

# D13S317, D2S1338 ve D19S433 STR LOKUSLARINDA YENİ TANIMLANMIŞ DÖRT YENİ ALLEL

FOUR NEW DEFINED ALLELES AT THREE STR LOCI:  
D13S317, D2S1338, D19S433

\*Dr. Faruk Aşıcıoğlu;  
\*\*Bestami Çolak,  
\*\*\*S.Hüner,  
\*\*\*U.Çetinkaya,  
\*\*H.Hürben.

Adli Bilimler Dergisi / Turkish Journal of Forensic Sciences, 2 (3): 49 - 56,2003

## ÖZET

STR allelleri tekrar sayılarına göre isimlendirilmektedir. STR'lerin adli kimliklendirmede kullanılabilmesi için o toplumun allel frekanslarının bilinmesine ve veritabanının mümkün olduğunca geniş olmasına ihtiyaç vardır. Bu nedenle çalışılan toplum sayısı arttıkça ve veritabanında yer alan örnek sayısı çoğaldıkça yeni allellerde rapor edilmektedir. Çalışmamızda CODIS veritabanında yer alan D13S317 lokusuna ait 7 nolu ve 16 nolu alleller ile son zamanlarda oldukça informatif olmaları nedeni ile adli genetik alanında yaygın kullanım alanı bulan ve evvelce yayınlanmamış D2S1338 lokusuna ait 13 nolu ve D19S433 lokusuna ait 18 nolu, yeni alleller rapor edilmiştir.

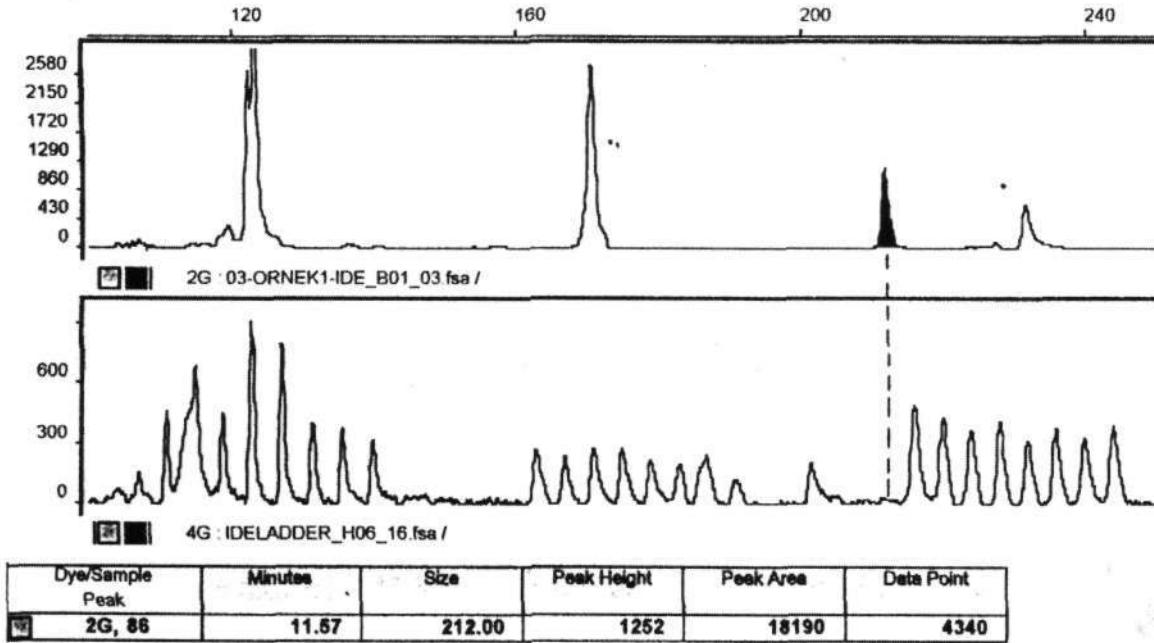
**Anahtar Kelimeler:** yeni alleller, varyant alleller, adli genetik, STR

## ABSTRACT

STR alleles are defined and named by the number of repeated sequences they contain, and as more samples and populations are being examined, the number of reported alleles is increasing. D13S317 locus is within the thirteen loci used for the CODIS database. Recently some extra highly informative loci were added to commercially available multiplex kits which contain D2S1338 and D19S433 loci. At present study we determined rare and off-ladder alleles at D13S317, D2S1338 and D19S433 loci. To our knowledge, 18 allele of D19S433 locus and 13 allele of D2S1338 locus were not reported so far.

**Keywords:** new alleles, variant alleles, forensic genetics, STR

\* Adli Tıp Uzmanı Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi  
\*\* Bio. Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi  
\*\*\* M.Sc. Bio. Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi



**Şekil 1-** Identifiler kiti ile LIZ-500 size standardı kullanılarak analiz edilen D3S1358 , TH0J ve D13S317 lokuslarına ait allelik ladder, alt paneldeki Gene-Scan™ elektroforeogramında görülmektedir. En sağdaki D13S317 lokusunun allelik aralığı, soldan sağa 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 olup ; üst paneldeki örneğimize ait ilk allelin (7 nolu) allelik ladder dışı olduğu görülmektedir. Heterozigot olan bireyin ikinci alleli ise ladderdaki 12 nolu allele karşılık gelmektedir.

Ardışık tekrar dizileri insan genomunda oldukça sıktır ve bireyler arasında değişkenlik gösterir. Bu nedenle babalık davaları ve her türlü adli amaçlı kimliklendirme de yaygın olarak kullanılmaktadır (1-5).

Bu amaçla kullanılan STR (short tandem repeats-kısa ardışık tekrarlar)'lerin bir çoğu dört tekrar içeren 100-350 baz uzunlukta tekrar dizileridir ve alleller içerdikleri tekrar sayısına göre adlandırılmaktadır (5-7).

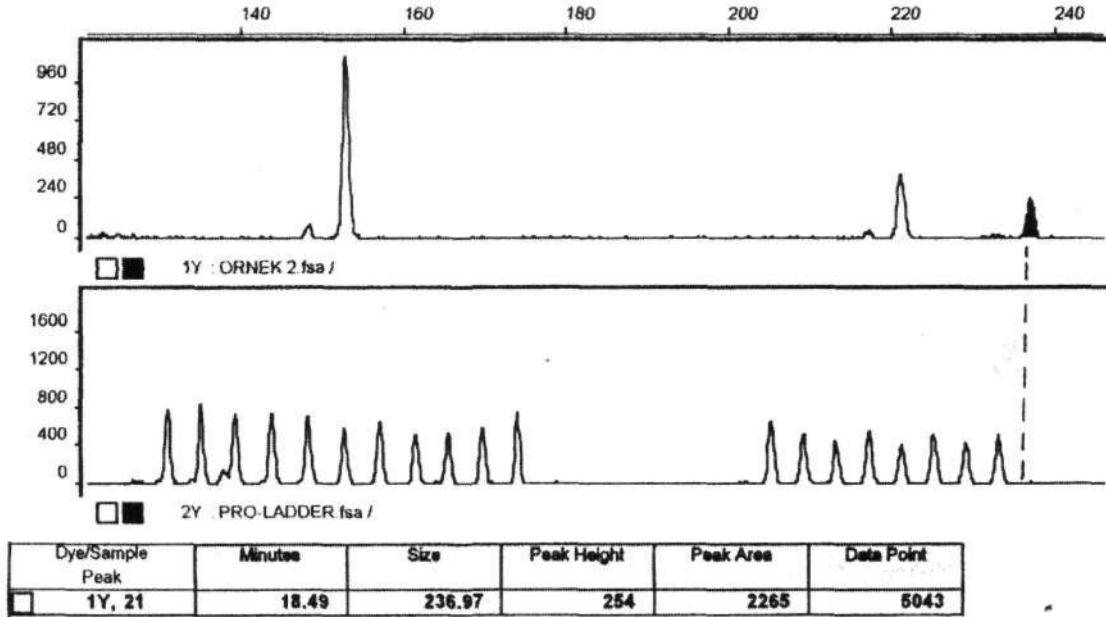
Günümüzde bir çok lokusu bir arada içeren multipleks ticari kitler, çalışılabilen genetik parametre sayısını oldukça artırmıştır. Bu ticari kitler içerisinde söz konusu lokusların o zamana kadar rapor edilen tüm

allellerinin amplifiye ürününü içeren "allelik ladder"lar yer alır. "Allelik Ladder"lar ilgili lokusun o zamana kadar bildirilen tüm allellerini içeren PCR (Polimerase Chain Reaction) ürünleridir. Populasyon çalışması yapılan toplum sayısı arttıkça ve bu toplumların veri tabanı genişledikçe ladder dışı yeni alleller rapor edilmektedir (8).

Makalemizde, laboratuvarımızda saptanan ve mevcut bilgilerimize göre daha önce bazısı Türk toplumuna ait verilerde bazısı ise diğer uluslara ait populasyon verilerinde rapor edilmeyen D13S317, D251338 ve D19S433 lokuslarına ait dört yeni alleli rapor edilmiştir.

ABI  
PRISM

Page 1 of 1



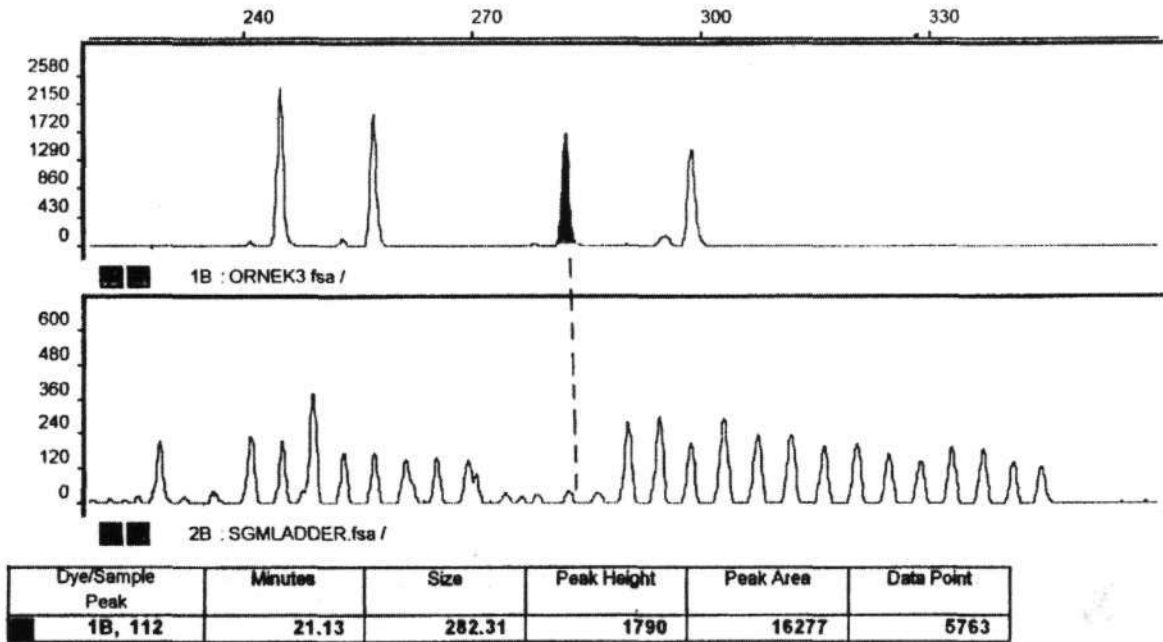
Şekil 2- Profiler-Plus kiti ile ROX-500 size standardı kullanılarak analiz edilen DSS818 ve D13S317 lokuslarına ait allelik ladder, alt paneldeki Gene-Scan™ elektroforeogramında görülmektedir. Sağdaki ÜİS317 lokusunun allelik aralığı, soldan sağa 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 olup; üst paneldeki iki nolu örneğimize ait (en sağda) ikinci allelin (16 nolu) allelik ladder dışı olduğu görülmektedir. Heterozigot olan bireyin birinci alleli ise ladderdaki 12 nolu allele karşılık gelmektedir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Olgular nesep tayini ve adli amaçlı kimliklendirme için laboratuvarımıza gönderilen örneklerden saptandı. Örneklerden DNA, salting out ve/veya chelex 100 yöntemleri kullanılarak izole edildi (9-10). PCR amplifikasyonu D13S317 lokusu için Profiler plus ve Menafiler, D2S1338 ve D19S433 lokusları içinse Identifiler ve AmpF $\lambda$ STR SGM Plus kitleri (Perkin-Elmer Applied BioSystems, Foster City, CA, ABD) kullanılarak Gene Amp PCR System 2700 (Perkin-Elmer Applied BioSystems, Foster City, CA, ABD) thermal cycler cihazı ile üreticinin

talimatlarına uygun olarak yapıldı. Kapiller elektroforez ile analiz işlemi ABI Prism 310 ve 3100 Genetic Analyser (Perkin-Elmer Applied BioSystems, Foster City, CA, ABD) cihazlarında "GeneScan software" kullanılarak gerçekleştirildi.

Ladder dışı allellerin saptanması üzerine örneklerin DNA izolasyonu phenol / chloroform ekstraksiyon yöntemi ile tekrarlandı (11). İkinci kez elde edilen izolatların yeniden amplifikasyonu her üç lokus için Identifiler kiti kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun olarak yapıldı.



Şekil 3- SGM-Plus kiti ile ROX-500 size standardı kullanılarak analiz edilen D16S539 ve D2S1338 lokuslarına ait allelik ladder, alt paneldeki Genc-Scan™ elektroforeogramında görülmektedir. Sağdaki D2S1338 lokusunun allelik aralığı, soldan sağa 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 olup; üst paneldeki üç nolu örneğimize ait birinci allelin (13 nolu) allelik ladder dışı olduğu görülmektedir. Heterozigot olan bireyin ikinci alleli ise "ladder"daki 17 nolu allele karşılık gelmektedir.

## BULGULAR

İlk iki örnekte D13S317 lokusunda ladder dışı allel saptanmıştır. Bu örneklerde D13S317 lokusu dışında çalışılan diğer tüm lokuslara ait allellerin pikleri aynı çalışmada yürütülen ladder ile bire bir çakışmakta iken bu lokusta "allelik ladder" ile çakışmayan ve "ladder"ın en küçük allelinden dört baz çifti daha geri lokalizasyonda yerleşen bir pik saptanmıştır. Söz konusu örneğin Identifiler kiti kullanılarak "ladder" ile karşılaştırmalı elektroferogramı Şekil 1'dedir. Görüldüğü gibi bir nolu örnek D13S317 lokusu için heterozigot olup ikinci allel (12 nolu allel) ladder içerisinde yer alırken birinci allel 212 bp uzunluğunda olup "ladder"da bulunan 216.50 bp uzunluğundaki

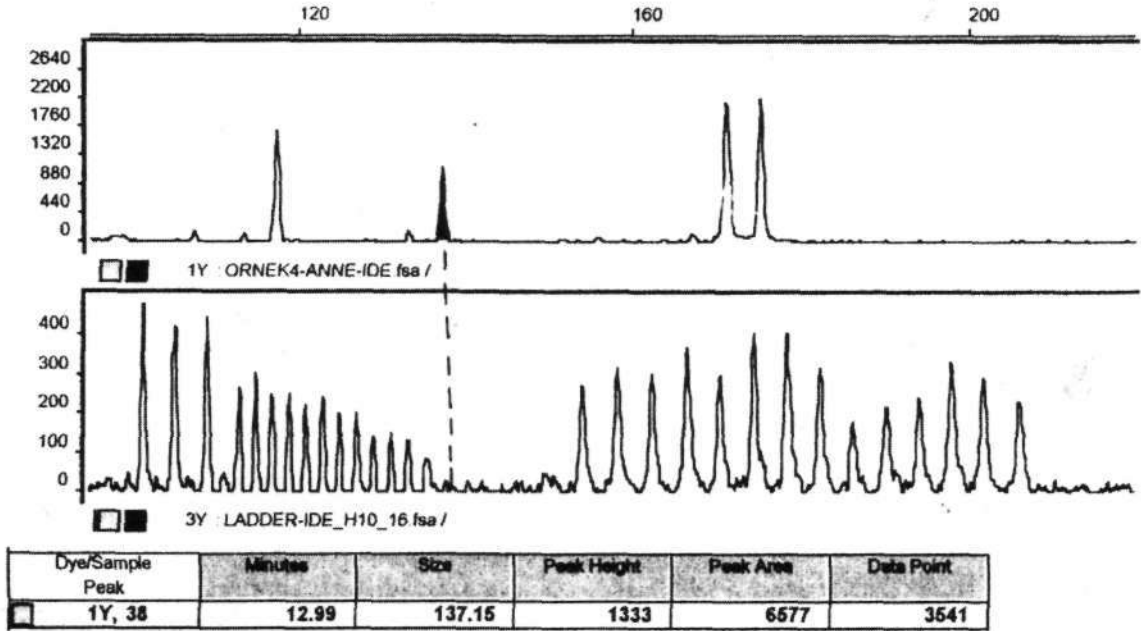
en küçük 8 nolu allelden bir tekrar daha geride lokalize olmuştur.

ikinci örnekte ise ladder dışı allel yine D13S317 lokusunda, ancak bu kez "ladder"ın en çok tekrar sayısına sahip 15 nolu allelinden (233.02 bp) dört baz çifti daha ileride (236.97) pik vermiştir. Şekil 2'deki elektroferogramda heterozigot olan örneğin birinci allelinin "ladder"ın 12 numaralı alleli ile çakıştığı ikinci allelin ise "ladder" dışında kaldığı görülmektedir.

Üçüncü örnekte ladder dışı allel D2S1338 lokusunda saptanmıştır. Söz konusu lokusun allelik ladder aralığı 15-28 olup 15 numaralı en küçük allelin piki 290.55 bp'de alınırken (SGM Plus kiti), saptadığımız varyant allel 282.31 bp'de pik vermekte ve 13 nolu allele karşılık gelmektedir (Şekil 3).

ABI  
PRISM

Page 1 of 1



Şekil 4- İdentifiler kiti ile LIZ-500 size standardı kullanılarak analiz edilen D19S433 ve WVA lokuslarına ait allelik ladder, alt paneldeki Gene-Scan™ elektroforeogramında görülmektedir. Soldaki D19S433 lokusunun allelik aralığı, soldan sağa 9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2 olup; üst paneldeki dört nolu örneğimize ait (solda) ikinci allelin (18 nolu) allelik ladder dışı olduğu görülmektedir. Heterozigot olan bireyin birinci alleli ise "ladder"daki 13 nolu allele karşılık gelmektedir.

Dördüncü örnekte saptanan 18 numaralı varyant allel D19S433 lokusunun "allelik ladder"ında yer almadığı gibi "ladder"ın en çok tekrar sayısına sahip 17 nolu allelinden (133.42 bp) 4 baz (137.05bp) daha uzundur. Örnek heterozigot olup ladder içi birinci allel (allel 13) ve ladder dışı ikinci allel Şekil 4'deki elektroferogramda görülmektedir.

## TARTIŞMA

Değişik toplumlardan populasyon verileri geldikçe ve toplumun daha büyük bir kesimini temsil eden geniş populasyon veri tabanları oluştuğunda şimdiye kadar bildirilmeyen yeni alleller saptanacaktır. Allelik ladder dışı yeni

alleller bazen "allelik ladder"ın en küçük sayıda tekrar içeren allelinden daha küçük, bazen ise en büyük sayıda tekrar içeren allelinden daha büyük olabildiği gibi, az olmayarak ara alleller şeklinde de rapor edilmektedir (8,12-14). Bu allellerin rapor edilmesi bir başka laboratuvar tarafından elde edilen benzer sonucun amplifikasyon artefaktı olarak değerlendirilmesini engelleyeceği gibi nadir rastlanmaları nedeni ile adli amaçlı kimliklendirmede büyük önem arz etmektedirler.

D13S317 lokusu tüm dünyada geniş kabul gören ve halen bir çok ülke tarafından her örnekte standart olarak çalışılan CODIS (Combined DNA Index System) sisteminde

yer alan 13 numaralı kromozomun uzun kolunda yerleşmiş, dörtlü tekrar dizilerinden oluşan bir lokustur. Tekrar dizileri AGAT, GATA, ATAG ya da TAGA şeklinde olup "allel ladder"ı sekiz ile on beş tekrar içeren piklerden oluşmuştur (15-16). İlk iki örneğimizde tespit ettiğimiz 7 ve 16 nolu alleller ladder dışında kalmaktadır. Bu lokusun 16 nolu alleli şimdiye kadar Türk popülasyonunda hiç bildirilmemiş olup, dünyada da sadece çok düşük bir allel frekansı ile İspanyol (Bask ve Katalon) ve Ürdün popülasyonunda bildirilmiştir (17-18). 7 nolu allel ise yine çok düşük frekanslar ile, fakat bir öncekine göre oldukça fazla toplumda bildirilmiştir (19-32). Türk toplumunda ise Akbasak ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir popülasyon çalışmasında bu allel < 8 şeklinde rapor edilmiştir (33).

İkinci kromozomda (2q35-37.1) lokalize olan D2S1338 lokusu oldukça informatif olup 15 ile 28 arasında yer alan toplam 14 tanımlanmış alleli bulunmaktadır (13, 16). Bir erkeğe ait olan örneğimizde diğer lokuslar alleli ladder ile bire bir çakışır iken heterozigot olan D2S1338 lokusunda bir allel 17 nolu allele karşılık gelirken tarafımızdan saptanan varyant allel söz konusu lokusun 15 nolu en küçük allelinden yaklaşık 8 baz geride pik vermiştir. Dünyada henüz yeni kullanım alanı bulan bu lokus hakkında şimdiye kadar her hangi bir varyant allel yayınlanmamıştır. Saptadığımız 13 nolu allel mevcut bilgilerimize göre bu lokusta tespit edilen ilk varyant alleldir.

D19S433 lokusu 100-135 bp uzunluğunda olması nedeni ile fragmente örneklerde dahi oldukça iyi sonuç veren AAGG ve TAGG dörtlü tekrarlarından oluşan bir lokustur. Şimdiye kadar "allel ladder" dışı sadece yedi nolu allel [www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/var\\_D19.htm](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/var_D19.htm) adresinde bildirilmiş bunun dışında söz konusu lokusta her hangi yeni allelin saptan-

dığına dair yazılı her hangi bir yayına rastlanmamıştır. Dört nolu örneğimizde saptadığımız bu lokustaki 18 nolu allel ilk kez tarafımızdan yayınlanmaktadır. Söz konusu örneğimizde 18 nolu allelin anneden çocuğa kalıtılmış olması olguya ikinci bir doğrulama sağlamaktadır.

Olgularımızdan elde edilen sonuçlar her örneğin gerek DNA izolasyonu gerekse amplifikasyonu tekrarlanarak teyit edilmiş olup bir adli amaçlı kimliklendirme davası olan dört nolu örnekte D19S 433 lokusunda tespit edilen 18 nolu allelin anne tarafından çocuğuna kalıtıldığı gösterilerek ikinci bir doğrulama gerçekleştirilmiştir. Tespit ettiğimiz yeni alleller NIST'e (National Institute of Standards) bildirilmiş olup halen söz konusu organizasyonun STR base web sitesinin varyant alleller listesinde listelenmektedir. Bundan sonraki aşamada bulduğumuz yeni allellerin varlığını çift taraflı (fonvard - rverse) dizilemek sureti ile verilere etmeyi amaçlamaktayız.

#### KAYNAKLAR

1. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Gen* 1992;44:388-396.
2. Beckman JS, Weber JL. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics* 1992;12: 627-631
3. Tamaki K, Huang XL, Nozova H, Yamamoto T, Uchihi R, Katsumata Y, Armour JAL. Evaluation of tetranucleotide repeat locus D7S809 (wglg9) in the Japanese population. *Forensic Sci Int* 1996;81: 133-140
4. Balding DJ, Grecnhalgh M, Nichols RA. Population genetics of STR loci in Caucasians. *Int J Legal Med* 1996; 108: 300-305
5. Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Gen* 1991;49: 746-756
6. Edwards A, Hammond HA, Jin L, Caskey T, Chakraborty R. Genetic variation at five

- trimeric and tetrameric repeat loci in four human population groups. *Genomics* 1992; 12: 241-253
7. Sachetti L, Calcagno G, Goto I, Tinto N, Vuttariello E, Salvatore F. Efficiency of two different nine-loci short tandem repeat systems for DNA typing purposes. *Clinical Chemistry* 1999; 45(2): 178-183
  8. Margolis-Nunno H, Brenner L, Cascardi }, Kobilinsky L. A new allele of the short tandem repeat (STR) locus, CSF1PO. *J Forensic Sci* 2001;46(6): 1480-1483
  9. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Bio Techniques* 1991; 10: 506
  10. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16: 1215
  11. Comey CT, Koons BW, Presley KW, Smerick JB, Sobieralski CA, Stanley DM, Bacchtel FS. DNA extraction strategies for amplified fragment length Polymorphism analysis. *J Forensic Sci* 1994;39: 1254-1269
  12. Brito RM, Riberio T, Viriato L, Vieira-Silva C, Espinheira R, Pinto-Ribeiro I, Geada H. Sequence variation of new alleles at the short tandem repeat D19S253 locus . } *Forensic Sci* 2000;45(4): 932-934
  13. Budowle B, Collins JP, Dimsoski P, Ganong CK, Hennesy LK, Leibeld CS, Rao Coticone S, Shadravan F, Reeder DJ. Population data on the STR loci D2S1338 and D19S433. *Forensic Sci Com* 2001; July: Vol.3, Num.3
  14. Karger B, Meyer E, DuChesne A. STR analysis on perforating FMJ bullets and a new VWA variant allele. *Int J Legal Med* 1997; 110(2): 101-103
  15. Epplen JT, Lubjuhn T, editors. *DNA Profiling and DNA Fingerprinting*. Basel: Birkhauser Verlag, 1999
  16. [www.cstl.nist.gov/biotech/strbase](http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase)
  17. Garcia O, Uriarte, I, Martin P, Albarran C, Alonso A. STR data from Basque country autochthonous population. *Forensic Sci Int* 2001; 115: 111-112
  18. Tahir MA, Balamurugan K, Tahir UA, Amjad M, Awini MB, Chaudhary OR, Hamby JE, Budowle B, Herrera RJ. Allelic distribution of nine short tandem repeat (STR), HLA-DQA1 and polymarker loci in an Omani sample population. *Forensic Sci Int* 2000; 109: 81-85
  19. Klitschar M, Ebner A, Reichenpfader B. Population genetic of nine tetrameric short tandem repeat loci using fluorescence dye-labeled primers and capillary electrophoresis in the Austrian population. *Electrophoresis* 1999; 20: 1740-1742
  20. Anjos MJ, Carvalho M, Andrade L, Corte-Real F, Vieira DN, Vide MC. Allele frequencies of STR multiplex systems in two Portuguese population samples. *Progr. Forensic Genet.* 2000;8:208-211
  21. Frias I, Torres Y, Sola D, Hernandez A, Prieto V, Flores I, Sanz P. Allele frequency distribution of seven STRs in a Canary Islands population (Spain). *Progr. Forensic Genet.* 2000; 8: 202-204
  22. Corte-Real F, Andrade L, Carvalho M, Anjos MJ, Gamero J, Vieira DN, Carracedo A, Vide MC. Comparative analysis of STR data for Portuguese spoken countries. *Progr. Forensic Genet.* 2000;8:212-214
  23. Gomez MV, Reyes ME, Mejia DF, Cardenas H. Genetic variation at 9 STR loci in a southwestern Colombian population. *Progr. Forensic Genet.* 2000; 8: 251-253
  24. Yunis JJ, Garcia O, Uriarte I, Yunis EJ. Population data on D16S539, D7S820, D13S317, LPL, F13B and D1S80 loci in a sample of Caucasian-Mestizos from Colombia. *Forensic Sci Int* 2001; 115: 117-118
  25. Bravo ML, Moreno MA, Builes JJ, Salas A, Lareu MV, Carracedo A. Autosomal STR genetic variation in negroid Choco and Bogota populations. *Int J Legal Med* 2001; 115: 102-104
  26. Klitschar M, Al-Hammadi N, Reichenpfader B. Significant differences between Yemenite and Egyptian STR profiles and the influence on frequency estimations in Arabs. *Int J Legal Med* 2001; 114:211-214

27. Tahir MA, Herrera RJ, Khan AA, Kashyap VK, Duncan G, Barna C, Budowle B, Rowold DJ, Amjad M, Sinha S. Distribution of HLA-DQA1, Polymarker, CSF1PO, vWA, TH01, TPOX, D16S539, D7S820, D13S317, and D5S818 alleles in East Bengali and West Punjabi populations from Indo-Pak subcontinent. } Forensic Sci 2000; 45 : 1320-1323
28. Ahmed A, Linacre AMT, Mohammed AAA, Vanezis P, Goodwin W. STR population data for 10 STR loci including the GenePrint™ PowerPlex™ 1.2 kit from El-Minia (Central Egypt). Forensic Sci Int 2001; 117: 233-234
29. Pu CE, Chen MY, Wu FC, Sun CF. Genetic variation at nine STR loci in populations from the Philippines and Thailand living in Taiwan. Forensic Sci Int 1999; 106: 1-6
30. Pu CE, Wu FC, Cheng CL, Wu KC, Chao CH, Li JM. DNA short tandem repeat profiling of Chinese population in Taiwan determined by using an automated sequencer. Forensic Sci Int 1998; 97: 47-51
31. Xiaodong X, Xunling W, Xiaolin H, Guifang R, Xiaolin L. Tibetan population data on the PCR-typed loci D16S539, D7S820, D13S317, HUMF13A01, FESFPS, vWA, HUMTH01, TPOX and CSF1PO. Int J Legal Med 2001; 114:349-351
32. Han GR, Lee YW, Lee HL, Kim SM, Ku TW, Kang IH, Lee HS, Hwang JJ. A Korean population study of the nine STR loci FGA, VWA, D3S1358, D18S51, D21S11, D8S1179, D7S820, D13S317 and D5S818. Int J Legal Med 2000; 114:41-44
33. Akbasak BS, Budowle B, Recder DJ, Redman J, Kline MC. Turkish population data with the CODIS multiplex short tandem repeat loci. Forensic Sci Int 2001; 3165: 1-3

\*

İletişim adresi:

Dr. Faruk Aşıcıoğlu

Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi

Esekapi-Cerrahpaşa, İstanbul

Tlf: 0212 5865522

e-mail: fasicioglu@hotmail.com