

Sensitivity study of the Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit in forensic casework samples

Ju Yeon Jung¹★, Kyoung Sook Kim², Sun Wha Park³, Si Keun Lim¹,
Dong Sub Lee¹ and Yang Han Lee¹

¹Forensic DNA Division, National Forensic Service, Wonju 26460, Korea

²DNA Analysis Division, Seoul Institute, National Forensic Service, Seoul 08636, Korea

³Forensic Medicine Division, Daejeon Institute, National Forensic Service, Daejeon 34054, Korea

(Received January 3, 2016; Revised February 11, 2016; Accepted February 12, 2016)

법과학 현장시료에서 Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit의 민감도 연구

정주연¹★ · 김경숙² · 박선희³ · 임시근¹ · 이동섭¹ · 이양한¹

¹국립과학수사연구원 본원 법유전자과

²국립과학수사연구원 서울과학수사연구소 유전자분석과

³국립과학수사연구원 대전과학수사연구소 법의학과

(2016. 1. 3. 접수, 2016. 2. 11. 수정, 2016. 2. 12. 승인)

Abstract: A variety of Y-STR analysis kits have been developed and used in the forensic field. Prior to the forensic application of a new kit, laboratory validation and sensitivity tests are essential processes in selecting suitable alternatives and for assuring that standard operating procedures are followed. In this paper, we have performed a sensitivity study of a new commercial kit, the Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit (Yfiler plus kit, released in 2014) by comparing it with the AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit (Yfiler kit, released in 2004). The Yfiler plus kit includes the 17 Y-STR loci of the Yfiler kit and has been supplemented with 10 new Y-STR loci. First, we analyzed the sensitivity difference between the two kits using commercial control DNA 2800M and 007. In addition, we compared the detection rate between the two kits from the 16 selected forensic casework samples of less than 0.5 ng concentrations. The results show that the sensitivity and detection rate of the Yfiler plus kit are higher than the corresponding rates of the Yfiler kit. In addition, we were able to obtain more Y-STR profiles with the use of the new kit. Thus, we suggest that Yfiler plus kit is a more effective forensic tool to detect Y-STR profiles from forensic casework samples of low concentrations.

요 약: 법과학 분야에서 다양한 Y-STR 분석 키트가 개발되어 사용되고 있고, 새로운 키트의 법과학적 적용에 앞서 DNA 감정에 적절한 분석 키트들의 선정과 표준작업절차서의 작성을 위해 실험실 내의 내부적 유효성 검증 및 민감도 시험은 필수적인 과정이다. 본 논문에서는 새로운 상업용 키트인 Yfiler®

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)33-902-5722 Fax : +82-(0)33-902-5941

E-mail : jjy7@korea.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

PLUS PCR Amplification Kit (Yfiler plus 키트, 2014년 출시)를 AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit (Yfiler 키트, 2004년 출시)와 비교함으로써 민감도에 대한 연구를 수행하였다. Yfiler plus 키트는 Yfiler 키트의 17 개 Y-STR 좌위를 포함하면서 새로운 10 개의 Y-STR 좌위가 추가되었다. 먼저, 표준 DNA 시료인 2800M, 007을 이용하여 두 키트 간의 민감도 차이를 분석하였고, 선별된 0.5 ng 미만의 법과학 현장시료 16 개로부터 검출률을 비교하였다. 그 결과, Yfiler 키트보다 Yfiler plus 키트가 높은 민감도와 검출률을 보였고, 더 많은 좌위에서 Y-STR 프로필을 얻을 수 있었다. 이러한 결과들로부터 낮은 농도의 법과학 현장시료에서 Yfiler plus 키트가 Y-STR 프로필을 검출하는데 더욱 효과적인 분석 키트임이 확인되었다.

Key words: Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit, AmpF/STR Yfiler™ PCR Amplification Kit, forensic case-work samples, sensitivity, detection rate

1. 서 론

남성 특이적인 염색체인 Y 염색체는 부계 유전의 특징을 지니고 있어 집단 유전학 연구를 비롯하여 가족관계 여부 확인 및 남성과 여성의 DNA가 혼합된 법과학적 증거물 시료의 DNA 감정에 중요한 역할을 한다.^{1,2} Y 염색체 내에 존재하는 다중 좌위 (multiple loci)의 짧은 무작위 반복서열 (short tandem repeat, STR)을 증폭하는 분석 기법이 급속도로 발전하였고, 현재는 세계 각국의 법과학 분야에 다양한 Y-STR 분석 키트가 도입되어 사용되고 있다.³⁻⁸ 새롭게 출시가 되는 Y-STR 키트들을 비롯하여 다양한 분석 키트들의 유효성 평가는 각 개발 업체에서 개발 단계에 기본적으로 수행하지만, 각 연구실 마다 사용하는 분석 장비들의 차이와 실험 환경의 차이로 인해 연구실 내 유효성 검증 (laboratory validation) 및 민감도 실험은 필수적인 과정이며, 본 기관에서도 법과학적 증거물 분석의 적용에 앞서 새로운 분석기법에 대한 이와 같은 실험들을 수행해 왔다.^{9,10} 과거 Y-STR 키트를 이용하여 여성과 남성의 시료가 혼합된 성범죄 증거물에 대한 분석에서의 활용 가능성을 위해 여성과 남성의 표준 DNA를 혼합하여 분석한 연구가 보고된 적이 있으나,¹² 절도 및 주거침입 등의 성범죄 외 사건에서 수거된 실제 미량의 현장 DNA 시료에서의 실험 결과는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 2014년도에 출시된 Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit (이하 Yfiler plus 키트)를 2004년도에 출시되어 본 기관에서 DNA 감정에 오랜 기간 사용되었던 AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit (이하 Yfiler 키트)와 비교함으로써 민감도 차이를 관찰하고, 법과학 현장 시료 중 DNA의 농도가 적은

시료에서의 활용 가능성에 대해 분석하고자 하였다. Yfiler 키트는 17 개의 STR 좌위 (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, DYS437, DYS438, DYS448, GATA H4)를 포함하고 있고,⁷ Yfiler plus 키트는 기존 Yfiler 키트에 포함되었던 17 개의 Y-STR 좌위를 공통 좌위로 포함하면서 10 개의 새로운 Y-STR 좌위 (DYS576, DYS627, DYS460, DYS518, DYS570, DYS449, DYS481, DYF387S1, DYS533)가 추가되어 총 27 개의 좌위를 동시에 증폭할 수 있는 키트이다.⁸

본 연구에서는 Yfiler 키트와 Yfiler plus 키트의 민감도 차이를 확인하고자 표준 DNA를 희석하여 농도별로 증폭하였고, 법과학 현장시료 중 농도가 0.5 ng 미만인 미량시료 (low copy number samples) 16 개를 선별하여 키트 간의 비교 실험을 수행하여 실제 현장 증거물에서의 검출률 차이를 관찰하였다. 분석된 결과를 통해 Yfiler plus 키트가 기존의 Yfiler 키트보다 비교적 높은 민감도로 증폭이 되었고, 농도가 낮은 현장시료에서 더욱 활용 가능성이 있음을 관찰하였으며, 이를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료

표준 DNA는 2800M (Promega, Madison, WI)과 007 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 두 종류를 사용하여 각각 0.5 ng, 0.25 ng, 0.125 ng, 0.0625 ng, 0.0313 ng, 0.0156 ng, 0.0078 ng으로 희석하여 준비하였다. 현장시료는 DNA 농도가 0.5 ng 미만인 미량시료 16 개를 선별했다. 농도가 낮은 DNA에서 검출된 프로필은 drop-out 혹은 drop-in 현상이 일어날 수

Table 1. The information of forensic casework samples

Sample No.	Sample type	Crime type
1	Swab (paper cup)	Arson
2	Razor	Theft
3	Razor	Violation of Road Traffic Act
4	Wet cigarette butt	Housebreaking
5	Lighter	Housebreaking
6	Swab (glasses)	Housebreaking
7	Swab (hammer)	Theft
8	Swab (cup)	Assault
9	Wet cigarette butt	Arson
10	Syringe	Narcotic crime
11	Wet cigarette butt	Theft
12	Sneakers	Arson
13	Swab (coffee can)	Arson
14	Swab (handle of an umbrella)	Violation of Road Traffic Act
15	Swab (grazed blood)	Criminal damage
16	Syringe	Narcotic crime

있으므로¹² 검출된 프로필을 대조하기 위한 시료가 함께 요구되기에 대조시료 개념으로 농도가 1 ng 이상의 현장시료가 함께 의뢰된 사건들 중에서 선별하였다. 대조시료의 종류는 혈흔, 담배꽂초, 모발 등 (자료 미 제시)이다.

실험에 사용된 미량의 현장시료의 종류는 젖은 담배꽂초, 일회용 주사기, 안경을 닦은 면봉 등이고, 관련 사건의 유형은 절도, 재물손괴, 마약류관리법위반 등으로 시료의 종류 및 사건유형에 다양성을 주었다 (Table 1).

2.2. DNA 추출 및 정량

현장시료의 DNA는 QIAamp DNA micro kit (Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 사용자 지침서에 따라 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 Quantifier® DUO DNA Quantification Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)로 정량하였고,¹³ 7500 System SDS Software v1.2.3 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)을 이용하여 정량 값을 분석하였으며, 2 회 반복 실험하였다(Table 3).

2.3. Y 염색체 STR 증폭

정량된 현장시료 DNA는 모두 1 µL를 주형으로 사용하여 AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)와 Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific,

Waltham, MA)를 이용하여 증폭하였다. Yfiler 키트를 사용한 증폭은 총 20 µL로 Primer set 4 µL, 5X Reaction master mix 8 µL, AmpliTaq Gold DNA polymerase 0.5 µL, 주형 DNA 1 µL, 증류수 6.5 µL를 혼합하여 반응시켰고, PCR 조건은 95 °C 11분 pre-denaturation → 94 °C 1분 denaturation, 61 °C 1분 annealing → 72 °C 1분 extension, 30 회 반응 → 60 °C 80분 final-extension 과정으로 진행하였다. Yfiler plus 키트의 증폭은 총 20 µL로 Primer set 5 µL, 2X Reaction master mix 10 µL, 주형 DNA 1 µL, 증류수 4 µL를 혼합하여 반응시켰고, PCR 조건은 95 °C 1분 pre-denaturation→94 °C 4초 denaturation→61 °C 1분 annealing/extension 30 회 반응→60 °C 22분 final-extension 과정으로 진행하였다.

2.4. 유전자형 분석

Yfiler 키트 증폭산물과 Yfiler plus 키트 증폭산물은 모두 1 µL를 취하여 20 µL의 Hi-Di™ formamide (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)와 0.1 µL의 LIZ™ 600 size standard (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)를 혼합하여 준비하였다. 모든 시료는 3500xL Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)로 모세관 전기영동을 실시하였고, GeneMapper® ID-X v1.4 Software (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)를 이용하여 RFU (relative fluorescent units) 50 기준으로 분석하였다.

Table 2. The Y-STR genotyping result from commercial control DNA 2800M, 007 using AmpF/STR[®] Yfiler[™] PCR Amplification Kit and Yfiler[®] PLUS PCR Amplification Kit at various concentrations

Loci	2800M control DNA (ng)								007 control DNA (ng)					
	>0.0625		0.0313		0.0156		0.0078		>0.0313		0.0156		0.0078	
	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b	Y ^a	Yp ^b
DYS456	17	17	17	17	17	ND	ND	17	15	15	ND	15	15	15
DYS389I	14	14	ND	14	14	14	ND	14	13	13	13	13	ND	13
DYS390	24	24	24	24	24	24	ND	ND	24	24	24	24	24	24
DYS389II	31	31	ND	31	ND	31	ND	31	29	29	29	29	ND	29
DYS458	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	ND	17	ND	17
DYS19	14	14	14	14	ND	14	14	14	15	15	ND	ND	ND	15
DYS385	13,16	13,16	13,16	13,16	13,16	13,ND	ND	ND	11,14	11,14	11,14	11,ND	ND	ND,14
DYS393	13	13	13	13	13	13	13	ND	13	13	13	ND	13	ND
DYS391	10	10	10	10	ND	10	ND	ND	11	11	11	11	ND	11
DYS439	12	12	12	12	12	12	ND	ND	12	12	ND	12	12	12
DYS635	21	21	21	21	21	21	21	21	24	24	24	24	24	24
DYS392	13	13	13	13	ND	13	13	ND	13	13	13	13	ND	13
GATA H4	11	11	11	11	ND	ND	ND	ND	13	13	13	13	13	ND
DYS437	14	14	14	14	ND	ND	ND	14	15	15	15	15	ND	15
DYS438	9	9	9	9	9	9	9	9	12	12	12	12	ND	ND
DYS448	19	19	19	19	ND	19	ND	ND	19	19	19	19	19	19
DYS576	-	18	-	18	-	18	-	ND	-	19	-	19	-	19
DYS627	-	22	-	22	-	ND	-	22	-	21	-	ND	-	21
DYS460	-	11	-	11	-	11	-	ND	-	11	-	11	-	11
DYS518	-	36	-	36	-	36	-	36	-	37	-	37	-	ND
DYS570	-	17	-	17	-	17	-	ND	-	17	-	17	-	17
DYS449	-	35	-	35	-	35	-	35	-	31	-	31	-	31
DYS481	-	22	-	22	-	22	-	22	-	22	-	22	-	ND
DYF387S1	-	37,38	-	37,38	-	ND	-	37,38	-	35,37	-	35,37	-	35,37
DYS533	-	12	-	12	-	12	-	ND	-	13	-	ND	-	13
DR ^c (%) of common loci (full loci)	100	100	88.24	100	58.82	76.47	35.3	47.06	100	100	76.47	82.35	58.82	76.47
		(100)		(100)		(77.78)	(55.56)			(100)		(81.48)		(77.78)

^aY: AmpF/STR[®] Yfiler[™] PCR Amplification Kit

^bYp: Yfiler[®] PLUS PCR Amplification Kit

^cDR: Detection Rate

-: No Primers

ND: Not Detected

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준 DNA를 이용한 민감도 비교

표준 DNA 2800M, 007을 모두 동일한 농도로 희석하여 Yfiler 키트와 Yfiler plus 키트로 증폭한 후, 두 키트의 17개 공통좌위에 대한 검출 Y-STR 유전자형 (called allele) 개수 비율을 퍼센트로 계산하여 검출률 (detection rate)을 분석함으로써 두 키트의 민감도를

비교하였다. 그 결과, 2800M 표준 DNA는 0.0625 ng 이상의 농도에서 두 키트 모두 100%의 검출률을 보였고, 0.0313 ng 이하의 농도에서 키트간의 검출률 차이를 보였다. 0.0313 ng의 농도에서는 Yfiler 키트를 사용한 경우 88.24%의 검출률을 보인 반면, Yfiler plus 키트를 사용한 경우 100%의 검출률을 보이며 11.76%의 차이를 나타냈고, 0.0156 ng에서 Yfiler 키트는 58.82%, Yfiler plus 키트는 76.47%로 17.65%

Table 3. The concentration of DNA of forensic casework samples and the comparison of detection rate using AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit and Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit

Sample No.	Quantification result (ng/μL)		Detection rate (%)		
	Conc. of DNA ^a	SD ^b	Y ^c	Yp ^d (common loci)	Yp ^d (full loci)
1	0.434	0.0035	100	100	100
2	0.348	0.0184	100	100	100
3	0.2812	0.0188	100	100	100
4	0.182	0.0141	100	100	100
5	0.151	0.0014	100	100	100
6	0.0982	0.0019	100	100	100
7	0.0626	0.0059	94.12	94.12	92.59
8	0.0478	0.0016	76.47	88.24	88.89
9	0.0412	0.0006	82.35	88.24	85.19
10	0.0185	0.0023	70.59	100	100
11	0.017	0.0080	17.65	23.53	37.04
12	0.0168	0.0045	47.06	47.06	48.15
13	0.0149	0.0005	29.41	52.94	66.67
14	0.0147	0.0052	58.82	70.59	74.07
15	0.014	0.0040	41.18	41.18	55.56
16	0.013	0.0114	58.82	47.06	44.44

^aConc. of DNA: Concentration of DNA

^bSD: Standard Deviation

^cY: AmpF/STR® Yfiler™ PCR Amplification Kit

^dYp: Yfiler® PLUS PCR Amplification Kit

의 차이를 보이며 Yfiler plus 키트가 Yfiler 키트보다 민감도가 높음을 관찰하였다. 교차 검증의 의미로 수행된 007 표준 DNA를 이용한 실험에서는 0.0313 ng 이상의 농도에서 두 키트 모두 100%의 검출률을 보였지만, 0.0156 ng, 0.0078 ng의 농도에서 각각 5.88%, 17.65%의 검출률 차이를 보이며 Yfiler plus 키트의 높은 민감도가 확인되었다(Table 2).

Yfiler plus 키트는 10 개의 Y-STR 좌위를 추가로 27좌위에 대해 검출된 Y-STR 유전자형의 개수를 추가적으로 분석하였는데 2800M 표준 DNA와 007 표준 DNA 모두 0.0313 ng 이상의 농도에서 27 개 Y-STR 유전자형이 100% 검출되는 결과를 관찰하였다. 0.0156 ng, 0.0078 ng의 농도에서 2800M DNA는 각각 77.78%, 55.56%의 검출률을, 007 DNA는 각각 81.48%, 77.78%의 검출률을 보였으며, 농도가 낮아지면서 불검출(not detected, ND) 확률이 높아지는 특정 좌위는 관찰되지 않았다(Table 2). 본 결과를 통해 Yfiler plus 키트가 Yfiler 키트보다 공통좌위에 대한 민감도가 높을 뿐만 아니라 27 개 전체 좌위에 대한

검출률이 높아 농도가 낮은 시료의 분석에 도움을 줄 것으로 사료된다.

3.2. 현장시료를 이용한 민감도 비교

실제 현장 증거물에서의 적용 가능성에 대한 검토를 위하여 법과학 현장시료 16 개를 Yfiler 키트와 Yfiler plus 키트로 증폭하여 검출률을 비교하였다. 현장시료는 모두 0.5 ng 미만인 미량시료로 선별되었다. 분석 결과, 표준 DNA 실험에서는 0.0313 ng 이하의 농도에서 불검출 좌위가 관찰되었고, 현장시료에서는 0.0626 ng 농도 이하에서 불검출 좌위가 관찰되었다. 하지만 표준 DNA는 농도가 낮을수록 검출률이 낮아지는 상관관계가 관찰되는 반면, 현장시료에서는 DNA의 농도와 검출률 사이의 상관관계를 보이지 않았다. Yfiler 키트를 사용한 검출률 결과를 시료의 농도와 비교하여 보았을 때, 시료 No.11 (젓은 담배꽂초), No.13 (커피 캔을 닦은 면봉)의 경우 농도는 각각 0.017 ng, 0.0149 ng 이지만 검출률은 각각 17.65%, 29.41%로, 농도가 가장 낮은 시료 No.16 (일회용주사기)의 검출률 58.82%보다 현저히 낮았다(Table 3). 이는 현장시료의 특성상 채취일, 보관상태, 외부 오염의 정도, 현장시료에 묻은 인체시료의 종류 등 다양한 요인에 의해 분리 및 증폭 과정이 영향을 받기 때문이고, 이와 유사한 사례가 보고된바 있다.¹⁴

공통좌위 17 개에 대한 두 키트간의 검출률 비교에서 전반적으로 Yfiler plus 키트의 사용이 검출률을 향상시켰으나 3 개의 시료 No.7, No.12, No.15는 두 키트 간에 차이가 없었고, No.16은 오히려 Yfiler plus의 검출률이 더 낮았다. 하지만 공통좌위의 검출률에 대한 평균을 비교하면 Yfiler plus의 사용으로 4.78% 검출률이 향상되었고, 최대 29.4% 검출률이 향상된 시료(No.10, 일회용주사기)도 관찰되었다. 게다가 Yfiler plus 키트의 마커가 27 개로 Yfiler 키트보다 10 개가 많다는 장점 때문에 검출된 Y-STR 유전자형의 개수는 모든 시료에서 증가하였다. 즉, No.7, No.12, No.15, No.16에서 검출된 전체 Y-STR 유전자형의 개수를 비교해보면 Yfiler 사용한 경우 각각 16 개, 8 개, 7 개, 10 개 검출되었고, Yfiler plus 키트를 사용한 경우 검출된 Y-STR 유전자형의 개수가 각각 25 개, 13 개, 15 개, 12 개로 모두 증가하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 Yfiler 키트와 Yfiler plus 키트의 비

교를 위해 표준 DNA를 다양한 농도로 증폭하였고, 법과학 현장시료 중 DNA 농도가 낮은 시료 16 개를 선별하여 미량의 DNA시료에서의 활용 가능성에 대한 분석을 수행하였다. 표준 DNA를 사용한 두 키트 간의 비교 분석결과에서 Yfiler plus 키트는 0.0313 ng 이상의 농도에서 모든 좌위의 Y-STR 유전자형이 검출되어 Yfiler 키트보다 더 높은 민감도를 보였고 표준 DNA의 농도가 증가됨에 따라 검출률이 증가되는 상관관계를 보였다. 현장시료를 사용한 비교 분석결과에서는 현장시료가 다양한 요인으로 인해 영향을 받기 때문에 시료의 농도와 검출률의 상관관계는 보이지 않았으나, Yfiler plus 키트를 사용한 경우 평균 4.78% 검출률이 증가하였다. 검출된 Y-STR 유전자형의 개수를 비교하였을 때는 포함된 좌위의 개수가 많은 Yfiler plus 키트를 사용함으로써 전체의 시료로부터 더 많은 Y-STR 유전자형을 확보할 수 있었지만, 검출률을 비교했을 때는 일부 Yfiler 키트와 검출률이 차이가 나지 않거나 더 낮은 결과를 보인 경우도 관찰되었다. 하지만 각 현장시료마다 차이는 있지만 최대 29.4%의 검출률이 향상된 결과를 보인 시료가 관찰되었으며, 키트에 포함되어 있는 좌위가 27 개로 확보할 수 있는 좌위가 증가한다는 장점과 더불어 현장시료에서 분석된 민감도 향상은 DNA 농도가 낮은 현장시료에서 Yfiler plus 키트의 적용이 기존의 Yfiler 키트보다 효율적인 분석기법이 될 수 있음을 보여주었다. 추후 여성과 남성이 혼합된 현장시료에서의 분석 및 최근 개발된 다른 분석 키트들 간의 상호비교 등 추가적인 연구가 요구되고, 법과학적 증거력과 신뢰성 향상을 위해서 한국인 집단에서의 집단유전학적 분석이 수행되어야 할 것이다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 정부의 재원으로 국립과학수사연구원 과학수사 감정기법 연구개발사업의 지원을 받아 수행한 연구임(2016-유전자-03).

참고문헌

1. R. Lessig, *Forensic Sci Rev.*, **5**, 181-188 (2003).

2. M. A. Jobling, A. Pandya and C. Tyler-Smith, *Int. J. Legal. Med.*, **110**, 118-124 (1997).

3. S. Y. Yoo, S. Han, J. H. Hwang, M. J. Park, J. A. Kwon, N. S. Kim, J. H. Park and N. S. Cho, *Korean J. Sci. Crim. Investig.*, **8**, 16-30 (2015).

4. C. Nuez, Mi. Baeta, M. Fernandez, M. Zarrabeitia, B. Martinez-Jarreta and M. M. Pancorbo, *Forensic Sci. Int. Genet.*, **17**, 104-107 (2015).

5. A. A. Westen, T. Kraaijenbrink, L. Clarisse, L. J. Grol, P. Willemse, S. B. Zuniga, E. A. Robles de Medina, R. Schouten, R., K. J. van der Gaag, N. E. Weiler, A. J. Kal, M. Kayser, T. Sijen and P. de Knijff, *Forensic Sci. Int. Genet.*, **14**, 174-81 (2015).

6. R. Alghafri, W. Goodwin, A. Ralf, M. Kayser and S. Hadi, *Forensic Sci. Int. Genet.*, **17**, 91-98 (2015).

7. J. J. Mulero, C. W. Chang, L. M. Calandro, R. L. Green, Y. Li, C. L. Johnson and L. K. Hennessy, *J. Forensic Sci.*, **51**, 64-75 (2006).

8. J. K. Olofsson, H. S. Mogensen, A. Buchard, C. Børsting and N. Morling, *Forensic Sci. Int. Genet.*, **16**, 232-236 (2015).

9. S. B. Hong, S. H. Kim, K. C. Kim, M. H. Park, J. Y. Lee, J. M. Song, M. S. Han and W. Kim, *Forensic Sci. Int. Genet.*, **7**, 47-51 (2013).

10. C. H. Kim, H. S. Kim, S. H. Sun, H. N. Kim, Y. S. Kim, J. E. Sim, S. H. Lee, K. L. Lee, J. J. Kim, N. S. Cho, P. W. Kang and K. W. Park, *Korean J. Forensic Sci.*, **16**, 45-52 (2015).

11. H. Y. Lee, I. K. Hwang, M. S. Park, K. S. Jeong, S. H. Park, P. W. Kang, N. S. Cho and D. H. Choi, *Korean J. Sci. Crim. Investig.*, **9**, 191-186 (2015).

12. B. Budowle, J. Eisenberg and A. van Daal, *Croat Med. J.*, **50**, 207-217 (2009).

13. M. Barbisin, R. Fang, C. E. O'Shea, L. M. Calandro, M. R. Furtado and J. G. Shewale, *J. Forensic Sci.*, **54**, 305-319 (2009).

14. J. K. Jung, M. J. Kim, H. Y. Park, S. M. Lee, S. C. Shin, B. W. Chun and S. K. Lim, *Korean J. Forensic Sci.*, **15**, 48-53 (2014).