



Estimados colegas del Grupo de Habla Española y Portuguesa de la ISFG:

Nos complace anunciarles el comienzo de la segunda de las dos fases de las que consta el ejercicio de genotipado de SNPs propuesto en la reunión del grupo celebrada en Buenos Aires el pasado septiembre de 2009 y cuya primera fase de participación tuvo lugar durante la primavera de 2010. Los resultados de esta primera fase fueron comunicados en la reunión del grupo celebrada en Granada el pasado junio de 2010.

Esta segunda fase consistirá en el genotipado del conjunto de 52 SNPs autosómicos en las muestras M1, M2 y M3 del Ejercicio de Intercomparación del GHEP 2012. El método será el desarrollado por Sánchez *et al* que se publicó en 2006 [1]. Este conjunto de marcadores y el protocolo de trabajo que los acompaña han sido validados para su uso forense (Musgrave-Brown *et al*, 2007) y su aplicación a la casuística probada con éxito (Phillips *et al*, 2008, Fondevila *et al*, 2008). Esta segunda fase es gratuita y los laboratorios que quieran participar deberán comunicarlo por correo electrónico a cualquiera de estas dos direcciones de contacto, indicando claramente el nombre completo del laboratorio:

Vanesa Álvarez: [vanesa.alvarez@usc.es](mailto:vanesa.alvarez@usc.es)

Lourdes Prieto: [lourditasmt@gmail.com](mailto:lourditasmt@gmail.com)

Aquellos laboratorios que no hayan participado en la primera fase del ejercicio podrán hacerlo ahora siempre que dispongan de las muestras M1, M2 y M3 del Ejercicio de Intercomparación del GHEP 2009 y abonen 50 euros en la plataforma de pago online [http://www.gep-isfg.org/ISFG/Castellano/Control\\_de\\_calidad/formas\\_pago.php](http://www.gep-isfg.org/ISFG/Castellano/Control_de_calidad/formas_pago.php). Igualmente, además deberán comunicarlo por correo electrónico a cualquiera de las dos direcciones de contacto anteriores.

Es obligatorio, para la participación en ambos ejercicios, que al menos una persona del laboratorio participante sea socia del GHEP.

Para la publicación final se establece, además, el límite de dos autores (que deberán ser miembros del GHEP-ISFG y estar al corriente del pago de la cuota de socio) por cada grupo participante.

**Plazo de Inscripción en los ejercicios: Hasta el 31 de Marzo de 2012**

**Plazo de envío de resultados: 15 de Mayo de 2012**

Muchas gracias por vuestra participación!!

#### **EJERCICIO COLABORATIVO SNPs AUTOSÓMICOS**

Para este ejercicio se suministrarán los primers necesarios para realizar el genotipado:

- a) De los 10 marcadores que se analizaron en la primera fase a los laboratorios que no participaron en su día y que quieran participar ahora, previo pago.



b) De los 52 marcadores que se analizarán en la segunda fase a todos los laboratorios.

El método de tipado que se utilizará para el análisis de las muestras del ejercicio será minisequenciación con el kit SNaPshot™ de (Applied Biosystems), tecnología con la cual los laboratorios participantes ya han tenido experiencia tras la primera parte del ejercicio.

El trabajo de laboratorio consistirá en los siguientes apartados:

- PCR multiplex
  - o Para la primera fase: Se amplifican los 10 marcadores en una única reacción de PCR usando el mix de primers suministrado. Esta mezcla de primers se encuentra ya optimizada para rendir productos de reacción adecuadamente equilibrados.
  - o Para la segunda fase: Se amplificarán los 52 marcadores en una única reacción de PCR usando los dos mixes de primers que se suministran, rotulados como PCR A1 y PCR A2. Cada uno de estos dos mixes contiene los oligonucleótidos necesarios para la amplificación de una parte de los marcadores incluidos en el set de 52. Pese a que ambos mixes están pensados para su uso conjunto en una PCR 52-plex, también es posible su uso individual en dos PCRs separadas, recomendado en aquellos casos en los que la eficiencia de PCR sea baja. Se recomienda a los participantes aplicar la PCR52plex en el ejercicio, no obstante, si decidieran amplificar los 52 marcadores en dos PCRs independientes (Auto1 y Auto2) se ruega que lo indiquen en la hoja de resultados.
- Limpieza de producto de PCR con EXO-SAP (primera y segunda fase del ejercicio)
- Reacción de minisequenciación
  - o Para la primera fase: Una reacción multiplex de los 10 marcadores, realizada con el mix de sondas optimizado que se suministra.
  - o Para la segunda fase: Este paso se compone OBLIGATORIAMENTE de dos reacciones multiplex independientes correspondientes a los marcadores contenidos en Auto1 y Auto2. Se suministran dos mixes de sondas a los participantes (A1 y A2) para la minisequenciación de Auto1 y Auto2. Ambas reacciones están pensadas para partir de producto de PCR obtenido en formato 52-plex de una misma reacción de PCR.
- Limpieza con SAP de los productos de minisequenciación (primera y segunda fase del ejercicio)
- Separación electroforética de los productos de minisequenciación (primera y segunda fase).



## Ejercicio de genotipado de SNPs: Fase 2

SNPs a genotipar en la primera fase del ejercicio:

rs-number	SNPforId code	reference allele	Visualized alleles	Minor Allele Frequency (Europe)	rs-number	SNPforId code	reference allele	Visualized alleles	Minor Allele Frequency (Europe)
rs1490413	A01	G	CT	0.436	rs1454361	A14	A	AT	0.469
rs1029047	A06	T	TA	0.396	rs2111980	A27	A	AG	0.456
rs763869	A08	C	CT	0.486	rs1005533	A49	G	GA	0.464
rs735155	A10	G	CT	0.464	rs8037429	A50	C	GA	0.484
rs2107612	A12	G	GA	0.327	rs891700	A51	A	AG	0.475

SNPs a genotipar en la segunda fase del ejercicio:

rs-number	SNPforId code	reference allele	Visualized alleles	Minor Allele Frequency (Europe)	rs-number	SNPforId code	reference allele	Visualized alleles	Minor Allele Frequency (Europe)
rs1490413	A01	G	CT	0.436	rs1382387	A26	G	GT	0.319
rs876724	A02	C	CT	0.315	rs2111980	A27	A	AG	0.456
rs1357617	A03	T	AT	0.293	rs2056277	A28	C	GA	0.259
rs2046361	A04	A	TA	0.35	rs1024116	A29	G	GA	0.427
rs717302	A05	G	GA	0.497	rs727811	A30	C	CA	0.448
rs1029047	A06	T	TA	0.396	rs1413212	A32	A	TC	0.303
rs917118	A07	C	GA	0.283	rs938283	A33	T	TC	0.169
rs763869	A08	C	CT	0.486	rs1979255	A34	G	CG	0.339
rs1015250	A09	G	CG	0.214	rs1463729	A35	G	GA	0.444
rs735155	A10	G	CT	0.464	rs2076848	A36	T	TA	0.441
rs901398	A11	C	CT	0.326	rs1355366	A37	A	TC	0.421
rs2107612	A12	G	GA	0.327	rs907100	A38	G	CG	0.394
rs1886510	A13	C	GA	0.059	rs354439	A39	T	TA	0.418
rs1454361	A14	A	AT	0.469	rs2040411	A40	G	GA	0.371
rs2016276	A15	A	TC	0.231	rs737681	A41	T	TC	0.406
rs729172	A16	C	GT	0.402	rs2830795	A42	A	AG	0.291
rs740910	A17	A	AG	0.298	rs251934	A43	T	AG	0.386
rs1493232	A18	C	GT	0.336	rs914165	A44	G	CT	0.396
rs719366	A19	C	CT	0.373	rs10495407	A45	G	CT	0.357
rs1031825	A20	A	TG	0.269	rs1360288	A46	C	GA	0.335
rs722098	A21	A	AG	0.218	rs964681	A48	T	TC	0.417
rs733164	A22	G	GA	0.296	rs1005533	A49	G	GA	0.464
rs826472	A23	T	AG	0.376	rs8037429	A50	C	GA	0.484
rs2831700	A24	A	TC	0.408	rs891700	A51	A	AG	0.475
rs873196	A25	C	GA	0.401	rs1335873	A52	A	TA	0.309
					rs1028528	A53	A	AG	0.258
					rs1528460	A54	C	GA	0.31



A los laboratorios participantes se les harán llegar los siguientes componentes:

- Mix de primers de:
  - o Primera fase: primers de PCR 10 plex y sondas de minisequenciación 10plex
  - o Segunda fase: primers de PCR Auto1 y Auto2 y mix de sondas de minisequenciación Auto1 y Auto2 de minisequenciación.
- Protocolo de las reacciones a realizar.
- Perfiles obtenidos para una muestra de referencia (ADN 9947a) para los 10 y los 52 marcadores incluidos en las pruebas.

Cualquier otro material necesario para la realización del ejercicio habrá de ser obtenido por el propio laboratorio participante.

#### **Referencia**

[1] Sanchez JJ, Phillips C, Børsting C, Balogh K, Bogus M, Fondevila M, Harrison CD, Musgrave-Brown E, Salas A, Syndercombe-Court D, Schneider PM, Carracedo A, Morling N (2006) A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification. *Electrophoresis* 27(9): 1713-1724.