



Programa de Ayudas del GHEP-ISFG
para Asistencia a Jornadas anuales de
Genética Forense - Promoción 2022

INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES
“LUIS CONCHEIRO” – INCIFOR
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



De la segunda a la tercera generación en el análisis forense de ADN

Adaptando los paneles de Ampliseq a la secuenciación con nanoporos

de la Puente M, Mosquera-Miguel A, Ruiz-Ramírez J, Ambroa-Conde A, Freire-Aradas A,
González-Martín E, Casanova-Adán L, González-Bao J, Phillips C, Lareu MV

LA SEGUNDA GENERACIÓN: MASSIVE PARALLEL SEQUENCING (MPS)



PROS

- Alta capacidad de multiplex
- Alta sensibilidad
- Detección de mezclas con marcadores bialélicos
- Permiten inferir la fase de los SNPs en un amplicón: análisis de microhaplotipos

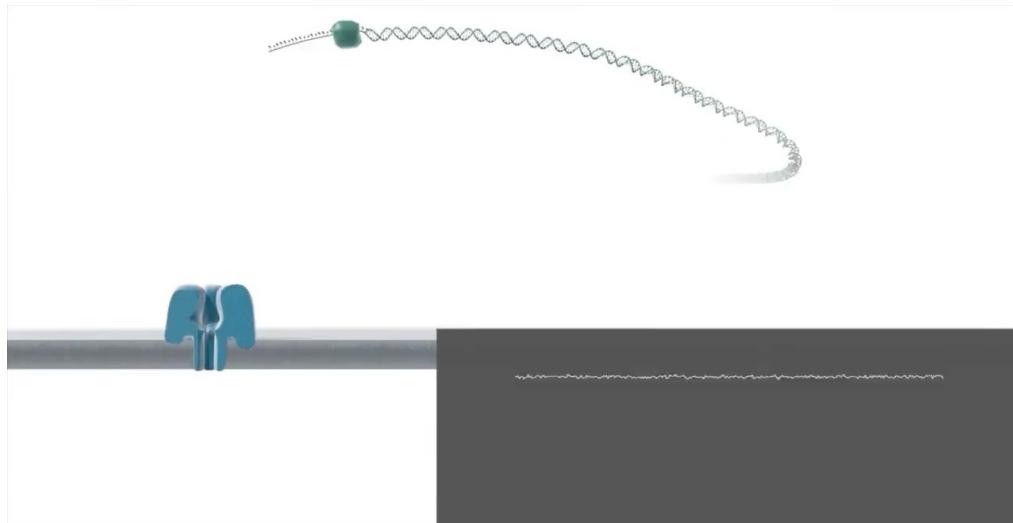


CONS

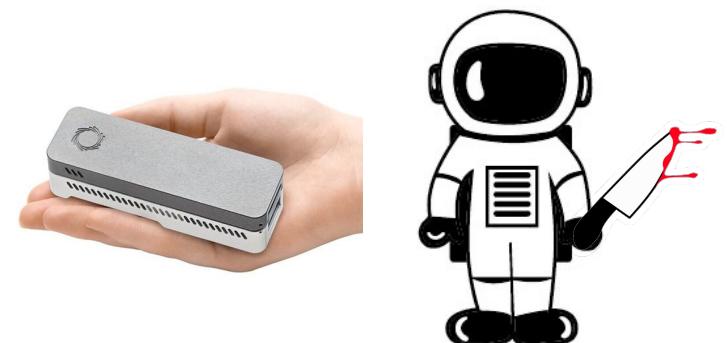
- Muy sensibles a inhibidores
- Plataformas grandes, fijas e de alto coste
- Baja escalabilidad que dificulta el análisis de muestras urgentes



LA TERCERA GENERACIÓN: SECUENCIACIÓN MEDIANTE NANOPOROS

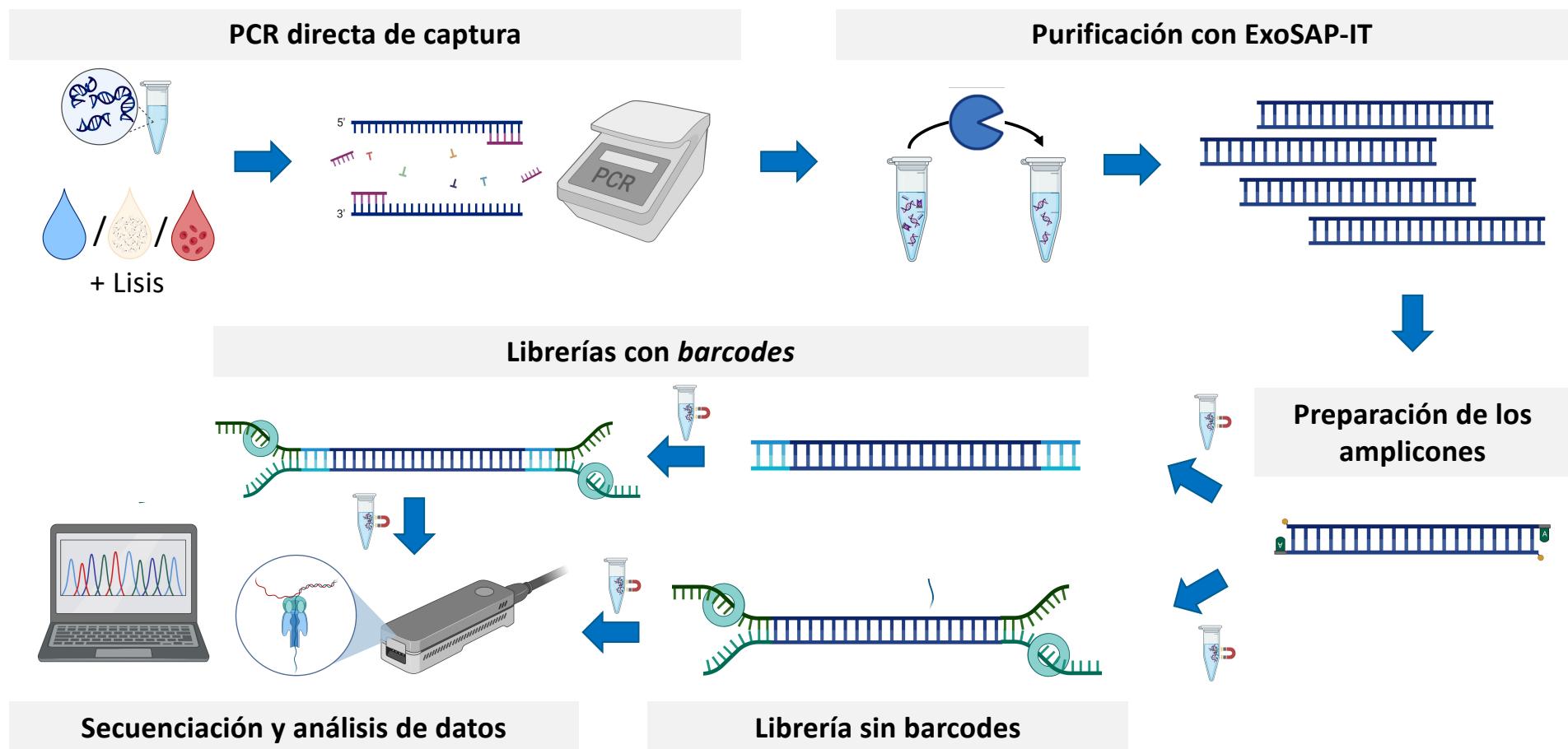


- Mejora de precisión: 99,99% en consenso
- Plataforma altamente portátil: MinION
- Coste de implementación bajo
- Alta escalabilidad -> diferentes tamaños de *flow cells*

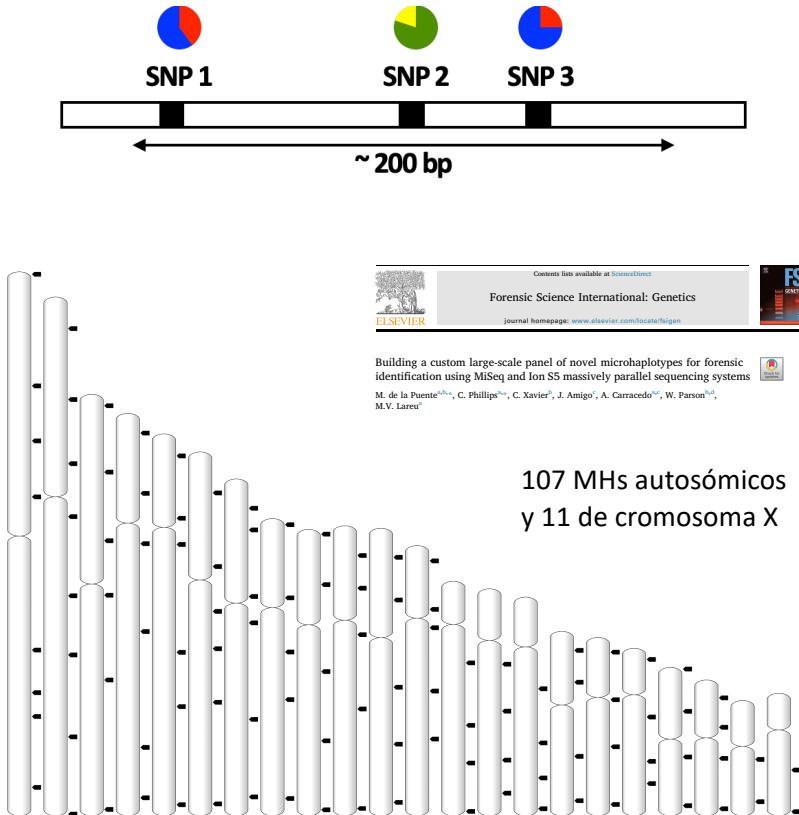


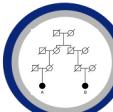
	Estándar	Flongle
Poros	> 800	> 50
Max output	30 Gb	2 Gb
Precio	810 €	60 €

ADAPTACIÓN DEL PROTOCOLO DE LIBRERÍAS POR LIGADO



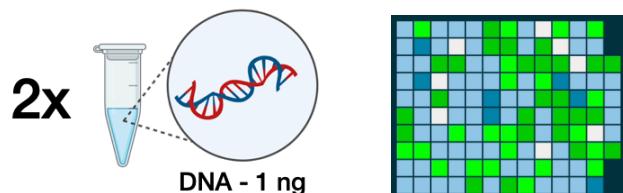
PANEL AMPLISEQ DE MHs



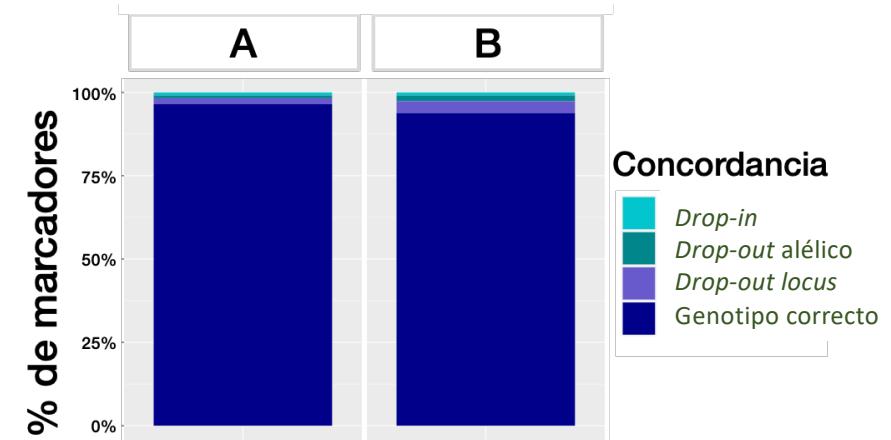
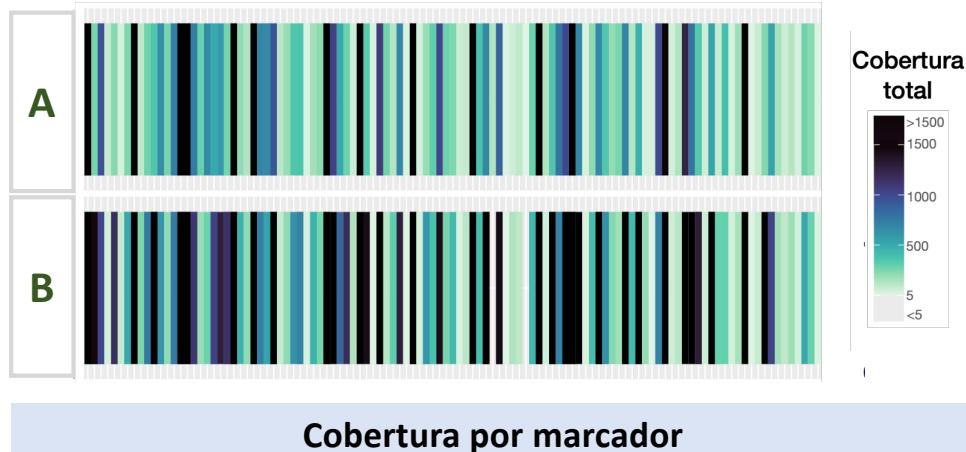
-  ADN *low-level*
-  ADN degradado
-  Parentescos lejanos
-  Mezclas de ADN
-  Predicción de ancestralidad

RESULTADOS I

Análisis de una única muestra



MHs en orden cromosómico

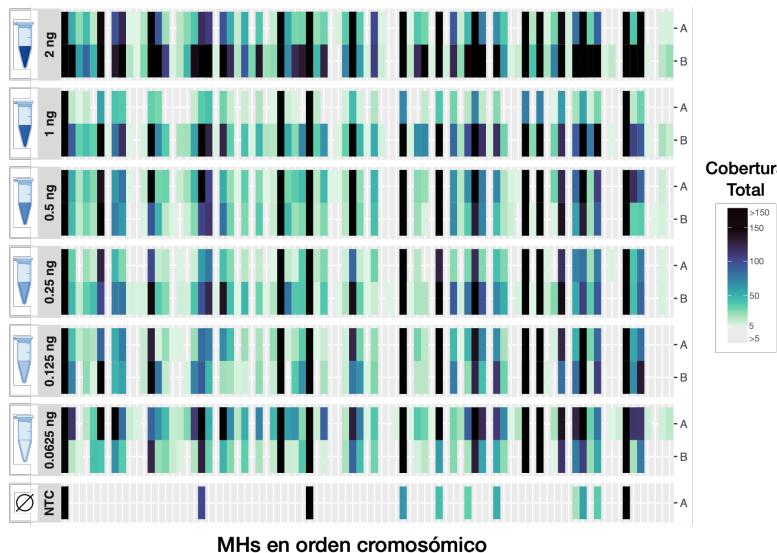
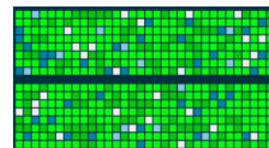
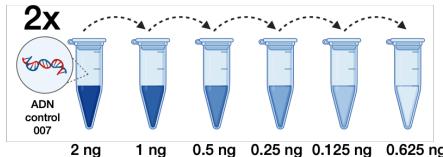


Concordancia de los genotipos obtenidos con Ion S5

- **Buena cobertura media** por marcador, 952,18 lecturas en réplica A y 1821,55 en B
- Perfiles altamente informativos con más de un **93% de concordancia** con lo esperado
- **Estrategia válida** para la obtención de perfiles de muestras urgentes

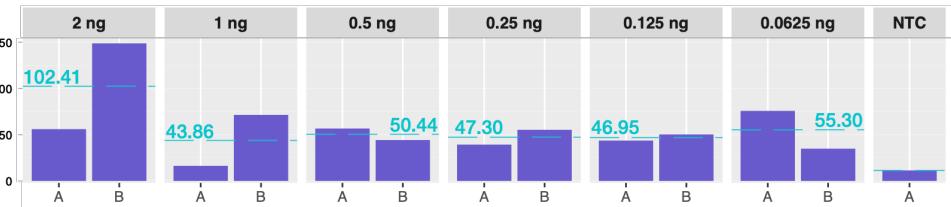
RESULTADOS II

Análisis de sensibilidad



Cobertura por marcador

Cobertura media



Cobertura media por marcador

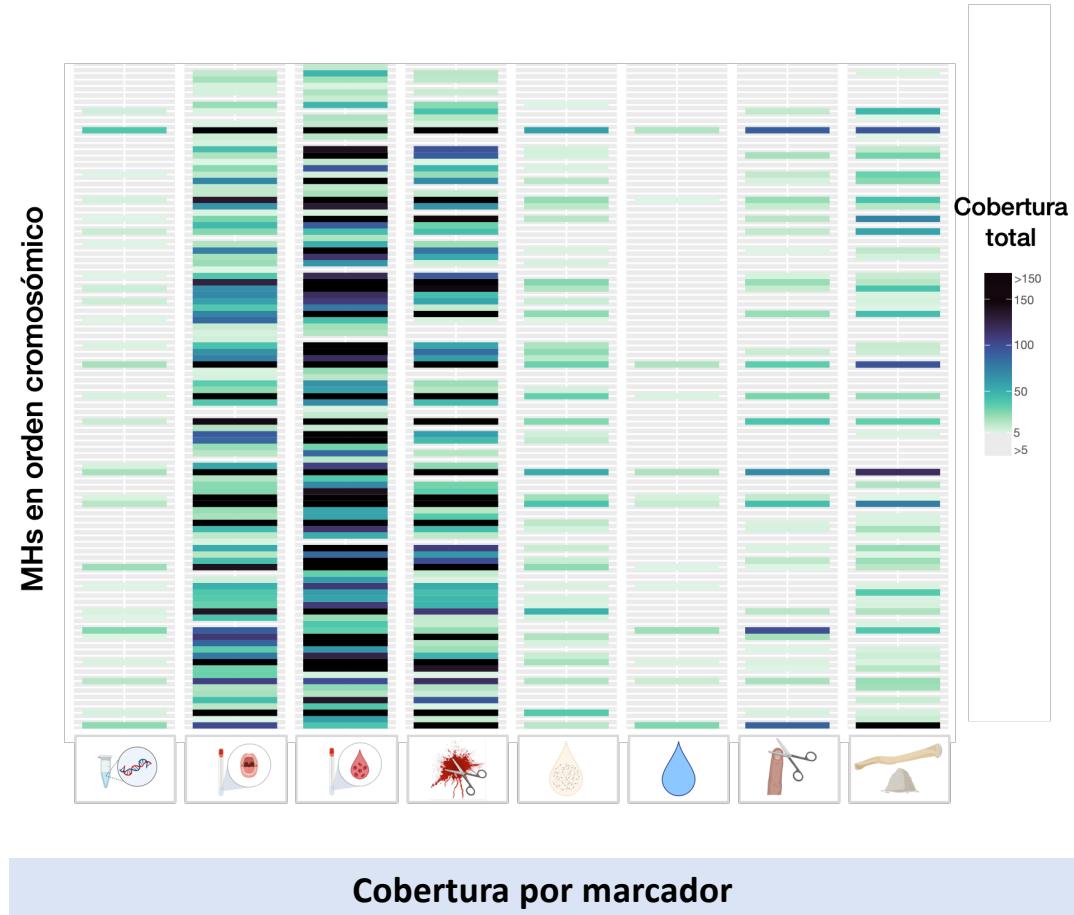
- Cobertura media por marcador en réplicas de 1 ng considerablemente más baja que la obtenida para el análisis de muestra única (43,86 vs 1228,46 lecturas, media de dos réplicas)
 - Flow-cell estándar > 16 x Flongle
 - ¿Baja eficiencia de la construcción de librerías con barcodes?
- Resultados consistentes hasta 62,5 pg de ADN que sugieren que se podrían obtener perfiles mediante el análisis de muestra única en Flongle

RESULTADOS III

Análisis de PCR directa a partir de diferentes tejidos



- **Buenos resultados en hisopo bucal, hisopo con sangre y mancha de sangre** que sugieren que se podrían obtener perfiles mediante el análisis de muestra única en *Flongle*
- **El resto de tejidos requieren mayor optimización**



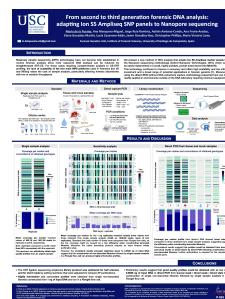
USC EN ISFG 2022

Forty Years of Forensic Ancestry Analysis

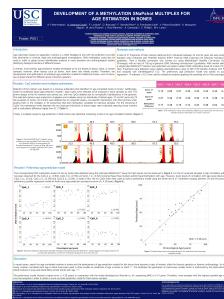


Scientific Prize Lecture

Chris Phillips, Spain
Miércoles 31 a las 8:30



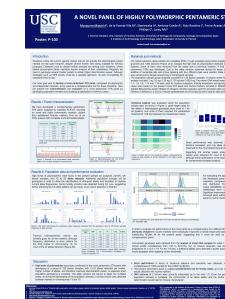
P-033
Adaptación de paneles
Ampliseq a MinION



P-051
Ensayo SNaPshot para
predicción de edad en
hueso



P-076
Validación panel Face-Fit de
predicción de morfología
facial



P-103
Panel de nuevos STRs
pentaméricos para
parentescos lejanos



Programa de Ayudas del GHEP-ISFG
para Asistencia a Jornadas anuales de
Genética Forense - Promoción 2022

INSTITUTO DE CIENCIAS FORENSES
“LUIS CONCHEIRO” – INCIFOR
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



De la segunda a la tercera generación en el análisis forense de ADN

Adaptando los paneles de SNPs de Ampliseq a la secuenciación con nanoporos

de la Puente M, Mosquera-Miguel A, Ruiz-Ramírez J, Ambroa-Conde A, Freire-Aradas A,
González-Martín E, Casanova-Adán L, González-Bao J, Phillips C, Lareu MV

XXVII Jornadas Genética Forense GHEP-ISFG, 29/30-08-2022 Washington DC