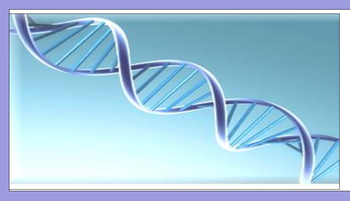

LABORATORIO REGIONAL DE GÉNETICA FORENSE DEL NOA

DEPARTAMENTO MÉDICO - PODER JUDICIAL DE LA PROVINCIA DE JUJUY

Calle Independencia 360, Esquina Argañaraz - 1º Entrepiso de Tribunales

ANÁLISIS POBLACIONAL CON 15 MARCADORES STR AUTOSÓMICOS EN LA PROVINCIA DE JUJUY – REPÚBLICA ARGENTINA

Deus, M.I.; Sánchez, L.A.; Maurín, G.B.; Ramella, M.I.; Malnatti, S.G. y Miozzo, M.C. cecimiozzo@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN: Los marcadores autosómicos "STRs" (repeticiones cortas en tandem) son los polimorfismos más utilizados para la identificación genética de vestigios biológicos y en la determinación de vínculos de parentesco. El objetivo de este trabajo fue estudiar en estos marcadores las características genéticas de la población de la Provincia de Jujuy, determinando las frecuencias alélicas, calculando los parámetros estadísticos forenses "a priori" más importantes y evaluando el cumplimiento del equilibrio de Hardy Weinberg y el desequilibrio de ligamiento; para utilizar los datos en los cálculos estadísticos de estudios de Filiación e Identificación Genética. Además, con el software "Structure" se intentó estudiar la estructura de la población.

MATERIALES y MÉTODOS: Se seleccionaron 512 individuos, 256 hombres y 256 mujeres, a partir de casos penales y civiles del laboratorio. Los individuos fueron argentinos, residentes de la Provincia de Jujuy, no relacionados biológicamente entre sí. Las personas firmaron un consentimiento para que sea utilizado su perfil genético en estudios de investigación en forma anónima. Se estudiaron 15 marcadores STR autosómicos: D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 y FGA además del marcador de cromosomas sexuales Amelogenina. La purificación del ADN se realizó a partir de hisopados bucales utilizando el kit comercial "DNA IQ Casework Pro" en el equipo Maxwell 16 Forencic Instrumen (Promega). Se utilizó el Kit AmpFlSTR® Identifiler® Plus (Applied Biosystems) para la amplificación de los STRs. La detección se realizó en un analizador genético "Applied Biosystem/HITACHI 3500" con el Software Genemapper IDX v1.2. Para el cálculo tanto de las frecuencias alélicas y genotípicas como de los parámetros estadísticos "a priori" de interés forense, y para la verificación del equilibrio de Hardy Weinberg y del desequilibrio de ligamiento, se utilizaron los softwares: "PowerStats", "GenAlEx v6.5" y "GDA v1.1". Para estudiar la estructura de la población se utilizó el software "Structure v2.3.4".

TABLA 1

Frecuencias Alélicas Poblacional - Provincia de Jujuy - República Argentina - n= 512 (mujeres = 526 - hombres = 526))

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
6						0.2627						0.0029			
7			0.0039	0.0029		0.4824								0.1250	
7.2										0.0020					
8	0.0010		0.0586	0.0068		0.0371	0.0400	0.0088				0.5752		0.0020	
9	0.0010		0.0449	0.0107		0.0537	0.2842	0.2441				0.0283		0.0820	
9.3						0.1582									
10	0.0635		0.2793	0.2295		0.0059	0.1035	0.2207				0.0195	0.0039	0.0381	
10.2										0.0020					
11	0.0537		0.3574	0.3027			0.1680	0.1846		0.0029	0.0010	0.2461	0.0068	0.5059	
12	0.1777		0.2188	0.3770	0.0010		0.1934	0.2197		0.0352	0.0010	0.1240	0.1152	0.1670	
12.2										0.0078					
13	0.3154		0.0332	0.0605	0.0010		0.1172	0.1113		0.1602	0.0010	0.0039	0.1602	0.0723	
13.2										0.1299					
14	0.2090		0.0039	0.0068	0.0332		0.0908	0.0098		0.3340	0.0391		0.2139	0.0078	
14.2										0.0430					
15	0.1484			0.0029	0.4834		0.0020	0.0010		0.1865	0.0762		0.1465		
15.2										0.0605					
16	0.0283				0.2959		0.0010		0.0225	0.0283	0.3457		0.0957		
16.2										0.0049					
17	0.0010				0.1318				0.1650	0.0020	0.3623		0.1445		0.0029
18	0.0010				0.0459				0.0801	0.0010	0.1221		0.0596		0.0098
18.2															
19					0.0068				0.2891		0.0439		0.0332		0.1172
20					0.0010				0.1162		0.0078		0.0098		0.0801
21									0.0195				0.0049		0.0986
21.2															0.0010
22									0.0674				0.0049		0.0732
22.2															0.0010
23									0.1758						0.1113
23.2															0.0010
24									0.0371						0.1563
24.2															0.0010
25									0.0244						0.2109
25.3															0.0020
26									0.0020				0.0010		0.1035
27		0.0049							0.0010						0.0254
28		0.0625													0.0039
29		0.2188													0.0010
29.2		0.0010													
30		0.1855													
30.2		0.0098													
31		0.0576													
31.2		0.1729													
32		0.0049													
32.2		0.2129													
33.2		0.0635													
34.2		0.0049													
35															
36.2		0.0010													
total	1.0000	1.0002	1.0000	0.9998	1.0000	1.0000	1.0001	1.0000	1.0001	1.0002	1.0001	0.9999	1.0001	1.0001	1.0001
Frecuencia mínima	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049	0.0049

TABLA 2

Parámetros Estadísticos "a priori" de Interés Forense

Marcador STR	Homicigocidad Observada ($h_{obs.}$)	Heterocigocidad Observada ($H_{obs.}$)	Homicigocidad Esperada ($h_{esp.}$)	Heterocigocidad Esperada ($H_{esp.}$)	Probabilidad de "Matching" (PM)	Poder de Discriminación (PD)	Poder de Exclusión (PE)	Contenido de Información Polimórfica (PIC)	Índice de Paternidad (PI)
D8S1179	0.2109	0.7891	0.2037	0.7963	0.0698	0.9302	0.6030	0.7670	2.3704
D21S11	0.1934	0.8066	0.1681	0.8319	0.0534	0.9466	0.6629	0.8090	2.5859
D7S820	0.2637	0.7363	0.2595	0.7405	0.1150	0.8850	0.5089	0.6968	1.8963
CSF1PO	0.3008	0.6992	0.2896	0.7104	0.1358	0.8642	0.4564	0.6568	1.6623
D3S1358	0.3145	0.6855	0.3412	0.6588	0.1819	0.8181	0.4078	0.6038	1.5901
TH01	0.3340	0.6660	0.3304	0.6696	0.1607	0.8393	0.4236	0.6189	1.4971
D13S317	0.2031	0.7969	0.1799	0.8201	0.0574	0.9426	0.6440	0.7958	2.4615
D16S539	0.1855	0.8145	0.2024	0.7976	0.0763	0.9237	0.5938	0.7650	2.6947
D2S1338	0.2070	0.7930	0.1682	0.8318	0.0483	0.9517	0.6708	0.8113	2.4151
D19S433	0.2168	0.7832	0.1957	0.8043	0.0624	0.9376	0.6255	0.7795	2.3063
vWA	0.2910	0.7090	0.2743	0.7257	0.1206	0.8794	0.4953	0.6812	1.7181
TPOX	0.3535	0.6465	0.4074	0.5926	0.2229	0.7771	0.3468	0.5389	1.4144
D18S51	0.1465	0.8535	0.1402	0.8598	0.0377	0.9623	0.7162	0.8430	3.4133
D5S818	0.3164	0.6836	0.3122	0.6878	0.1315	0.8685	0.4774	0.6558	1.5802
FGA	0.1309	0.8691	0.1272	0.8728	0.0305	0.9695	0.7424	0.8588	3.8209
Sotware y/o análisis:	1 - He obs	Genetic Data Analysis (GDA). Version 1.0 (d16c)	1 - He esp	Genetic Data Analysis (GDA). Version 1.0 (d16c)	PowerStats	PowerStats	GenALEx 6.503	PowerStats	PowerStats

Parámetros Combinados: Poder de Discriminación= 0,999999999999999909 - Poder de Exclusión en un locus= 0,999997 - Poder de Exclusión en dos loci 0.99994

TABLA 3

Equilibrio de Hardy-Weinberg

Locus STR	Prueba de Chi-cuadrado	Prueba de Chi-cuadrado (Número de corridas = 10000)	Prueba de Fisher (Número de corridas = 10000)
	Probabiliadad	Probabilidad	Probabilidad
D8S1179	0.9988	0.9267	0.8443
D21S11	0.2532	0.1706	0.0135
D7S820	0.0105	0.0412	0.0148
CSF1PO	0.9029	0.5263	0.4917
D3S1358	0.0029	0.0414	0.1142
TH01	0.8466	0.7880	0.7950
D13S317	0.9490	0.8930	0.7801
D16S539	0.0424	0.0708	0.1216
D2S1338	0.3544	0.2760	0.1979
D19S433	0.9493	0.4981	0.1209
vWA	0.0011	0.0309	0.0490
TPOX	0.1998	0.1636	0.0558
D18S51	0.9749	0.7791	0.4911
D5S818	0.6704	0.5158	0.3637
FGA	1.0000	0.8983	0.8291
Software	GenALEx 6.503	Genetic Data Analysis (GDA) Ver 1.0 (d16c)	

Corrección de Bonferroni: 0,05/15 = 0,0033

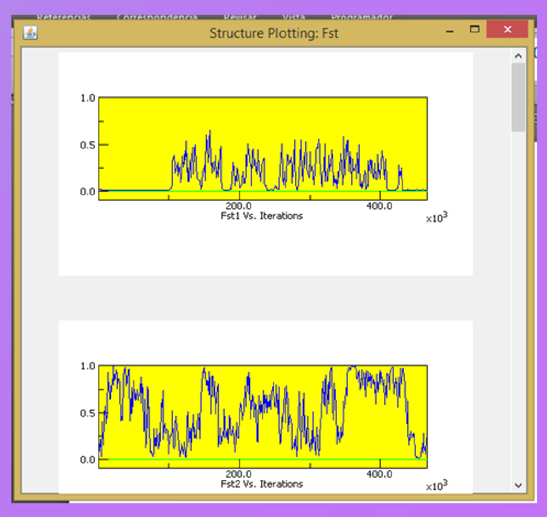

Figura 1

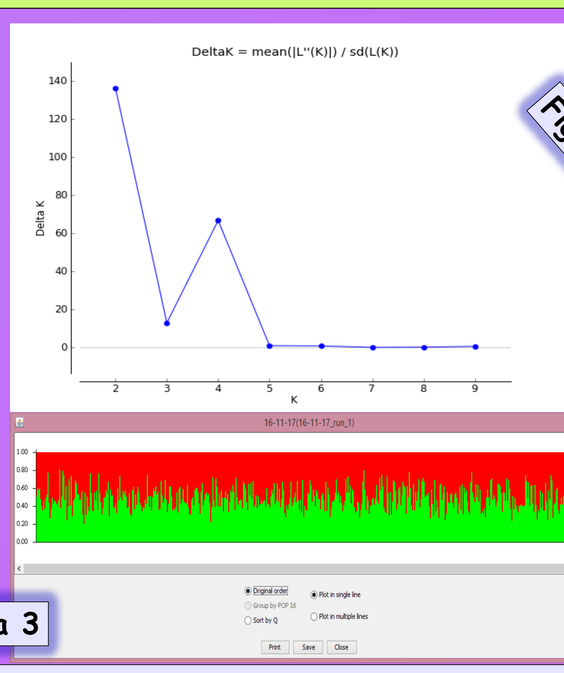

Figura 2

Figura 3

TABLA 4

Combinacion de Locus	Desequilibrio de Ligamiento (DL) - Software: Genetic Data Analysis (GDA). Version 1.0 (d16c) Prueba de Chi-cuadrado (Número de corridas: 10000)	Prueba de Fisher (Número de corridas: 10000)
	Probabilidad	Probabilidad
D8S1179/D21S11	0.6068	0.4484
D8S1179/D7S820	0.0625	0.1902
D8S1179/CSF1PO	0.4603	0.5133
D8S1179/D3S1358	0.3086	0.8005
D8S1179/TH01	0.4355	0.0669
D8S1179/D13S317	0.8773	0.1582
D8S1179/D16S539	0.2155	0.8461
D8S1179/D2S1338	0.4216	0.0187
D8S1179/D19S433	0.6852	0.2143
D8S1179/vWA	0.1249	0.1732
D8S1179/TPOX	0.4515	0.5150
D8S1179/D18S51	0.6571	0.0385
D8S1179/D5S818	0.7035	0.3847
D8S1179/FGA	0.9759	0.8771
D21S11/D7S820	0.3740	0.0029
D21S11/CSF1PO	0.3875	0.0070
D21S11/D3S1358	0.2927	0.0030
D21S11/TH01	0.0680	0.0210
D21S11/D13S317	0.1495	0.0007
D21S11/D16S539	0.6019	0.4251
D21S11/D2S1338	0.4288	0.0013
D21S11/D19S433	0.1861	0.0104
D21S11/vWA	0.2583	0.0216
D21S11/TPOX	0.5735	0.2925
D21S11/D18S51	0.1017	0.0272
D21S11/D5S818	0.2605	0.0024
D21S11/FGA	0.8426	0.4516
D7S820/CSF1PO	0.1879	0.0013
D7S820/D3S1358	0.0963	0.0498
D7S820/TH01	0.0839	0.0294
D7S820/D13S317	0.3210	0.1389
D7S820/D16S539	0.1098	0.0129
D7S820/D2S1338	0.0402	0.0013
D7S820/D19S433	0.1217	0.1411
D7S820/vWA	0.2432	0.0378
D7S820/TPOX	0.2691	0.1799
D7S820/D18S51	0.4649	0.0085
D7S82/D5S818	0.1978	0.1082
D7S820/FGA	0.4556	0.0404
CSF1PO/D3S1358	0.0193	0.3372
CSF1PO/TH01	0.5988	0.0884
CSF1PO/D13S317	0.9798	0.3232
CSF1PO/D16S539	0.4228	0.2123
CSF1PO/D2S1338	0.7820	0.2462
CSF1PO /D19S433	0.3051	0.4970
CSF1PO/vWA	0.2189	0.0077
CSF1PO/TPOX	0.9314	0.9879
CSF1PO/D18S51	0.2488	0.0112
CSF1PO/D5S818	0.3025	0.3305
CSF1PO/FGA	0.9819	0.9213
D3S1358/TH01	0.1418	0.2201
D3S1358 /D13S317	0.2453	0.4177
D3S1358/D16S539	0.2410	0.1098
D3S1358/D2S1338	0.0794	0.1154
D3S1358/D19S433	0.4775	0.0892
D3S1358/vWA	0.1037	0.4927
D3S1358/TPOX	0.2958	0.3736
D3S1358/D18S51	0.1497	0.4247
D3S1358/D5S818	0.2600	0.0736
D3S1358/FGA	0.0041	0.1325
TH01/D13S317	0.6142	0.2677
TH01/D16S539	0.0042	0.5967
TH01/D2S1338	0.1594	0.0005
TH01/D19S433	0.2914	0.0457
TH01/vWA	0.1019	0.0830
TH01/TPOX	0.7506	0.2325
TH01/D18S51	0.0741	0.5092
TH01/D5S818	0.3833	0.4978
TH01/FGA	0.7257	0.6382
D13S317/D16S539	0.1193	0.1089
D13S317/D2S1338	0.5638	0.0092
D13S317/D19S433	0.1744	0.2972
D13S317/vWA	0.1223	0.0615
D13S317/TPOX	0.1848	0.5219
D13S317/D18S51	0.7322	0.0253
D13S317/D5S818	0.1311	0.0194
D13S317/FGA	0.9648	0.5142
D16S539/D2S1338	0.1342	0.0583
D16S539/D19S433	0.2176	0.5635
D16S539/vWA	0.0858	0.5507
D16S539/TPOX	0.1122	0.9532
D16S539/D18S51	0.4523	0.3346
D16S539/D5S818	0.0469	0.3289
D16S539/FGA	0.7525	0.1744
D2S1338/D19S433	0.0796	0.0233
D2S1338/vWA	0.1205	0.0022
D2S1338/TPOX	0.3676	0.5479
D2S1338/D18S51	0.6957	0.0008
D2S1338/D5S818	0.2158	0.0895
D2S1338/FGA	0.2183	0.2926
D19S433/vWA	0.1203	0.0225
D19S433/TPOX	0.1569	0.8012
D19S433/D18S51	0.5277	0.4079
D19S433/D5S818	0.5902	0.0689
D19S433/FGA	0.5255	0.0833
vWA/TPOX	0.5162	0.3884
vWA/D18S51	0.1132	0.0499
vWA/D5S818	0.1574	0.2035
vWA/FGA	0.4790	0.3507
TPOX/D18S51	0.6952	0.6950
TPOX/D5S818	0.3526	0.3049
TPOX/FGA	0.7485	0.9266
D18S51/D5S818	0.0218	0.4145
D18S51/FGA	0.4226	0.0042
D5S818/FGA	0.2682	0.5385

Corrección de Bonferroni: 0,05/105 = 0,0004761

RESULTADOS y CONCLUSIONES

- Luego de tipificar los 512 individuos del estudio, fueron detectados un total de 157 alelos en los 15 loci STR autosómicos (Tabla N°1). El locus más informativo fue FGA (Hobs = 0,8691), en cambio el locus menos informativo fue TPOX (Hobs = 0,6465), ver Tabla N° 2.
- En cuanto a los parámetros estadísticos de eficacia "a priori" se obtuvo un Poder de Discriminación combinado de 0,999999999999999909 y un Poder de Exclusión en un locus de 0,999997 y en 2 loci de 0,99994. El Contenido de Información Polimórfica por marcador varió entre 0,5389 y 0,8588, el Índice de Paternidad Típico entre 1,41 y 3,82 y la Homocigocidad observada entre 0,1309 y 0,3535 (Tabla N° 2).
- En algunos marcadores se observaron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy Weinberg, y del desequilibrio de ligamiento entre loci, sin embargo luego de aplicar la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples, las desviaciones fueron no significativas (Tablas N° 3 y 4).
- Se concluye que este conjunto de marcadores es confiable y altamente informativo como herramienta en el análisis forense. El laboratorio, sin embargo, está actualmente validando para su uso el kit GlobalFiler™, que sumará seis nuevos marcadores con altos niveles de polimorfismo, con lo cual se espera que mejoren los valores combinados antes mencionados.
- En cuanto al análisis de la estructura poblacional utilizando el programa "Structure", se realizaron varias corridas (runs), con los siguientes parámetros: período de Burnin de 400.000, número de pasos de la cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) de 1.600.000 y 4 réplicas independientes de K de 1-10; los gráficos de Fst no se mostraron estables o sea no habría convergencia (figura 1), los datos por lo tanto no estarían acordes a la realidad. Por lo tanto lo resultados mostrados responden a estudios preliminares. De acuerdo a lo indicado por el software "Harvester" para los parámetros anteriores se obtuvo un número óptimo de "clusters" poblacionales igual a dos (figura N° 2), y luego de una corrida de un largo del período de Burnin de 100.000 y un número de pasos de la cadena de MCMC de 400.000, para K=2, se obtuvo el gráfico de la figura N° 3, donde cada individuo está representado por una línea vertical sugiriendo una población ADMIXED sin individuos puros.
- Siguiendo las recomendaciones de la ISFG y con el objetivo de publicar estos datos poblacionales en la revista Forensic International Genetics, los mismos fueron enviados a la "STRs for identity ENFSI Reference Database" (STRidER), para su control de calidad y se está a la espera de los resultados.