بررسی توزیع فراوانی الل‌ها در سه منطقه کوتاه تکرار شونده ژنوم انسانی در جمعیت ایران

دکتر حسن توفیقی
دانشیار و مدیرگروه پزشکی قانونی و طب‌کار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر معصومه ناجی
رئیس بخش سرولوژی و *DNA*
سازمان پزشکی قانونی کشور

دکتر زهرا لشگری
دکترای علوم آزمایشگاهی، بخش *DNA*
سازمان پزشکی قانونی کشور

افروز نیکبخت دهکردی
کارشناس ارشد ایمنولوژی، بخش *DNA*
سازمان پزشکی قانونی کشور

نازنین زهرا شفیعی جندقی
کاردان علوم آزمایشگاهی، بخش *DNA*
سازمان پزشکی قانونی کشور

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی

خلاصه

در این تحقیق برای اولین بار در ایران، شناسایی و بررسی توزیع فراوانی الل‌ها برای سه محل *HUMTHO1*، *HUMVWA31/A* و *HUMFES/FPS* از مناطق کوتاه تکرارشونده ژنوم انسانی یا *STR*[1] انجام پذیرفته است. جمعیت مورد مطالعه از مراجعین غیرخویشاوند سراسر کشور به سازمان پزشکی قانونی بصورت اتفاقی انتخاب شده، مناطق موردنظر ژنوم ابتدا توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز *(PCR)* تکثیر شدند. سپس الل‌ها توسط الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریل آمید سکوانسینگ جداگردیده، پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره قابل مشاهده و نامگذاری شدند. همچنین شاخص نردبانی مخصوص هریک از محلهای یاد شده تهیه گردید. بررسی فراوانی ژنوتیپهای مشاهده شده و ژنوتیپهای موردانتظار از طریق آزمون کای‌اسکوئر دال بر تبعیت پراکندگی ژنوتیپهای مشاهده شده از قانون *Hardy-Weinberg* می‌باشد. همچنین *PE* و *DP* برای هر سیستم محاسبه گردیده است.

کلیدواژه‌ها: *Short Tandem Repeats, HUMVWA31/A, HUMTHO1, HUMFES/FPS. Population studies, Forensic validation, DNA polymorphism.*

۱- *Short Tandem Repeats*

✳ مقدمه

مناطق *STR* سکانسهای تکرار شونده متشکل از ۶ ـ ۱ جفت باز می‌باشند که بسیار پلیمرف بوده، بطور گسترده (تقریباً یک لکوس در هر ۱۰ کیلوباز) در طول ژنوم انسان پراکنده‌اند (۵ و ۱). اندازه کوچک این قطعات (*bp* ۳۰۰ >) امکان بررسی آنها را در نمونه‌های تخریب شده و همچنین هنگامی که *DNA* موجود بسیار ناچیز باشد فراهم نموده، از این رو با توجه به وجود امکان جداسازی الل‌های موجود در این مناطق با دقتی در حد اختلاف یک جفت باز با استفاده از ژل پلی‌آکریل آمید می‌توان از بررسی مناطق فوق به عنوان متد انتخابی در پزشکی قانونی بهره جست (۴ و ۲).

امروزه لکوسهای *STR* متعددی در طول مولکول *DNA* شناسایی شده که هر یک دارای چندین الل می‌باشند. مطالعات قبلی نشان داده اختلاف قابل ملاحظه‌ای در فراوانی الل‌ها در سفیدپوستان *(Caucasian)* وجود ندارد (۶ و ۸) اما از آنجایی که این تکنولوژی در ایران و در بسیاری از کشورهای دیگر تا حدودی نوپا می‌باشد شایسته است که هر کشور و حتی مناطق جغرافیایی و جمعیتهای مختلف موجود در هر کشور از نظر فراوانی الل‌های موجود بررسی و مشخص شوند تا بتوان از این فراوانیها در تفسیر نتایج حاصل از آزمایشات تعیین هویت بهره بهتری جست. لذا بر آن شدیم تا کار بر روی این مهم را با بررسی سه محل *HUMFESFPS*، *HUMVWA31/A* و *HUMTHO1* شروع نموده، با تهیه سایز مارکر اللی برای مردم ایران گامی در جهت تفسیر هر چه صحیحتر نتایج آزمایشهای *DNA Typing* برداریم و در اعتلای این علم در ایران سهمی داشته باشیم.

✳ مواد و روشها

نمونه‌گیری[1] بطور تصادفی و از افراد

۱ـ از آنجاکه مرکز تعیین هویت *DNA* واقع در ستاد مرکزی سازمان پزشکی قانونی کشور تنها مرکز این سازمان در ایران می‌باشد و افراد از تمامی مناطق و شهرها به این مرکز مراجعه می‌نمایند، نمونه‌گیری بصورت کاملاً تصادفی همچنان که مراجعات روزمره به سازمان صورت می‌پذیرد انجام شده است.
قابل ذکر است که هیچ یک از مناطق مورد بررسی وابسته به جنس نمی‌باشند لذا از ذکر جنسیت در جداول خودداری شده است. ضمناً تعداد افراد مورد آزمایش برای هر منطقه متفاوت بوده است و در ذیل جداول مربوطه ذکر شده است.

غیرخویشاوند مراجعه‌کننده به سازمان پزشکی قانونی کشور انجام پذیرفت. به این ترتیب که از هر نفر ۵ میلی‌لیتر خون تازه بر روی ضدانعقاد *EDTA* اخذ و تخلیص *DNA* از خون به روش *boiling* (۱۱) انجام گرفت. سپس غلظت *DNA* حاصل توسط اسپکتروفتومتری *UV* تعیین و محاسبه شد تا مقدار مناسب *DNA* که بایستی برای *PCR* براشت شود مشخص گردد.

تکثیر هر یک از سه محل یاد شده در حجم ۵۰ میلی‌لیتر و در بافری متشکل از مواد با غلظتهای زیر و با استفاده از ترموسایکلر فارماسیا مدل *Gene ATAQ* در ۳۰ سیکل انجام گرفته است (۸ و ۹ و ۱۰).

۱۰ *mM tris-cl (PH = ۸/۳)*

۵۰ *mM KCl*

٪۰/۰۱ *gelatin*

۱/۵ *mM $MgCl_2$*

۲۰۰ *mM each dNTP*

۰/۲۵ *mM each primer*

۱/۲ *units Taq DNA Polymerase*

۱ *mg genomic DNA*

ارزیابی مقدماتی نتیجه تکثیر، بوسیله الکتروفورز محصول *PCR* بر روی ژل آگارز ۲ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام شده، چنانچه تکثیر با موفقیت انجام گرفته بود جداسازی قطعات تکثیر شده مربوط به هر منطقه بر روی ژل پلی‌آکریل آمید ۱۰ درصد همراه با کراس لینکر بیس‌آکریل آمید در طول ۳۴ سانتی‌متر و با ضخامت ۰/۸ میلی‌متر با استفاده از سیستم الکتروفورز مدل:

(Gibco BRL Sequencing System SA60)

انجام و پس از اتمام الکتروفورز ژل حاصل توسط نیترات نقره رنگ‌آمیزی شده، الل‌های هر سیستم تک به تک جدا و شماره‌گذاری شدند.

✳ شاخص نردبانی یا سایز مارکر اللی *(Allelic Ladder)*

از جمله کارهایی که همزمان با بررسی پلی مرفیسم این مناطق در مرکز تعیین هویت *DNA* سازمان انجام شده تهیه شاخص نردبانی یا *Allelic Ladder* برای هر یک از لکوسهای فوق می‌باشد. توضیح اینکه شاخص نردبانی سایز مارکری متشکل از تمام الل‌های موجود در یک جمعیت می‌باشد

و یکی از مهمترین شاخصها در آنالیز و استفاده از هر لکوس ژنتیکی در موارد جنایی است. زیرا هر جمعیت می‌تواند الل‌های مخصوص به خود را داشته باشد که در جمعیتهای دیگر موجود نباشد. لذا بایستی ژنوتیپ هر یک از افراد مورد بررسی در یک جمعیت خاص با شاخص نردبانی اختصاصی که برای آن جمعیت ساخته شده مقایسه و الل‌های فرد از روی آن شاخص نامگذاری گردند. *Ladder* تهیه شده کاملاً قابل تکثیر بوده، می‌توان بطور مرتب آن را تکثیر نمود، در فریزر نگهداری کرد و در هر آزمایش که لکوس خاصی مورد بررسی قرار می‌گیرد از این *Ladder* برای تعیین ژنوتیپ افراد استفاده نمود.

✳نتایج

لکوس *HUMFES-FPS* واقع در اینترون ۵ از ژن *C-fes/fps Proto-oncogene* انسانی بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۵ قرار گرفته، دارای سکانس تکراری *(ATTT)n* می‌باشد. تاکنون ۶ الل برای این محل شناخته شده است که در اندازه بین ۱۴۳ تا ۱۶۷ جفت باز قرار می‌گیرند (۹ و ۶). در بررسی ما نیز ۶ الل در جمعیت مورد مطالعه یافت شد و هیچگونه الل حد واسطی دیده نشد (تصویر ۱).

همچنین فراوانی هر الل محاسبه گردیده که نمودار ۱ و جدول (۱ـب) نمایانگر آن است.

از بین ۲۱ ژنوتیپ ممکن ۱۱ ژنوتیپ و از ۶ ژنوتیپ هموزیگوت ممکن تنها ۳ مورد مشاهده گردید جدول (۱ـالف).

لکوس *HUMVWA31/A* با سکانس تکراری *(TCTA, TCTG)* یکی از سه ناحیه *STR* داخل اینترون ۴۰ از ژن فاکتور فون‌ویلبراند[1] می‌باشد. این ژن در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۲ بین نوکلئوتید ۱۶۴۰ و ۱۷۹۴ واقع شده است و طبق گزارشات موجود پلی‌مرف‌ترین منطقه بین این سه ناحیه است. اولین بار توسط *Kimpton* و همکارانش ۷ الل برای این لکوس معرفی شد ولی حالا در بعضی مناطق تا ۱۰ الل برای آن گزارش شده است (۷ و ۳). در این تحقیق ۸ الل برای جمعیت مورد بررسی شناخته شد که بین ۱۳۱ تا ۱۶۷ جفت باز قرار می‌گیرند. اختلاف هر الل از الل دیگر ۴ جفت باز بوده، هیچگونه الل حدواسطی

۱- *Vonwilebrand*

یافت نگردید (تصویر ۲).

نمودار ۲ و جدول (۲-ب) نمایش دهنده فراوانی الل‌های یافت شده در جمعیت مورد بررسی می‌باشند.

از بین ۳۶ ژنوتیپ ممکن برای این الل‌ها تنها ۲۵ ژنوتیپ و از بین ۸ ژنوتیپ هموزیگوت ممکن تنها ۴ مورد مشاهده گردید. جدول (۲-الف)

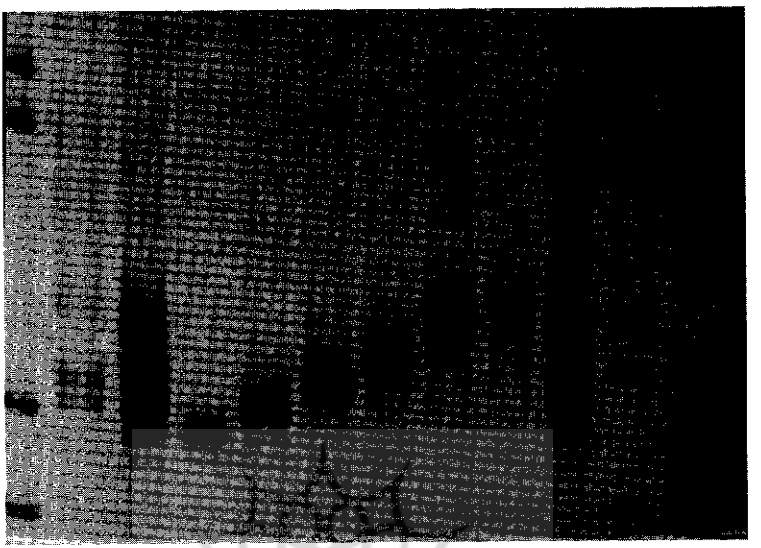
لکوس *HUMTHO1* واقع در اینترون ۱ از ژن *Tyrosin Hydroxylase* می‌باشد که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۱ قرار گرفته است. این لکوس متشکل از تعداد متغیری واحدهای تکرار شونده با سکانس *(AATG)* می‌باشد و تاکنون ۷ الل بین سایزهای ۱۸۷-۲۱۱ جفت باز برای آن شناخته شده است (۶و۱۰).

الل‌ها برحسب تعداد تکرارها شماره‌گذاری شده، اختلاف هر الل با الل دیگر ۴ جفت باز می‌باشد به استثنای یک الل شناخته شده حدواسط یا *(Intermediate)* که در این مطالعه نیز جدا گردید و بنام الل *i-۶* نامگذاری شد. الل فوق در تصویر ۳ با علامت پیکان در شاخص نردبانی علامت‌گذاری شده است.

براساس تحقیق حاضر در ایران نیز برای این سیستم ۷ الل یافت گردید که فراوانی هر یک را در نمودار ۳ و جدول (۳-ب) مشاهده می‌نمائید.

از بین ۲۸ ژنوتیپ ممکن برای این الل‌ها تنها ۱۶ ژنوتیپ و همچنین از بین هفت ژنوتیپ هموزیگوت ممکن تنها ۴ مورد را مشاهده کردیم جدول (۳-الف).

بدیهی است تعیین سکانس الل‌های یافت شده برای هر یک از سیستمهای نامبرده ارجح می‌باشد ولی از آنجا که در حال حاضر امکانات لازم برای این کار موجود نمی‌باشد و از طرف دیگر با توجه به اینکه سیستمهای مورد بررسی جزو مناطق *Simple STR* می‌باشند که تاکنون موتاسیون یا تأثیر شرایط مختلف آزمایش بر حرکت الکتروفورتیک آنها گزارش نشده است و نیز با توجه به اینکه هر الل با سایز مارکر اختصاصی که تحت شرایط یکسان در کنار نمونه‌ها الکتروفورز می‌شوند مقایسه و تعیین شماره می‌شود، نتایج حاصل بدون انجام *Sequencing* نیز کاملاً قابل بهره‌برداری خواهند بود (۶و۸).



۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹ ۱۰ ۱۱ ۱۲

تصویر ۱ ـ الل‌های سیستم *HUMFES / FPS*

ستون ۱: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*

ستون ۲: نمونه شاهد (دارای الل ۴ و ۵)

ستون ۳: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ و ۸)

ستون ۴: الل ۳

ستون ۵: الل ۴

ستون ۶: الل ۵

ستون ۷: الل ۶

ستون ۸: الل ۷

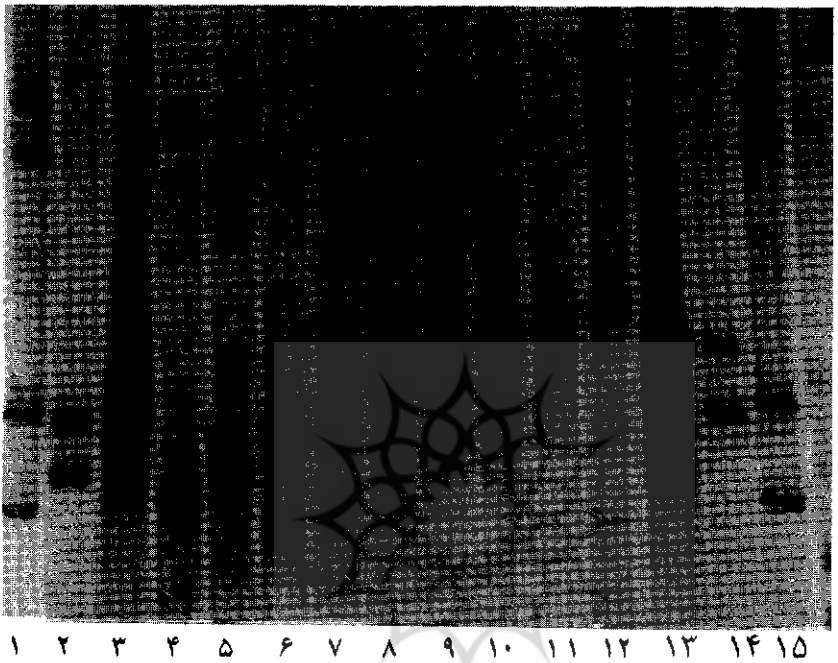
ستون ۹: الل ۸

ستون ۱۰: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ تا ۸)

ستون ۱۱: نمونه شاهد (دارای الل ۵ و ۷)

ستون ۱۲: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*

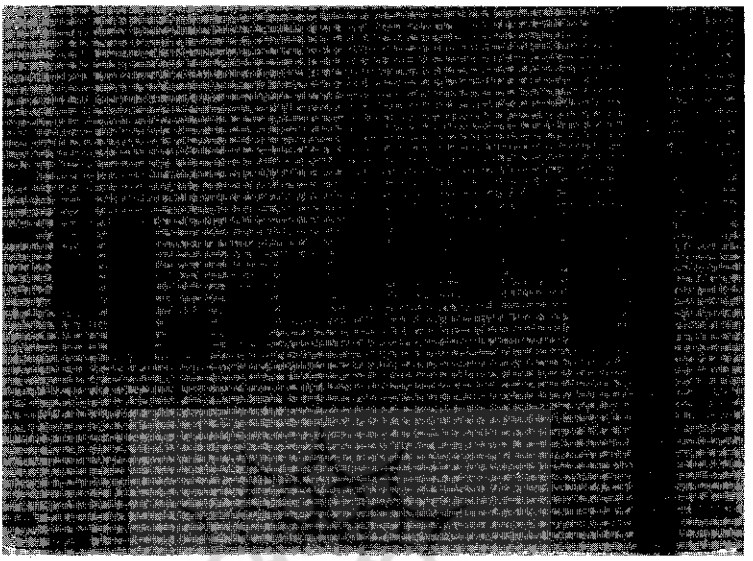
پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی



پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

تصویر ۲ ـ الل‌های سیستم *HUMVWA 31/A*

ستون ۱: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*
ستون ۲: نمونه شاهد (دارای الل ۴ و ۶)
ستون ۳: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ تا ۱۰)
ستون ۴: الل ۳
ستون ۵: الل ۴
ستون ۶: الل ۵
ستون ۷: الل ۶
ستون ۸: الل ۷
ستون ۹: الل ۸
ستون ۱۰: الل ۹
ستون ۱۱: الل ۱۰
ستون ۱۲: نمونه شاهد (دارای الل ۱۰ و ۱۰)
ستون ۱۳: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ تا ۱۰)
ستون ۱۴: نمونه شاهد (دارای الل ۶ تا ۹)
ستون ۱۵: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*



۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹ ۱۰ ۱۱ ۱۲ ۱۳

تصویر ۳ ـ الل‌های سیستم *HUMTHO1*

ستون ۱: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*

ستون ۲: نمونه شاهد (دارای الل ۵ و *i*ـ۶)

ستون ۳: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ تا ۸)

ستون ۴: الل ۳

ستون ۵: الل ۴

ستون ۶: الل ۵

ستون ۷: الل ۶

ستون ۸: الل *i*ـ۶

ستون ۹: الل ۷

ستون ۱۰: الل ۸

ستون ۱۱: سایز مارکر اللی (حاوی الل‌های ۳ تا ۸)

ستون ۱۲: نمونه شاهد (دارای الل ۳ و *i*ـ۶)

ستون ۱۳: سایز مارکر استاندارد *1 Kb*

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

ژنوتیپ	تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار
۳	۱	۰/۳۸
۴	۷	۷/۰۶
۴	۲۴	۲۱/۴۴
۴	۱۴	۱۵/۶۴
۴	۴	۴/۲۹
۵	۱۲	۱۶/۲۷
۵	۲۸	۲۳/۷۴
۵	۸	۶/۵۱
۶	۸	۸/۶۶
۶	۴	۴/۷۵
۷	۱	۰/۰۸
سایر موارد	۰	۲/۱۸
جمع کل	۱۱۱	۱۱۱

جدول ۱ ـ الف) فراوانی ژنوتیپها در سیستم *HUMFES/FPS*

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی
پرتال جامع علوم انسانی

الل	فراوانی
۳	۰/۰۰۴۵
۴	۰/۲۵۲۳
۵	۰/۳۸۲۹
۶	۰/۲۷۹۳
۷	۰/۰۷۶۶
۸	۰/۰۰۴۵

جدول ۱ ـ ب) فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMFES/FPS* (تعداد ۱۱۱ نفر)

تعداد مورد انتظار	تعداد مشاهده شده	ژنوتیپ
۰/۱۷	۱	۸ | ۳
۰/۴۹	۱	۴ | ۴
۱/۸۲	۲	۵ | ۴
۳/۲۹	۱	۶ | ۴
۳/۷۱	۳	۷ | ۴
۲/۳۱	۱	۸ | ۴
۱/۴۷	۳	۹ | ۴
۰/۳۵	۲	۱۰ | ۴
۱/۶۹	۲	۵ | ۵
۶/۱۱	۷	۶ | ۵
۶/۸۹	۴	۷ | ۵
۴/۲۹	۶	۸ | ۵
۲/۷۳	۳	۹ | ۵
۵/۵۲	۵	۶ | ۶
۱۲/۴۶	۱۲	۷ | ۶
۷/۷۵	۶	۸ | ۶
۴/۹۴	۹	۹ | ۶
۱/۱۸	۲	۱۰ | ۶
۷/۰۲	۹	۷ | ۷
۸/۷۵	۱۳	۸ | ۷
۵/۵۷	۲	۹ | ۷
۱/۳۳	۱	۱۰ | ۷
۲/۷۲	۲	۸ | ۸
۳/۴۷	۲	۹ | ۸
۱/۱۰	۱	۹ | ۹
۲/۸۹	۰	سایر موارد
۱۱۱	۱۱۱	جمع کل

جدول ۲ ـ الف) فراوانی ژنوتیپها در سیستم *HUMVWA31/A* (تعداد ۱۰۰ نفر)

فراوانی	الل
۰/۰۰۵	۳
۰/۰۷	۴
۰/۱۳	۵
۰/۲۳۵	۶
۰/۲۶۵	۷
۰/۱۶۵	۸
۰/۱۰۵	۹
۰/۰۲۵	۱۰

جدول ۲ ـ ب) فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMVWA31/A*

ژنوتیپ	تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار
۳ | ۳	۹	۷/۰۸
۳ | ۴	۱۲	۸/۳۹
۳ | ۵	۵	۹/۱۷
۳ | ۶	۱۳	۱۴/۱۶
۳ | ۷	۶	۷/۳۴
۴ | ۴	۳	۲/۴۹
۴ | ۵	۵	۵/۴۴
۴ | ۶	۵	۸/۳۹
۴ | ۷	۳	۴/۳۵
۴ | ۹	۱	۰/۱۶
۵ | ۵	۱۳	۹/۱۷
۵ | ۷	۶	۴/۷۶
۵ | ۸	۲	۰/۳۴
۶ | ۶	۸	۷/۰۸
۶ | ۷	۷	۷/۳۴
۷ | ۷	۳	۱/۹
سایر موارد	۰	۲/۴۸
۱۰۳	۱۰۳	جمع کل

جدول ۳ ـ الف) فراوانی ژنوتیپها در سیستم *HUMTH 01*

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی

الل	فراوانی
۳	۰/۲۶۲۱
۴	۰/۱۵۵۳
۵	۰/۱۶۹۹
۶	۰/۲۶۲۱
۷	۰/۱۳۵۹
۸	۰/۰۰۹۷
۹	۰/۰۰۴۹

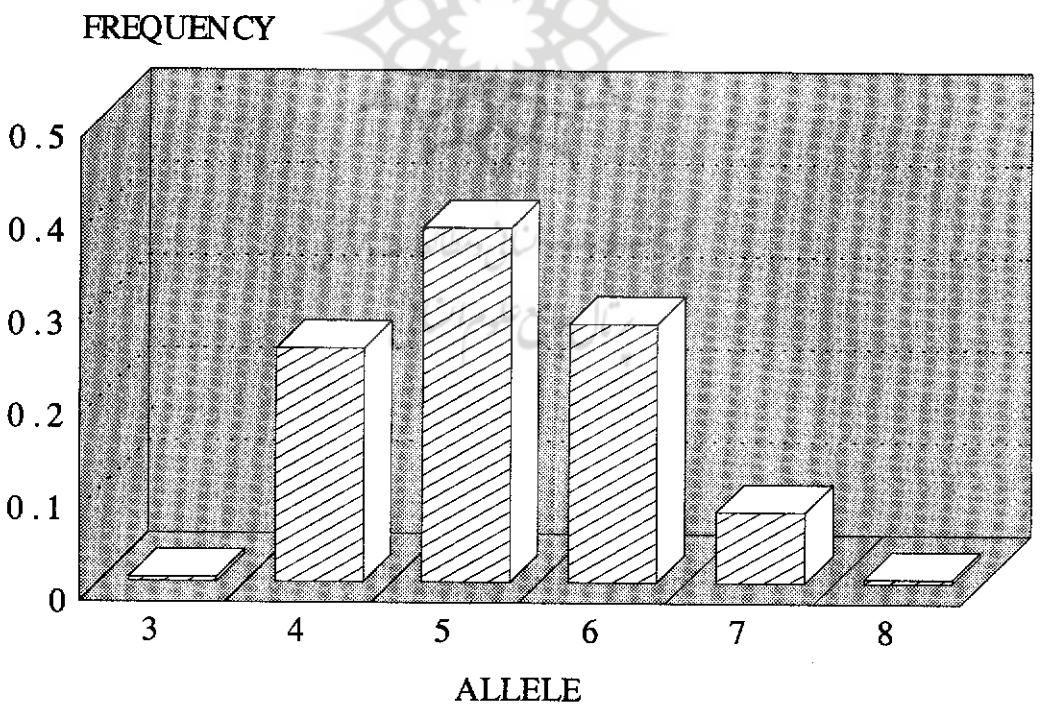
جدول ۳ ـ ب) فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMTH 01*(تعداد ۱۰۳ نفر)

	قدرت سیستم در رد کردن (PE)	قدرت تفکیک سیستم (DP)	هتروزیگوسیتی موردانتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده
HUMFES/FPS	٪۴۵	٪۸۶	٪۷۱	٪۷۶
HUMVWA 31/A	٪۶۳	٪۹۴	٪۸۲	٪۸۰
HUMTHO1	٪۵۸	٪۹۲	٪۷۹	٪۷۶

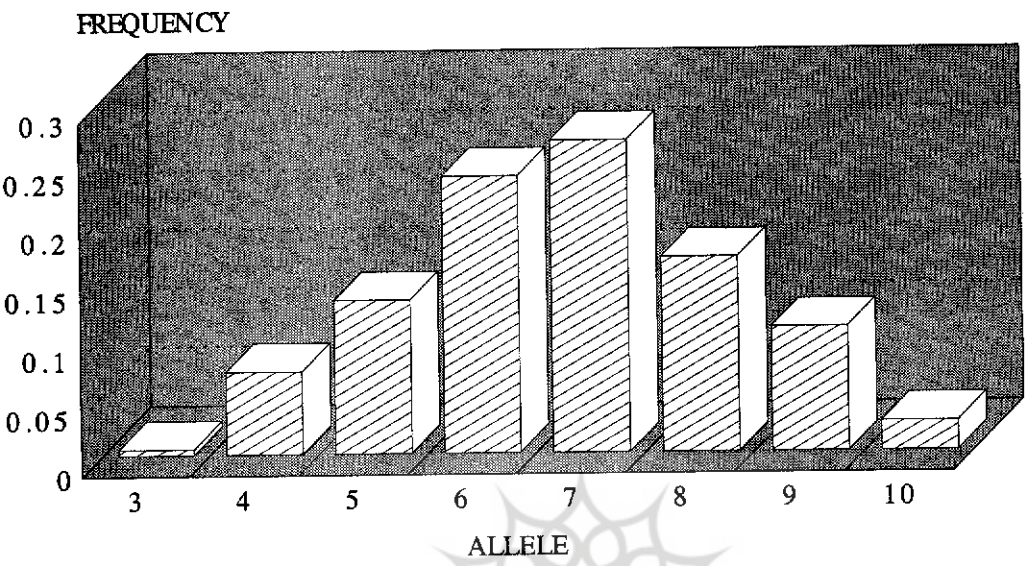
جدول ۴ ـ شاخصهای آماری در سیستمهای مورد مطالعه

	X^2	df	P. Value
HUMFES/FPS	۱۷/۲۰	۶	۰/۹۹۰
HUMVWA 31/A	۳۶/۷۸	۱۸	۰/۹۹۵
HUMTHO1	۲۴/۴۳	۱۱	۰/۹۹۰

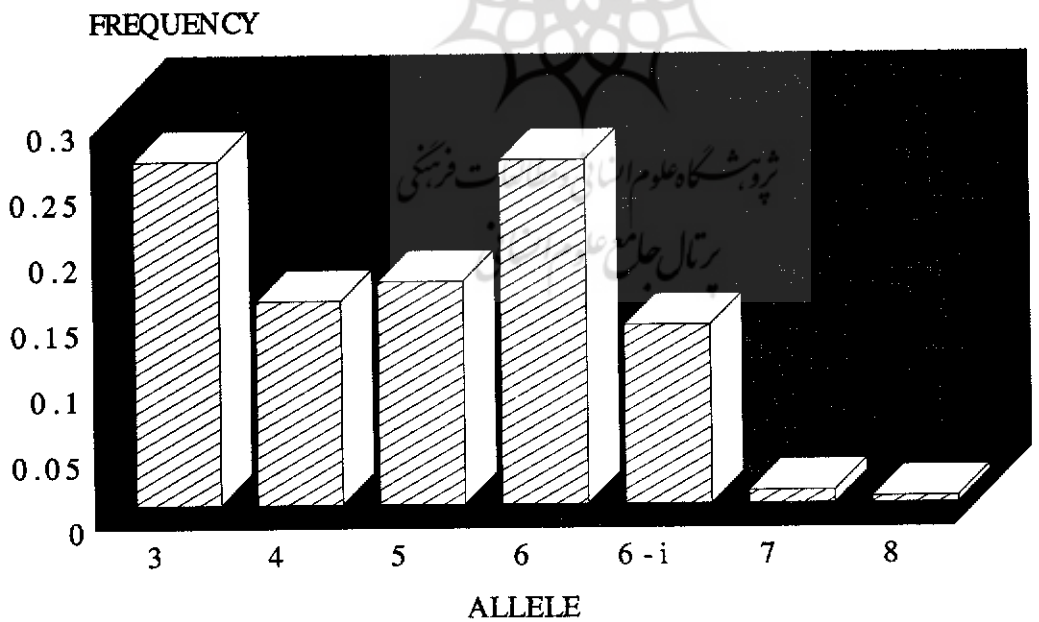
جدول ۵ ـ آنالیزهای آماری در سیستمهای مورد مطالعه



نمودار ۱ ـ فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMFES/FPS*



نمودار ۲ ـ فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMVWA 31/A*



نمودار ۳ ـ فراوانی الل‌ها در سیستم *HUMTHO1*

✱ بحث

از آنجایی که لازمه بکارگیری یک مارکر ژنتیک در موارد جنایی بررسی میزان انحراف نحوه توارث آن سیستم از رابطه تعادلی هاردی واینبرگ[1] می‌باشد تست استاندارد کای اسکوئر برای هر سه سیستم در جمعیت مورد بررسی انجام پذیرفت که در هیچ یک از سیستمها اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین ژنوتیپهای موردانتظار و ژنوتیپهای مشاهده شده از تعادل هاردی‌واینبرگ مشاهده نشد و این نشان دهنده قابل استفاده بودن سیستمهای فوق در بررسیهای تعیین هویت می‌باشد (جدول ۵).

همچنین برای نشان دادن پتانسیل مفید بودن هر لکوس، DP[2]، PE[3] و هتروزیگوسیتی نیز محاسبه گردیده، همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد هر سه سیستم از قدرت تفکیک نسبتاً بالایی برخوردار می‌باشند و هر یک به تنهایی می‌توانند کمک مؤثری در رد کردن اتهام باشند. همچنین هتروزیگوسیتی بدست آمده برای هر سیستم نشان دهنده درصد بالای ژنوتیپهای هتروزیگوت در جامعه مورد مطالعه می‌باشد که حاکی از ارزش کاربردی سیستم موردنظر برای بررسیهای تعیین هویت می‌باشد.

نهایتاً اینکه برای استفاده از هر یک از سیستمهای فوق در اثبات تشابه بین دو نمونه (مانند اثبات یکسان بودن نمونه‌ای که در صحنه جرم یافت شده است با نمونه اخذ شده از متهم) ابتدا ژنوتیپ هر نمونه در سیستم موردنظر در مقایسه با شاخص نردبانی مشخص شده، با در دست داشتن فراوانی الل‌ها در سیستم فوق احتمال تشابه برای هر سیستم بطور جداگانه محاسبه می‌گردد و چنانچه احتمال بدست آمده از نظر آماری قابل قبول نباشد اجباراً بایستی سایت دیگری نیز بررسی گردد و این کار آنقدر ادامه پیدا خواهد کرد تا به رقم آماری قابل قبول برسیم.

۱- *Hardy-Weinberg*

۲- *Discrimination Power*

بیان کننده درصد احتمالی است که اگر دو نفر بطور تصادفی از یک جمعیت انتخاب شوند دارای ژنوتیپهای متفاوت خواهند بود و میزان مورداعتماد بودن پلی مورفیسم را نشان می‌دهد.

۳- *Power of Exclusion*

بیان کننده درصد احتمال رد کردن اتهام از فردی است که اشتباهاً متهم شده است. مانند رد کردن ابوت از یک پدر فرضی که پدر بیولوژیک نمی‌باشد.

✳منابع

1 _ Beckman, J.S. and J.L. Weber. 1992. Survey of human and rat microsatelites. Genomics. 12: 627-631.

2 _ Biologic Evidence, forensic science service report. 11th international forensic scinece symposium 21-24 Nov. 1995, lyon, france.

3 _ C. Kimpton, A. Walton and P.Gill. A further tetranucleotide repeat polymorphism in VWF gene. Hum. Mol. Genet., vol.1, 1992. 287.

4 _ Cynthia J. sprecher, Christoph Puers. et al. 1996. General Approach to Analysis of Polymorphic Short Tandem Repeat Loci. Biotechniques. mar-apri. 84-92.

5 _ Edwards. A, H.A.Hammond, et al. 1991. DNA Typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. Am. J.Hum. Genet. 49: 746-756.

6 _ Helene Pfitzinger, Bertrand Iudes, et al. French Caucasian population Data for HUMTH01 and HUMFES/FPS Short Tandem Repeat (STR) Systems. March 1995. Journal of forensic sciences. vol. 40, No.2, pp: 270-274.

7 _ H.K. Ploos Van Amstel.R.H.Reitsma., Tetranucleotide repeat polymorphism in VWF gene. Nucleic Acid Research. 18 (1990) 4957.

8 _ M.A. Drozd, L.Archard. et al. An investigation of the HUMVWA31/A locus in British caucasians. forensic science international. 69 (1994)161-170.

9 _ Michael H. polymeropoulos, Denise S. Rath, et al. Tetranucleotide repeat polymorphism at the human c-fes/fps proto-oncogene (FES). Nucleic Acid Research.1991. vol. 19, No. 14, 4018.

10_ Polymeropoulos, M.H., Xiao., H., et al. Tetranucleotide Repeat Polymorphism at the human tyrosine hydroxylase gene (Th). Nucleic Acid Research. 1991. vol. 19, No. 13, p.3753.

11_ Sambrook. Fritsch. Maniatis. 1989. Molecular cloning a laboratory manual. CSH. 2th ed. 1.34-1.35.