Gynaecol Perinatol 2005;14(Suppl. 2):S17-21

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju u Sarajevu,*
Laboratorij za kliničku i forenzičku genetiku u Splitu**

MOGUĆNOSTI TESTIRANJA SPORNOGA OČINSTVA I MAJČINSTVA PRIMJENOM METODA DNA ANALIZE

CAPABILITY OF DNA PATERNITY AND MATERNITY TESTING

Naručeno predavanje Invited lecture

Damir Marjanović,* Vedrana Škaro,** Dragan Primorac**

Ključne riječi: testiranje spornog očinstva, DNA analiza, bezmajčinsko, prenatalno i posthumno testiranje očinstva

Sažetak. Recentna znanstvena otkrića iz područja molekularane biologije, spoznaje populacijsko - genetičke strukture humanog genoma i tehničko-tehnološki napredak, omogućili su široj javnosti signifikantno dostupnije putove testiranja spornog paterniteta primjenom DNA analize. U tom procesu bitnu ulogu, između ostalog, ima i način prezentacije rezultata koji je bitno simplificiran u pravcu što jasnijeg i preciznijeg prikazivanja. Utvrđivanje ili osporavanje očinstva se prethodno baziralo na metodama ispitivanja krvnih grupa i proteinskih markera, kao i na promatranju nasljednih bioloških osobina osoba za koje se tvrdi da su najbliže krvno srodnički povezane. Ove metode su skoro u cijelosti potisnute u drugi plan primjenom mnogo preciznije i informativnije DNA analize. Kao prednost DNA metode, posebno, treba podvući pouzdanost ostvarenih rezultata, ali i polazne elemente kao što su jednostavnost procedura prikupljanja uzoraka, mogućnost testiranja očinstva i u slučajevima odsustva majke te prenatalno ili pak posthumno testiranje paterniteta. Danas, testiranje očinstva, odnosno DNA analiza uopće, uslijed svoje jednostavnosti, djelotvornosti i brzine prelazi okvire standardne molekularno-genetičke ili sudsko-medicinsko metode i javlja se skoro kao sastavni segment svakodnevnog funkcioniranja ljudskog društva.

Key words: disputed paternity testing, DNA expertise, motherless, prenatal and postmortem paternity testing

Summary. The latest scientific breakthroughs in the field of molecular biology, as well as its joint treatment with newest population genetic findings and technological improvement, made disputed paternity testing by applying DNA expertise more suitable for wider public usage. Very important part in this process is to perform simple and precise way of final results presentation. Previously, paternity testing has traditionally used blood groups and protein markers, as well as observation of hereditary biological characteristics of the persons who are claimed to be in the closest family relationships.

These methods are largely supplanted by the much more powerful DNA methods. It is necessary to emphasize advantage of DNA analysis in reliability of observed results, but also in simplification of sample collection procedure, motherless paternity testing cases and possibility of prenatal and postmortem paternity testing by DNA profiling from chorionic villi, amniotic fluids and skeletal remains. Currently, DNA paternity testing, as well as DNA analysis by whole means, through its simplification, efficiency and procedural shortness, is crossing over standard molecular-genetic court-medicine frames and turns out to be almost usual element of human society activities on a daily basis.

Pregled metoda testiranja spornog očinstva i osnovni postulati razvoja DNA analize

Analize spornoga očinstva, u suvremenim uvjetima, doživjele su značajnu transformaciju, osobito u posljednjih deset godina. Povijesni pregled ove metode može se započeti vizualnim promatranjem fenotipskih biljega, duboko ukorijenjenom u našem društvu, a prezentacija rezultata tih »ispitivanja« svodi se na dva tautološka iskaza: *slične* ili *ne slične*. Provođenjem detaljnog antropološkog vještačenja djeteta i potencijalnog biološkog oca, moglo se doći do zaključka je li dijete potomak određenog muškarca. Ovaj vid ekspertize primarno se bazira na promatranju većeg broja nasljednih svojstava za koje se sa sigurnošću zna da ih dijete nasljeđuje od svojih roditelja. Određene morfološke oznake se mjere, uspoređuju i fotografiraju, pri čemu se u obzir uzima veći broj elemenata temeljem kojih se analizira podudarnost, odnosno odstupanje te se na osnovu toga donose određeni zaključci.[1] Ipak, identifikacija i analiziranje fenotipskih biljega u procesu utvrđivanja spornog očinstva, iako je pronašla konkretnu primjenu, nije mogla u svakom slučaju dati rezultate kojima bi se pokazalo potječe li određeno dijete od određenog muškarca ili ne. Organizam predstavlja rezultat simultanog djelovanja dva kompleksna sustava faktora koji ga formiraju, pri čemu je najveći broj vanjskih individualnih obilježja nemoguće povezati isključivo s nasljednim faktorima te s tim u vezi bitno limitira broj fenotipskih parametara koji se mogu koristiti u ovakvim usporednim analizama. Napomene radi, unutarnji faktori su nosioci nasljedne informacije (genotip) i unutartjelesne sredine, a vanjske predstavlja kompleksni skup koji obuhvaća brojne utjecaje okoliša u kojoj živi promatrani organizam.

Tijekom znanstvenog istraživanja sa ciljem pronalaska mogućnosti za masovniju primjenu transfuzije krvi, otkriveni su markeri ABO sustava čija je geneza pod isključivom kontrolom navedenih unutrašnjih faktora. Naime, Karl Landsteiner (1901) je opisao krvne grupe A, B i O.[2] Nešto kasnije njegovi suradnici Decastello i Sturli (1902), a neovisno o njima Jansky (1906) i Moss (1910) opisali su i krvnu grupu AB.[2] Konačnu nomenklaturu vezanu za ABO krvni sistem predložili su von Dungren i Hirszfeld (1910), a higijenska komisija Lige naroda ju je prihvatila 1928. Metoda određivanja krvnih grupa, bazirana na principu fiziološke izoaglutinacije između seruma jedne i eritrocita (krvi) druge grupe, pronašla je svoju široku primjenu u medicini.[3] Naknadno otkrivanje drugih sustava krvnih grupa, prvenstveno Rh (Landsteiner i Wiener) 40 godina poslije,[3] kao i postojanje krvnih podgrupa u okviru osnovnog ABO sistema, uvjetovalo je široku primjenu ovih biljega u procesu forenzičke analize bioloških tragova, ali i dobivanje pouzdanijih rezultata u analizama spornog očinstva. Više autora (Langer, Hen, Ottenberg i Ekstain) je već na samom početku ukazalo na mogućnost nasljeđivanja krvnih grupa od roditelja. Već 1910 godine von Dungren i Hirszfeld su zaključili da se one nasljeđuju *po Mendelovim zakonima*.[2] Sada već povijesnu tezu o monogenskoj kontroli nasljeđivanja krvnih grupa, u koju su uključena tri glavna alela, postulirao je Bernstein već 1923. godine. Ispitivanje krvnih grupa i faktora djeteta, majke i osobe za koju se sumnja da je otac, odnosno čije se očinstvo osporava primjenjivalo se u medicinskim vještačenjima sve do uspostavljanja osnovnog okvira za primjenu DNA analize. Ipak, ne može se analize prvenstveno služe isključivanju, a ne dokazivanju očinstva, s tim što treba naglasiti da je i ovo moguće u maksimalno 90% slučajeva i to iznimno pouzdanim i složenim metodama.

Pedeset godina nakon revolucionarnog otkrića molekularne strukture osnovnog nosioca nasljeđa od strane Watsona i Crick-a, koje je bilo par godina kasnije nagrađeno i Nobelovom nagradom, molekula DNA je prihvaćena u najčešće spominjanu i korištenu organsku stancu u širokom dijapazonu naučnih disciplina.[4] Usporedo s tim, poznavanje strukture ove molekule omogućilo je razvoj novih metoda koje su našle svoju primjenu u skoro svim područjima svakodnevnoga života. Jedne od tih metoda je forenzičko DNA testiranje, poznato pod i *DNA fingerprinting*.

DNA typing u forenzičke svrhe bazira se na osnovu fundamentalnim principima i koristi skoro iste metode koje se rutinski koriste u medicinskoj dijagnostici i u različitim populacijsko-genetičkim istraživanjima. Sve molekularne metode se baziraju na analizi osnovnih svojstva svih živih bića – molekularnoj biorazno Kao rezultat zajedničih osnovnih postulata danas standardne molekularne i populacijsko-genetičke tehneznatne modifikacije, pronašle svoju primjenu vanju i prezentaciji konačnih rezultata u područji zičke znanosti. Osnovna karakteristika ovih me da se na osnovi malih količina DNA prisutnih u biološkom tragu može, s visokim stupnjem sig utvrditi genetički identitet osobe koja je taj trag za sobom.[5]

Spektar molekularnih biljega korištenih u primijenjenog DNA profiliranja je doista širok. K od najviše istraženih vrsta molekularnih biljega se ponavljajući slijedovi, koji čine 20–40% geno koga sisavca,[6] za razliku od genoma nižih eukar se prvenstveno sastoje od *single and low copy* va.[7] Prvobitno su bili korišteni tzv. VNTRs (Variable Numbers of Tandem Repeats). Prema h osebičnoj« DNA (*Selfish DNA hypothesis*) ovi, ostali ponavljajući slijedovi, imaju sposobnost replikacije unutar genoma.[8] Tipično VNTR po

sastoji od 500 do 1000 parova baza, u okviru kojih se ponavljaju tandemske ponavljajuće jedinice u dužini od 15–35 parova baza. Broj ukupnog ponavljanja tih jedinica varira od lokusa do lokusa. Osnovna upotrebna vrijednost ovih markera bazira se na njihovom visokom stupnju molekularne raznolikosti. Ipak, relativno duga procedura i problemi prilikom prezentacije krajnjih rezultata uvjetovale su tendenciju potiskivanja upotrebe ovih markera, u području forenzičke DNA analize.

Otkriće i primjena STR biljega su ubrzale taj proces. Prava vrijednost ovih biljega je jednostavnost samoga procesa, kao i mogućnost istovremenog promatranja većeg broja STR lokusa. STR lokusi se baziraju na pojavljivanju slijedova dužine 2–5 parova baza koje se ponavljaju određen broj puta i čiji broj ponavljanja varira od individuuma do individuuma.[9] S obzirom na veliku upotrebnu vrijednost, primjena ovih biljega jasno je precizirana i definirana.[10] Nije neuobičajeno da dvije osobe imaju iste alelne varijante na promatranom STR lokusu, pa čak da se poklapaju i na dva ili tri STR lokusa, ali vjerojatnost da postoje dvije osobe s identičnim alelnim varijantama na npr. 15 STR lokusa, zastupljenih u *PowerPlex* kitu za kavkazoidno stanovništvo, prema Sprecheru[11] iznosi $1/1,83 \times 10^{19}$. To znači da bi ljudska populacija morala brojati 18.300.000.000.000.000 individuuma da bi zadovoljila matematički model u kojem bi takvo poklapanje bilo vjerojatno. U posljednje vrijeme ovi slijedovi su postali veoma privlačni kao predmet istraživanja, jer se pokazalo da su određeni trinukleotidni STR lokusi, u slučajevima njihove hiperekspanzije, povezani s određenim genopatijama.[12]

Posljednjih godina dvije vrste biljega su privukle pažnju znanstvene javnosti. Radi se o STR lokusima smještenim na Y spolnom kromosomu, čije je postojanje karakteristično samo za muškarce. Primjena ovih markera trebala bi biti ključna u bezinajčinskom testiranju spornog očinstva, kao i slučajevima silovanja, s obzirom da se tako izbjegava pojavljivanje miješanih profila uzoraka žrtve i napadača, koje su se frekventno dobivale prilikom analize autosomalnih kromosoma, što je dodatno otežavalo krajnju interpretaciju rezultata. Drugi spomenuti biljezi obuhvaćaju SNPs (single nucleotide polymorphism) i male insercijske-delecijske (indel) pozicije locirane na nerekombinirajućem području *Y* kromosoma (*NRY*). Ovi holandrični biljezi nasljeđuju se isključivo očinskom linijom, što ovaj kromosom čini moćnim pokazateljem u različitim populacijsko-genetičkim i evolucijskim studijama.[13] Karakterizira ih niska stopa paralelnih mutacija, što ih čini izuzetno pogodnim za identificiranje i praćenje očinske linije i tisućama godina unazad.[14]

Na ovome mjestu važno je ukazati na par revolucionarnih znanstvenih radova koji su usmjerili proces DNA analize očinstva ka njegovu simplificiranju i ubrzanju; to je ujedno i najznačajnije obilježje koje je omogućilo masovnu uporabu ove metode. Od Jeffrey-a i prve DNA analize[15] i Mullisovog otkrića PCR tehnologije[16] – preko zamjene Klenovog fragmenta Taq polimerazom[17] i uvođenja komercijalnih kitova sa setom STR markera u proces identifikacije i testiranja spornog očinstva,[18] kao i istovremeno tehničko unapređenje nužne opreme, prvenstveno PCR uređaja i genetičkih analizatora (prvo gel, a onda i kapilarnih) razvoj ovoga vida markiranja humanih individuuma tekao je neprekidnim tijekom prateći pravac geometrijske progresije. Potvrda navedenoga može se prezentirati najobičnijim »izlaskom« na popularni *Internet* i upisivanjem magičnih riječi *DNA paternity testing*. Ove riječi otvorit će vam široku lepezu marketinških ponuda.

Osnovne faze procesa DNA analize[19]

Prikupljanje uzoraka

Sakupljanje »DNA dokaza« s mjesta zločina ili pak prigodom rutinskog utvrđivanja spornog očinstva, mora biti precizno standardizirana procedura s jasno definiranim odrednicama, koje se obligatno i dosljedno poštuju. To je jedini način kojim se može osigurati kvalitetna detekcija upotrebljivih DNA profila u sudskim procesima. Razvoj modernih metoda omogućio je analiziranje količinski deficijentne i visoko degradirane DNA u biološkim tragovima, ali je sa druge strane obvezao na izuzetne mjere opreza prigodom kontakta i manipuliranja tim tragovima (zbog moguće kontaminacije). Prikupljanje, pohranjivanje i transport ovakvih bioloških tragova su početne, ali najčešće i ključne faze uspješnog provođenja DNA analize.

Ekstrakcija ukupne genomske DNA

Nakon prikupljanja uzoraka slijedi ekstrakcija ukupne genomske DNA. U ovome procesu nužnim se javlja optimizacija različitih postupaka ekstrakcije, kako standardnih laboratorijskih (organska, isoljavanje) tako i komercijalnih (Qiagen, Chelex, IQ...), jer su se neke od njih pokazale pogodnijim za određeni tip uzoraka. Danas postoji veliki broj jednostavnih i brzih postupaka ekstrakcije ukupne genomske DNA koji bitno skraćuju vremenski interval potreban za provođenje cjelokupne analize. Postojanje više optimiziranih ekstrakcijskih postupaka omogućava izbor najbržeg i najjednostavnijeg ali i najjeftinijeg, u danom slučaju.

Umnožavanje ciljanih DNA markera

Ovaj proces omogućava umnožavanje ciljanih područja DNA molekule. Prvi put je opisana u radovima Mullisa iz 1987, a značajno modificirana uvođenjem Taq polimeraze u sam proces. Odabir seta molekularnih biljega za ovaj proces u laboratoriju vođen je činjenicom da potencijalno zastupljeni lokusi u korištenom multipleksu omogućavaju korespodenciju i razmjenu rezultata sa skoro svim postojećim svjetskim bazama podataka. Zato je za umnožavanje i detekciju ciljanih STR sustava pogodno korištenje multipleks sustava, koji podržavaju istovremeno umnožavanje većeg broja lokusa. Ovako inkorporirani kompleksi početnica omogućavaju analizu ponekad i 16 lokusa nakon pojedinačne reakcije umnožavanja.

Detekcija rezultata umnožavanja

Nakon umnožavanja slijedi faza detekcije koja se odvija na nekom od analitičkih uređaja te se uporabom raz-

ličitih software-a, u određenim fazama procesa, generiraju konačni genetički profili. Neke od ovih metoda detaljnije su opisane u ranijim poglavljima. Detekcija, kao finalna faza procesa utvrđivanja genetičkoga identiteta osobe ili biološkoga traga je automatizirana procedura, koja je najviše podložna promjenama i učestalim inovacijama. Te promjene u biti prate trendove napretka u informatičkoj tehnologiji i težnju ka potpunoj automatizaciji procesa. Radi komparativnosti rezultata, kao i certifikacije laboratorija nužno je u skladu s materijalnim mogućnostima pratiti taj razvoj. Aktualni trend u ovom području je smjena gel DNA analitičkih uređaja s novim kapilarnim sustavima i pretpostavka je da će se potpuna smjena generacija ovih uređaja završiti u idućih pet godina. Svi laboratoriji koji se u sljedećih par godina ne preorijentiraju na kapilarne instrumente mogli bi imati velike probleme sa skupom nabavkom kemikalija i povećanjem troškova cijele analize.

Statistička analiza rezultata

Tipovi statističke analize rezultata profiliranja, koji se obično predstave tablično, variraju u ovisnosti o slučaju. Ipak, statistički postupci su jasno opisani za sve potencijalne mogućnosti, bilo da se radi o standardnom ili bezmajčinskom utvrđivanju očinstva ili pak o testiranju samoga majčinstva. Osnovni princip je »prepoznavanje« roditeljskog genetičkog materijala u genomu ispitivanog djeteta i statističkoj obradi, koja se osniva na poznavanju različitosti promatranog biljega unutar dane populacije kojoj ispitanici pripadaju, i vjerojatnosti da zapažene alelne varijante detektirane u djeteta potječu od roditelja koji se testira naspram neke hipotetičke nesrodne osobe *(tablica 1)*. Krajnji rezultati se prezentiraju u završnom izvještaju, koji se u biti sastoji od uvodnoga dijela s osvrtom na kratku povijest uzorka, segmenata u kojem se navode korištene metode te paragrafa u kojem se tablično prikazuju analizirani profili i rezultati statističke analize i na kraju zaključka kojeg donosi stručna osoba na osnovu predočenih činjenica.

Tablica 1. DNA profili majke, djeteta i potencijalnog oca
Table 1. DNA profiles of mother, child and alleged father

STR Lokus	Majka	Dijete	Obligatni alel	Potencijalni otac
D3S1358	17 : 18	15 : 17	15	15 : 16
TH01	8 : 9.3	8 : 9	9	9 : 9
D21S11	29 : 31.2	29 : 29	29	28 : 29
D18S51	14 : 14	12 : 14	12	2 : 16
PENTA E	7 : 7	7 : 7	7	7 : 12
D5S818	11 : 13	12 : 13	12	11 : 12
D13S317	8 : 13	8 : 11	11	10 : 11
D7S820	9 : 9	9 : 9	9	8 : 9
D16S539	9 : 10	9 : 10	9, 10	10 : 12
CSF1P0	10 : 15	10 : 12	12	11 : 12
PENTA D	9 : 13	9 : 12	12	11 : 12
VWA	16 : 16	16 : 18	18	15 : 18
D8S1179	11 : 13	12 : 13	12	12 : 16
TPOX	11 : 11	8 : 11	8	8 : 11
FGA	21 : 23	23 : 23	23	20 : 23
Amelogenin	XX	XY	Y	XY

Značenje primjene analize DNA u postupcima utvrđivanja/osporavanja očinstva

DNA analiza trenutno zadovoljava sve kriteri zetno pouzdane i podobne metode za testiranje sj očinstva.[20] Istovremena primjena više od 13 biljeg tuje dobivanje vjerojatnosti potvrđivanja spornoj stva u postotku većem od 99,999%. Jedna od r nedoumica, koja se već usuglašava na nivou dr legislativa (a koja ne proizlazi iz same metode procesa optimizacije statističke obrade podataka) j simalni broj lokusa na kojima se može zapaziti ne panje, a da se očinstvo potvrdi. Naime, uvijek mogućnost individualne mutacije na nekom od p tranih lokusa. U različitim zemljama se ovakvi sl različito tretiraju, ali bitno je napomenuti da je o preduvjet za donošenje odluke o ovome pitanju đenje populacijsko-genetičke analize koja bi po učestalost mutacija na ispitivanim markerima. Bez na to, DNA analiza se uspješno koristi kako u p vanju, tako i u isključivanju očinstva. Ona je d jedina metoda koja se u prezentaciji svojih rezul bližila (u stvarnosti nepostojećoj) vjerojatnosti od

Bitna prednost ove metode je i jednostavna i be procedura uzimanja uzoraka što je čini izuzetno p nom za primjenu kod manje djece. Naime, za testiranja spornoga očinstva nije više nužno prik krvi. Dovoljno je uzeti uzorak bukalne sluznice t vatiranog štapića o unutarnju (usnu) stranu obra mjena ove neagresivne metode prikupljanja polaz raka bazira se na činjenici da sve jezgraste hum nice (svakako ako isključimo spolne haploidn sadrže isti »genetički zapis«. Tako se kao polazn osim već navedene krvi i bukalne sluznice, mo stiti i tragovi pljuvačke (sa cigara, opušaka i sl (prvenstveno sa korijenom), sperme, različit (uključujući i embrionalno tkivo) pa čak urina Ovo dobiva na značaju kada se istražuje spórno u slučajevima kriviičnih radnji tj. silovanja.

Također, bitna je i činjenica da DNA analiza ćava visoko pouzdano utvrđivanje očinstva i u odsustva majke.[21] To se bazira na promatranju larnih markera vezanih za Y kromosom, koji se nosti nasljeđuje očevom linijom ili pak na slože stičkoj analizi rezultata dobivenih analizom au nih markera. Ta činjenica dovela je do porast beznajčinskog testiranja očinstva i ovaj oblik promovirala u izuzetan komercijalno isplativ u Bez obzira na potencijalne etičke barijere koje pod znak pitanja opravdanost bilo kakvog »ge testiranja« djeteta uz pristanak samo jednog i, u broju slučajeva, bez znanja drugog roditelja, činsko testiranje očinstva se nalazi na udarnim širokog dijapazona ponuda velikog broja privat laboratorija.

Na istim molekularnim i statističkim princip ra se i dokazivanje majčinstva. Naime, učest u potencijalne zamjene novorođenčadi kao i

povećan, broj slučajeva čedomorstva otvorile su vrata testiranju majčinstva. Ova metoda se i dalje prvenstveno bazira na analizi autosomalnih markera, ali se po potrebi dodatno može proširiti, tj. »pojačati« analizom mitohondrijske DNA, koja se nasljeđuje isključivo majčinskom linijom. Također, u posljednje vrijeme se X kromosom počinje promatrati kao entitet koji bi eventualno mogao poslužiti i u ovom vidu primijenjene molekularne genetike.

Najnovije metode ekstrakcije i analize DNA omogućile su uspješno detektiranje DNA profila iz koštanih bioloških tragova. Ta činjenica omogućava i posthumno utvrđivanje očinstva, što je pronašlo i široku primjenu u procesu DNA identifikacije žrtava rata ili drugih katastrofa, i u postupcima utvrđivanja nasljednika umrle osobe. Ove metode omogućavaju testiranje spornoga očinstva čak i nakon nekoliko stoljeća, kao što to ilustrira i glasoviti slučaj američkog predsjednika Jefferson-a.

S druge strane bitno je naglasiti i mogućnost ranog prenatalnog testiranja spornoga očinstva. U ovim slučajevima kao polazni uzorak se može uzeti amnionska tekućina koja okružuje plod ili pak korionske resice samog ploda. Prikupljanje ovih uzoraka identično je metodama koje se koriste za različite dijagnostičke testove za rano utvrđivanje potencijalnih genetičkih poremećaja. Kao prednost ove procedure može se navesti podatak da je testiranje očinstva moguće već u 10. tjednu (analizom korionskih resica) odnosno u 12. tjednu trudnoće (analizom amnionske tekućine).* Daljnje procesiranje uzoraka se bitno ne razlikuje od standardiziranih procedura.

Iz navedenog se može zaključiti kako je definitivno i dokazivo znanstvena metoda analize DNA u postupcima utvrđivanja i osporavanja očinstva/majčinstva trajan napredak djelotvornosti sudsko-medicinskog postupka u ovim sporovima.[1]

Literatura

1. Primorac D. Primjena analize DNA u sudskoj medicini i praksi. Zagreb: Matica hrvatska, 2001.

2. Milosavljević M. Osnovi forenzičke biologije. Sarajevo: UG Obrazovanje gradi Bosnu i Hercegovinu, 2000.

3. Lewin B. Genes VI. New York: Oxford University Press 1997.

4. National Research Council. The evaluation of Forensic DNA Evidence. Washington: National Academy Press, 1996.

5. Butler J.M. Forensic DNA Typing – Biology & Technology behind STR Markers. San Diego: Academic Press, 2001.

6. Singer MF. Highly repeated sequences in mammalian genomes. Inter Rev Cytol 1982;76:67–112.

7. Hardman N. Structure and function repetitive DNA in eukaryotes. Biochem J 1986;234:1–11.

8. Charlesworth B, Sniegowski P, Stephan W. The Evolutionary dynamics of repetitive DNA in Eukaryotes. Nature 1994;371: 215–9.

9. Jelinek WR, Schmid CW. Repetitive Sequences in Eukaryotic DNA and Their Expression. Ann Rev Biochem 1982;51:813–44.

10. Bar W, Brinkmann B, Lincoln P, Mayr WR, Rossi U. DNA recommendations – 1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) systems. Int J Leg Med 1994;107:159–60.

11. Sprecher C, Krenke B, Amiott B, Rabbach D, Grooms K. The PowerPlex™ 16 System. Profiles in DNA 2000;4:3–6.

12. Rubinsztein DC et al. Microsatellite evolution – Evidence for directinality and variation in rate between species. Nature Genetics 1995;10:337–43.

13. Jobling MA, Tyler-Smith C. The human Y chromosome: an evolution marker comes of age. Nature Rev Genet 2003;4:598–612.

14. Y Chromosome Consortium. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. Genome Res 2002;12:339–48.

15. Jeffreys A. Brookfield J, Semeonoff R. Positive Identification of an Immigration Test – Case Using Human DNA Fingerprints. Nature 1985;317:818.

16. Mullis KB, Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase chain reaction. Meth Enzymol 1987;155:335–50.

17. Randall KS. The design and optimization of the PCR – PCR technology principles and application for DNA amplification (Erlich H.A. Ed). W.H. Freeman and Company, 1988.

18. Thomson JA, Pilotti V, Stevens P, Ayres KL, Debenham PG. Validation of short tandem repeat analysis for the investigation of cases of disputed paternity. Forensic Sci Int 1998;100:1–16.

19. Marjanovic D, Dobraca I, Drobnic K. Prikupljanje, transport i prezervacija uzoraka za DNK analizu. Sarajevo: INGEB, 2005.

20. Primorac D, Schanfield SM, Primorac D. Application of forensic DNA in the legal system. Croat Med J 2000; 41:33–47.

21. Lee HS, Lee JW, Han GR, Hwang JJ. Motherless case in paternity testing. Forensic Sci Int 2000;114:57–65.

Adresa autora: Dr. sci. Damir Marjanović, Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Kemalbegova 10, 71000 Sarajevo, BiH

* Podatak dostupan na http://www.genetree.com/product/prenatal-paternity-testing.asp