



GRUPO DE HABLA ESPAÑOLA Y PORTUGUESA DE LA ISFG

GRUPO DE LÍNGUAS ESPANHOLA E PORTUGUESA DA ISFG

Instituto Nacional de Toxicología
y Ciencias ForensesMINISTERIO DE LA PRESIDENCIA JUSTICIA Y RELACIONES CON LAS CORTES
SERVICIO DE GARANTÍA DE CALIDAD
DEPARTAMENTO DE MADRID
C/ José Echegaray nº 4 - 28232 Las Rozas de Madrid (Madrid)
Tf.+34 91 7688919 Fax +34 91 5648654
e-mail: intcf.eiadm@justicia.es

EXERCÍCIO DE INTERCOMPARAÇÃO

“ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE DNA EM MANCHAS DE SANGUE E OUTRAS
AMOSTRAS BIOLÓGICAS” MÓDULO SEQUENCIAÇÃO MASSIVA EM PARALELO (MPS)

NIVEL BÁSICO

EXERCÍCIO EIADN-MPS -2 (2024)

DATA LIMITE: 15/05/2024

Itens enviados2024/Módulo de Parentesco

M1 a M3: itens de referência

2024/Módulo Forense

M4: item forense desconhecido

M5: cabelo ou pêlo

Nº de selo

Abordagem proposta:**2024/Módulo de Parentesco - Nível básico****Estudo prático de parentesco**

- **M1, M2, M3:** itens de referência para análise genética.

2024/Módulo Forense - Nível básico**Estudo prático forense**

- **M4:** item forense para análise genética.
- **M5:** cabelo ou pêlo para análise de DNA mitocondrial.

Metodologia a empregar

A identificação genética deve ser realizada com os marcadores analisados pelo laboratório, por meio das suas plataformas de Sequenciação Massiva em Paralelo (MPS): STRs autossômicos, STRs do cromossoma Y, STRs do cromossoma X e análise de DNA mitocondrial. Os itens devem ser tratados como amostras laboratoriais de rotina e, se possível, de forma cega.

ÍNDICE

Pág.

1. Metodologia	
1.1. Metodologia fluxo de trabalho	
1.1.1.Preparação da biblioteca	3
1.1.2.Quantificação da biblioteca	3
1.1.3.Preparação do molde	3
1.1.4.Sequenciação	3
1.1.5.Sequência de análise utilizada, marcadores STR	3
1.1.6.Análise de dados	4
1.2. Outros aspectos da metodologia diferentes dos indicados nas tabelas anteriores	4
2. Resultados estudos práticos	
2.1. Dados do “enriquecimento” y quantificação de bibliotecas	4
2.2. Dados de carregamento de chips ou flow cells	4
2.3. Resultados STR	
2.3.1.STR autossômicos e amelogenina	5
2.3.2.Y-STR	9
2.3.3.X-STR	12
2.4. Resultados de DNA mitocondrial	14
3. Conclusões estudos práticos	
3.1. Módulo de Sequenciação Massiva em Paralelo (MPS)	
3.1.1 Observações aos itens M1, M2, M3, M4 e M5	15
4. Observações ao presente exercício	16
5. Sugestões para o próximo exercício	16
6. Compromissos do participante	16
Data e assinatura do responsável	16

1. Metodologia *Leia atentamente as instruções proporcionadas antes de preencher esta secção***1.1 Metodologia fluxo de trabalho****1.1.1 Preparação da biblioteca**

TABELA 1A

Tipo de marcador	Kit	Outros (especificar)	Equipamento	Outros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
DNA mitocondrial				

Codificação no Anexo MPS 2024

1.1.2 Quantificação da biblioteca

TABELA 1B

Tipo de marcador	Kit	Outros (especificar)	Equipamento	Outros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
DNA mitocondrial				

Codificação no Anexo MPS 2024

1.1.3 Preparação do molde

TABELA 1C

Tipo de marcador	Kit	Outros (especificar)	Equipamento	Outros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
DNA mitocondrial				

Codificação no Anexo MPS 2024

1.1.4 Sequenciação

TABELA 1D

Tipo de marcador	Kit	Outros (especificar)	Chip/Flow Cell	Outros (especificar)	Equipamento	Outros (especificar)
A-STR						
Y-STR						
X-STR						
DNA mitocondrial						

Codificação no Anexo MPS 2024

1.1.5 Sequência da referência usada. Marcadores STR

--

1.1.6 Análise de dados

TABELA 1E

Tipo de marcador	Raw Data	Outros (especificar)	Allele/ Variant Calling	Outros (especificar)	Análise	Outros (especificar)
A-STR						
Y-STR						
X-STR						
DNA mitocondrial						

Codificação no Anexo MPS 2024

1.2 Outros aspectos da metodologia diferentes dos indicados nas tabelas anteriores:

--

2. Resultados estudos práticos:

Leia atentamente as instruções enviadas para preencher as tabelas de resultados, e as bases de participação para conhecer o estabelecimento dos valores atribuídos e a avaliação dos resultados <https://ghep-isfg.org/pt/proficiency/participation>

2.1 Dados de “enriquecimento” e quantificação de bibliotecas (se aplicável)

TABELA 3

Itens	Volume amplificação bibliotecas (em μL)		Quantificação individual de bibliotecas (em pM)		Quantificação pool de bibliotecas (em pM)	
	STR	mtDNA	STR	mtDNA	STR	mtDNA
M1						
M2						
M3						
M4						
M4.1 (se aplicável)						
M4.2 (se aplicável)						
M5						

2.2 Dados de carregamento de chips ou flow cells

TABELA 4

	STR	mtDNA
Plataforma		
Tipo de marcador		
Chip / Flow Cell		
Addressable Wells (Total reads) ⁽¹⁾		

	STR	mtDNA
Usable reads (Final library ISPs)*		
Usable reads (%)		
No. Samples per chip / flow cell		
Exercise samples reads		
M1		
M2		
M3		
M4		
M4.1 (se aplicável)		
M4.2 (se aplicável)		
M5		
Número de marcadores		
Chip equalization*		

⁽¹⁾ Número total de poços ou células que o chip/flow cell possui. Este valor é fixo por chip/ flow cell e pode ser obtido do software de análise, TSS ou UAS. Se for utilizado mais do que um, indique o nome de cada um, por exemplo 12530194 / 37849615

* Em plataformas Ion Torrent. Número final de poços usados. No caso de usar mais do que um indicar: chip / flow cell.

2.3 Resultados STR

Completar as tabelas seguindo as recomendações de:

-Parson et al. Massively parallel sequencing of forensic STRs: Considerations of the DNA commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on minimal nomenclature requirements. Forensic Sci Int Genet. 2016 May;22:54-63.

-Gettings et al. Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on short tandem repeat sequence nomenclature Forensic Sci. Int. Genet. Vol. 68, 102946, January 2024.

-Forensic Sequence STRucture Guide (FSSG) v6 em <https://strider.online/nomenclature>

2.3.1 STR autossômicos e amelogenina

TABELA 5A-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flaqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flaqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5A-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flaqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flaqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5A-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flaqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5A-M4

LOCUS	Alelos totais (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						

LOCUS	Alelos totais (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

2.3.2 Y-STR

TABELA 5B-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS505						
DYS570						
DYS576						
DYS522						
DYS481						
DYS19						
DYS391						
DYS635						
DYS437						
DYS439						
DYS389I						
DYS389II						
DYS438						
DYS612						
DYS390						
DYS643						
DYS533						
Y-GATA-H4						
DYS385a-b						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flanqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS460						
DYS549						
DYS392						
DYS448						
DYF387S1						
DYS456						
DYS458						
DYS393						
DYS461						
GATAA10						
DYS388						
DYS627						
DYS518						
DYS449						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5B-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flanqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS505						
DYS570						
DYS576						
DYS522						
DYS481						
DYS19						
DYS391						
DYS635						
DYS437						
DYS439						
DYS389I						
DYS389II						
DYS438						
DYS612						
DYS390						
DYS643						
DYS533						
Y-GATA-H4						
DYS385a-b						
DYS460						
DYS549						
DYS392						
DYS448						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYF387S1						
DYS456						
DYS458						
DYS393						
DYS461						
GATAA10						
DYS388						
DYS627						
DYS518						
DYS449						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5B-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS505						
DYS570						
DYS576						
DYS522						
DYS481						
DYS19						
DYS391						
DYS635						
DYS437						
DYS439						
DYS389I						
DYS389II						
DYS438						
DYS612						
DYS390						
DYS643						
DYS533						
Y-GATA-H4						
DYS385a-b						
DYS460						
DYS549						
DYS392						
DYS448						
DYF387S1						
DYS456						
DYS458						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS393						
DYS461						
GATAA10						
DYS388						
DYS627						
DYS518						
DYS449						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5B-M4

LOCUS	Alelos totais (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS505						
DYS570						
DYS576						
DYS522						
DYS481						
DYS19						
DYS391						
DYS635						
DYS437						
DYS439						
DYS389I						
DYS389II						
DYS438						
DYS612						
DYS390						
DYS643						
DYS533						
Y-GATA-H4						
DYS385a-b						
DYS460						
DYS549						
DYS392						
DYS448						
DYF387S1						
DYS456						
DYS458						
DYS393						
DYS461						
GATAA10						
DYS388						
DYS627						

LOCUS	Alelos totais (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flanqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DYS518						
DYS449						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

2.3.3 X-STR

TABELA 5C-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flanqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5C-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flanqueadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5C-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

TABELA 5C-M4

LOCUS	Alelos totais (CE)	Cobertura	Sequência	Variantes nas regiões flangeadoras Ex: rs9546005	Nomenclatura*	
					Repetições entre colchetes Ex: [TATC]8	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Podem ser incluídas indistintamente uma ou outra, ou ambas.

2.4 Resultados de DNA mitocondrial

Na Tabela 6A indique as posições inicial e final das regiões editadas e na Tabela 6B informe os haplótipos seguindo a ordem solicitada nas instruções. Lembre-se de não analisar para além da Região Controlo.

TABELA 6A

ITENS	Regiões editadas	Cobertura	Haplogrupo
M1			
M2			
M3			
M4			
M5			

TABELA 6B

ITENS	HAPLÓTIPO
M1	
M2	
M3	
M4	
M5	

TABELA 6C

ITENS	HAPLOGRUPO
M1	
M2	
M3	
M4	
M5	

2.4.1 Indique o método ou software utilizado para a determinação do haplogrupo.

Programa	versão	Observações (outros softwares, comentários, etc)
EMPOP		
Haplogrep		
Outros ¹		

¹Se não encontra o software na tabela, escolha "outros" e indique-o nas observações

2.4.2 Avaliação filogeográfica do resultado obtido.

3. Conclusões estudos práticos

3.1 Módulo de Sequenciação Massiva em Paralelo (MPS)

3.1.1 Observações aos itens M1, M2, M3, M4 e M5

Indique os comentários e observações que deseja fazer em relação aos itens analisados. Não é necessário investigar relações de parentesco entre eles.

4. Observações ao presente exercício**5. Sugestões para o próximo exercício****6. Compromissos do participante**

As análises, tanto na obtenção dos resultados como no seu tratamento estatístico, foram realizadas nas instalações pertencentes ao laboratório inscrito e pelos seus técnicos/peritos, por meio de procedimentos de trabalho similares aos observados em amostras de rotina e foram adoptadas as medidas apropriadas de Higiene e Segurança. **De acordo com o consentimento dado pelos dadores, o laboratório compromete-se a analisar os itens de forma anónima para o Exercício de Intercomparação do INTCFM/GHEP-ISFG e adicionalmente utilizá-los como material de referência e/ou controle de qualidade laboratorial, seja com as técnicas requeridas no Exercício ou com outras de uso forense, mas em qualquer caso sempre para fins de identificação humana, analisando regiões não codificantes ou que não fornecem informações sensíveis do dador: doenças, patologias ou outro tipo de informação genética que possa violar sua privacidade.**

Nome do responsável

Data e assinatura

Nota.- Para receber o certificado de participação é obrigatório o envio deste formulário assinado.