۷۹/۲٪) و لکوس D7S820 (۷۴/۱٪). این نتایج نسبت به هتروزیگوسیتی در لکوس‌های مشابه در تحقیق ما نشان داد که در این‌ها هتروزیگوسیتی بیشتر بوده است. در مورد پلی‌مورفیسم این لکوس‌ها باید گفت در لکوس‌های D16S539 و D13S317 پلی‌مورفیسم مشابه ولی در مورد لکوس D7S820 پلی‌مورفیسم کمتر از لکوس مشابه در مطالعه بوده است(۳۱).

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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 مطالعهٔ 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 و F13A01 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 به‌قرار 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).

نتیجه‌گیری

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 سلول های 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

بدین‌وسیله 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.

References :

1- Hearne CM, Ghosh S, Todd JA. Microsatellites for linkage analysis of genetic traits. Trend Genet 1992; 8(8): 288-94.
2- Kim KS, Sappington TW. Microsatellite data analysis for population genetics. Methods in Mol Biol 2013; 1006: 271-95.
3- 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.
4- 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.
5- 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-

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

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, Fourney 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, Hejtmancik 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, Ferreon 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/ProceedingsDallas2004.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, Açik 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.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 11(4): 306-317

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]

[1]Reference Laboratory of Social Security Organization,Tehran, Iran
[2]Hematology, Oncology and Stem Cell Research Center of Tehran University of Medical Sciences,Tehran, Iran
[3]Faculty of Medical Allied Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4]Pediatric 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*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2025-07-14]