**Estudio de colaboración de STRs de cromosoma X 2009**

Después del desarrollo de un X-STR Decaplex (Gusmão et al., Int J Legal Med. 2008 Dec 12. [Epub ahead of print]), en las últimas Jornadas del GEP-ISFG se decidió dar continuidad a este trabajo de colaboración entre laboratorios del grupo con el objetivo de estimar frecuencias alélicas en diferentes poblaciones.

Los laboratorios interesados en participar deben inscribirse enviando un email a Leonor Gusmão (lgusmao@ipatimup.pt). Para participar en este trabajo, los laboratorios tendrán que pagar una inscripción de 50 euros que cubrirá los gastos de compra y envío de primers. Para obtener información acerca de como realizar el pago, por favor, consulten la página web del grupo (<http://www.gep-isfg.org/es/control-calidad/formas-pago.html>)  y, en caso de duda, contacten con el tesorero, Manuel López (tesoreria.gep@gmail.com).

**Fecha limite de inscripción en el ejercicio: 15 de Febrero de 2009**

Los laboratorios inscritos recibirán una alícuota de primers para la amplificación de los 10 STRs incluidos en el multiplex. Pedimos a estos laboratorios que envíen los resultados obtenidos para un mínimo de 200 hombres, por e-mail a Leonor Gusmão (lgusmao@ipatimup.pt) o Paula Sánchez-Diz (paula.sanchez@usc.es), de acuerdo con el formato del archivo que se envía adjunto.

Nota: En este trabajo solo podrán ser utilizados (para una futura publicación, en cuya autoría será incluido sólo un autor por laboratorio) los datos de los laboratorios con resultados correctos en las muestras del CC anual para todos los marcadores incluidos en el X-Decaplex.

**Fecha límite para envío de resultados: 25 de Julio de 2009**

**Protocolo de amplificación X-STR DECAPLEX**

**Tabla 1. Primers: secuencia y marcaje**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Locus** | **Secuencia de los primer (5'-3')** | **Ref.** |
| DXS8378 | **6-FAM** TTAGGCAACCCGGTGGTCC ACAAGAACGAAACTCCAACTC | [1] |
| DXS9898 | **6-FAM** CGAGCACACCTACAAAAGCTG TAGGCTCACCTCACTGAGCA | New |
| DXS7133 | **6-FAM** CACTTCCAAAAGGGGAAAAA ACTTGTACTTGGTGGGAGGAA | New |
| GATA31E08 | **6-FAM** GCAAGGGGAGAAGGCTAGAA TCAGCTGACAGAGCACAGAGA | New |
| GATA172D05 | **VIC** TAGTGGTGATGGTTGCACAG ATAATTGAAAGCCCGGATTC | [1] |
| DXS7423 | **VIC** GTCTTCCTGTCATCTCCCAAC TAGCTTAGCGCCTGGCACATA | [1] |
| DXS6809 | **VIC** TCCATCTTTCTCTGAACCTTCC TGCTTTAGGCTGATGTGAGG | New |
| DXS7132 | **NED** TCCCCTCTCATCTATCTGACTG CACTCCTGGTGCCAAACTCT | New |
| DXS9902 | **NED** CTGGGTGAAGAGAAGCAGGA GGCAATACACATTCATATCAGGA | New |
| DXS6789 | **NED** CTTCATTATGTGCTGGGGTAAA ACCTCGTGATCATGTAAGTTGG | New |

[1] Edelmann et al. Forensic Sci Int 129: 99-103 (2002)

Reactivos PCR:

- 10X Primer Mix (incluye todos los primers a una concentración de 2µM. En la Tabla 1 esta indicada la secuencia y marcaje de los primers)

- QIAGEN Multiplex PCR kit (<http://www.qiagen.com>)

PCR (Qiagen amplification kit)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|   | **Volumen por muestra** |   |
| **2x Qiagen Multiplex PCR Master Mix** | 5 µl |   |
| **10x Primer mix** | 1 µl |   |
| **H2O** | 3,5 µl |     |
|   |   |   |
|   | 9,5 µl | + 0.5 µl ADN (1 ng/µl) |
| **10 µl volumen final** |

**Condiciones cíclicas de la PCR**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Desnaturalización inicial** | 95 ºC | 15 min |
|   | 94 ºC | 30 sec |
| **10 X** | 60 ºC | 90 sec |
|   | 72 ºC | 60 sec |
|   |   |   |
|   | 94 ºC | 30 sec |
| **20 X** | 58 ºC | 90 sec |
|   | 72 ºC | 60 sec |
|   |   |   |
| **Extensión final** | 60 ºC | 60 min |

**Post PCR**

Size standard LIZ500; Filtro G5

Size standard ROX500; Filtro D

**Muestras de referencia:**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **9947A** | **9948** | **NA3657** | **K562** | **References** |
| **DXS8378** | 10/11 | 11 | 12 | 10 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **DXS9898** | 12/15 | 13 |  - | 12 | Shin et al. FSI 147: 35-41 (2005) |
| **DXS7133** | 9/10 | 11 | 9 | 10 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **GATA31E08** | 13 | 12 |  - | 13 | Gusmao et al. IJLM 123: 227-234 (2009)\* |
| **GATA172D05** | 10 | 6 | 9 | 12 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **DXS7423** | 14/15 | 14 | 13 | 17 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **DXS6809** | 31/34 | 31 | 29 | 34 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **DXS7132** | 12 | 13 | 12 | 13 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |
| **DXS9902** | 12 | 13 | 13 | 12-13 | Gusmao et al. IJLM 123: 227-234 (2009)\*\* |
| **DXS6789** | 21/22 | 20 | 23 | 21 | Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003) |

\*   Genotipos cambiados añadiendo dos repeats a lo publicado por Shin et al. FSI 147: 35-41 (2005)

\*\* Genotipos cambiados añadiendo un repeat a lo publicado por Szibor et al. FSI 138: 37-43 (2003)

NOTA: Aunque se presentan resultados para K562 DNA (Promega), este ADN no debería ser usado únicamente como muestra de referencia

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | DXS8378 | DXS9898 | DXS7133 | GATA31E08 | GATA172D05 | DXS7423 | DXS6809 | DXS7132 | DXS9902 | DXS6789 |
| GEP2003 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M1 | 10/12 | 11/12 | 9/11 | 9/13 | 11 | 14/15 | 33 | 13 | 12.1/13 | 20/23 |
| M4 | 12 | 11 | 11 | 9 | 11 | 14 | 33 | 13 | 13 | 23 |
| GEP2004 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M1 | 12 | 12 | 11 | 9 | 10 | 14 | 34 | 15 | 12 | 20 |
| M2 | 12 | 12 | 11 | 13 | 10 | 15 | 33 | 13 | 12 | 21 |
| M3 | 12 | 12 | 11 | 9/13 | 10 | 14/15 | 33/34 | 13/15 | 11/12 | 20/21 |
| GEP2005 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M1 | 10 | 8.3 | 9 | 12 | 11 | 15 | 36 | 13 | 13 | 23 |
| M2 | 10/12 | 8.3/12 | 9/10 | 9/12 | 10/11 | 13/15 | 34/36 | 13/14 | 12/13 | 20/23 |
| M3 | 10 | 14 | 9 | 11 | 8 | 15 | 31 | 15 | 10 | 20 |
| M4 | 11 | 12 | 9 | 11 | 12 | 15 | 33 | 15 | 10 | 20 |
| GEP2006 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M1 | 11 | 11/13 | 9/10 | 9/13 | 10/11 | 15 | 30/32 | 13 | 12/13.1 | 15/16 |
| M2 | 11/12 | 11/13 | 9/10 | 11/13 | 10/11 | 14/15 | 30/32 | 13 | 12/13.1 | 15/16 |
| M3 | 13 | 12 | 11 | 12 | 6 | 14 | 34 | 14 | 12 | 21 |
| M4 | 11/13 | 11/12 | 9/11 | 11/12 | 6/10 | 14 | 32/34 | 13/14 | 12 | 16/21 |
| M5 | 10/11 | 8.3 | 9/10 | 12/13 | 8/10 | 15 | 28/33 | 15 | 11/12 | 20/22 |
| GEP2007 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| M1 | 12 | 8.3/11 | 11 | 13 | 6/9 | 14/15 | 32/33 | 13/14 | 12 | 18/20 |
| M2 | 10 | 12 | 9 | 12 | 8 | 14 | 31 | 15 | 12.1 | 20 |
| M3 | 12 | 8.3 | 11 | 13 | 6 | 15 | 32 | 14 | 12 | 18 |
| M4 | 13 | 8.3 | 9 | 12 | 10 | 15 | 32 | 15 | 11 | 20 |
| M5 | 12 | 14 | 9 | 11 | 8 | 15 | 31 | 15 | 12 | 20 |

Resultados para los marcadores de cromosoma X en las muestras distribuidas en los controles anuales del GEP-ISFG