

Investigation of allelic frequency and forensic genetics parameter for 10 STR loci in Arab and Kurd ethnics of Iran

Mohammadreza Nassiri^{1,2}, Shahrokh Ghovvati^{1,3}, Seyed Ziaedin Mirhoseini⁴, Ali Javadmanesh^{1,2}, Morteza Mahdavi², Arash Alipour⁵, Masoume Vakili-Azghandi²

Background and Aim: Short tandem repeat (STR) markers, are conserved region in human genome and highly polymorphic between individuals. Nowadays, genotyping of STR marker is widely known and used for the genetic identification of individuals in forensic DNA analyses. Based on allelic frequencies of STR loci varies between populations, investigation of genetically and forensically parameters in each population and characterization of these markers is necessary. The objective of this study was to optimizing laboratory method for application of 10autosomal STR loci (TPOX ,vWA .D7S820 .D8S1179 .D13S317 .D16S539 .D18S51 .D5S818 .THO1 .D21S311) in Kurd and Arab ethnics of Iran and investigation of population and forensic genetics parameter of these markers in these populations.

Materials and Methods: In this semi-experimental study, blood samples from 93 Arab and 94 Kurd individuals were collected. After DNA extraction, PCR amplification was carried out for 10 autosomal STR loci, individually. Then, acrylamide gel electrophoresis was used to determine the genotype of each individual in each site.

Results: Deviation from Hardy Weinberg equilibrium even after Bonfferroni correction was seen in the locus of D13S317in both Populations. After D13S317 loci, the highest observed heterozygosity was seen in D21S311loci for Kurd population (94%) and in THO1, vWA and D5S818 locifor Arab population (84%). The lowest observed heterozygosity (0.71 and 0.72) was seen in TPOX loci for both populations form Arab and Kurd ethnics, respectively. Investigation of forensic genetic parameters (PI, PE, PD, and PIC) showed that in except of the D13S317 loci other remaining evaluated locus had proper properties for using in genetics fingertips in both of Kourd and Arab ethnics.

Conclusion: The results of current study indicate that the necessity investigation of forensic genetics for rapid characterization of the different ethnicities which located in different geographic parts of Iran in order to choose the appropriate data set to calculate of forensic genetics parameters not only within each ethnic but also between them.

Key Words: DNA Fingerprinting, Allelic frequencies, Identity determination, STR Marker, Arab and Kurd ethnics, Forensic genetics

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2018; 25(1): 31-41.

Received: August 21, 2017 Accepted: April 1, 2018

¹ **Corresponding author;** Recombinant Proteins Research Group, The Research Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Tel: 05138803000, 09153114119 Fax: 05138803000 Email: Nassiry@um.ac.ir

² Genetics Subgroup, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

³ Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

⁴ Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

⁵ General Office of Legal Medicine, Razavi Khorasan, Mashhad, Iran.

بررسی فراوانی آللی و پارامترهای ژنتیک قانونی ۱۰ جایگاه STR در اقوام کرد و عرب ایرانی

محمدرضا نصیری^{۱،۲}، شاهرخ قوتی^۳، سیدضیاءالدین میرحسینی^۴، علی جوادمنش^۵،
مرتضی مهدوی^۲، آرشد علیپور^۶، معصومه وکیلی ازغندی^۲

چکیده

زمینه و هدف: توالی‌های کوتاه تکراری (Short tandem repeat; STR)، بخش‌های حفاظت‌شده در ژنوم انسان هستند که در بین افراد مختلف، پلی‌مورفیسم بالایی را نشان می‌دهند. امروزه نشانگرهای مبتنی بر این جایگاه‌ها به‌عنوان ابزار اصلی تعیین هویت در دنیا مطرح می‌باشند. با توجه به متفاوت بودن فراوانی آللی این جایگاه‌ها در جمعیت‌های مختلف، به‌منظور استفاده از آنها باید نسبت به بررسی پارامترهای ژنتیکی آنها در هر جمعیت اقدام نمود. هدف از این مطالعه، بهینه‌سازی روش آزمایشگاهی برای استفاده از ۱۰ جایگاه STR اتوزومی (vWA، TPOX، D7S820، D8S1179، D13S317، D16S539، D18S51، D5S818، THO1، D21S311) و همچنین بررسی پارامترهای ژنتیکی این جایگاه‌ها و کارایی آنها در زمینه تشخیص هویت در اقوام کرد و عرب ایران بود.

روش تحقیق: در این مطالعه نیمه‌تجربی، نمونه‌های تصادفی خون از ۹۳ فرد عرب و ۹۴ فرد کرد تهیه و پس از استخراج DNA، ده جایگاه اتوزومی با استفاده از واکنش PCR تکثیر شدند. سپس به‌منظور تعیین ژنوتیپ هر فرد در هر جایگاه از الکتروفورز ژل آکریل امید استفاده شد.

یافته‌ها: جایگاه D13S317 در هر دو جمعیت حتی پس از اعمال تصحیح Bonferroni از تعادل هاردی-واینبرگ انحراف داشت. پس از این جایگاه، بیشترین هتروزیگوسیت مشاهده‌شده در جمعیت کرد ۹۴ درصد مربوط به جایگاه D21S311 و ۸۴ درصد در جمعیت عرب برای جایگاه‌های THO1، vWA و D5S818 بود. کمترین هتروزیگوسیت مشاهده‌شده به‌ترتیب ۷۱ درصد و ۷۲ درصد مربوط به جایگاه TPOX در جمعیت‌های کرد و عرب بود. بررسی شاخص‌های ژنتیک پزشکی قانونی (PI، PE، PD & PIC) نشان دادند که به جز جایگاه D13S317 باقی ۹ جایگاه ژنی ارزیابی‌شده، دارای مشخصات خوبی برای استفاده در انگشت‌نگاری ژنتیکی در جمعیت‌های کرد و عرب بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش ضرورت بررسی خصوصیات ژنتیکی قانونی قوم‌های مختلف ساکن نقاط مختلف جغرافیایی ایران به منظور انتخاب مجموعه داده مناسب برای محاسبه پارامترهای ژنتیک قانونی، نه‌تنها در داخل هر قوم بلکه بین آنها را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: انگشت‌نگاری ژنتیکی، بررسی فراوانی آللی، تشخیص هویت، نشانگر STR، قوم کرد و عرب، ژنتیک پزشکی قانونی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۷؛ ۲۵(۱): ۳۱-۴۱.

دریافت: ۱۳۹۶/۵/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۷/۱/۱۲

^۱ نویسنده مسؤول: گروه پژوهشی پروتئین‌های نوترکیب، پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
آدرس پستی: مشهد- میدان آزادی- دانشگاه فردوسی مشهد -پژوهشکده فناوری زیستی- گروه پژوهشی پروتئین‌های نوترکیب
تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۳۰۰۰، ۰۹۱۵۳۱۴۱۱۹، ۰۵۱۳۸۸۰۳۰۰۰ نمابر: ۰۵۱۳۸۸۰۳۰۰۰ پست الکترونیکی: nassiryr@um.ac.ir
^۲ زیربخش ژنتیک، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
^۳ گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
^۴ گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
^۵ اداره کل پزشکی قانونی استان خراسان رضوی، مشهد، ایران.

مقدمه

هویت بیولوژیکی هر فرد، مجموعه ویژگی‌ها و مشخصاتی است که او را از افراد دیگر متمایز می‌کند. با گسترش جوامع بشری و پیچیدگی روابط اجتماعی، تعیین هویت افراد نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. یکی از جنبه‌های مهم پزشکی قانونی و جرم‌شناسی، شناسایی هویت‌های مجهول و تشخیص خویشاوندی و ابویت است. روش‌های مختلفی مانند: انگشت‌نگاری و ... برای شناسایی هویت به کار می‌روند؛ اما آنچه بیش از همه اطمینان‌بخش و قابل استناد است، روش‌های مولکولی و به‌ویژه انگشت‌نگاری DNA است. حدود ۹۹/۷ درصد ژنوم انسان‌ها مشابه است و تفاوت بین ۲ نفر تنها در ۳ درصد از کل DNA بدن انسان یافت می‌شود (۱). توالی‌های کوتاه تکرارشونده یا به اختصار STR^۱، به‌عنوان ستون اصلی تعیین هویت در دنیا مطرح شده و به شکل روز افزونی در محاکم قضایی دنیا مورد استناد قرار می‌گیرد (۲). STRها توالی‌هایی حفاظت‌شده و پلی‌مورف به طول ۲ تا ۶ جفت باز هستند که می‌توانند تا ۴۰۰ جفت باز طول داشته باشند. این توالی‌ها در نواحی غیر کدکننده DNA یافت می‌شوند. STRها در همه ۲۲ جفت کروموزوم اتوزوم و همچنین کروموزوم‌های جنسی وجود دارند؛ هر چند پلی‌مورفیسم در کروموزوم‌های اتوزومال نسبت به کروموزوم‌های جنسی به دلیل بروز نوترکیبی در کروموزوم‌های اتوزومال و عدم نوترکیبی در کروموزوم‌های جنسی بیشتر دیده می‌شود (۳).

در سال ۱۹۹۰ برای اولین بار از نشانگرهای STR در پزشکی قانونی استفاده شد و امروزه STRها رایج‌ترین نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در پزشکی قانونی هستند و اساس روش‌های مولکولی پزشکی قانونی، بر تجزیه و تحلیل آنها استوار است (۴-۶). STRها حدود ۳ درصد ژنوم انسان را نشان می‌دهند و به فراوانی یک لوکوس در هر ۱۰ کیلوباز در طول ژنوم انسان یافت می‌شوند (۱، ۷). بیش از ۲۰ هزار

جایگاه چهار نوکلئوتیدی STR در ژنوم انسان مشخص شده است (۸) و ۱۳ عدد از این جایگاه‌ها که به اصطلاح CODIS (Combined DNA Index System) نامیده می‌شوند، توسط FBI انتخاب و به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). STRها اغلب برای مطالعه تنوع جمعیت‌های مختلف و تعیین شباهت بین جمعیت‌های دارای ارتباط نزدیک به کار برده می‌شوند (۹، ۱۰). هرچند استفاده از توالی‌های دو نوکلئوتیدی STRها در مطالعه گونه‌ها نیز رایج می‌باشد (۱۱)؛ ولی در انسان به‌طور منحصر از توالی‌های چهار و حتی پنج نوکلئوتیدی استفاده می‌گردد (۲)؛ زیرا تکثیر STRهای دونوکلئوتیدی همراه با مشکلاتی مانند: پدیده لغزش^۲ و ایجاد باندهای ناقص^۳ می‌باشد که در تکثیر STRهایی با طول بیشتر، این مشکلات کمتر رخ می‌دهد (۱۲). همچنین به‌خاطر اندازه کوچک STRها، امکان استخراج آنها از مقادیر ناچیز DNA و نمونه‌های تخریب‌شده وجود دارد (۱۳) که از لحاظ پزشکی قانونی، این امر دارای اهمیت بالایی است. لازمه استفاده از این نشانگرها در یک جمعیت، آگاهی از فراوانی آللی و سطح تنوع آنها در آن جمعیت می‌باشد. بدین‌منظور امروزه پایگاه داده‌های STR در بسیاری از کشورها از جمله CODIS در آمریکا و NDNAD در بریتانیا، ایجاد شده است (۱۴).

نکته‌ای که در مورد استفاده‌نمودن از جایگاه‌های STR باید بدان توجه داشت، متفاوت‌بودن فراوانی آللی این جایگاه‌ها در جمعیت‌های مختلف می‌باشد (۱۰). در نتیجه استفاده از جایگاه‌ها و کیت‌های STR که به‌طور عمده برای جمعیت‌های اروپایی و یا آمریکایی بهینه‌سازی و تولید شده‌اند، لزوماً نتایج مناسبی را برای جمعیت‌های دیگر کشورها فراهم نمی‌آورند. از این دیدگاه باید نسبت به مطالعه فراوانی آللی و ویژگی‌های هر جایگاه در جمعیت‌های بومی کشور به‌منظور اطمینان از نتایج آماری، اقدام به عمل آورد. هدف از این

^۲ Slippage^۳ Stutter^۱ Short Tandem Repeat

CODIS بودند. واکنش زنجیرهای پلیمرز به منظور تکثیر جایگاه‌های STR توسط دستگاه ترموسایکلر Biometra مدل T-personal در ۳۰ سیکل و با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. اجزای واکنش PCR و غلظت مواد شامل: ۱۰ نانوگرم DNA ژنومی، یک واحد آنزیم Taq پلیمرز، ۲۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۱۰ پیکامول مخلوط پرایمرها، بافر استاندارد و آب دوبار تقطیر بود. برنامه حرارتی نیز شامل: ۱۰ سیکل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ ثانیه و ۲۰ سیکل واسرشت‌سازی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ثانیه بود. همچنین واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در مدت ۲ دقیقه انجام شد.

برای تشخیص قطعات حاصل از تکثیر در مرحله PCR، از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد با ولتاژ ۱۲۰ ولت و زمان ۶ ساعت همراه با رنگ‌آمیزی به روش نیترا ت نقره استفاده شد (شکل ۱). برای تولید اندازه نشانگر آللی جایگاه‌ها، تعدادی از نمونه های تکثیر شده برای هر جایگاه، در سیستم الکتروفورز موئینه (مرک، آمریکا) مورد بررسی قرار گرفتند و با مقایسه با اندازه نشانگر آللی استاندارد این سیستم، طول هر آلل مشخص شد. سپس آلل‌های مشخص شده دوباره با روش PCR به کمک پرایمرهای مربوط به هر جایگاه تکثیر شده و به عنوان اندازه نشانگر آللی در دامنه تعریف شده برای هر یک از جایگاه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. سپس آلل‌های مشخص شده دوباره با روش PCR به کمک پرایمرهای مربوط به هر جایگاه تکثیر شده و سپس با هم مخلوط شدند تا به عنوان اندازه نشانگر آللی هر جایگاه در دامنه تعریف شده برای هر یک از جایگاه‌ها مورد استفاده قرار بگیرند.

مطالعه، راه‌اندازی و بهینه‌سازی روش آزمایشگاهی برای استفاده از ۱۰ جایگاه STR و همچنین بررسی فراوانی آللی، پارامترهای ژنتیکی این جایگاه‌ها و میزان کارایی آنها در زمینه انگشت‌نگاری ژنتیکی و تشخیص هویت در جمعیت اقوام کرد و عرب ایران بود.

روش تحقیق

در این مطالعه نیمه تجربی، نمونه‌گیری از نواحی غرب و جنوب غربی ایران به ترتیب از استان‌های کرمانشاه و کردستان از ساکنان کرد این دو استان و همچنین از استان خوزستان و ساکنان عرب مستقر در آن با رعایت اصل عدم خویشاوندی افراد با یکدیگر (عدم رابطه نسبی) صورت پذیرفت. بدین منظور برای تعیین تعداد نمونه (n) مناسب برای انجام آزمون‌ها، از فرمول $E(k) \approx \theta \ln n$ که در آن θ برابر با تعداد آلل (k) در اندازه ی مؤثر جمعیت (ne) در نرخ جهش (mutation rate) است، استفاده شد؛ سپس تعداد ۹۳ و ۹۴ نمونه خون تصادفی به ترتیب از دو جمعیت عرب و کرد جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری از عروق محیطی و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA صورت پذیرفت. تمامی نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA به روش گوانیدین تیوسیانات-سیلیکاژل و به کمک کیت Diatom (Iso-Gene روسیه) مطابق دستور العمل شرکت سازنده با کمی تغییرات انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به روش طیف‌سنجی، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ مدل ND-2000 شرکت Thermo آمریکا تعیین شد.

در این مطالعه ۱۰ جایگاه TPOX، vWA، D7S820، D8S1179، D13S317، D16S539، D18S51، D5S818، THO1 و D21S311 از جایگاه‌های توصیه شده در سیستم CODIS مورد مطالعه قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده شامل پرایمرهای غیر تجاری موجود در پایگاه

قدرت تمایز جایگاه‌های مورد استفاده در جمعیت‌های عرب و کرد به ترتیب: ۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۹۹۵۱۳ و ۰/۹۹۹۹۹۹۹۹۹۹۸۷۶۹ بود. احتمال رد یا قدرت تبرئه (PE)، توان هر جایگاه را در رد یک والد تصادفی از جمعیت به

فراوانی آللی ۱۰ جایگاه STR در دو قوم کرد و عرب ایران برای اولین بار در اینجا گزارش شده است. تعداد متوسط آلل جایگاه‌های مختلف در جمعیت عرب ۹/۸ و در جمعیت کرد ۹/۳ بود. بیشترین تعداد آلل در جمعیت عرب مربوط به

35

عنوان یک والد بالقوه و بر اساس ژنوتیپ یک والد و فرزند در جمعیت کرد بین ۰/۴۴۸ تا ۰/۹۰۴ و در جمعیت عرب بین ۰/۴۶۵ تا ۰/۶۹۷ متغیر بود (جدول ۱).

جدول ۱- فراوانی آللی ۱۰ جایگاه STR در جمعیت عرب ایرانی

آل	TPOX	vWA	D7S820	D8S1179	D13S317	D16S539	D18S51	D5S818	TH01	D21S311
۵	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷	-	-	-	-	-	۰/۰۱۵۷۸۹	-
۶	-	-	۰/۰۱۵۹۵۷	-	-	-	-	۰/۰۳۷۲۳۴	۰/۰۱۵۷۸۹۸	-
۷	۰/۰۱۰۶۳۸	-	۰/۰۳۱۹۱۵	۰/۰۱۰۶۳۸	-	-	-	۰/۰۶۳۸۳	۰/۰۱۷۸۹۴۷	-
۸	۰/۰۴۵۲۱۲۸	-	۰/۰۱۲۷۶۶	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۰۶۹۱۴۹	۰/۰۳۱۹۱۵	-	۰/۰۷۹۷۸۷	۰/۰۱۳۶۸۴۲	-
۹	۰/۰۲۰۷۴۴۷	-	۰/۰۱۱۱۷۰۲	۰/۰۲۱۲۷۷	۰/۰۳۱۳۸۳	۰/۰۱۸۰۸۵۱	-	۰/۰۱۸۶۱۷	۰/۰۲۸۹۴۷۴	-
۹/۳	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۳۱۵۷۹	-
۱۰	۰/۰۸۵۱۰۶	-	۰/۰۲۴۴۶۸۱	۰/۰۶۹۱۶۹	۰/۰۲۶۵۹۶	۰/۰۶۹۱۴۹	۰/۰۱۰۶۳۸	۰/۰۱۶۴۸۹۴	۰/۰۱۲۶۳۱۶	-
۱۱	۰/۰۲۲۳۴۰۴	-	۰/۰۲۲۸۷۲۳	۰/۰۶۳۸۳	۰/۰۲۰۷۴۴۷	۰/۰۲۷۱۲۷۷	۰/۰۷۹۷۸۷	۰/۰۲۱۲۷۶۶	۰/۰۴۲۱۰۵	-
۱۲	۰/۰۲۱۲۷۷	-	۰/۰۱۷۵۵۳۲	۰/۰۱۳۸۲۹۸	۰/۰۲۶۵۹۵۷	۰/۰۳۰۳۱۹۱	۰/۰۱۴۸۹۳۶	۰/۰۲۰۲۱۲۸	۰/۰۲۱۰۵۳	-
۱۳	-	۰/۰۱۰۶۳۸	۰/۰۲۶۵۹۸	۰/۰۳۰۳۱۹۱	۰/۰۱۱۷۰۲۱	۰/۰۱۳۲۹۷۹	۰/۰۱۳۲۹۷۹	۰/۰۳۷۲۳۴	-	-
۱۴	-	۰/۰۶۹۱۴۹	۰/۰۱۵۹۵۷	۰/۰۱۹۶۸۰۹	-	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۰۲۷۶۵۹۶	۰/۰۱۵۹۵۷	-	-
۱۵	-	۰/۰۱۰۶۳۸۳	-	۰/۰۱۴۳۶۱۷	-	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۰۱۳۲۹۷۹	-	-	-
۱۶	-	۰/۰۲۹۲۵۵۳	-	۰/۰۳۷۲۳۴	-	-	۰/۰۸۵۱۰۶	-	-	-
۱۷	-	۰/۰۲۰۷۴۴۷	-	۰/۰۱۰۶۳۸	-	-	۰/۰۵۸۵۱۱	-	-	-
۱۸	-	۰/۰۱۹۱۴۸۹	-	-	-	-	۰/۰۳۷۲۳۴	-	-	-
۱۹	-	۰/۰۱۰۶۴	-	-	-	-	۰/۰۲۶۵۹۶	-	-	-
۲۰	-	۰/۰۱۵۹۵۷	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	-
۲۱	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	-
۲۵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹
۲۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۶۵۹۶
۲۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۵۳۱۹۱
۲۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۹۵۷۴۵
۲۸/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۵۹۵۷
۲۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۷۵۵۳۲
۲۹/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۵۹۵۷
۳۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۹۶۸۰۹
۳۰/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۵۹۵۷
۳۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۴
۳۱/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۴
۳۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۶۹۱۴۹
۳۲/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۳۸
۳۳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۳۱۹۱۵
۳۳/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۳۴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۳۵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۳۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷

جدول ۲- فراوانی آللی ۱۰ جایگاه STR در جمعیت کرد ایرانی

آل	TPOX	vWA	D7S820	D8S1179	D13S317	D16S539	D18S51	D5S818	THO1	D21S311
۵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۶	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۲۲۳۴۰۴	-
۷	۰/۰۰۵۳۱۹	-	۰/۰۱۵۹۵۷	۰/۰۱۵۹۵۷	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	۰/۰۳۷۶۳۴	۰/۰۲۰۷۴۴۷	-
۸	۰/۴۳۰۸۵۱	-	۰/۰۶۳۸۳	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۱۶۴۷۰۶	۰/۰۴۷۸۷۲	-	۰/۰۲۱۵۱	۰/۱۵۴۲۵۵	-
۹	۰/۱۱۷۰۲۱	-	۰/۰۹۵۷۴۵	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۲۵۲۹۴۱	۰/۱۷۰۲۱۳	-	۰/۱۷۷۴۱۹	۰/۰۲۰۷۴۴۷	-
۹/۳	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۵۹۵۷	-
۱۰	۰/۰۸۵۱۰۶	-	۰/۲۶۰۶۳۸	۰/۰۵۸۵۱۱	۰/۰۲۹۴۱۲	۰/۰۹۰۴۲۶	۰/۰۱۵۹۵۷	۰/۰۲۰۹۶۷۷	۰/۱۷۵۵۳۲	-
۱۱	۰/۳۲۴۴۶۸	-	۰/۳۶۱۷۰۲	۰/۰۴۲۵۵۳	۰/۲۷۰۵۸۸	۰/۲۱۸۰۸۵	۰/۰۷۹۷۸۷	۰/۲۴۱۹۳۵	۰/۰۱۵۹۵۷	-
۱۲	۰/۰۳۷۲۳۴	-	۰/۱۲۷۶۶	۰/۱۴۳۶۱۷	۰/۲	۰/۲۷۶۵۹۶	۰/۱۵۴۲۵۵	۰/۱۸۲۷۹۶	-	-
۱۳	-	۰/۰۱۰۶۳۸	۰/۰۳۱۹۱۵	۰/۳۰۳۱۹۱	۰/۰۴۷۰۵۹	۰/۱۴۸۹۳۶	۰/۱۹۶۸۰۹	۰/۰۴۸۳۸۷	-	-
۱۴	-	۰/۰۷۴۴۶۸	-	۰/۲۷۶۵۹۶	۰/۰۳۵۲۹۴	۰/۰۳۷۲۳۴	۰/۲۶۵۹۵۷	-	-	-
۱۵	-	۰/۰۷۹۷۸۷	-	۰/۱۲۷۶۶	-	۰/۰۰۵۳۱۹	۰/۰۷۹۷۸۷	-	-	-
۱۶	-	۰/۲۳۴۰۴۳	-	۰/۰۱۵۹۵۷	-	-	۰/۰۹۰۴۲۶	-	-	-
۱۷	-	۰/۳۰۸۵۱۱	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	۰/۰۶۹۱۴۹	-	-	-
۱۸	-	۰/۱۸۰۸۵۱	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷	-	-	-
۱۹	-	۰/۰۹۰۴۲۶	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷	-	-	-
۲۰	-	۰/۰۱۵۹۵۷	-	-	-	-	-	-	-	-
۲۱	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹	-	-	-
۲۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۳۸
۲۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۷۴۴۶۸
۲۷/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۳۸
۲۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۱۵۴۲۵۵
۲۸/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۲۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۱۴۸۹۳۶
۲۹/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹
۳۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۱۴۳۶۱۷
۳۱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۱۹۱۴۸۹
۳۱/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۶۳۸۳
۳۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۹۰۴۲۶
۳۲/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۳۳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۶۵۹۶
۳۳/۲	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰۶۳۸
۳۴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۲۱۲۷۷
۳۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۰۵۳۱۹

بحث

از اعمال تصحیح Bonferroni انحراف از تعادل دارند؛

بنابراین نتایج آماری حاصل از این جایگاه در این دو جمعیت قابل استناد نمی‌باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، توصیه می‌شود در آینده از این جایگاه در مطالعات مربوط به این

بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای فراوانی آللی و ژنوتیپی در جایگاه‌های مختلف در هر دو جمعیت نشان داد که جایگاه D13S317 در هر دو جمعیت کرد و عرب حتی پس

نشانگری مناسب برای استفاده در آزمون‌های تعیین هویت مورد استفاده قرار گیرد. از طرفی همواره رابطه یکپارچه و مستقیم بین ژنتیک جمعیت و ژنتیک پزشکی قانونی وجود داشته و از این طریق نیز می‌توان درک عمیق‌تر و اطلاعات بیشتری از ویژگی ژنتیکی جمعیت‌های انسانی به‌دست آورد. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، میزان هتروزیگوسیتی جمعیت است منهای افراد هتروزیگوتی که ژنوتیپ والد خود را به ارث برده‌اند و بر اطلاعات چندشکلی نمی‌افزایند (فرمول ۱).

فرمول (۱):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2$$

در واقع این پارامتر مشخص می‌کند، نشانگر مدّ نظر تا چه حد برای مشخص کردن سطح پلی‌مورفیسم در یک جمعیت مفید است. Shepard و Herrera در مطالعه بر روی ۱۵۰ نفر از جمعیت ایران، شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای ۱۵ جایگاه STR را بین ۰/۶۰ تا ۰/۸۶ به‌ترتیب برای جایگاه‌های ژنی TPOX و D2S1338 گزارش نمودند (۱۷). در مطالعه دیگری Dogan و همکاران در سال ۲۰۱۳ شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) جمعیت دانشجویان ترکیه را در تعداد ۱۵ جایگاه بررسی‌شده بین ۰/۶۳۰ تا ۰/۸۹۰ به‌ترتیب برای جایگاه‌های ژنی TPOX و Penta. E گزارش نمودند (۹).

قدرت تمایز (PD)، احتمال تشخیص دو فرد نامرتب را با یک نشانگر یا یک‌سری از نشانگرها مشخص می‌کند. از لحاظ محاسبات، قدرت تمایز یک جایگاه برابر است با «احتمال انطباق تصادفی جایگاه -۱» که محاسبه عددی آن با استفاده از فرمول زیر در بسیاری از نرم‌افزارها به‌صورت خودکار صورت می‌گیرد. یعنی اگر در جمعیتی فردی به کمک تعداد مشخصی جایگاه‌های STR ژنوتایپ و انگشت‌نگاری شود، به احتمال مذکور هیچ فرد دیگری را نمی‌توان در آن جمعیت یافت که در تمام آن جایگاه‌ها مشابه وی باشد.

جمعیت‌ها در ایران استفاده نگردد؛ زیرا پیش‌بینی می‌گردد استفاده از این جایگاه (D13S317) عامل انحراف در نتایج خواهد شد. از دلایل و عواملی که سبب گردیده، جایگاه D13S317 در جمعیت‌های مورد مطالعه اقوام ایرانی ارزش استفاده خود را از دست دهد می‌توان به ارتباطات خویشاوندی خیلی دور در طی سالیان گذشته که در اقوام سنتی عموماً مرسوم بوده (ازدواج‌های درون‌قبیله‌ای و درون‌قومی) و پدیده AlleleDropout اشاره نمود که این پدیده نیز در سایر مطالعات مشابه نیز گزارش گردیده است (۱۵). در این مطالعه نیز رعایت عدم خویشاوندی افراد، به‌منظور جلوگیری از ایجاد وابستگی بین داده‌ها و حذف اختلال و اشتباه در آنالیز آماری و گزارش آن صورت گرفت. Freeman و همکاران، فراوانی آلل ۱۵ جایگاه STR اتوزومال^۱ (vWA, D3S1358, FGA, D8S1179, D21S311, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, TH01, TPOX, CSF1PO, D19S433, D2S1338, D16S539) را در جمعیت عراق با دیگر کشورهای خاورمیانه (ترکیه، کردستان عراق، عربستان سعودی، امارات، امان، ایران، سوریه و جردن) مقایسه کردند (۱۶). این محققان نشان دادند که در بین تمامی جایگاه‌های مورد بررسی بر روی جمعیت عراق، جایگاه TPOX دارای کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده (HO) بود. جایگاه D21S311 با مقدار ۰/۸۸۱ و جایگاه D2S1338 با مقدار ۰/۸۷۰ دارای بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار بودند.

Shepard و Herrera نیز گزارش کردند، جایگاه TPOX دارای کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و جایگاه CSF1PO دارای کمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار بود. همچنین نتایج مطالعات آنها نشان داد، بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و مورد انتظار در جایگاه D8S1179 با ۰/۸۶۰۰ و جایگاه D2S1338 با ۰/۸۲۲ بود (۱۷). بر اساس این نتایج و نظر به پلی‌مورف بودن این جایگاه‌ها، استفاده از این جایگاه‌های ژنتیکی می‌تواند به‌عنوان

فرمول (۲)

$$P_{Dcomb} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_{Di})$$

گفت به طور کلی بجز جایگاه D13S317، باقی جایگاه‌های ارزیابی‌شده، دارای مشخصات خوبی برای استفاده در انگشت نگاری ژنتیکی در جمعیت‌های کرد و عرب می‌باشند. این تحقیق می‌تواند مبنایی برای بررسی سایر قومیت‌های ایران و مقایسه آنها با یکدیگر باشد؛ زیرا نظر به اینکه تعیین هویت در ایران براساس کیت‌های تجاری خارجی نظیر Identifiler صورت می‌گیرد، لزوم بررسی جایگاه‌های مورد استفاده و سودمندی آنها در قومیت‌های ایرانی به شدت احساس می‌گردد. زیرا که نتایج این تحقیق اثبات نمودند که جایگاه D13S311 از پتانسیل مناسبی برای استفاده در اقوام کرد و عرب ایرانی برخوردار نبوده و احتمال به دست آمدن نتایج مشابه در سایر قومیت‌های ایرانی وجود دارد. از این رو خلاء نیاز به بومی‌سازی و استفاده از جایگاه‌های مناسب مورد استاندارد ژنتیک پزشکی قانونی در اقوام ایرانی احساس می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پروژه تحقیقاتی به شماره ۴۱۷۲۳ مصوب معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و بودجه آن از محل اعتبارات متمرکز آن معاونت تأمین شده است. بدین وسیله از آن معاونت محترم تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از مسؤولان آزمایشگاه بیوتکنولوژی که پروژه در محل آن انجام گرفته است، تشکر و قدردانی می‌گردد.

Shepard و Herrera در بررسی جمعیت ۱۵۰ نفری ایران، قدرت تمایز (PD) برای ۱۵ جایگاه STR را بین ۰/۸۲۲۳ تا ۰/۹۶۸۰ به ترتیب برای جایگاه‌های ژنی TPOX و D2S1338 گزارش نمودند (۱۷). Dogan و همکاران ضمن مطالعه بر روی جمعیت دانشجویان ترکیه، قدرت تمایز (PD) تعداد ۱۵ جایگاه بررسی‌شده را بین ۰/۸۴۴ تا ۰/۹۶۵ به ترتیب برای جایگاه‌های ژنی TPOX و D18S51 گزارش نمودند (۹). اما بر خلاف MP (Match Probability)، قدرت تمایز معمولاً برای هر ژنوتیپ یا در هر جایگاه محاسبه نمی‌شود، بلکه برای تمام جایگاه‌های به کار رفته محاسبه می‌گردد و بر اساس آن می‌توان نتیجه گرفت که مجموع جایگاه‌های مورد استفاده در جمعیت مد نظر، تا چه اندازه می‌تواند در شناسایی افراد، صحیح عمل کند.

نتیجه‌گیری

کارایی یک نشانگر ژنتیکی به عنوان یک ابزار در حل مسئله انساب به طور کلی با توانایی آن نشانگر در حذف والد نادرست سنجیده می‌شود. در کل با استفاده از داده‌های این مطالعه می‌توان آنالیزهای آماری مربوط به صحت و دقت برنامه‌های تشخیص هویت را انجام داد. همچنین می‌توان

منابع:

- 1- Butler JM. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. Waltham, MA, USA: Elsevier; 2011.
- 2- Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. J Forensic Sci. 2006; 51(2): 253-65.
- 3- Gunn A. Essential Forensic Biology. Chichester, West Sussex, England: John Wiley and Sons Ltd; 2006.
- 4- Chishti HM, Ansar M, Ajmal M, Hameed A. Application of short tandem repeat markers in diagnosis of chromosomal aneuploidies and forensic DNA investigation in Pakistan. Gene. 2014; 548(2): 217-22.
- 5- Goodwin W, Linacre A, Hadi S. An Introduction to Forensic Genetics. Chichester, UK: John Wiley and Sons Ltd; 2011.
- 6- Yuan JY, Wang XY, Shen CM, Liu WJ, Yan JW, Wang HD, et al. Genetic profile characterization and population study of 21 autosomal STR in Chinese Kazak ethnic minority group. Electrophoresis. 2014; 35(4): 503-10.

- 7- Press MO, Carlson KD, Queitsch C. The overdue promise of short tandem repeat variation for heritability. *Trends Genet.* 2014; 30(11): 504-12.
- 8- Butler JM, Hill CR. Biology and genetics of new autosomal STR loci useful for forensic DNA analysis. *Forensic Sci Rev.* 2012; 24(1): 15-26.
- 9- Dogan S, Kovacevic L, Marjanovic D. Genetic polymorphisms of 15 STR loci within Turkish student population living in Sarajevo, Bosnia and Herzegovina. *Coll Antropol.* 2013; 37(4): 1313-9.
- 10- Hong SB, Kim SH, Kim KC, Park MH, Lee JY, Song JM, et al. Korean population genetic data and concordance for the PowerPlex® ESX 17, AmpFlSTR Identifiler®, and Power Plex® 16 systems. *Forensic Sci Int-Gen.* 2013; 7(3): e47-51.
- 11- Lee HR, Bae IH, Park SW, Kim HJ, Min WK, Han JH, et al. Construction of an integrated pepper map using RFLP, SSR, CAPS, AFLP, WRKY, rRAMP, and BAC end sequences. *Mol Cells.* 2009; 27(1): 21-37.
- 12- Haug X, Litt M. A study of the origin of shadow bands seen when typing dinucleotide repeat polymorphism by the PCR. *Hum Mol Genet.* 1999; 2(4): 411-5.
- 13- Sprecher CJ, Puers C, Lins AM, Schumm JW. General approach to analysis of polymorphic short tandem repeat loci. *Biotechniques.* 1996; 20(2):266-76.
- 14- Martin PD. National DNA databases—practice and practicability. A forum for discussion. *Int Congr Ser.* 2004; 1261: 1-8.
- 15- Budowle B, Shea B, Niezgoda S, Chakraborty R. CODIS STR loci data from 41 sample populations. *J Forensic Sci.* 2001; 46(3):453-89.
- 16- Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res.* 2006; 16(8): 949-61.
- 17- Shepard EM, Herrera RJ. Iranian STR variation at the fringes of biogeographical demarcation. *Forensic Sci Int.* 2006; 158(2-3): 140-8.

جدول ۳- شاخص‌های آماری ارزیابی تنوع ژنتیکی و ژنتیک قانونی در اقوام کرد و عرب ایرانی

جایگاه	تعداد نمونه		هتروزیگوسیتته مشاهده شده		محتوای اطلاعات چند شکلی		توان رد		احتمال انطباق تصادفی		شاخص ابوت		تعادل هاردی واینبرگ		کای اسکور		P-value	
	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب	کرد	عرب
TPOX	۹۴	۹۳	۰/۷۱	۰/۷۲	۰/۶۳	۰/۶۵	۰/۴۴۸	۰/۴۶۵	۰/۱۵۳	۰/۱۴۳	۱/۷۴	۱/۸۱	NS	NS	۲۰/۶۳	۱۲/۳۱۳	۰/۱۵۳	۰/۱۴۳
vWA	۹۴	۹۳	۰/۸۲	۰/۸۴	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/۶۳۵	۰/۶۷۶	۰/۰۷۶	۰/۰۹۳	۲/۷۶	۳/۱۳	NS	NS	۴۶/۶۴	۷۹/۵۶	۰/۰۷۶	۰/۰۹۳
D7S820	۹۴	۹۳	۰/۷۷	۰/۸۱	۰/۷۳	۰/۸	۰/۵۳۷	۰/۶۱۵	۰/۱۰۱	۰/۰۶۲	۲/۱۴	۲/۶۱	NS	NS	۲۶/۰۴	۹۱/۱۲	۰/۱۰۱	۰/۰۶۲
D8S1179	۹۴	۹۳	۰/۸۸	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۶۸	۰/۷۶۱	۰/۵۰۱	۰/۰۹۶	۰/۰۶۳	۴/۲۷	۱/۹۶	NS	NS	۵۶/۰۲	۲۳۵/۵۹	۰/۰۹۶	۰/۰۶۳
D13S317	۹۴	۹۳	۰/۹۵	۰/۸۵	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۹۰۴	۰/۶۹۷	۰/۱۰۶	۰/۱۳۱	۱۰/۶۳	۳/۳۶	**	***	۳۴/۰۲	۶۳/۴۶	۰/۱۰۶	۰/۱۳۱
D16S539	۹۴	۹۳	۰/۸۲	۰/۸۰	۰/۷۹	۰/۷۴	۰/۶۳۵	۰/۵۹۵	۰/۰۷۵	۰/۰۹	۲/۷۶	۲/۴۷	NS	NS	۵۳/۶۴	۳۶/۸	۰/۰۷۵	۰/۰۹
D18S51	۹۴	۹۳	۰/۹۳	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۷۳	۰/۸۴۸	۰/۶۱۵	۰/۰۵۹	۰/۰۵۵	۶/۷۱	۲/۶۱	NS	NS	۸۳/۷۵	۱۱۸/۱۶	۰/۰۵۹	۰/۰۵۵
D5S818	۹۴	۹۳	۰/۸۱	۰/۸۴	۰/۷۹	۰/۸۲	۰/۶۱۱	۰/۶۷۶	۰/۰۷۲	۰/۰۵۹	۲/۵۸	۳/۱۳	NS	NS	۵۲/۱	۵۰/۷۳	۰/۰۷۲	۰/۰۵۹
THO1	۹۴	۹۳	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۷۸	۰/۸	۰/۵۹۵	۰/۶۷۹	۰/۰۷۷	۰/۰۷	۲/۴۷	۳/۱۷	NS	NS	۲۹/۲۴	۶۹/۷۸	۰/۰۷۷	۰/۰۷
D21S311	۹۴	۹۳	۰/۹۴	۰/۸۱	۰/۸۶	۰/۶۸	۰/۸۷	۰/۶۱۵	۰/۰۴۲	۰/۰۳۵	۷/۸۳	۲/۶۱	NS	NS	۴۹/۸۸	۷۶/۱۵	۰/۰۴۲	۰/۰۳۵

NS: Non significant

** P< 0.01

*** P<0.001