



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

EJERCICIO DE INTERCOMPARACIÓN

“ESTUDIO DE POLIMORFISMOS DE ADN EN MANCHAS DE SANGRE Y OTRAS
MUESTRAS BIOLÓGICAS” MÓDULO SECUENCIACIÓN MASIVA EN PARALELO (MPS)

NIVEL BÁSICO

EJERCICIO EIADN-MPS-2 (2024)

FECHA LÍMITE: 15/05/2024

Ítems enviados2024/Módulo de Parentesco

M1 a M3: ítems de referencia

2024/Módulo Forense

M4: ítem dubitado forense

M5: cabello o vello

Nº de precinto

Planteamiento propuesto:**2024/Módulo de Parentesco - Nivel básico****Estudio práctico de parentesco**

- M1, M2, M3: ítems de referencia para análisis genético.

2024/Módulo Forense - Nivel básico**Estudio práctico forense**

- M4: ítem forense para análisis genético.
- M5: cabello o vello para análisis de ADN mitocondrial.

Metodología a emplear

La identificación genética se ha de realizar con los marcadores que analice el laboratorio, mediante sus plataformas de Secuenciación Masiva en Paralelo (MPS): STRs autosómicos, STRs de cromosoma Y, STRs de cromosoma X y análisis de ADN mitocondrial. Los ítems han de ser tratados como muestras rutinarias del laboratorio y, si es posible, de forma ciega.

ÍNDICE

Pág.

1. Metodología	
1.1. Metodología flujo de trabajo	
1.1.1.Preparación de la biblioteca	3
1.1.2.Cuantificación de la biblioteca	3
1.1.3.Preparación del molde	3
1.1.4.Secuenciación	3
1.1.5. Secuencia de análisis usada, marcadores STR	3
1.1.6.Análisis de datos	4
1.2. Otros aspectos de la metodología diferentes a los indicados en las tablas anteriores	4
2. Resultados estudios prácticos	
2.1. Datos de “enriquecimiento” y cuatificación de bibliotecas	4
2.2. Datos de carga de chips o flow cells	4
2.3. Resultados STR	
2.3.1.STR autosómicos y amelogenina	5
2.3.2.Y-STR	9
2.3.3.X-STR	13
2.4. Resultados de ADN mitocondrial	14
3. Conclusiones estudios prácticos	
3.1. Módulo de Secuenciación Masiva en Paralelo (MPS)	
3.1.1 Observaciones a los ítems M1, M2, M3, M4 y M5	15
4. Observaciones al presente ejercicio	16
5. Sugerencias para el próximo ejercicio	16
6. Compromisos del participante	16
Fecha y firma del responsable	16

1. Metodología *Lea atentamente las instrucciones proporcionadas antes de cumplimentar este apartado*

1.1 Metodología flujo de trabajo

1.1.1 Preparación biblioteca

TABLA 1A

Tipo de marcador	Kit	Otros (especificar)	Equipo	Otros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
ADN mitocondrial				

Codificación en el Anexo MPS 2024

1.1.2 Cuantificación biblioteca

TABLA 1B

Tipo de marcador	Kit	Otros (especificar)	Equipo	Otros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
ADN mitocondrial				

Codificación en el Anexo MPS 2024

1.1.3 Preparación del molde

TABLA 1C

Tipo de marcador	Kit	Otros (especificar)	Equipo	Otros (especificar)
A-STR				
Y-STR				
X-STR				
ADN mitocondrial				

Codificación en el Anexo MPS 2024

1.1.4 Secuenciación

TABLA 1D

Tipo de marcador	Kit	Otros (especificar)	Chip/Flow Cell	Otros (especificar)	Equipo	Otros (especificar)
A-STR						
Y-STR						
X-STR						
ADN mitocondrial						

Codificación en el Anexo MPS 2024

1.1.5 Secuencia de referencia usada. Marcadores STR

--

1.1.6 Análisis de datos

TABLA 1E

Tipo de marcador	Raw Data	Otros (especificar)	Allele/ Variant Calling	Otros (especificar)	Análisis	Otros (especificar)
A-STR						
Y-STR						
X-STR						
ADN mitocondrial						

Codificación en el Anexo MPS 2024

1.2 Otros aspectos de la metodología diferentes a los indicados en las tablas anteriores:

2. Resultados estudios prácticos:

Lea atentamente las instrucciones enviadas, para cumplimentar las tablas de resultados y las bases de participación, para conocer el establecimiento de valores asignados y la evaluación de resultados <https://ghep-isfg.org/control/bases-de-participacion/>

2.1 Datos de “enriquecimiento” y cuantificación de bibliotecas (si aplica)

TABLA 3

Ítems	Volumen amplificación bibliotecas (en µL)		Cuantificación individual de bibliotecas (en pM)		Cuantificación pool de bibliotecas (en pM)	
	STR	mtDNA	STR	mtDNA	STR	mtDNA
M1						
M2						
M3						
M4						
M4.1 (si aplica)						
M4.2 (si aplica)						
M5						

2.2 Datos de carga de chips o flow cells

TABLA 4

	STR	mtDNA
Plataforma		
Tipo de marcador		
Chip / Flow Cell		

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

⁽¹⁾ Número total de pocillos o celdas que tiene el chip / flow cell. Este valor es fijo por chip / flow cell, y se puede obtener de software de análisis, TSS o UAS. Si se usan más de uno, indicar el de cada uno, ej.: 12530194 / 37849615

* En plataformas Ion Torrent. Número final de pocillos usados. En caso de usar más de 1 indicarlo: chip / flow cell.

2.3 Resultados STR

Cumplimentar las tablas siguiendo las recomendaciones 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 en <https://strider.online/nomenclature>

2.3.1 STR autosómicos y amelogenina

TABLA 5A-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	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						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5A-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
FGA						
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5A-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5A-M4

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
AMEL						
D8S1179						
D21S11						
D7S820						
CSF1PO						
D3S1358						
TH01						
D13S317						
D16S539						
D2S1338						
D19S433						
vWA						
TPOX						
D18S51						
D5S818						
FGA						
Penta D						
Penta E						
D10S1248						
D22S1045						
D2S441						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
D1S1656						
D12S391						
D6S1043						
D1S1677						
D2S1776						
D3S4529						
D4S2408						
D5S2800						
D6S474						
D9S1122						
D12ATA63						
D14S1434						
D17S1301						
D20S482						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

2.3.2 Y-STR

TABLA 5B-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	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	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
DYF387S1						
DYS456						
DYS458						
DYS393						
DYS461						
GATAA10						
DYS388						
DYS627						
DYS518						
DYS449						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5B-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	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						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
GATAA10						
DYS388						
DYS627						
DYS518						
DYS449						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5B-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	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						
DYS518						
DYS449						

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5B-M4

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura*	
					Repeticiones entre corchetes	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						
DYS518						
DYS449						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

2.3.3 X-STR

TABLA 5C-M1

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5C-M2

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5C-M3

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

TABLA 5C-M4

LOCUS	Alelo (CE)	Cobertura	Secuencia	Variantes en las regiones flanqueantes	Nomenclatura	
					Repeticiones entre corchetes	ISFG
DXS8378						
DXS7423						
DXS7132						
DXS10103						
DXS10074						
HPRTB						
DXS10135						

* Se puede incluir indistintamente una u otra, o ambas.

2.4 Resultados de ADN mitocondrial

En la Tabla 6A refleje las posiciones inicial y final de las regiones editadas y en la Tabla 6B informe los haplotipos siguiendo el orden que se solicita en las instrucciones. Recuerde no analizar más allá de la Región Control.

TABLA 6A

ÍTEMS	Región editadas	Cobertura	Haplogrupo
M1			
M2			
M3			
M4			
M5			

TABLA 6B

ÍTEMS	HAPLOTIPO
M1	
M2	
M3	
M4	
M5	

TABLA 6C

ÍTEMS	HAPLOGRUPO
M1	
M2	
M3	
M4	
M5	

2.4.1 Especifique el método o software empleado para la determinación del haplogrupo.

Programa	versión	Observaciones (otros software, comentarios, etc)
EMPOP		
Haplogrep		
Otros ¹		

¹Si no se encuentra el software en la tabla elija "otros" y especifíquelo en observaciones

2.4.2 Evaluación filogeográfica del resultado obtenido.

--

3. Conclusiones estudios prácticos**3.1 Módulo de Secuenciación Masiva en Paralelo (MPS)****3.1.1 Observaciones a los ítems M1, M2, M3, M4 y M5**

Refleje los comentarios y observaciones que desee hacer referentes a los ítems analizados. No es necesario investigar relaciones de parentesco entre ellos.

--

4. Observaciones al presente ejercicio**5. Sugerencias para el próximo ejercicio****6. Compromisos del participante**

Los análisis, tanto en la generación de los resultados como en su tratamiento estadístico, se han realizado en las instalaciones pertenecientes al laboratorio inscrito y por su personal mediante procedimientos de trabajo similares a los seguidos en muestras rutinarias y se han tomado las oportunas medidas de Higiene y Seguridad. **De conformidad con el consentimiento prestado por los donantes el laboratorio se compromete a analizar los ítems de forma anónima para el Ejercicio de intercomparación del INTCFM/GHEP-ISFG y de manera adicional utilizarlos como material de referencia y/o control de la calidad del laboratorio bien sea con las técnicas requeridas en el Ejercicio o con otras de uso forense, pero en todo caso siempre con fines de identificación humana, analizando regiones no codificantes o que no proporcionen información sensible del donante: enfermedades, patologías u otro tipo de información genética que pueda vulnerar su intimidad.**

Nombre del responsable

Fecha y firma

Nota.- Para recibir el certificado de participación es obligatoria la remisión de este formulario firmado.