



**2013**

**TESIS:**  
**Perfiles Genéticos del cromosoma  
X y su utilidad en el área forense**



**Luna Polo Castillo Tania.**  
**Solano Nieto Ana Rocío.**

**Directora de Tesis:**  
**Mavil López Casamichana**



***UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO***

***FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA***

**TÍTULO:**

***PERFILES GENÉTICOS DEL CROMOSOMA X Y SU UTILIDAD  
EN EL ÁREA FORENSE***

***TESIS PROFESIONAL DE LICENCIATURA***

**para obtener el título de**

**BIÓLOGO**

***Genética***

**PRESENTA:**

***Luna Polo Castillo Tania Gabriela***

***Solano Nieto Ana Rocío***

**Directora de tesis:**

**Dra. Mavil López Casamichana. UACM.**

**Asesora interna:**

**M. en C. Catalina Machuca Rodríguez. FES Zaragoza.**



## DEDICATORIAS TANIA

*A Dios por darme salud, una linda familia y sobre todo, por poner en mi camino a las personas que me han ayudado a cumplir cada una de mis metas y terminar este gran logro.*

*A mis padres María Cruz Castillo y Arturo Luna Polo que los admiro y amo, porque sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y educarme, nunca podré pagar todos sus desvelos, preocupaciones, apoyo y paciencia, a ustedes les debo cada uno de mis triunfos.*

*A mis dos corazones, mis hermanitos, que me contagian de su alegría y vida, gracias por llorar conmigo en mis fracasos y sonreír a mi lado cada uno de mis logros.*

*Al amor de mi vida, mi novio Jesús García por que en todo momento ha sido mi apoyo y mi motor para seguir adelante, gracias por tu paciencia y ternura con que respondías en mis momentos de enojo y desesperación.*

*A mi abuelito Rodrigo y mi tío Beto que aunque ya no se encuentran aquí, su recuerdo siempre estará en mi mente y corazón, dándome la fortaleza para superarme.*

*A mis amigos los cuales han impedido que me sienta sola, acompañándome y regañándome cuando era necesario, haciéndome pasar momentos inolvidables, gracias por su tiempo y su cariño.*

## DEDICATORIAS ROCÍO

*Con gran amor para mis padres, ANTONIO SOLANO y ANA NIETO, porque impulsan mi vida en todo momento, por su esfuerzo, apoyo y dedicación para que continúe con mis sueños y logre todo lo que me proponga, porque estoy orgullosa de ellos y de lo que han logrado en mi familia y solo tengo una palabra para decírles:*

*“GRACIAS.”*

*Para mis hermanos, AVAD, PATRICIA, MARIBEL y RENE, que son ejemplo de superación y por el gran apoyo que siempre me han brindan en cualquier situación.*

*A los más pequeños, mis sobrinos ALEXANDRA, AIXA Y RICARDO, porque son una parte importante de mi familia y de mi vida.*

*A el amor de mi vida, mi novio ISRAEL, por su apoyo incondicional, paciencia y comprensión, en especial en los momentos difíciles, porque son los que más importan y demuestran el verdadero amor que me tiene.*

*Y por último, pero no menos importante a mis amigos, sin escribir nombres, para no olvidar alguno, a quienes les agradezco su amistad, tiempo y todo lo que hemos vivido juntos.*

*“GRACIAS POR APOYARME Y POR FORMAR PARTE DE MI VIDA“*

*“LOS AMO.”*

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en particular a la F.E.S. Zaragoza, por brindarnos sus instalaciones y docencia, para fomentar nuestros conocimientos científicos en la carrera de Biología.

A la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, en particular al Laboratorio de Análisis y Diagnóstico Molecular de ADN y al SEMEFO gracias por habernos brindado su apoyo permitiéndonos utilizar sus instalaciones.

A la compañía QIAGEN® por brindarnos el kit Argus X-12 con el que fue posible este trabajo.

Agradecemos profundamente a la Dra. Mavil López Casamichana por incluirnos en este importante proyecto, gracias por tu apoyo incondicional, tiempo y paciencia. Gracias por todas tus enseñanzas, aprendizajes, pero sobre todo gracias por tu valiosa amistad.

Un especial agradecimiento a la Bióloga Rayo del Carmen Orea Ochoa por ser la persona quien nos abrió las puertas para realizar esta tesis, gracias por tu tiempo, sabiduría y por poner en nuestro camino a personas tan lindas las cuales nos ayudaron a crecer como profesionistas.

También agradecemos a nuestra asesora interna la M. en C. Catalina Machuca Rodríguez, por brindarnos su tiempo y dedicación para la revisión de este proyecto, así mismo por compartirnos su valiosa amistad.

Gracias a la M. en C. Mariana Ruíz por su tiempo y conocimientos. Agradecemos su interés y constantes revisiones en este trabajo.

De igual manera agradecemos al M. en C. Ernesto Mendoza Vallejo por su apoyo y amabilidad, gracias por guiarnos en todo momento.

Al M. C. Raúl Zavala Chavero por su apoyo y tiempo que le dedico a la revisión de esta tesis.

*"GRACIAS. "*

***A CADA UNA DE LAS INSTITUCIONES Y PERSONAS QUE HICIERON POSIBLE LA REALIZACION DE ESTE PROYECTO Y SOBRE TODO POR CONFIAR EN NOSOTRAS.***

## *Abreviaturas.*

A.	Adenina
Ag.	Antígeno
AE.	Buffer de elución
ADN.	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt.	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ADNnuc.	Ácido desoxirribonucleico nuclear
ARN.	Ácido ribonucleico
AW1.	Buffer de lavado 1
AW2.	Buffer de lavado 2
C.	Citosina
CCD.	Cámaras de diodos computarizadas
CODIS.	Combined DNA Index System (por sus siglas en inglés)
dNTP's.	Desoxirribonucleótidos trifosfatos
dATP.	Desoxiadenosina trifosfato ó trifosfato de desoxiadenosina
dCTP.	Desoxicitocina trifosfato
dGTP.	Desoxiguanosina trifosfato
dTTP.	Desoxitimidina trifosfato
EDTA.	Ácido etilendiamino tetra acético.
EtBr	Bromuro de etidio
FBI.	Federal Bureau of Investigation (por sus siglas en inglés)
G.	Guanina

HLA.	Antígeno leucocitario humano
HV1.	Región hipervariable 1
HV2	Región hipervariable 2
Kb.	Kilobase
ml.	Mililitros
μL.	Microlitro.
μm.	Micromolar
Mb.	Megabase
ng / l.	Nanogramo/litro
ngμl.	Nanogramo/microlitro
nm.	Nanómetro
OD.	Densidad óptica
PCR.	Reacción en cadena de la polimerasa
pb.	Pares de base
RFLP.	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción
rpm.	Revoluciones por minuto
SNP's.	Polimorfismos de un solo nucleótido
STR.	Repeticiones cortas en tándem
Std.	Estándar
T.	Timina
VNTR.	Repeticiones en tándem de número variable
X-STR.	STR de cromosoma X.

## ÍNDICE

<b>1 INTRODUCCIÓN.</b>	<b>10</b>
1.1 La identificación de individuos.	11
1.1.1 Genética forense.	12
1.1.2 Sistema ABO.	13
1.1.3 Sistema HLA.	14
1.2 Estructura del ADN.	17
1.3 Organización del Genoma humano.	19
1.3.1 Regiones codificantes y no codificantes del ADN.	24
1.3.2 Regiones repetidas.	25
1.3.2.1 Satélites.	28
1.3.2.2 Minisatélites.	29
1.3.2.3 Microsatélites.	29
1.4 Polimorfismos genéticos de utilidad forense.	30
1.4.1 Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción. (RFLP)	30
1.4.2 Repetidos en tándem de número variable. (VNTR)	33
1.4.3 Repetidos en tándem cortos. (STR)	35
<b>2 MARCADORES MOLECULARES MÁS USADOS EN GENÉTICA FORENSE.</b>	<b>37</b>
2.1 Generalidades de los marcadores moleculares.	38
2.2 Nomenclatura.	39
2.3 Fuente de marcadores STRs utilizados en genética forense.	40



2.3.1	Marcadores STRs Autosómicos.	40
2.3.1.1	Utilidad.	40
2.3.1.2	Kits comerciales para su análisis.	42
2.3.2	Marcadores STRs del Cromosoma Y.	42
2.3.2.1	Herencia.	44
2.3.2.2	Utilidad.	46
2.3.2.3	Kits comerciales para su análisis.	46
<b>3</b>	<b>MARCADORES DEL CROMOSOMA X.</b>	<b>47</b>
3.1	Generalidades del cromosoma X.	48
3.1.1	Estructura del cromosoma X.	48
3.1.2	Enfermedades ligadas al cromosoma X.	50
3.2	Marcadores STRs del cromosoma X.	55
3.2.1.1	Herencia.	57
3.2.1.2	Kit Argus X-12.	57
3.3	Casos que pueden ser resueltos con marcadores STRs del cromosoma X.	59
<b>4</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.</b>	<b>60</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS.</b>	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL Y MÉTODOLOGÍA.</b>	<b>64</b>
6.1	Esquemas de individuos con relaciones de parentesco establecidas que se trabajarán en este proyecto.	65
6.2	Obtención de muestras.	68
6.3	Extracción y purificación de ADN de muestras bucales.	68

6.4 Cuantificación de ADN.	71
6.4.1 Geles de agarosa	71
6.4.2 Cuantificación por espectrofotometría UV	72
6.4.3 PCR tiempo real	72
6.5 Amplificación de STR's del cromosoma X y análisis de fragmentos.	77
<b>7 RESULTADOS.</b>	<b>80</b>
7.1 Evaluación de la calidad e integridad del ADN.	81
7.2 Cuantificación y estimación de la pureza del ADN humano.	82
7.3 Perfiles de STRs de cromosoma X.	85
7.4 Inferencia de genotipos de cromosoma X desconocidos a partir de perfiles de familiares.	93
7.5 Aplicación del uso de STRs de cromosoma X en un caso forense.	121
<b>8 DISCUSIÓN.</b>	<b>126</b>
<b>9 CONCLUSIONES.</b>	<b>133</b>
<b>10 PERSPECTIVAS.</b>	<b>135</b>
<b>11 GLOSARIO.</b>	<b>137</b>
<b>12 ANEXOS.</b>	<b>148</b>
12.1 Formatos de consentimiento para toma de muestra.	149
12.2 Soluciones de trabajo.	164
<b>13 BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>165</b>

## **1. INTRODUCCIÓN**



### *1.1. La identificación de individuos.*

Una de las acepciones de la palabra "identificar" es "reconocer si una persona es la que se busca, lo cual radica en establecer su individualidad determinando aquellos rasgos o conjunto de cualidades que la distinguen de todos los demás y hacen que sea única e irrepetible. Las disciplinas relacionadas con la identificación de las personas cobran enorme importancia en el marco de la Medicina Legal, tanto en el caso de sujetos vivos como de cadáveres, (Cabrera, 2005) y se basan en aspectos como:

- Datos fisonómicos: Siempre y cuando sea factible, la descripción de los rasgos fisonómicos constituye el medio más simple para la identificación. Los más fácilmente estimables son:
  - ✓ Sexo, cuya determinación no ofrece dificultades, excepto en casos complejos de hermafroditismo.
  - ✓ Peso, talla y edad aproximadas .
  - ✓ Color, tipo y forma de implantación del cabello, abundancia o ausencia.
  - ✓ Tonalidad de ojos y piel.
  - ✓ Marcas corporales particulares como cicatrices, señas físicas características de defectos congénitos, tatuajes y estigmas profesionales.
- Huellas dactilares: Son las impresiones de las arrugas o dibujos de la superficie de la piel de las falanges finales de los dedos, útiles en grado máximo como medio de identificación pues las huellas de una persona jamás podrán ser iguales a las de otra.
- Individualización dental: Los dientes son las piezas del cuerpo más resistentes a la destrucción tanto física como química. Un estudio detallado permite conocer especie, raza, sexo, talla y edad aproximados, además de valiosos datos sobre identificación individual. En este último caso es imprescindible contar con información previa de los registros dentales de la supuesta víctima. Las fuentes de variabilidad en los dientes pueden ser de

naturaleza congénita como la forma y el tamaño, estigmas debidos a profesiones o hábitos, como el color característico en los fumadores, enfermedades graves de la infancia que afectan la formación de la dentina y el esmalte y la existencia de tratamientos odontológicos y carencia de piezas dentales. (Cabrera, 2005).

- Identificación por medio del ADN: Los perfiles de ADN, originalmente conocidos como huellas genéticas hacen uso de variaciones o polimorfismos (muchas formas), que consisten en secuencias repetidas de ADN. (Cabrera, 2005).

### *1.1.1. Genética forense.*

La evolución de las ciencias forenses y, en particular, de la genética aplicada a esta área mediante el análisis de ADN, ha permitido que muchas familias de personas desaparecidas conozcan el paradero de sus seres queridos, así también que los restos de los occisos desconocidos sean identificados y entregados a sus familiares. (Comité Internacional de la Cruz Roja CICR, 2009).

De acuerdo con la definición que propone el Colegio Mexicano de Ciencias Forenses, la genética forense es el “Análisis de los polimorfismos responsables de la variabilidad genética en la población humana, aplicados a los problemas judiciales. Estos pueden ser:

- ✓ Determinación de paternidad, dada por una reclamación por parte de uno de los progenitores de la persona en cuestión.
- ✓ Criminalística especializada en la resolución de asesinatos y delitos sexuales, que se auxilia del análisis de los vestigios orgánicos humanos como son la sangre, el pelo, la saliva, el esperma y la piel, con el objeto de descubrir y verificar científicamente los hechos vinculados a una acción delictiva.
- ✓ Identificación de restos cadavéricos antiguos o de personas desfiguradas de interés histórico, judicial o provenientes de sitios de catástrofes humanas masivas. (Castañeda, 2010). Algunos ejemplos concretos son: los casos de la familia Romanov, los vestigios humanos provenientes de narco-fosas del norte

de México y los cadáveres o restos de las víctimas del atentado terrorista del 11 de septiembre de 2001 en la Ciudad de Nueva York.

La Genética Forense evoluciona directamente a partir de otra rama conocida como "Hemogenética forense", la cual nace a principios del siglo XX, cuando Karl Landsteiner describe el sistema ABO de los hematíes y Von Dürgen y Hirschfeld descubren su transmisión hereditaria. Esta ciencia surgió como una rama de la Criminalística cuyo objetivo era la identificación genética, tanto en casos de investigación criminal como en estudios biológicos de la paternidad. Inicialmente, las investigaciones se centraban en el análisis de antígenos eritrocitarios (sistema ABO, Rh, MN), proteínas séricas, enzimas eritrocitarias y sistema HLA. Con el abordaje de dichos marcadores podía incluirse o excluirse una persona como posible sospechoso por poseer una combinación genética igual o diferente a la del vestigio biológico hallado en el lugar de los hechos. Pero fue a mediados del siglo XX cuando, gracias al descubrimiento del ADN y de su estructura y al avance en las técnicas de análisis de dicha molécula, la Hemogenética Forense, evolucionó considerablemente hasta el punto de que hoy en día puede hablarse de una nueva subespecialidad dentro de la Medicina Forense: la Genética Forense. (Entrala, 2000).

Las técnicas bioquímicas de identificación de individuos, previas al conocimiento actual del ADN, se basaban en la comparación de productos de expresión de diferentes genes. Estas proteínas, como los antígenos eritrocitarios (grupos sanguíneos), enzimas eritrocitarias, proteínas plasmáticas y antígenos de histocompatibilidad (HLA), son marcadores que se transmiten obedeciendo a las leyes mendelianas de la herencia. (Cabrera, 2005).

### *1.1.2. Sistema ABO*

En 1901, el austriaco Karl Landsteiner demostró la existencia de los antígenos de los grupos sanguíneos en los eritrocitos humanos, así como de anticuerpos dirigidos contra estos antígenos en el suero humano. (Lastra, 2005). Definió este sistema que permite distinguir cuatro grupos de sangre en la población humana (A, B, O y AB), dependiendo de variaciones específicas que cada uno de los grupos presenta sobre los glicanos de las proteínas y lípidos de sus glóbulos rojos, plaquetas y otros

tejidos. (Revista de Divulgación Científico, 2008). Hasta entonces, toda la sangre se consideraba igual en todas las personas, y no se entendían las consecuencias, a menudo trágicas, de los rechazos inmunológicos por transfusiones de sangre. Con los descubrimientos realizados sobre el grupo sanguíneo ABO, no sólo la transfusión de sangre en el mundo se hizo más segura, sino que se favoreció el estudio de una de las primeras características hereditarias humanas más relevantes en medicina. Este sistema ha sido también utilizado en la confirmación de pruebas de paternidad, para el estudio de víctimas en medicina forense y por los antropólogos en el estudio de las diversas poblaciones. Los antígenos del Grupo sanguíneo ABO son de gran importancia en medicina transfusional; son los más inmunogénicos de todos los antígenos de los grupos sanguíneos, convirtiendo la transfusión incompatible de sangre en la causa más común de muerte por este procedimiento. (Arbeláez, 2009).

Los antígenos del sistema ABO no sólo se encuentran sobre los glóbulos rojos o eritrocitos; se hallan también en otras células y en fluidos corporales (saliva, orina, semen, leche). (Cabrera, 2005). Se clasifican en conjunto con otros antígenos de histocompatibilidad, que hay que tener en cuenta a la hora de hacer trasplantes o injertos de tejido. Según los estudios realizados a nivel mundial para establecer la distribución de los grupos sanguíneos ABO, el grupo O es el más frecuente de todos con una representatividad en el 47.7% en la población, después le sigue el A con 36.1%, luego el B con un 12% y por último el AB con sólo el 4.2% a nivel mundial (Revista de Divulgación Científico, 2008).

El gen vinculado al sistema ABO, se ubica en el cromosoma 9 y posee tres alelos que son el A, el B y el O, que varían de acuerdo a las sustituciones de nucleótidos, las cuales determinan las especificidades de las enzimas glucosiltransferasas para las cuales codifican, los genes que determinan los grupos sanguíneos se heredan como un carácter mendeliano simple, que los convierte en marcadores genéticos importantes para el estudio de la estructura genética de una población en donde se distribuyen.

### *1.1.3. Sistema HLA*

El sistema HLA es el principal sistema genético implicado en la aceptación o el rechazo de trasplante de órganos. Desde su descubrimiento se observó que es altamente polimórfico, de hecho es el sistema genético más polimórfico descrito en la

especie humana, por esa razón, es muy difícil encontrar a dos individuos no relacionados que fueran idénticos para las variantes de dicho sistema. Con base en estas características se introdujo su utilización en pruebas de paternidad, primeramente en Alemania en 1972 y, posteriormente, en E.U a partir de 1976, luego que la American Medical Association (AMA) y la American Bar Association (ABA) aprobaran su uso por presentar un patrón de herencia mendeliana y un buen poder discriminatorio.

Al igual que con el sistema sanguíneo ABO los humanos heredan 2 haplotipos del HLA, uno por vía paterna y otro por vía materna; cada haplotipo en forma dominante, de manera que se expresan tanto las variantes recibidas de un progenitor como del otro, lo cual permitió ver que el sistema fuera apto para dilucidar la paternidad a partir del año 1978 en EEUU. Un ejemplo concreto se muestra en la tabla 1.

	Madre	Padre
	(1) A*03, B*35, DRB1*0101 (2) A*24, B*15, DRB1*04	3) A*66, B*41, DRB1*04 (4) A*02, B*40, DRB1*04
	Óvulo	Espermatozoide
<b>Haplotipo</b>	(1) y (2)	(3) y (4)
<b>Descendencia.</b>	(1) y (3), (1) y (4)	(2) y (3), (2) y (4)

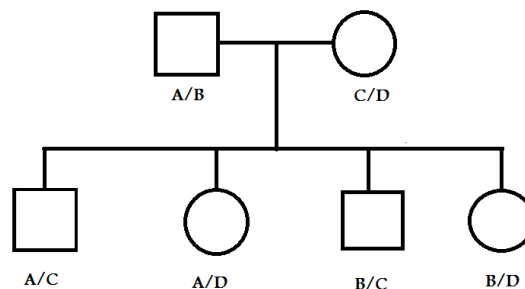
**Tabla 1:** Muestra las cuatro posibilidades que se presentan en los descendientes de una pareja, un quinto hijo tendrá el mismo HLA que cualquiera de los otros cuatro. Sin embargo, puede hacer que una pareja con sólo dos hijos los haplotipos sean iguales, lo cual además, los hace compatibles para la posibilidad de una donación de órganos entre ellos. (Haplotipos 1, 2, 3 y 4 referenciados así con fines ilustrativos para este ejemplo).

No es fácil encontrar en la población, a excepción de hermanos, dos personas con el mismo HLA, esto ha llevado a crear los bancos en que potenciales donantes están tipificados para HLA, tipificación que se confronta con la del paciente. Se debe entender que los gemelos idénticos univitelinos tienen igual dotación genética, la cual significa que tienen el mismo sistema HLA. (Arrieta-Bolaños y colb, 2010).



El sistema HLA está compuesto por un grupo de genes ligados que se encuentran en el brazo corto del cromosoma 6, en la región 6p21.31-6p21.33, cuyos productos proteicos están involucrados en la regulación de la respuesta inmune en el reconocimiento de lo propio y lo extraño, por cuyas razones regulan la respuesta a trasplantes y a agentes infecciosos. Los genes del sistema HLA se han dividido en dos clases: la clase I, HLA-A, B y C, los primeros descubiertos y los genes clase II, HLA-DR, DQ, DP, descubiertos en la década de los 70's. Existe otra serie de genes del sistema HLA, sin relevancia para el tema que nos ocupa. (Arrieta-Bolaños y colb, 2010).

Estos genes se encuentran en una pequeña región cromosómica que abarca unos 3500-4000 Kb, están acomodados del centrómero hacia el extremo del brazo corto (telómero), en el siguiente orden: HLA-DP, DQ, DR, B, C, A. Debido al hecho que ocupan una región relativamente pequeña en el cromosoma, los marcadores del sistema HLA se transmiten de padres a hijos en bloques (genes ligados o grupos de ligamiento), sin que se haya presentado recombinación durante la meiosis (suceso relativamente raro, con frecuencia de 1-2%) (Ver figura 1). (Gómez-Casado, 2005)



**Figura 1: Segregación de haplotipos HLA en una familia, con fines ilustrativos.** Todos los genes de un haplotipo (se heredan ligados en bloque) se identifican por una sola letra. Un quinto hijo de la pareja, en forma obligada tendrá una de las cuatro posibles combinaciones de haplotipos (A/B, A/D, B/C, B/D). (Gómez-Casado, 2005).

Dadas estas características, un individuo dentro de su grupo de hermanos tendrá posibilidad de tener un HLA idéntico en un 25%, totalmente diferente un 25%, ser haplotipo idéntico (mitad idéntico) en el 50%, siempre y cuando no se haya presentado recombinación.

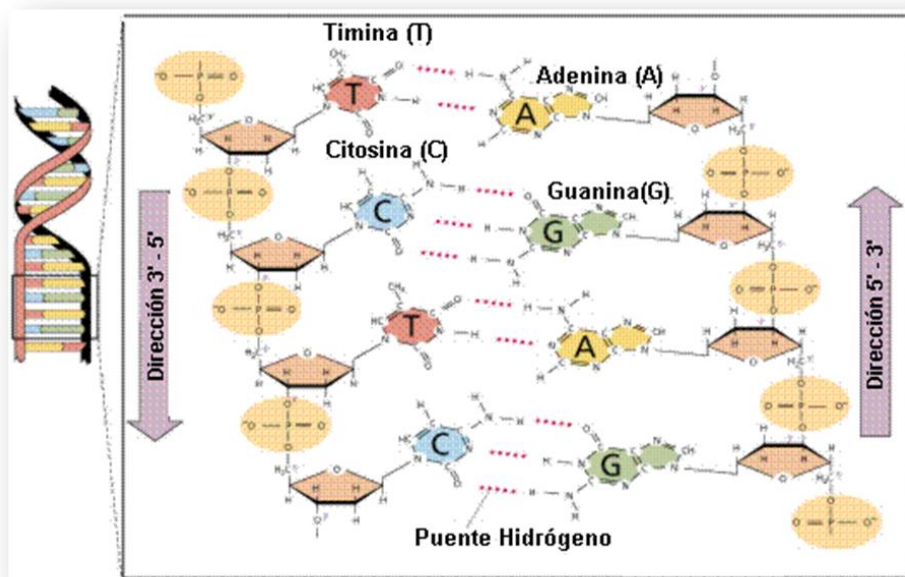
En un estudio de paternidad, para que un individuo sea compatible debe poseer un haplotipo HLA heredado de la madre y el otro haplotipo heredado del presunto padre (se procederá entonces a la valoración de probabilidades). Igualmente, si un menor tiene un haplotipo idéntico a alguno de los haplotipos maternos, pero el otro haplotipo es diferente de los que porta el presunto padre, es excluido como el padre biológico del menor.

## *1.2. Estructura del ADN*

En los organismos vivos, la información hereditaria es almacenada en el ácido desoxirribonucleico (ADN), constituyendo éste el material genético primordial, a excepción de algunos virus que lo almacenan en el ácido ribonucleico (ARN). (Barnes, 2001).

El ADN fue descubierto por Miescher en 1869, pero recién se le identificó como portador de la información genética a mediados del siglo XX. En 1953, James Watson y Francis Crick, (1953) sugieren un modelo tridimensional para la estructura del ADN, obtenido a través del análisis de los patrones de difracción de Rayos X de muestras cuya humedad relativa era superior al 75%. De acuerdo con el modelo propuesto hace más de 50 años y ampliamente aceptado hasta la fecha, el ADN es una molécula bicatenaria, cuyas cadenas están constituidas por una secuencia de unidades químicas denominadas nucleótidos. Cada nucleótido está compuesto por una pentosa, la desoxirribosa, un grupo fosfato y una base nitrogenada. Las cuatro bases presentes en esta biomolécula son: Adenina (A), Timina (T), Citosina (C) y Guanina (G) y se repiten millones o billones de veces a lo largo de la cadena polinucleotídica. Los nucleótidos se unen por enlaces fosfodiéster, resultando una secuencia alternante azúcar-fosfato en cuya disposición espacial las bases nitrogenadas emergen en forma perpendicular al eje longitudinal. Las dos cadenas se encuentran enrolladas en dirección dextrógira sobre dicho eje constituyendo una doble hélice. Cada una de ellas presenta una orientación de sus puentes fosfodiéster 3'-5' internucleotídicos opuesta a la de la otra, determinándose así el antiparalelismo de las cadenas. Sólo son posibles dos tipos de apareamiento en el ADN: A-T y G-C (Ver figura 2). El orden particular de A, T, C y G es muy importante y define el código genético para la expresión de los genes, e incluso su regulación. El fin de todo subyace en la diversidad de la vida, incluso dictar si un

organismo es humano o de otra especie, como la levadura, el arroz, o la mosca de la fruta, todos los cuales tienen sus propios genomas. (Díaz, 2008).



**Figura 2: Estructura de la doble hélice dextrógira del ADN o ácido desoxirribonucleico.** Los nucleótidos conteniendo las bases nitrogenadas (A, G, C y T) se encuentran apilados en el interior de la doble cadena. (Díaz, 2008).

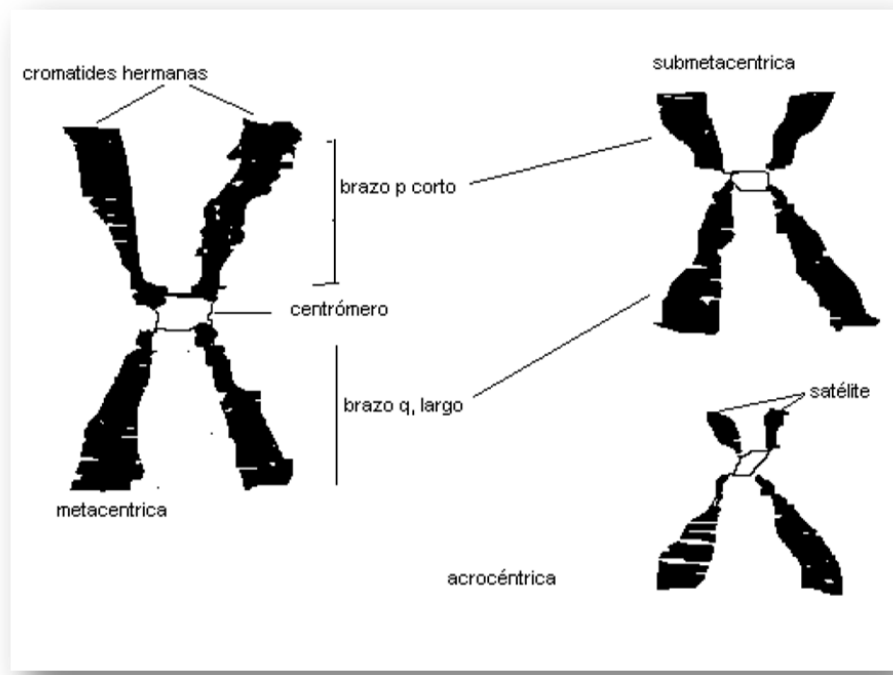
El término genoma en amplio sentido engloba todo el ADN de un organismo, incluido sus genes. Los genes contienen la información para codificar todas las proteínas requeridas en todos los organismos. Estas proteínas determinan, entre otras cosas, cómo el organismo se ve, de qué manera se metabolizan los alimentos o combaten la infección o cómo se comporta, es decir, todas las funciones biológicas de los seres vivos. (Michaelis, 2008). Los genes de eucariontes se forman por una serie de secuencias codificadoras denominadas exones, separadas por un conjunto de segmentos no codificadores llamados intrones. (Zúñiga, 2006). Los exones son los fragmentos del gen que codifican aminoácidos de la proteína mientras que los intrones son fragmentos del gen que se encuentran separando los distintos exones y no codifican aminoácidos. La longitud de intrones y exones es variable, pero en general, la longitud de ADN de los intrones de un gen es mayor que la de los exones, pudiendo ser en algunos genes hasta cien veces mayor; los exones son por lo tanto, más cortos que los intrones, aunque en algunos casos tienen una longitud considerable, el exón

humano más largo pertenece al gen de la apolipoproteína B-100, que tiene alrededor de 7500 pares de bases. (Zúñiga, 2006).

### *1.3. Organización del Genoma humano*

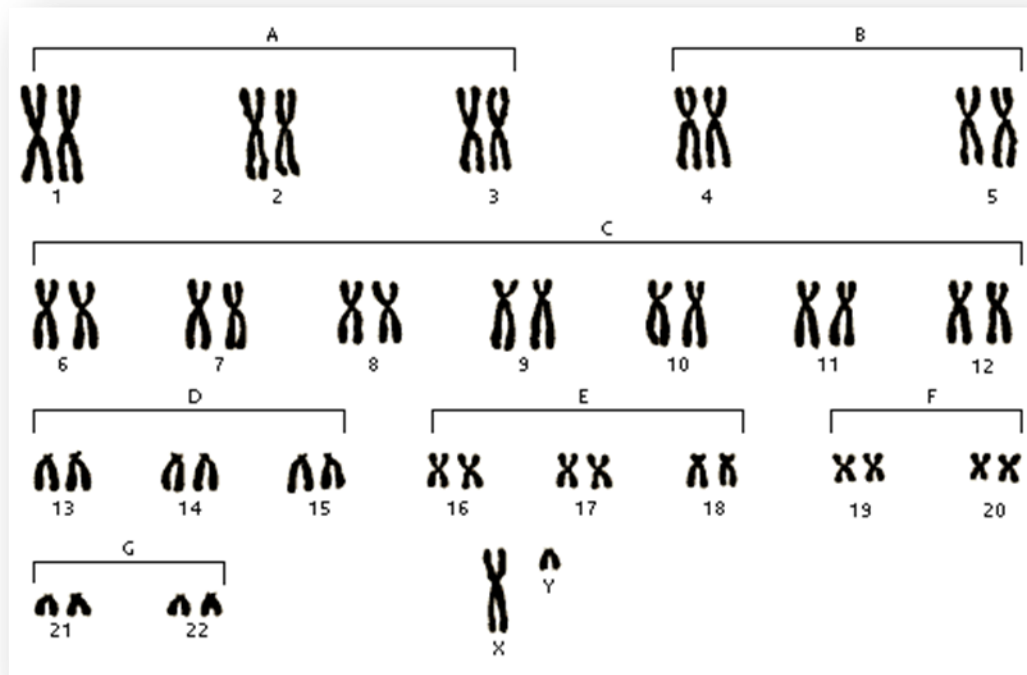
Los cromosomas son estructuras en forma de bastón que se encuentran en el interior del núcleo, pueden observarse al microscopio durante el proceso de división celular, específicamente en la metafase de éste, donde el ADN se encuentra altamente compactado. Además de material genético, los cromosomas contienen proteínas llamadas histonas y enzimas claves de la regulación de la expresión génica. La forma y tamaño de los cromosomas es variable, dependiendo del organismo y de cada cromosoma en particular. Según el modelo de la doble hélice de ADN de Watson y Crick, cada cromosoma tendría, en su forma condensada, un tamaño de 1.3 a 10  $\mu\text{m}$  (es decir, que la extensión total del ADN sería de alrededor de los 2 m), teniendo el núcleo en promedio un diámetro de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ , por lo que es necesario un alto grado de compactación de esta molécula, de tal forma que sea posible su contención dentro de dicho organelo celular así como se facilite la replicación, la transcripción y la reparación del ADN, mecanismos relacionados cruciales para la sobrevivencia de todo ser vivo. (Voet, 2007)

Cada cromosoma autosómico está compuesto por dos cadenas idénticas de ADN llamadas cromátidas hermanas, que están conectadas en una región central denominada centrómero (ver figura 3). El cinetocoro, estructura proteica situado a ambos lados del centrómero y encima de cada cromatida, interviene en la separación de los cromosomas durante la mitosis y meiosis. (Voet, 2007)



**Figura 3: Anatomía de un cromosoma**, donde se muestran las tres formas: metacéntrica con centrómero aproximadamente en el centro y brazos de longitud similar; submetacéntrica donde el brazo p claramente es más corto que el brazo q; y acrocéntrica con centrómero cerca de un extremo con satélite, este brazo contiene genes de RNAr. (Zúñiga, 2006).

Los cromosomas contienen la información genética del organismo. Cada organismo tiene un número de cromosomas característico de su especie. En la especie humana hay 23 pares de cromosomas organizados en 8 grupos según el tamaño y la forma contenidos en cada célula somática del cuerpo (ver figura 4), Mientras que las células sexuales o gametos tienen la mitad del número de cromosomas que las células somáticas del organismo. El número de cromosomas de los gametos se conoce como número haploide de dotación simple y el de las células somáticas ( $n$ ), como número diploide ( $2n$ ). (Jones-Morris, 1999).



**Figura 4:** Los **Cromosomas humanos** se organizan en 8 grupos dependiendo de su forma y tamaño. (Jones-Morris, 1999).

La mitad de los cromosomas procede del padre y la otra mitad de la madre. Las diferencias entre individuos reflejan la recombinación genética de estos cromosomas al pasar de una generación a otra. (Franco, 2003).

El genoma humano tiene alrededor de 20, 500 genes distribuidos en los 23 pares de cromosomas de las células somáticas: 22 autosomas y un par de cromosomas sexuales (XX en el caso de las mujeres y XY en el caso de los varones). (Pinto, 2010).

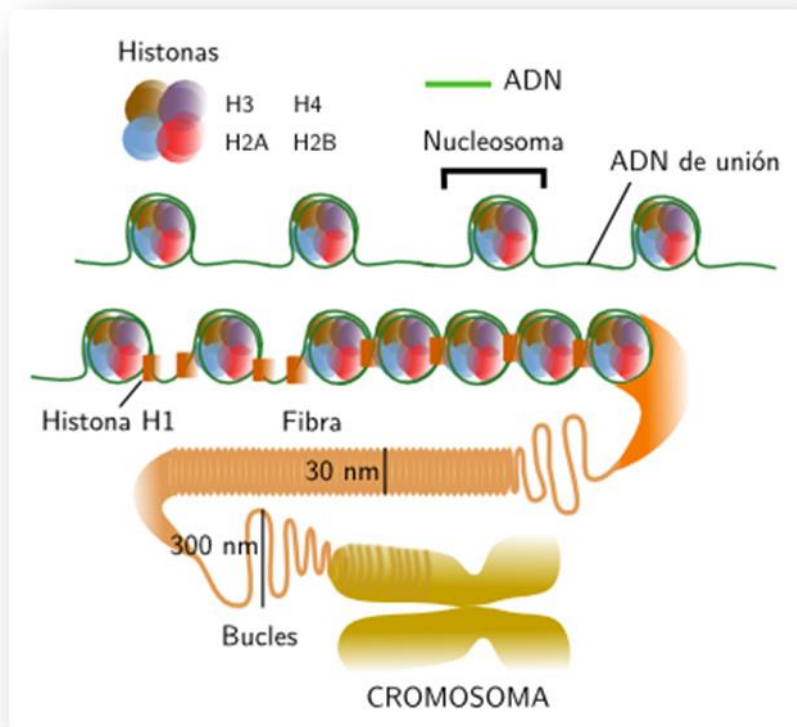
El empaquetado del ADN puede apreciarse en tres niveles (Ver figura 5):

1. **Nucleosomas:** El primer nivel de la organización del ADN se logra con la formación de nucleosomas en los que el ADN se envuelve alrededor de complejos proteicos denominados partículas centrales del nucleosoma.
2. **Cromatina:** Es el complejo de ADN o ARN y proteínas, formado en el núcleo de los eucariontes. Estas proteínas se unen al ADN y este se va enrollando alrededor de la partícula central asociándolo a otras proteínas para permitir la constitución de su segundo nivel de organización.

Las proteínas que conforman la cromatina pueden ser:

- ✓ **Histonas:** Las histonas son proteínas cargadas positivamente y por lo tanto pueden formar enlaces iónicos con los grupos fosfato negativos en los ácidos nucleicos, el octámero  $(H2A)_2 (H2B)_2(H3)_2(H4)_2$  es capaz de auto ensamblarse en las condiciones correctas y en la presencia de las dos moléculas siguientes:
  - ✓ **Nucleospamina:** una proteína ácida que permite que las histonas y el ADN se unan de forma controlada.
  - ✓ **ADN-topoisomerasas:** enzimas que ayudan al ADN a la formación de la superhélice.
3. El tercer nivel de organización consiste en la formación de bucles en los que el ADN se pliega en forma de asas que irradian desde un andamiaje central de proteínas; se cree que estas asas constituyen unidades de transcripción.

En términos generales, el genoma humano está conformado por un genoma nuclear y otro mitocondrial. La mayoría de los genes se localizan en el material genético contenido en el núcleo de la célula, separado del resto por la doble envoltura nuclear que limita y regula el intercambio entre el interior del núcleo y el citoplasma celular, donde se encuentra la maquinaria relacionada con la decodificación de la información genética, responsable en última instancia de la síntesis de proteínas. En cambio, el genoma mitocondrial está ubicado en la matriz de dicho organelo celular (mitocondria).



**Figura 5:** Esquema de los diferentes grados de empaquetamiento de la cromatina, desde los nucleosomas hasta los cromosomas (Ross,2005.)

La organización del genoma mitocondrial humano es radicalmente diferente a la del genoma nuclear, pero tiene grandes similitudes con la mayoría de los genomas de las bacterias (células procariontes), es más simple, está constituido por unos dieciséis mil seiscientos pares de bases, conteniendo 37 genes y con una disposición circular sin empaquetamiento. Se cree que la célula eucariota actual, conteniendo ambos genomas: nuclear y mitocondrial, procede de la simbiosis entre dos células diferentes, una nucleada (eucarionte) y otra sin núcleo diferenciado (procarionte). Esta simbiosis debe ser entendida en los orígenes de la vida. Ésta surgió en un ambiente con una atmósfera reductora donde las células liberaban oxígeno al medio como residuo de su metabolismo. En esta época, el oxígeno resultaba ser altamente tóxico para la inmensa mayoría de células eucariontes, aunque surgieron algunas células procariontes con capacidad para utilizar el oxígeno con fines metabólicos. La masiva liberación de oxígeno al medio (hace unos 1500 millones de años) provocó un enriquecimiento de oxígeno en la atmósfera de la tierra, incompatible con la vida. Sin embargo, gracias a



la simbiosis de algunas células eucariotas primitivas con las células procariontes (con capacidad para consumir el oxígeno), las primeras pudieron adaptarse y sobrevivir en las nuevas condiciones oxidantes de la atmósfera. (Grisolia, 2002).

### **1.3.1. Regiones codificantes y no codificantes del ADN.**

Basándonos en la función del ADN nuclear, podemos dividirlo en dos grandes grupos. Las regiones génicas de la molécula del ADN son conocidas como "regiones codificantes" y se sabe son esenciales porque definen las secuencias nucleotídicas que derivarán, principalmente, en proteínas luego de la transcripción y traducción, así como el grado de expresión del gen en cada tejido y en cada tiempo. Sin embargo, los genes comprenden sólo el 2% del genoma humano, el resto está constituido por "regiones no codificantes", las cuales a pesar de que se han descrito con frecuencia como ADN no esencial, cada día cobran mayor importancia como mediadores y reguladores de la expresión génica. Se sabe que el ADN no codificante juega un importante papel en la función de los cromosomas, sobre todo actuando como puntos calientes "hot spots" de recombinación. Este ADN puede ser de dos tipos: ADN espaciador, el cual está formado por una secuencia sencilla de bases que se dispone entre regiones codificantes del genoma y ADN repetitivo, cuyas secuencias se disponen por todo el genoma debido a la existencia de múltiples copias. A su vez, este ADN repetitivo se clasifica según las particulares de la secuencia en: "Secuencias repetidas en tándem" en las que existe una repetición de la misma secuencia una y otra vez continuamente en un fragmento de ADN. Un ejemplo lo constituye el siguiente segmento:

---ATCGG ATCGG ATCGG ATCGG ATCGG -----

También existen las "secuencias repetidas intercaladas", que son secuencias largas de bases que aparecen repetidas, pero, en posiciones diferentes y distantes dentro del genoma. Un caso particular lo constituye este ejemplo:

...ATCCCCGGGGAATCGATAAACGGATC (n bases)ATCCCCGGGGAATCGATAAACGGA TC  
(donde n puede ser cientos de bases)

Las características generales del ADN no codificante lo hacen especialmente útil para su aplicación a la identificación en Medicina Forense. El ADN esencial está formado por secuencias altamente conservadas con muy pocas variaciones interindividuales e intergeneracionales, ya que de lo contrario se podrían ver afectadas funciones básicas para la vida de las personas. Los mínimos cambios que tienen lugar, cuando son viables, conducen a variantes polimórficas de proteínas y enzimas, que pueden o no desencadenar efectos negativos o positivos en la actividad de la misma. (Acosta, 1995).

Contario a ello, el ADN no codificante, presenta una gran variabilidad de unos individuos a otros, ya que estas secuencias no son conservadas, sus cambios no afectan *per se* la fisiología del individuo. Las variaciones debidas a cambios de bases sencillos, procesos de inserción-delección o de intercambio de ADN (recombinación) durante la formación de las células germinales (meiosis) hacen que se modifique el número de repeticiones o el orden de las bases de un determinado fragmento repetitivo, pudiendo producirse en un *locus* sencillo o múltiples *loci* en una población, siendo éste el origen de la variabilidad que hace que no haya dos personas, a excepción de los gemelos univitelinos, que tengan la misma secuencia del ADN en los marcadores polimórficos más utilizados. (Acosta, 1995).

### 1.3.2. Regiones repetidas.

La mayor parte del ADN nuclear es no codificante e incluye ADN repetitivo. Según Vogt (1990), las secuencias de ADN repetido se distribuyen por el genoma de dos maneras:

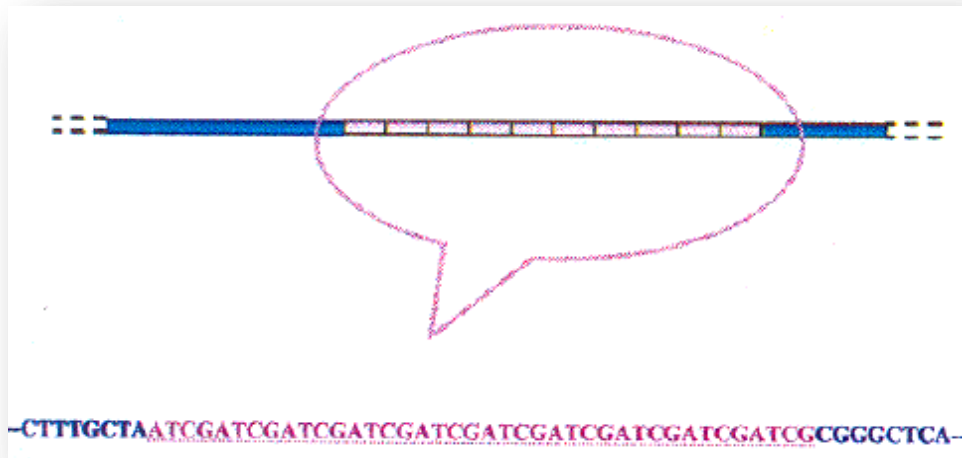
Tipo I. Grandes bloques formados por repeticiones de distintas unidades de longitud variable. Corresponde con los satélites clásicos I-IV y el satélite alfoide.

Tipo II. Pequeños bloques distribuidos a lo largo de todo el genoma, con un número variable de unidades de repetición de secuencia similar. Pertenecen a este tipo los minisatélites y los microsátélites. (Ver figura 6). (Cal, 2000).



**Figura 6: Clasificación de las secuencias de ADN repetitivo, SINEs.** Short Interspersed Nuclear Elements (Elementos nucleares dispersos cortos), secuencias cortas, generalmente de unos pocos cientos de bases, que aparecen repetidas miles de veces en el genoma humano. Suponen el 13% del genoma humano, un 10% debido exclusivamente a la familia de elementos Alu (característica de primates). LINEs Acrónimo del inglés Long Interspersed Nuclear Elements (Elementos nucleares dispersos largos). Constituyen el 20% del genoma humano. (Cal, 2000).

Dentro del ADN se encuentran las secuencias llamadas satélites que se hallan repetidas consecutivamente como los vagones de un tren (ver figura 7). De acuerdo a su tamaño se les cataloga en satélites, minisatélites y microsatélites. (Juvenal, 2002)



**Figura 7:** Representación esquemática de un segmento de ADN nuclear no codificante conteniendo 10 microsatélites o repetidos cortos en tándem (STRs) de cuatro pares de bases ATCG (en color rojo). (Juvenal, 2002)

➤ Los distintos representantes de este tipo de ADN repetitivo adoptan un patrón de distribución cromosómica diferente. El ADN satélite frecuentemente se sitúa en la región centromérica, el ADN minisatélite en los telómeros o en sus proximidades, y el ADN microsatélite aparece disperso por todo el cromosoma. Tipo I. Grandes bloques formados por repeticiones de distintas unidades de longitud variable. Se corresponde con los satélites clásicos I-IV y el satélite alfoide.

➤ Tipo II. Pequeños bloques distribuidos a lo largo de todo el genoma, con un número variable de unidades de repetición de secuencia similar. Pertenecen a este tipo los minisatélites y los microsatélites. (ver figura 7). (Cal, 2001).

En estos casos cada número de repeticiones corresponde a un alelo determinado. Asimismo, por alelo entendemos las diferentes formas posibles de un marcador genético. En el caso de que una persona tenga los dos mismos alelos para un determinado marcador se dice que es homocigota, si los alelos son diferentes para un mismo marcador entonces es heterocigoto. (Juvenal, 2002).

### 1.3.2.1. Satélites.

El ADN satélite está constituido por secuencias entre 100-2000 pares de bases que se repiten una detrás de otra (en tándem) de cientos a miles de veces a lo largo de los genomas. Este tipo de ADN no se transcribe y al organizarse de un modo tan complejo es difícil su aplicación al campo forense. (Cal, 2000)

El ADN satélite puede ser separado del resto del ADN genómico si se somete a centrifugación en gradiente de densidad de Plata-Sulfato de Cesio, obteniéndose 2 bandas. La de menor densidad corresponde al ADN Satélite (ver figura 8). En la actualidad sigue siendo muy discutido si dichas secuencias carecen o no de función estructural o reguladora conocidas y por ello el término “ADN basura o chatarra”, que en los inicios de su descubrimiento se le adjudicaba, ha sido desechado completamente. Hoy se sabe que el ADN satélite es el principal constituyente de la heterocromatina y se encuentra normalmente en las regiones centroméricas y teloméricas de los cromosomas. (Bravo, 2009).



**Figura 8.** El ADN satélite, se separa mediante centrifugación por gradiente del resto del ADN genómico. (Bravo, 2009).

### *1.3.2.2. Minisatélites.*

El término minisátelite se debe a Jeffreys, quien lo usó para designar loci de ADN repetitivo de tamaños menores a los de los satélites clásicos. (Cal, 2000). Está formado por repeticiones de 10 a 65 pb, ricas en G+C, agrupadas en tándem formando bloques relativamente grandes de cientos o miles de repeticiones; estos bloques se encuentran repartidos por todo el genoma. Algunas de estas repeticiones, denominadas ADN minisátelite hipervariable, se caracterizan por su elevado polimorfismo (diferencias en secuencia y número de repeticiones) entre individuos de una especie. (González, 2006).

Durante la década de los ochenta, Nakamura y colaboradores denominaron a estos loci VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats) aludiendo a la variación en el número de unidades de repetición. (Cal, 2000).

### *1.3.2.3. Microsatélites*

Los microsatélites o STR, denominados secuencias cortas de repetición en tándem (por sus siglas en inglés "Short Tandem Repeats"), son repeticiones extremadamente cortas. Por ejemplo, en el genoma humano encontramos la secuencia  $-(CA)_n-$ , donde  $n$  puede variar de 1 a 6 pb, formando fragmentos de alrededor de 100 a 300 pb, los cuales pueden estar repetidos en unas 100 000 posiciones diferentes en todo el genoma, esto les da una distinción importante respecto a los VNTR., Además, no están definidos por los sitios de restricción que flanquean la región repetitiva, por lo que para su aislamiento y análisis se utiliza la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (polimerase chain reaction por sus siglas en inglés).

Este análisis de polimorfismos resulta de gran interés en la medicina legal y genética forense y es el eje central de este trabajo. La mayoría de los marcadores microsatélites descritos en la literatura son de la clase dinucleótida, los cuales componen el 0.5% del genoma humano, y lo más comunes son AC y AT, con frecuencias de un 50 y un 35% , respectivamente. Los microsatélites de la clase tetranucleotídica son más polimórficos y más estables que los dinucleótidos y están presentes cada 300 a 500 pb en el genoma humano (Zúñiga, 2006).

### 1.4. Polimorfismos de utilidad forense.

Aproximadamente el 99.9% de la secuencia del ADN de los individuos diferentes es la misma. Una proporción significativa de las diferencias encontradas entre ellos, es decir, su diversidad fenotípica y/o susceptibilidades a ciertas enfermedades, radica en el 0.1% de variación. A este tipo de variaciones genéticas se les conoce como polimorfismos genéticos, los cuales representan diferentes formas en las secuencias de ADN. El estudio de estas variaciones tiene numerosas aplicaciones en el campo de la medicina así como en el desarrollo de investigaciones biológicas y de evolución. Existen dos tipos principales de polimorfismos: (Szibor, 2003).

*SECUENCIA:* Los alelos de un mismo locus se diferencian en el nucleótido presente en una o más posiciones concretas. Por ejemplo:

ALELO 1: 5'ATGCCCTAGTTCC 3'

ALELO 2: 5'ATCGCCAGTTCC 3'

*LONGITUD:* Los alelos de un mismo locus se diferencian por el número total de nucleótidos que lo componen. Este tipo de polimorfismos es muy común en las secuencias repetidas en tándem o STR:

ALELO 1: (AATG) (AATG) (AATG) 3 repeticiones

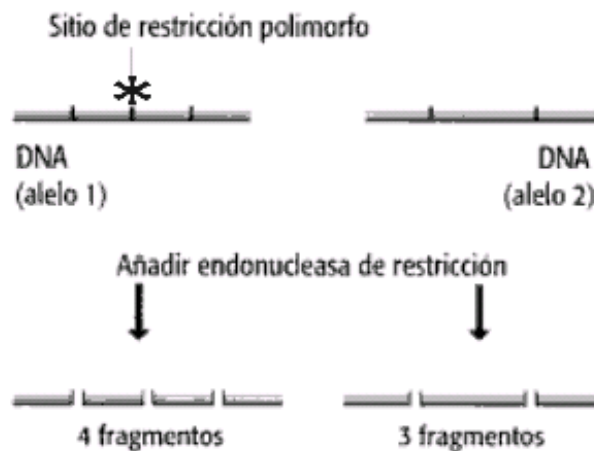
ALELO 2: (AATG) (AATG) 2 repeticiones

#### 1.4.1. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP).

Los Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción RFLP, (por sus siglas en inglés "Restriction Fragment Length Polymorphism"), fueron de los primeros caracterizados desde la aparición de la PCR, y son estudiados a partir de la visualización de los tamaños de los fragmentos de ADN que los contienen, gracias al uso de tijeras moleculares o enzimas de restricción que cortan el ADN en sitios donde se encuentra una secuencia específica de nucleótidos previamente definida. (Outeda, 2007). La especificidad de secuencia implica que el corte de una molécula de ADN con una enzima de restricción debe producir siempre el mismo conjunto de fragmentos. Aunque, esto no siempre es así con el ADN genómico, ya que algunos sitios de

restricción pueden ser polimórficos; es decir, que existen como dos alelos en los que uno de ellos presenta la secuencia correcta para el sitio de restricción y, por lo tanto, es cortado cuando se trata el ADN con la enzima; mientras que el segundo alelo muestra una variante del sitio de restricción, de modo que éste ya no es reconocido. El resultado de la alteración de la secuencia es que los dos fragmentos de restricción adyacentes se mantienen unidos después del tratamiento con la enzima, lo que constituiría un polimorfismo de longitud. (ver figura 9).

En la imagen se muestra un RFLP del cual es posible descifrar su posición en un mapa del genoma siguiendo la herencia de sus alelos, tal como se hace cuando se utilizan genes como marcadores. Se considera que hay alrededor de 105 RFLP's en el genoma de un mamífero.

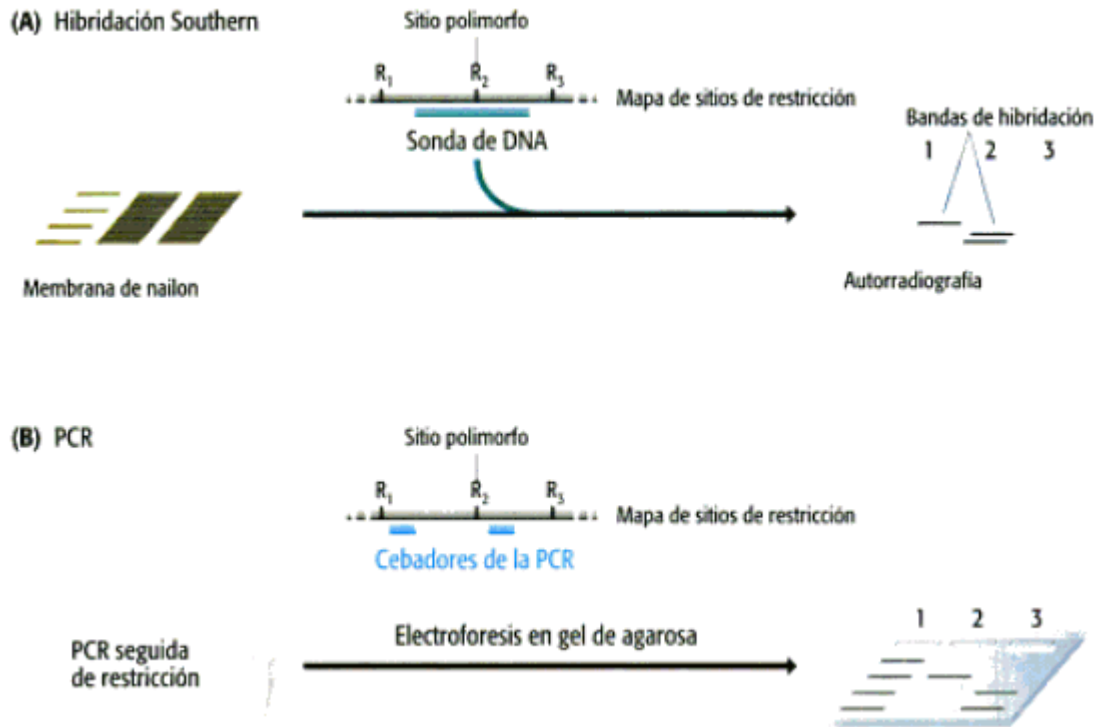


**Figura 9: Representación esquemática del análisis experimental de un RFLP** La molécula de ADN de la izquierda tiene un sitio de restricción polimorfo (marcado con el asterisco), que no está presente en la molécula de la derecha. Después del tratamiento con la enzima de restricción, se revela el RFLP porque una de las moléculas se corta en cuatro fragmentos, mientras que la otra se corta en tres fragmentos. (Brow 2008).

Para evaluar un RFLP, es necesario determinar el tamaño de sólo uno o dos fragmentos de restricción individuales por ejemplo: una enzima como EcoRI, con una secuencia de reconocimiento de seis nucleótidos, debería cortar aproximadamente una vez cada  $4^6 = 4,096$  pb y, por ende, generaría casi 800.000 fragmentos cuando se la emplea con DNA humano. Después de la separación por electroforesis en geles de agarosa, estos 800.000 fragmentos producen un cúmulo de ADN que hace imposible



distinguir los RFLP. La hibridación del ADN por la técnica Southern Blot, utilizando una sonda específica marcada que incluye el sitio de hibridación polimorfo, es una manera de visualizar los RFLP (ver figura 10 A).



**Figura 10: Dos métodos de evaluación de un RFLP.** (A) Los RFLP se pueden evaluar por hibridación Southern blot usando sondas específicas marcadas que incluyen sitios de hibridación polimórficos. (B) Se diseñan cebadores para la PCR que hibriden a cada lado del sitio polimorfo, en el fragmento amplificado se tipifican los RFLP tratando con la enzima de restricción y haciendo correr los productos en geles de agarosa. (Brow 2008).

También gracias a la tecnología de la PCR se hace factible diseñar cebadores que reconozcan cada lado del sitio polimorfo y de esa manera se amplifique el segmento de interés, posterior a lo cual los RFLP enriquecidos se tipifican tratando el fragmento amplificado con la enzima de restricción y visualizando los productos de digestión a través de electroforesis en geles de agarosa, (ver figura 10 B). (Brown, 2008).

Estas técnicas tienen varias limitaciones, en el caso del Southern blot el marcaje de una sonda permite la identificación de dos alelos por locus, por lo se requiere de suficiente material genético, tiempo y recursos para poder tipificar un número de

RFLPs que permita la individualización del sujeto en cuestión o diseñar sondas multilocus para genotipificar varios RFLPs simultáneamente. A su vez, la búsqueda de polimorfismos de tipo RFLPs en productos de PCR no siempre es metodológicamente efectiva al 100%, ya que muchos SNPs potencialmente podrían cambiar un sitio de restricción, y por lo tanto no serían detectados adecuadamente. (Outeda, 2007).

#### 1.4.2. Repeticiones en tándem de número variable (VNTRs).

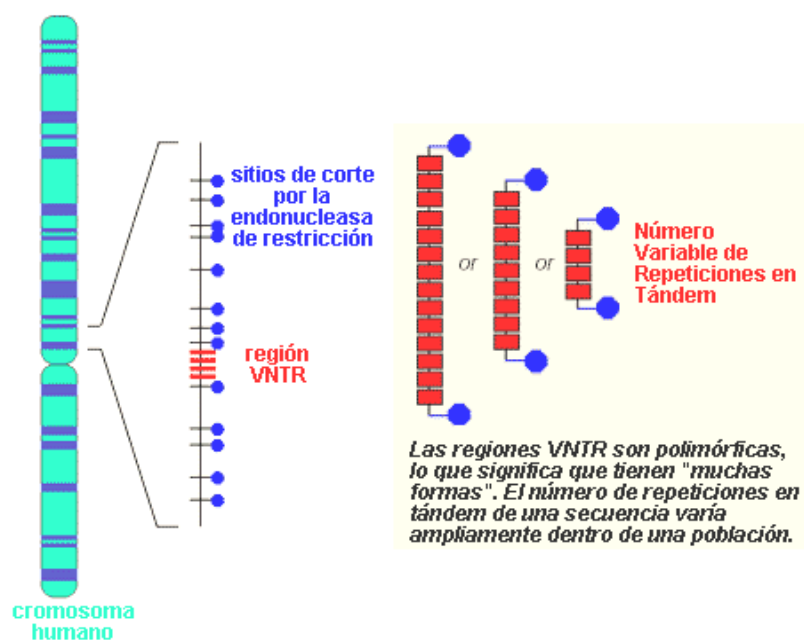
Los VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats, por sus siglas en inglés) son secuencias cortas de ADN que se repiten consecutivamente, cabeza con cola, en un locus cromosómico específico. Se encuentran repartidas por todo el genoma humano. Algunas secuencias se encuentran en un solo sitio como un locus único del genoma. Estas repeticiones en tándem pueden tener de 10 a 60 pb, son altamente polimórficos y poseen una elevada tasa de heterocigocidad en las poblaciones. Se encuentran generalmente en regiones no codificantes y dispersas por todo el genoma (ver figura 11). (Outeda, 2007).



**Figura 11: Representación de un polimorfismo VNTR.** Son repeticiones al azar en tándem de 10 a 60 pb, altamente Polimórficos y con elevada tasa de heterocigocidad en las poblaciones. (Outeda, 2007).

Un ejemplo de VNTR en humanos es una secuencia de ADN de 17 pb que se repite entre 70 y 450 veces en el genoma. El número total de pares de bases en ese locus puede así variar entre 1190 y 7650. Los VNTRs se detectan como los RFLPs mediante hibridación Southern. Si el ADN que flanquea un VNTR se corta con una endonucleasa de restricción, el tamaño del fragmento resultante puede variar,

conduciendo a un RFLP o "polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción" (Restriction Fragment Length Polymorphism). Esto se muestra esquemáticamente en la figura 12, en la que los rectángulos rojos representan la unidad de repetición y los círculos azules los sitios de corte por una endonucleasa de restricción. En esta figura, sólo se ilustran tres variantes diferentes (alelos) para el locus VNTR, pero es habitual en los loci VNTR humanos encontrar 50 o más alelos distintos. (Outeda, 2007). Se hereda un VNTR de cada progenitor. El análisis de un locus VNTR mediante hibridación Southern suele mostrar un patrón de dos bandas, una heredada del padre y otra de la madre. Puede darse un patrón de una sola banda, si el tamaño de las dos bandas es el mismo o muy similar.



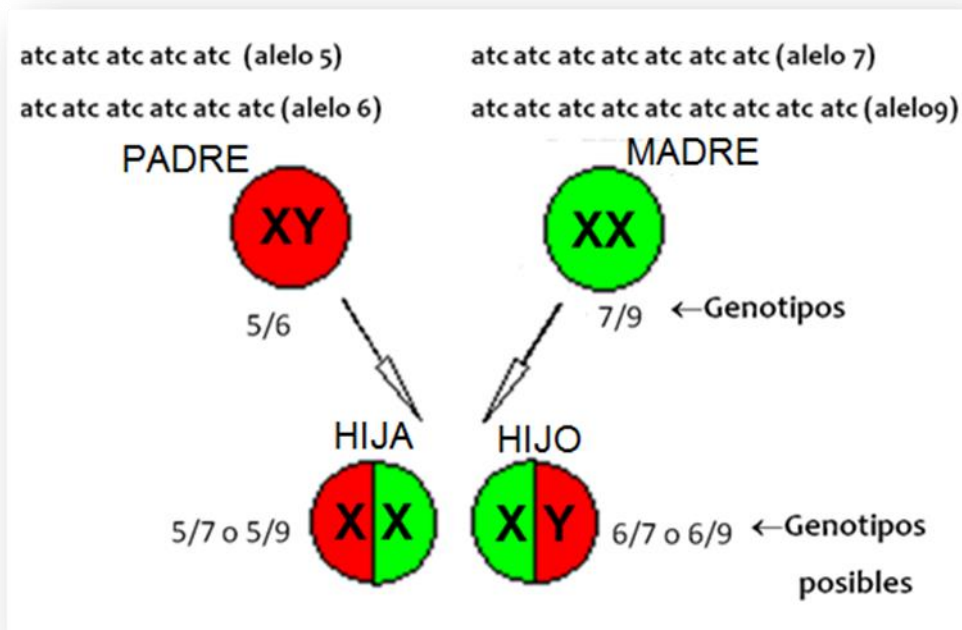
**Figura 12: Representación esquemática de un polimorfismo VNTR**, los rectángulos rojos representan la unidad de repetición y los círculos azules, los sitios de corte por una endonucleasa de restricción. En esta figura, sólo se ilustran tres variantes diferentes (alelos) para el locus VNTR, pero es habitual en los loci VNTR humanos encontrar 50 o más alelos distintos. (Outeda, 2007).

Los perfiles de ADN varían de una persona a otra. Cuando se comparan los perfiles de un solo locus VNTR para individuos no relacionados entre sí, habitualmente son diferentes. No obstante, es posible que dos personas tengan el mismo perfil en uno

o dos loci por casualidad. Sin embargo, la probabilidad de que dos personas tengan el mismo perfil de ADN en 4, 5 o 6 loci VNTR diferentes es extremadamente baja. Cuando se usan los perfiles de ADN con fines médico-legales, se analizan de 4 a 6 loci VNTR diferentes. (Outeda, 2007).

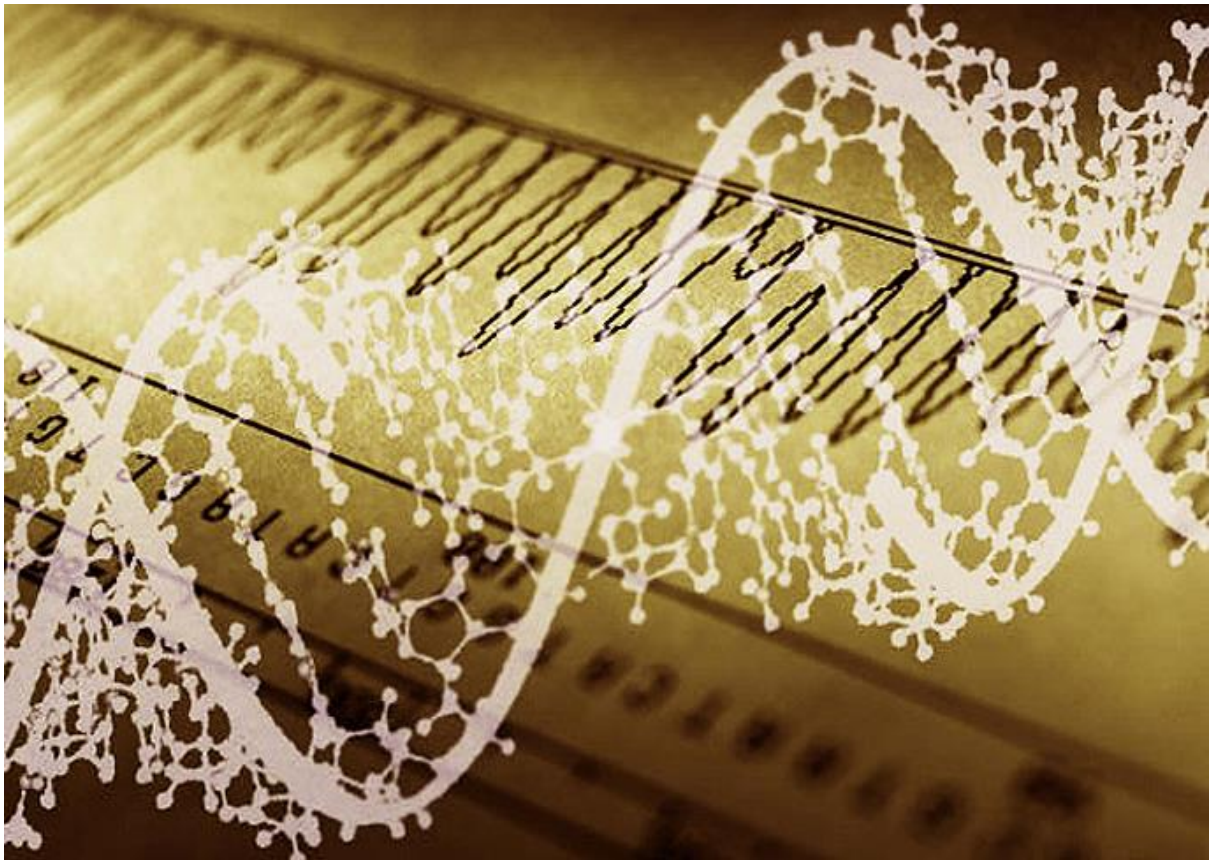
### *1.4.3. Repetidos en tándem cortos (STR).*

A lo largo del genoma se encuentran miles de STRs que pueden ser usados como marcadores moleculares. Como su nombre indica, los STRs se componen de secuencias cortas repetidas, que pueden generar diversos alelos que se nombran por el número de veces que se encuentre la secuencia repetida; por ejemplo para el STR GATA: el alelo 6 presentará seis veces la secuencia (GATA, GATA, GATA, GATA, GATA, GATA) y, en una población, podrían estar representados los alelos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, etc. El par de alelos o genotipo de una persona para cada marcador STR autosómico permite diferenciarlo o relacionarlo con otras personas (ver figura 13). Cuando las personas presentan los dos alelos diferentes (uno materno y otro paterno), se dice que su genotipo es heterocigoto, mientras cuando tiene un solo alelo se asume que recibió el mismo número de repetidos para ese marcador de ambos padres, y su genotipo es homocigoto para el STR en cuestión. Un perfil de ADN, que también suele llamarse huella genética, se genera obteniendo los genotipos de varios STRs, formando un código que, presumiblemente, puede llegar a ser único e irrepetible (6/9, 12/16, 17/21, 22/23, etc.). (Rangel, 2010).



**Figura 13.** *Uso de los marcadores STRs autosómicos, para identificación humana. Los genotipos permiten establecer las relaciones de parentesco y diferenciar a un individuo de otro. De una pareja de heterocigotos se generan múltiples genotipos en sus hijos. (Rangel, 2010).*

## **2. MARCADORES MOLECULARES MÁS USADOS EN GENÉTICA FORENSE**



## *2.1. Generalidades de los marcadores moleculares.*

El estudio molecular del genoma humano ha revelado que el ADN de cada cromosoma de origen materno difiere, en promedio, una de cada 300 pb con respecto al cromosoma homólogo de origen paterno, de tal suerte que la diferencia entre los genomas haploides es de 10, 000, 000 pb o más, sin contar con las pérdidas y adiciones no sólo de un par de bases, sino hasta de kilobases, hecho que asegura que todos los individuos sean genotípicamente diferentes, con excepción de los gemelos univitelinos. Los individuos relacionados biológicamente en forma más cercana como padres e hijos y hermanos completos solo comparten en promedio 50% de su genotipo. (Li, 2008).

Desde hace casi un siglo, para estudiar las variaciones entre individuos se utilizan los llamados Polimorfismos genéticos o Marcadores Genéticos moleculares, los cuales son caracteres estables que se transmiten por herencia mendeliana simple y constituyen una expresión de la diversidad genética entre individuos de la misma especie.

En general, las características que debe poseer un buen marcador genético, desde el punto de vista forense, son las siguientes: (Cal, 2000).

- ✓ Patrón de herencia bien establecido.
- ✓ Elevado polimorfismo.
- ✓ Elevado poder de discriminación, normalmente mayor a un 0.9, con una heterocigocigosidad mayor al 70%.
- ✓ Baja ocurrencia de artefactos en la electroforesis, lo que se traduce en una detección fiable de los alelos.
- ✓ Datos poblacionales de frecuencias alélicas, haplotípicas, fenotípicas y/o genotípicas establecidas.
- ✓ Tasa de mutación baja.
- ✓ Analizable mediante un método simple, rápido y reproducible.

Otro aspecto importante para elegir un marcador genético forense es la calidad de la muestra biológica con que se trabaje. Cuando se parte de restos humanos antiguos o en descomposición es muy probable que encontremos el ADN degradado, por tanto, el análisis de los polimorfismos RFLPs y/o VNTRs posiblemente no arrojará resultados satisfactorios. No obstante, la tasa de éxito en la obtención de perfiles genéticos completos se ha incrementado con el uso de los STR debido a que se amplifican fragmentos de ADN más pequeños. (Comité Internacional de la Cruz Roja CICR, 2009).

## 2.2. Nomenclatura.

Usualmente, la nomenclatura utilizada para designar un marcador genético se basa en su ubicación cromosómica. Si este marcador está dentro de un gen específico o muy cercano a él y si dicho gen tiene una función conocida y se le ha asignado un nombre, el marcador genético utilizado tendrá un nombre derivado con relación a dicho gen. Por ejemplo: el marcador FGA deriva su nombre por estar en el gen que codifica la cadena  $\alpha$  del fibrinógeno (Human Fibrinogen alpha chain). Sin embargo, aún no conocemos la totalidad de los genes a pesar de haberse obtenido la secuencia del genoma humano. Para los fragmentos de ADN en los cuales no se conoce su función, se sigue la siguiente nomenclatura. (Li, 2008).

D:	Designa DNA (ADN)
Número de cromosoma:	1, 2, 3, 4, 5...X, Y ó N cuando es multilocus
S, Z, F:	Se refiere a la complejidad del segmento:
S:	Segmento único
Z:	Segmento repetitivo en sitio específico
F:	Secuencia homóloga en múltiples cromosomas



Como un ejemplo, la designación D16S539 hace referencia a un fragmento único de ADN en el cromosoma 16, identificado con el número 539, mientras que D1S80 es un fragmento único en el cromosoma número 1 con número de segmento 80.

### *2.3. Fuente de marcadores STRs utilizados en genética forense.*

Hasta la fecha existen diversos tipos de marcadores utilizados en Genética Forense, los cuáles son de gran utilidad y cada uno de ellos presenta ventajas y desventajas sobre otros, dependiendo de la relación filial que se esté analizando, estos son:

- Marcadores STRs Autosómicos
- Marcadores STRs del Cromosoma Y
- Y los más recientes, marcadores STRs del cromosoma X.

#### *2.3.1. Marcadores STRs autosómicos.*

En todo el genoma existen STR, cuyo número de repeticiones varía ampliamente de una persona a otra. Tras analizar 15 o más de estas regiones polimórficas del ADN, situadas en los cromosomas autosómicos (no sexuales), el conjunto de alelos genotipificados derivan en un perfil resultante que puede utilizarse para verificar las relaciones familiares con un alto grado de confiabilidad. La comprensión de la herencia genética de los STR es muy sencilla, pues sólo se necesita considerar los genotipos de los padres y de su descendencia directa. Los alelos de los distintos loci STR se transmiten como cualquier otro marcador genético mendeliano. Cada uno de los padres, diploides, transmite uno de sus alelos a cada descendiente

##### *2.3.1.1. Utilidad.*

La primera aplicación de la tecnología del ADN en la resolución de un caso judicial data de 1985, cuando las autoridades británicas exigieron una prueba biológica de filiación en un asunto de inmigración en el que con la batería de ensayos disponibles en ese momento se pudo deducir que el joven ghanés investigado pertenecía al entorno familiar de su supuesta madre, pero no se podía resolver si era su hijo biológico o su sobrino. (Butler, 2006) Para

resolver el caso se solicitó la colaboración de Alec Jeffreys que acababa de publicar la posibilidad de aplicar el análisis de determinadas regiones repetitivas y muy polimórficas del ADN a cuestiones de identificación humana, incluidos los estudios de filiación. Mediante el análisis de la huella genética del joven y de su presunta madre y tres hermanos pudo confirmarse la maternidad. Desde entonces, la tecnología del ADN ha experimentado un espectacular avance del que se ha visto beneficiada enormemente la Genética Forense. Actualmente la “prueba del ADN” constituye una pericia de enorme trascendencia en muchos casos judiciales lo cual ha supuesto en los últimos años un incremento considerable en la intervención de este tipo de técnicas en la resolución de casos judiciales. (Butler, 2006)

Los STRs autosómicos han sido de gran utilidad en casos como:

- ✓ Resolución de crímenes: establecer compatibilidad entre Investigaciones de personas desaparecidas.
- ✓ Base de datos de ofensores convictos: resolución de casos archivados.
- ✓ Sospechoso y evidencia.
- ✓ Víctimas de accidentes.
- ✓ Identificación de soldados en guerra.
- ✓ Pruebas de paternidad. (Butler, 2006)

Asimismo, gracias a sus virtudes, los STRs autosómicos son por excelencia los que se incorporan actualmente en las bases de datos de ADN en todo el mundo. El FBI (Federal Bureau of Investigation, Oficina Federal de Investigación de los Estados Unidos) ha sido un líder en el desarrollo e implementación de la tecnología de tipificación por medio del ADN para su uso en la identificación de autores de delitos violentos aunado a la creación, en el año 1997 de la base de datos de ADN de dicho país, llamada CODIS (Combinated DNA Index System).

Existen desventajas en el uso de STRs autosómicos, una de ellas es que cuando el ADN nuclear obtenido a partir de materiales biológicos como saliva, sangre, etc. se encuentra altamente degradado se dificulta la obtención de un perfil genético

completo y útil para la identificación de relaciones filiales. Además, se necesitan familiares cercanos (principalmente madre, padre o hijos del individuo en cuestión); en caso de desaparición o muerte de la persona, para la comparación directa con los restos, no es fácil utilizar el ADN autosómico para realizar comparativos con parientes lejanos genéticamente hablando. El cotejo óptimo para este sistema es el que se realiza entre hijos y padres. (Comité Internacional de la Cruz Roja CICR, 2009)

### *2.3.1.2. Kits comerciales para su análisis.*

(Ver anexo tabla 3.)

### *2.3.2. Marcadores STRs del cromosoma Y.*

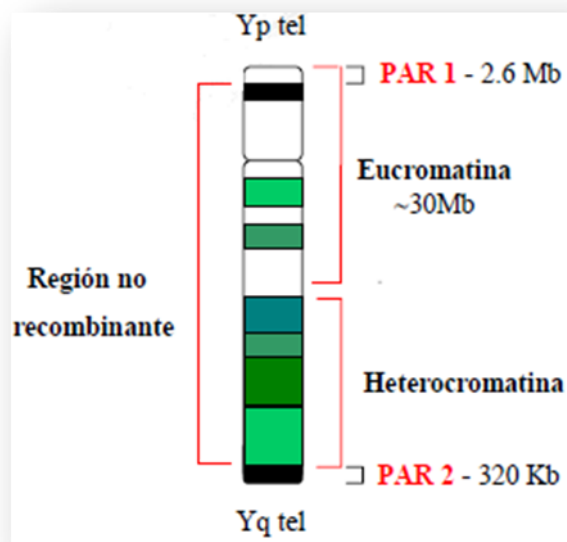
El cromosoma Y de los mamíferos es el responsable del desarrollo testicular, indicando la presencia de un gen responsable que codifica para el Factor Determinante Testicular (TDF Testis Determining Factor) que hace que las gónadas indiferenciadas se transformen en testículos en una etapa precoz de la embriogénesis. (Cal, 2000).

Este cromosoma representa solamente el 2% del genoma humano, es el cromosoma más pequeño y contiene alrededor de  $6 \times 10^7$  pares de bases. Desde el punto de vista citológico, está formado por regiones de heterocromatina y eucromatina. La región heterocromatínica se sitúa en el brazo largo (Yq) en posición distal. Se compone de secuencias altamente repetitivas. La región de eucromatina se localiza en el brazo corto (Yp), centrómero y en la zona proximal del brazo largo y es la región de mayor interés genético pues contiene algunos genes, así como secuencias que muestran homología con el regiones del cromosoma X, y también secuencias repetitivas específicas del cromosoma Y. (Cal, 2000)

Debido a la falta de un elemento homólogo (haploidía parcial), la mayor parte del cromosoma Y no se recombina durante la meiosis. Solo se produce recombinación con el cromosoma X en dos pequeñas regiones pseudoautosómicas denominadas PAR1 y PAR2 (ver figura 15). La región pseudoautosómica mayor (PAR 1) del cromosoma Y tiene un tamaño de aproximadamente 2.6 Mb. La región pseudoautosómica menor (PAR2) del

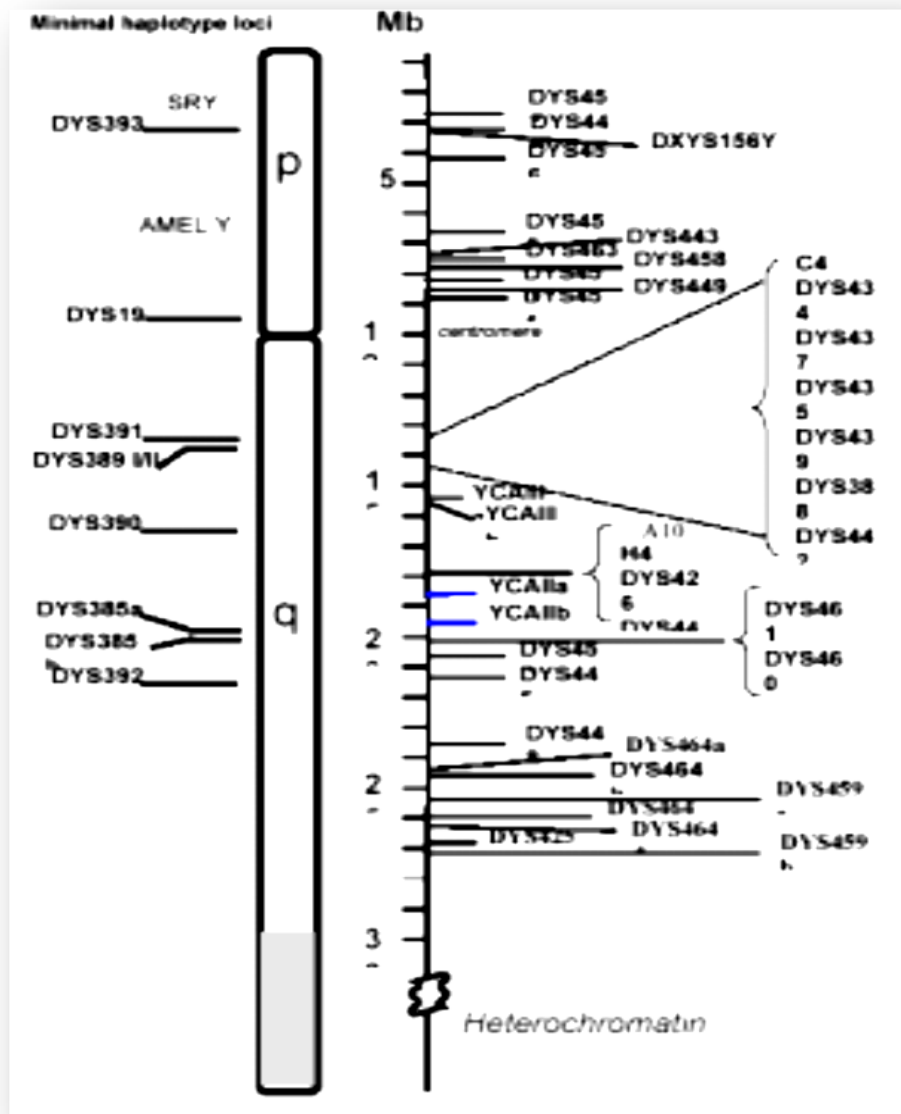
cromosoma Y mide aproximadamente 320 Kb y no siempre participa en procesos de recombinación. (Cal, 2000)

La falta de recombinación en las restantes regiones determina que todas las las secuencias ubicadas en esta zona se heredan como bloque constituyendo un grupo de ligamiento. Por otro lado, dado que en este grupo de ligamiento se localizan regiones polimórficas, éstas serán cedidas de padres a hijos en forma obligada. (Quintana-Murcy, 2001)



**Figura 15: Idiograma del cromosoma Y.** Sólo se produce recombinación con el cromosoma X en dos pequeñas regiones pseudoautosómicas. (Cal, 2000)

Los STRs del cromosoma Y presentan unidades de repetición que comprenden de dos a cinco nucleótidos. En la tabla 4 (ver anexo) y en la figura 16 se muestran algunos STR-Y más utilizados y su localización.



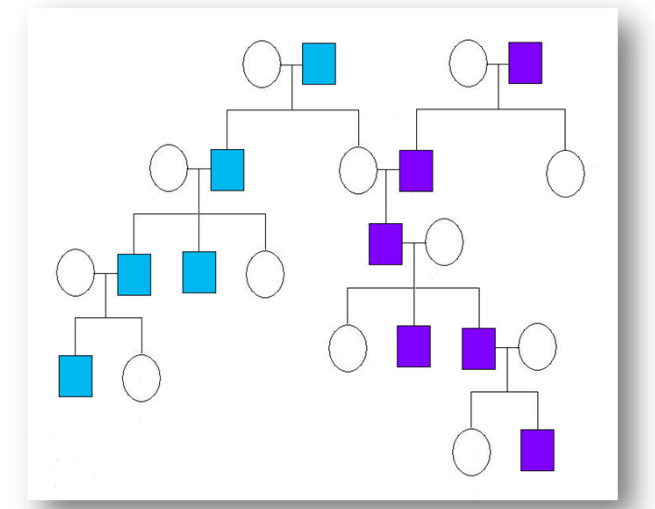
**Figura 16:** Localización de los marcadores STR a lo largo del cromosoma Y. (Díaz, 2010)

### 2.3.2.1. Herencia.

El 95% del cromosoma Y no recombina, es decir, no intercambian material genético con el cromosoma X, por lo que se transmite de manera intacta de padre a hijo. Esta característica hace que a través del cromosoma Y puedan estudiarse linajes paternos. Además posee funciones biológicas importantes relacionadas básicamente con la determinación de los caracteres sexuales y la fertilidad masculinos. Este tipo de marcadores es de gran valor en los estudios

de relación filial por ser de transmisión exclusivamente paterna, por lo que permite determinar si dos individuos del sexo masculino están emparentados de modo patrilineal. Como el cromosoma Y se hereda exclusivamente de padre a hijo, y su tasa de recombinación es sumamente baja, todos los hombres de una misma línea familiar tendrán, teóricamente, el mismo cromosoma Y (ver figura 17). Además, debido a la capacidad para amplificación específica para el sexo masculino, los STR del cromosoma Y pueden ser útiles en casos de mezclas entre ADN femenino y masculino y de violaciones. (Díaz, 2010)

Han sido caracterizados muchos marcadores STR en el cromosoma Y. No obstante, el hecho de que todos se encuentran localizados en el mismo cromosoma limita su empleo en cálculos probabilísticos. Por esta razón el conjunto de estos marcadores analizados conforman un haplotipo del cromosoma Y que constituye una unidad genética. (Gómez, 2009). Al igual que en los autosomas, los microsatélites del cromosoma Y son secuencias constituidas por la repetición en tándem, un determinado número de veces, de una secuencia consenso o unidad de repetición.



**Figura 17: Esquema de la herencia del cromosoma Y, solo se hereda por vía patrilineal. En el esquema los cuadros representan los individuos del sexo masculino y los círculos a los individuos del sexo femenino.**

### *2.3.2.2. Utilidad.*

Gracias al gran avance en las técnicas de análisis genético en los últimos años, el estudio del cromosoma Y ha revelado una gran cantidad de polimorfismos de gran utilidad para:

- El estudio del origen, evolución y migración de las poblaciones
- Estudios de paternidad en hombres
- Aplicaciones forenses, tanto en la resolución de casos de criminalística como en casos de identificaciones humanas donde la herencia sea vía paterna y casos de violaciones múltiples.

En la tabla 5 (ver anexo), se muestran las ventajas y desventajas de los STRs del cromosoma Y en comparación con los STRs autosómicos.

### *2.3.2.3. Kits comerciales para su análisis.*

En la tabla 6 (ver anexo) se muestran los kits comerciales más utilizados para la amplificación y estudio de STRs del cromosoma Y, además de los marcadores moleculares usados en cada kit.

Actualmente se siguen incorporando nuevos sistemas y nuevos marcadores genéticos a los procesos de identificación de individuos, principalmente para facilitar la resolución de casos forenses que impliquen relaciones filiales complejas o distantes. Se ha prestado especial atención a los STRs ubicados en el cromosoma X, los cuales son el tema de esta Tesis.

### **3. MARCADORES DEL CROMOSOMA X**





En las células femeninas existe una pareja de cromosomas X de forma que éstos pueden recombinarse entre sí comportándose de la misma forma que los cromosomas autosómicos, hablando en términos de su herencia. No obstante, los individuos varones transmiten a su descendencia femenina todos los marcadores localizados en su cromosoma X en bloque, es decir, uno de los cromosomas X de cada mujer es idéntico al de su padre. Esta peculiaridad proporciona una herramienta útil en casos de paternidad con descendencia femenina así como en estudios de filiación o identificación en los que el presunto padre no está disponible y hay que recurrir a familiares en primer o segundo grado de parentesco. Los marcadores del cromosoma X se han utilizado en identificación humana y en prueba de paternidad desde la década de los setenta.

### *3.1. Generalidades del cromosoma X.*

Como se sabe, la especie humana posee 46 cromosomas. Cada cromosoma contiene un número determinado de genes, dependiendo de su composición y funcionalidad. En los seres humanos y otros mamíferos, la identidad sexual es gobernada por un par de estos cromosomas conocidos como X e Y. Las mujeres poseen dos cromosomas X, mientras que los hombres heredan un cromosoma X y uno Y. (Dolores, 2006).

#### *3.1.1. Estructura del cromosoma X.*

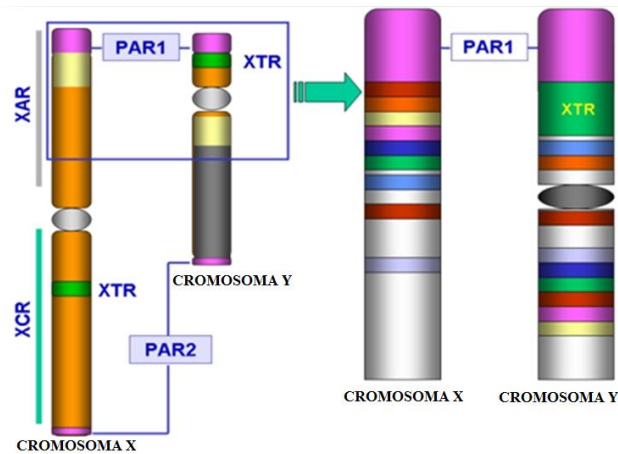
Lo que ahora conocemos como cromosomas X e Y, formaban una pareja de autosomas hace aproximadamente 300 millones de años. Los datos más recientes apoyan la llamada "ley de Ohno" (formulada por Susumu Ohno en 1967), que dice que el primer paso en el proceso de creación del dimorfismo de los cromosomas sexuales en mamíferos fue la fijación del gen responsable del desarrollo del sexo masculino en uno de los cromosomas (el que se convertiría en el futuro cromosoma Y) y su pérdida en el otro cromosoma del par (el futuro X). Después, la limitación progresiva de recombinación entre ambos cromosomas condujo a una evolución separada: el cromosoma Y perdió material rápidamente por la falta de recombinación, sufrió varias duplicaciones y se quedó con pocos genes, de los cuales un gran porcentaje tiene homólogos en el X. El cromosoma X, en cambio, se conservó mejor gracias a la existencia de recombinación entre las dos copias presentes en mujeres, y fue

evolucionando progresivamente desde metaterios (mamíferos sin placenta, como los marsupiales) a euterios (mamíferos con placenta). Al final, el cromosoma X actual conserva una región del autosoma ancestral de prototerios (mamíferos que ponen huevos), además de otra región "añadida" después de la separación de los metaterios. Actualmente, ambos cromosomas sexuales sólo se recombinan entre ellos en las dos pequeñas regiones pseudoautosómicas que están en los extremos de cada brazo. La secuenciación completa del cromosoma X en el año 2005 ha aclarado la estructura de los cromosomas X e Y. El cromosoma X, en la especie humana, está situado en el llamado par 23 (que corresponde a los cromosomas sexuales). Mide más de 153 millones de pares de bases lo que representa un 5% del total del ADN en células de mujer y un 2.5% en las del hombre). Hasta la fecha se ha determinado el 99.3% de la secuencia de este cromosoma y se han encontrado 1,098 genes, de los cuales 99 codifican para proteínas relacionadas con enfermedades. (Marco, 2007).

Al igual que en cromosoma Y, en el X se pueden distinguir dos regiones pseudoautosómicas (ver figura 21); además de una gran región conservada nombrada XCR (X-conserved region) que ocupa la mayor parte de su brazo largo y que, al ser la secuencia más antigua, representa los restos del autosoma original de prototerios del que se originaron los cromosomas X e Y actuales. Se conoce que una pequeña porción en esta región se encuentra transpuesta al cromosoma Y (XTR, "X-transposed region"), calculándose que dicha transposición tuvo lugar hace 5 millones de años, después de la separación de humanos y chimpancés. Asimismo se ha caracterizado una región "añadida" (XAR, "X-added region"), más joven que XCR, al parecer incorporada al cromosoma X a partir de otro autosoma hace unos 100 millones de años en mamíferos placentarios (euterios). Esta región constituye la mayor parte del brazo corto del cromosoma X actual. Algunos fragmentos de la porción más distal de este brazo, cercanos a la PAR1, están también presentes en el cromosoma Y, distinguiéndose hasta 12 bloques de homología entre ambos cromosomas. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/es/deed.es>)

De los aproximadamente 1.000 genes que hay en el cromosoma X, 54 tienen un homólogo funcional en el cromosoma Y, 24 de ellos están en PAR1, 5 en PAR2 y 25 en las regiones no-recombinantes de ambos cromosomas. De éstos 25, 15 están en la XAR y 3 en XTR; los 7 genes restantes se localizan en la XCR y por eso se piensa que

descienden del autosoma ancestral. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/es/deed.es>)



**Figura 21: Muestra la estructura de los cromosomas X e Y humanos.** Los cromosomas X e Y conservan regiones de homología, especialmente en el brazo corto. En ambos cromosomas, se señala la región conservada (XCR) y la región añadida (XAR) en el cromosoma X. Además, se observa la región que se transpuso desde el brazo largo del X (XTR, en verde) al brazo corto del Y. La figura también muestra las dos regiones pseudoautosómicas (PAR, en morado). A la izquierda se muestra la posición de los genes que escapan a la inactivación (puntos rojos). La mayor parte de éstos reside en el brazo corto del X, y muchos de ellos tienen un homólogo en el Y. Esto se muestra con más detalle a la derecha, donde se observan los bloques de homología entre el X y el Y (en distintos colores) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/es/deed.es>).

### 3.1.2. Enfermedades ligadas al cromosoma X.

Como ya se ha explicado, la determinación del sexo de un individuo se lleva a cabo a través de un par de cromosomas especiales que se denominan cromosomas sexuales o heterocromosomas, (en los humanos XX y XY). Sin embargo, los cromosomas sexuales no son únicamente portadores de los genes que determinan el sexo: el cromosoma X, en particular, tiene genes que intervienen en otros procesos fisiológicos. Dado que estos genes pasan de padres a hijos con el cromosoma correspondiente, existen determinadas características genéticas que se transmiten a través de los mismos y que constituyen los casos de herencia ligada al sexo. (Enciclopedia Alfatemática, 2000).

Cuando ocurre una enfermedad ocasionada por una mutación en un gen localizado en el cromosoma X hablamos de una enfermedad ligada al X. (Armienta,

2004). A la fecha se sabe que de sus 1 098 genes, 99 codifican para proteínas relacionadas con enfermedades génicas principalmente de hombres, ésto debido a que los varones son hemicigotos para la mayoría de genes del cromosoma X como consecuencia de la degradación sustancial del cromosoma Y durante su evolución (Stiefel, 2007-González, 2006).

Algunas de las características de las enfermedades ligadas al cromosoma X son:

✓ Riesgo distinto según el sexo.

✓ Las mujeres pueden ser homocigotas o heterocigotas para el alelo mutante y pueden tener una expresión recesiva o dominante (aunque variable por la inactivación del cromosoma X).

✓ Los hombres muestran siempre el fenotipo completo.

✓ Ausencia de herencia de hombres a hijos varones.

✓ Todas las hijas de un hombre afectado heredan el alelo mutante.

### *Enfermedades hereditarias recesivas ligadas a cromosoma X.*

La herencia recesiva ligada al cromosoma X afecta sobre todo a los varones, pues éstos son portadores del alelo afectado en su cromosoma X, en cambio las mujeres sólo enferman si son portadoras homocigotas del gen. En el estado heterocigoto son fenotípicamente sanas y se limitan a transmitir el gen causante de la enfermedad a su descendencia. (Ver figura 22): (Faller, 2006).

➤ Madre portadora normal

➤ Padre normal

✓ 50% probabilidad de varones afectados

✓ 50% probabilidad de varones normales

➤ 100% probabilidad de niñas normales

✓ 50% portadora

✓ 50% homocigotas normales

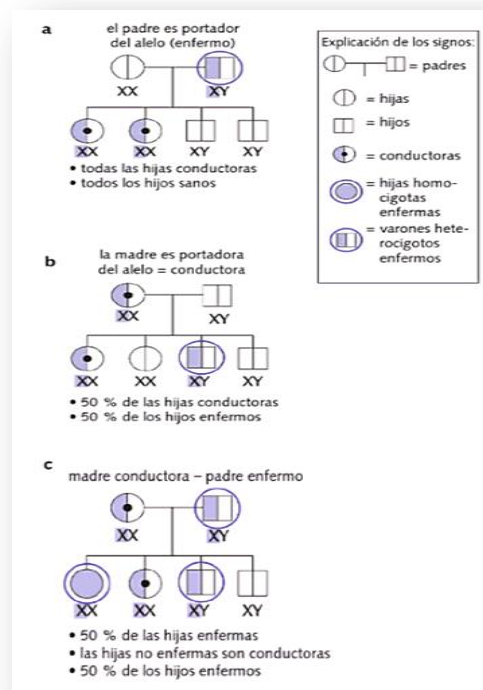
➤ Hombre y mujeres tienen distinto riesgo

➤ Padre afectado y madre normal:

✓ 100% hijas portadoras

✓ 100% varones normales

➤ Ejemplos de herencias recesivas ligadas al cromosoma X son el daltonismo, la hemofilia A y B y la distrofia muscular de Duchenne. (Faller, 2006).



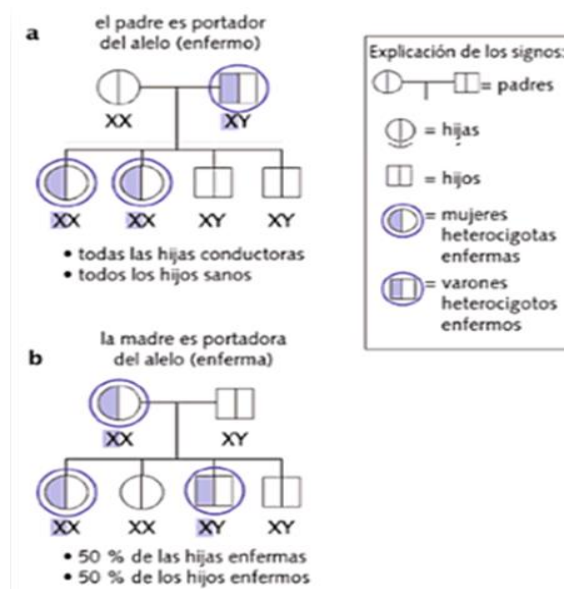
**Figura 22: Herencia recesiva ligada al cromosoma X.** a) el padre es heterocigoto enfermo y portador del alelo recesivo ligado al cromosoma X. b) la madre es heterocigoto sana, conductora y portadora del alelo recesivo al cromosoma X. c) la madre es conductora y el padre enfermo. (Faller, 2006).

### Enfermedades hereditarias dominantes ligadas a cromosoma X.

La herencia dominante ligada al cromosoma X se caracteriza por el hecho de que todas las hijas de un padre enfermo son portadoras del carácter hereditario, pues heredan siempre su cromosoma X. Por otra parte, todos los hijos varones de un padre enfermo son sanos, pues éstos reciben el cromosoma Y. (Faller, 2006). A continuación

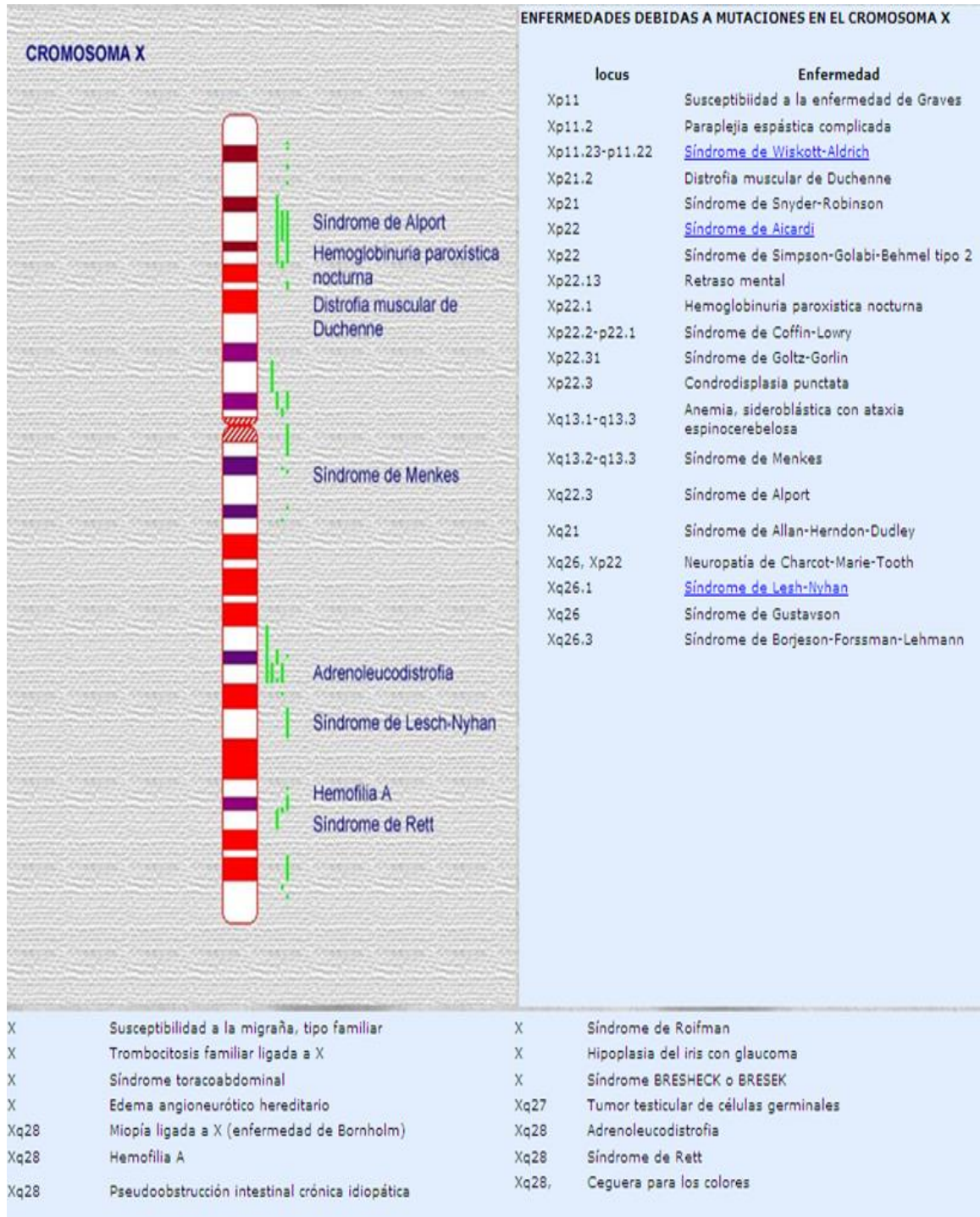
se muestra el riesgo de presentar una enfermedad ligada al cromosoma X dependiendo que padres sean los afectados. (Ver figura 23).

- Padre afectado:
  - ✓ 100% probabilidad de hijas afectadas
  - ✓ 0% riesgo de varones afectados
- Madre heterocigoto afectada:
  - ✓ 50% probabilidad de varones afectados
  - ✓ 50% probabilidad de hijas afectadas



**Figura 23: Herencia dominante ligada al cromosoma X.** a) el padre es heterocigoto enfermo y portador del alelo dominante ligado al cromosoma X. b) la madre es heterocigoto enferma y portadora del alelo dominante ligado al cromosoma X.

Las enfermedades hereditarias dominantes ligadas al cromosoma X son muy raras. (Ver figura 24). Un ejemplo es el ratiquismo vitaminorresistente: en esta enfermedad un nivel bajo de fosfato en sangre provoca hipoplasia del esmalte dentario y una anomalía del folículo piloso. (Faller, 2006).



**Figura 24:** Imagen que muestra algunas enfermedades debido a mutaciones en el cromosoma X. Las enfermedades hereditarias dominantes ligadas al cromosoma X son muy raras.

### *3.2. Marcadores STR's del cromosoma X.*

Hasta hace poco tiempo el uso de los marcadores del cromosoma X en la medicina forense era muy limitado. El año 2002 ha supuesto un punto de inflexión al respecto y se ha observado un incremento en el número marcadores específicos del cromosoma X que los laboratorios están incorporando en la práctica pericial, además han surgido técnicas de análisis multiplex que vienen a facilitar dicha incorporación. (González, 2006).

Se han encontrado numerosos marcadores moleculares STRs en el cromosoma X de los cuales se han identificado 26 loci trinucleotídicos, y aproximadamente 90 loci tetranucleotídicos. Sin embargo, sólo en los últimos años se ha evaluado el poder informativo de los STR del cromosoma X para su utilización en identificación humana y en investigaciones de paternidad, lo que ha estimulado el estudio de los loci STR ligados al cromosoma X en las diferentes poblaciones del mundo. Estos estudios han validado unos 30 STR ligados al cromosoma X, una selección de los cuales se muestra en la tabla 8 (ver anexo). Además, algunos de ellos ya están ubicados en grupos de ligamiento cromosómico (ver figura 25). En México se conoce muy poco del alcance de este tipo de estudios, aun cuando el primer laboratorio de genética forense en el país fue fundado a principio de los años noventa. En los últimos años se han incrementado el número de laboratorios de genética forense, aunque en México no se cuenta con la legislación necesaria para el uso de la información obtenida con este tipo de marcadores. (Castañeda, 2010).

Los loci STR del cromosoma X cumplen con los requisitos establecidos para la utilización en genética forense: un poder informativo importante en casos en donde otros marcadores no tienen el suficiente poder de discriminación, presentan un equilibrio de Hardy Weinberg de las proporciones genotípicas en las poblaciones y se cuenta con conocimientos del desequilibrio de ligamiento cromosómico. (Castañeda, 2010).

También ya se han realizado estudios de excepciones de las reglas de herencia: mutaciones y alelos nulos de algunos loci ligados al cromosoma X.



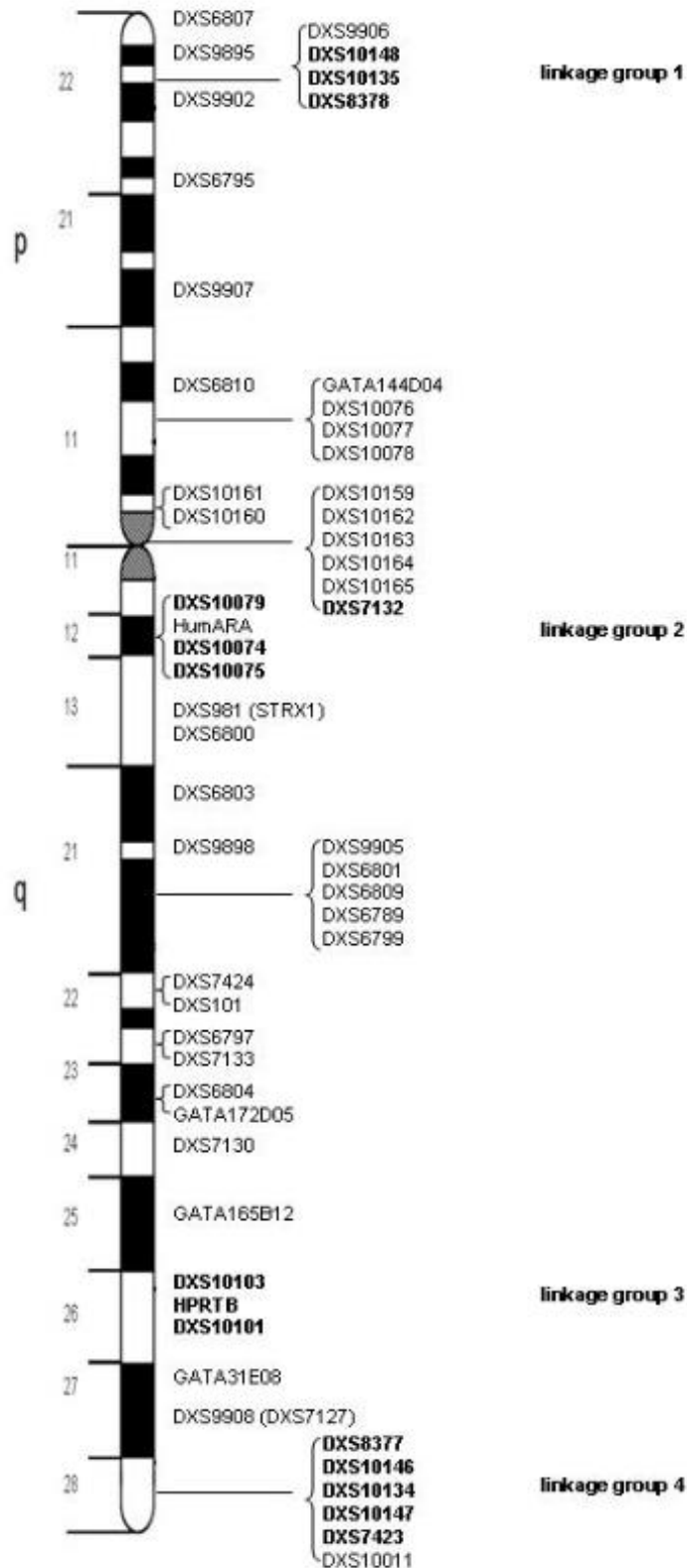


Figura 25: Mapa genético del cromosoma X con grupos de ligamiento de loci STR. (<http://www.chrx-str.org/>)

### *3.2.1.1. Herencia*

La forma de herencia del cromosoma X es única. En las mujeres es similar a la de los cromosomas autosómicos. Durante la gametogénesis los cromosomas X experimentan recombinación meiótica y son transmitidos con igualdad de probabilidad (0.5) a los hijos de ambos sexos. Contrariamente, los varones normales poseen un solo cromosoma X recibido de la madre y la gametogénesis que no experimenta recombinación meiótica a excepción de las muy pequeñas secuencias que corresponden a las regiones pseudoautosómicas del cromosoma X y por tanto, los padres transmiten intacto su cromosoma X a las hijas. (Bravo 2009).

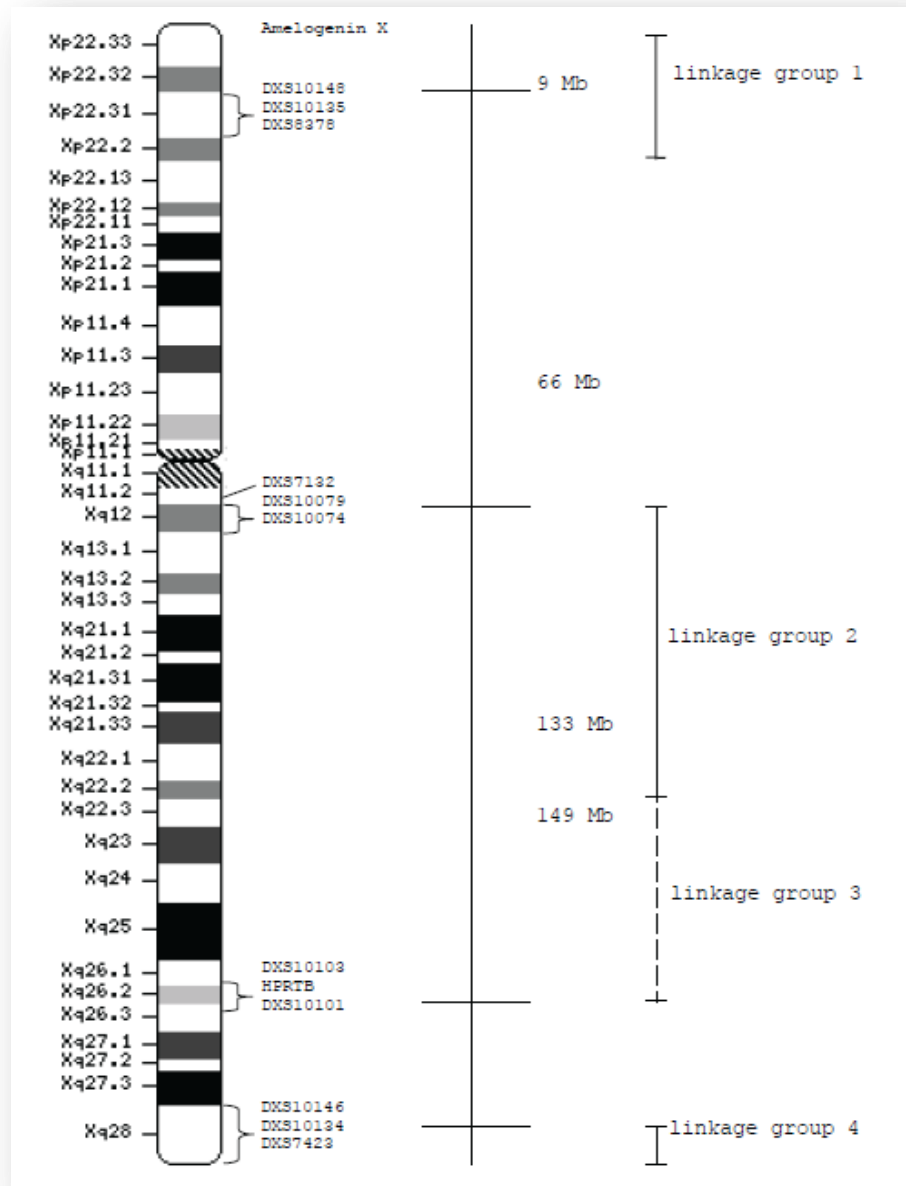
### *3.2.1.2. Kit Argus X-12.*

Como resultado de los estudios publicados exponiendo las múltiples ventajas de la utilización de los marcadores STR del cromosoma X, compañías comerciales se han dado a la tarea de lanzar al mercado kits para la amplificación de estas regiones para uso forense. Una de estas empresas es Qiagen® la cual lanzó al mercado el kit Investigator Argus X-12® especialmente para aplicaciones forenses con fines de identificación humana y pruebas de paternidad.

Las características de este sistema genético se enuncian a continuación:

- ✓ Único kit para el análisis de 12 marcadores de cromosoma X (ver figura 26 y tabla 10 anexo).
- ✓ Alto poder de discriminación en casos en donde otros sistemas no lo alcanzan.
- ✓ Alta sensibilidad y resistencia a inhibidores.

Este kit permite la amplificación simultánea de 12 loci STR del cromosoma X, los cuales son altamente informativos para pruebas de parentesco y paternidad, así como estudios de genética de poblaciones y antropológicos. El alto poder de discriminación de los marcadores genéticos incluidos en el kit resuelve casos en donde se involucra por lo menos una persona femenina.



**Figura 26** Figura de los STRs del cromosoma X descritos y su localización física los cuáles pueden ser analizados con el kit Investigator Argus X-12® de la compañía QIAGEN® (Protocolo Kit Argus-X12®).

En la tabla 11 (ver anexo), se describen brevemente los marcadores utilizados en el kit Investigator Argus X-12® de la compañía QIAGEN® (<http://www.chrx-str.org/>)

### *3.3. Casos que pueden ser resueltos con marcadores STRs del cromosoma X.*

La práctica estándar de la evaluación de parentesco forense utiliza diferentes marcadores autosómicos. Sin embargo, los marcadores del cromosoma X recientemente han ganado el reconocimiento como una poderosa herramienta para complementar la información proporcionada por los autosomas, en particular en casos complejos. Un hecho relevante es la homocigosidad de los STRs del cromosoma X, importante en el campo forense, es el hecho de que el padre transmita su único cromosoma X a la descendencia femenina, de esta manera todas las hermanas comparten el mismo cromosoma X de su padre. (González, 2006 - Pinto, 2010).

Además que la transmisión del cromosoma X es muy importante no sólo en las pruebas de parentesco, donde los expertos forenses tienen acceso a otros tipos de información (tales como la edad y otros rasgos o caracteres de los individuos), sino también en situaciones tales como desastres masivos, donde la información genética es la única disponible de los restos de las víctimas. (Pinto, 2010).

Los tipos más comunes de pedigrees indistinguibles por el uso de marcadores autosómicos no ligados en personas no consanguíneas son medios-hermanos, abuelos, nietos y tíos, por lo cual vamos a concluir el análisis con las contribuciones de los marcadores de cromosoma X para distinguir pedigrees que pertenecen a la misma clase de parentesco autosómico. Un primer acercamiento a estos marcadores fue realizado por N. Pinto y colaboradores en el 2010, donde se presenta una colección de casos más frecuentes, que involucran a dos individuos no consanguíneos: medio hermanos, abuelos - nietos y tíos. (Pinto, 2010).

En este trabajo de tesis, el modo de transmisión del cromosoma X se aborda en el marco de la teoría de identidad por la ascendencia. Asimismo se consideran diversas genealogías y se infieren relaciones con dos individuos consanguíneos y/o no consanguíneos. Finalmente, la importancia de marcadores del cromosoma X se destaca por el hecho de que, además de complementar la información autosómica, la transmisión del cromosoma X permite ponderar la diferencia de ciertas hipótesis respecto a casos en donde no se puede resolver con el uso de marcadores autosómicos no ligados

## **4. JUSTIFICACIÓN**



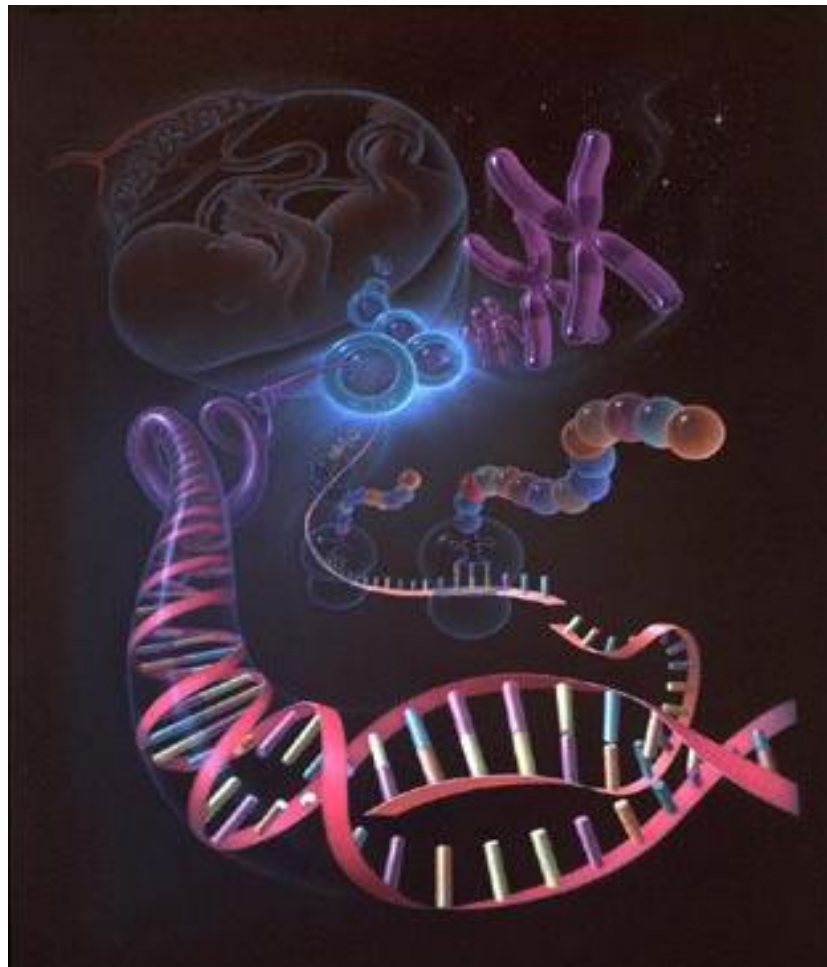
El uso de los marcadores del cromosoma X en la identificación humana y en investigaciones de parentesco se ha convertido en una herramienta vanguardista y una alternativa para la resolución de casos en los que no existen parientes relacionados directamente (padre, madre, hermanos e hijos).

En la población mexicana no han sido estudiados estos marcadores para su utilización en genética forense; poseen, además, un aceptable grado de poder informativo que está dado por el número de alelos y por la forma de distribución de sus frecuencias.

La necesidad de implementar nuevos marcadores genéticos en identificación humana es inminente debido al alto índice reportado de cadáveres de personas desconocidas año con año.

Por lo que en este trabajo parte de la necesidad de validar e implementar estos marcadores en grupos de individuos con linajes establecidos para verificar su transmisión hereditaria.

## **5. OBJETIVOS**



### 5.1. General

- Genotipificar individuos mexicanos con relaciones filiales establecidas, utilizando marcadores X-STR, para su implementación en el área forense.

### 5.2. Particulares

- Muestreo de individuos mexicanos con relaciones de parentesco previamente establecidas ligadas a la herencia del cromosoma X.
- Obtención de los perfiles genéticos usando 12 marcadores X-STR.
- Análisis e inferencia de relaciones filiales de las muestras procesadas.



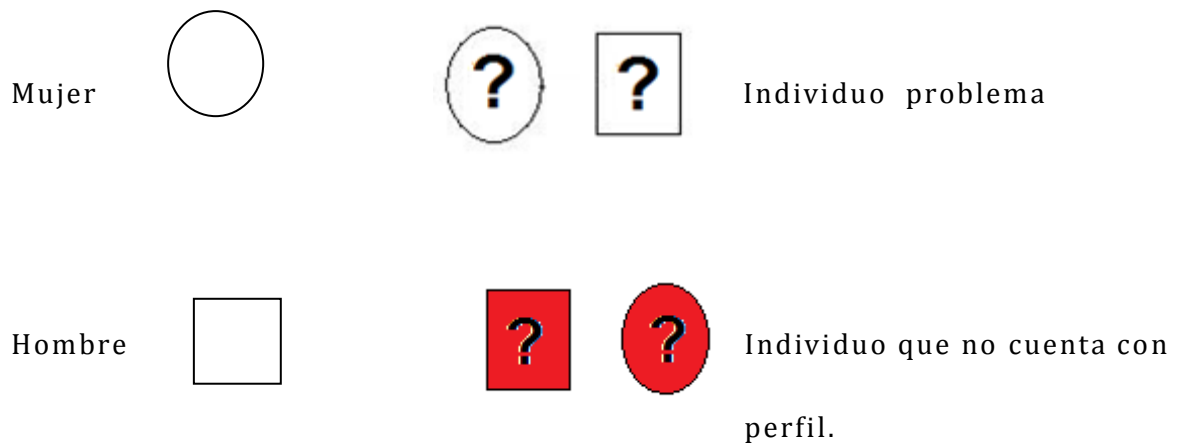
## **6. DISEÑO EXPERIMENTAL**



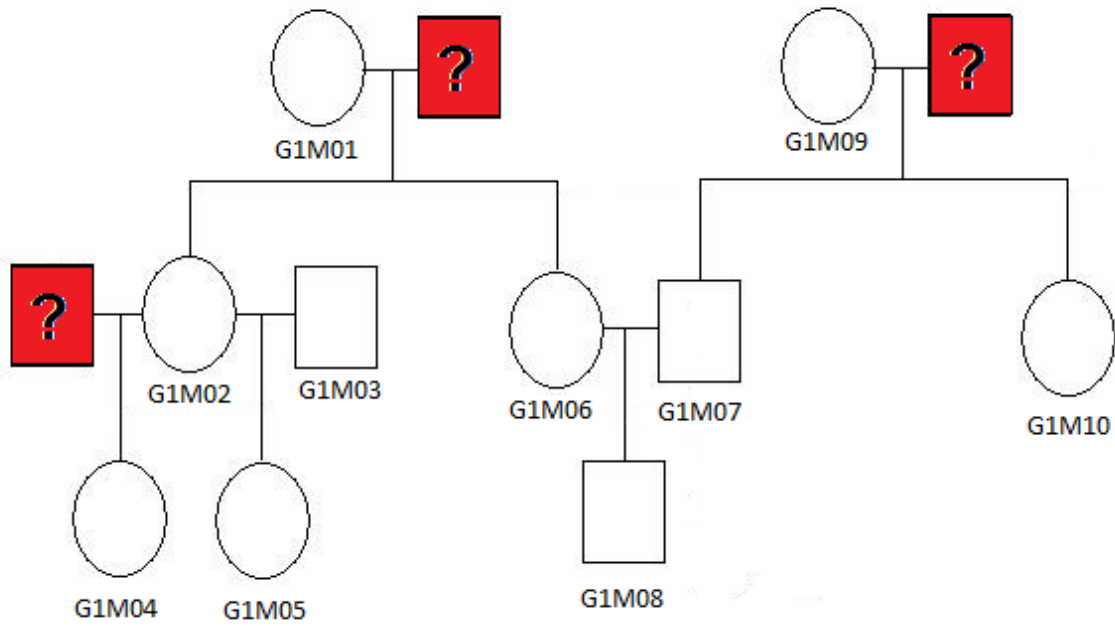
### 6.1. Esquemas de individuos con relaciones de parentesco establecidas que se trabajarán en este proyecto

Se realizó el muestreo de individuos de tres diferentes familias y para cada uno de ellos se obtuvo el genotipo de los marcadores X-STR. Dentro de cada grupo se eligió uno o varios individuos problema, cuyo perfil fue generado, pero no se incluyó en el análisis inicial; con el propósito de inferir su genotipo a partir de los de sus familiares. n=58

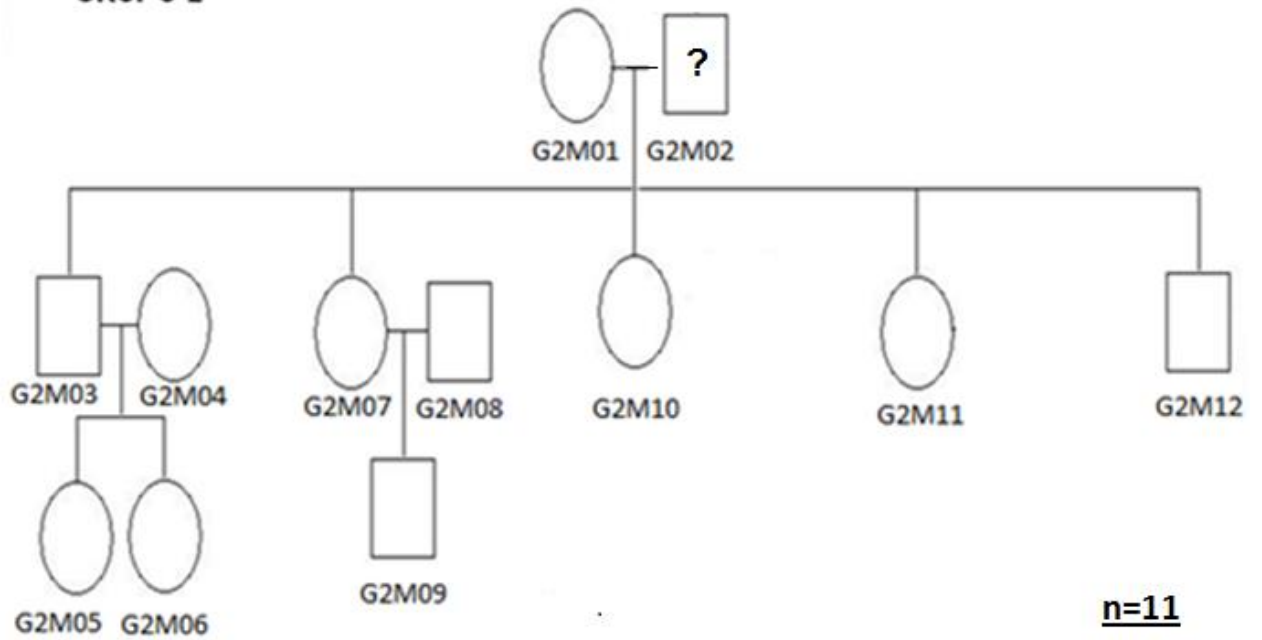
Una vez hecho esto, se corroboró el perfil con el genotipo obtenido experimentalmente.



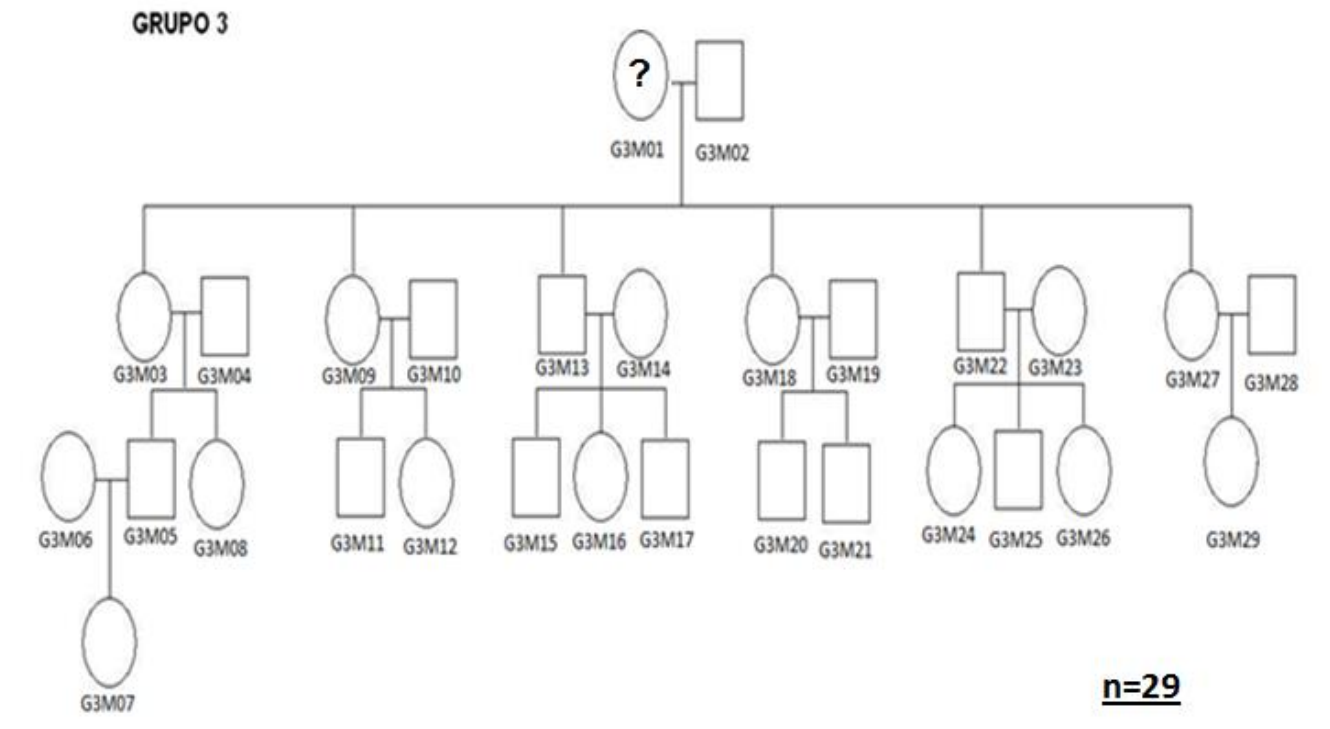
**GRUPO 1**



**GRUPO 2**



**n=11**



**ESTRATEGIA EXPERIMENTAL**



## 6.2. Obtención de muestras

Para la obtención de muestras bucales, los participantes llenaron un formato de consentimiento y una ficha de identificación (anexo 1 y 2).

### *MATERIALES*

- ✓ Citocepillos(OmniSwab®)
- ✓ Marcador indeleble negro.
- ✓ Guantes
- ✓ Cubrebocas

### *PROCEDIMIENTO*

- 1) Con ayuda de un citocepillo (Omni Swab) nuevo y estéril se realizó un raspado bucal de 20 repeticiones en cada mejilla.
- 2) Se dejó secar como mínimo dos horas a temperatura ambiente para su posterior almacenamiento en una bolsa rotulada con el nombre y firma de la persona participante y fecha de muestreo

## 6.3. Extracción y purificación de ADN de muestras bucales

### EXTRACCIÓN DE ADN

#### LISIS MANUAL

#### *MATERIAL:*

- ✓ Micropipetas de 1000µL, 200µL y 20µL.
- ✓ Puntas para micropipetas.
- ✓ Citocepillos(OmniSwab®)
- ✓ Tubos para centrífuga de 1.5 mL.

#### *REACTIVOS:*

- ✓ Solución PBS, ( amortiguador de fosfatos)
- ✓ Buffer de lisis (QIAamp®).
- ✓ Proteinasa K (QIAamp®).
- ✓ DTT (1M).

**PROCEDIMIENTO:**

1. Se colocó un citocepillo (OmniSwab®) en un tubo para centrífuga de 1.5 mL.
2. Se añadieron 600 µL de solución PBS, 600 µL de buffer de lisis (QIAamp®), 25 µL de proteinasa K (QIAamp®) y 2.5 µL de DTT (1M).
3. Se agitó vigorosamente.
4. Posteriormente se incubó a una temperatura de 56°C por 30 minutos.

**EXTRACCIÓN DE ADN AUTOMATIZADA**

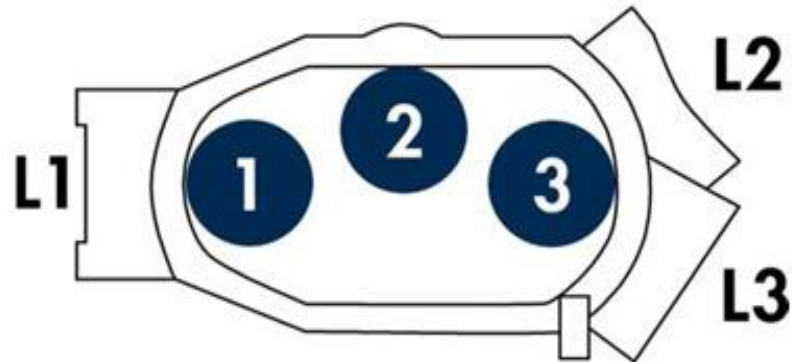
Purificación de ADN con el sistema automatizado denominado QIAcube® de la compañía QIAGEN®. Este equipo utiliza el kit QIAamp® (QIAGEN®), el cual se basa en la extracción y purificación de ADN con ayuda de matrices de sílice, además permite procesar 12 muestras a la vez de manera automatizada, reduciendo los riesgos de contaminación y los errores humanos.

**MATERIALES:**

- ✓ 900 µL de la lisis celular del citocepillo.
- ✓ Tubos para centrífuga de 2 mL.
- ✓ Puntas de 1000 µL y 200 µL, especiales para el robot
- ✓ Adaptadores para colocar columnas y tubo colector en canastillas del robot. (Figura 27 y tabla12)

**REACTIVOS**

- ✓ Kit QIAamp®(Figura 28 y tabla 13)



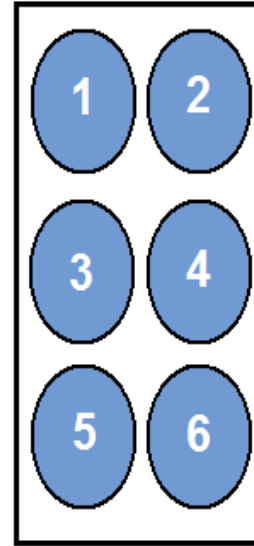
**Figura 27:** Adaptador de QIAcube® para colocar columna y tubo colector

POSICIÓN	DISPOSITIVO	POSICIÓN DE LA TAPA
1	Columna QIAamp®	L1
2	-	-
3	Tubo colector de 1.5 mL	L2

**Tabla 12. :** Posiciones de los dispositivos en el adaptador QIAcube®.

POSICIÓN	REACTIVOS QIAamp®
1	-
2	-
3	Etanol 100%
4	Buffer de lavado 1 - AW1
5	Buffer de lavado 2 - AW2
6	Buffer de elución - AE

**Tabla 13:** Posiciones de reactivos



**Figura 28:** Charola para reactivos QIAcube®

## 6.4. Cuantificación de ADN

### 6.4.1. Geles de agarosa

#### MATERIALES:

- ✓ 20  $\mu$ L de ADN obtenido con el sistema QIAcube® (QIAGEN®).
- ✓ Cámara de electroforesis horizontal.
- ✓ Fuente de poder.
- ✓ Micropipetas de 10 y 100  $\mu$ L
- ✓ Puntas para micropipetas.
- ✓ Agarosa.
- ✓ Solución TAE 1X

#### PROCEDIMIENTO

1. En 100 mL de solución TAE 1X se agregó 1 g de Agarosa.



2. Se calentó en microondas hasta que la solución sea transparente (aproximadamente 40 segundos).
3. En la caja de electroforesis se colocó la agarosa en el molde para gel, además del peine de 1.5 cm. Esperamos a que este solidifique a temperatura ambiente.
4. Una vez solidificado se retiró el peine y colocarlo en la caja de electroforesis y añadimos la solución TAE 1X hasta cubrir el gel.
5. En el primer pozo se colocó 5 $\mu$ L de marcador molecular AXYGEN® de 1 Kb, y 1 $\mu$ L de buffer de carga EZ vision ®.
6. En los pozos siguientes se colocaron 20  $\mu$ L de muestra de ADN y 5  $\mu$ L de buffer de carga EZ vision ®.
7. Se conectó la cámara de electroforesis a una fuente de poder y se inició la electroforesis a 100 V por 45 minutos.
8. Se visualizaron las bandas de ADN en el equipo UVP BioDoc-It Imaging

#### *6.4.2. Cuantificación por espectrofotometría UV*

El equipo que se utilizó fue el Nanodrop 2000®. Siguiendo el protocolo del aparato, colocar 2  $\mu$ L de blanco, en este caso agua libre de nucleasas, medir la absorbancia, limpiar y posteriormente colocar 2  $\mu$ L de la muestra purificada, cuya absorbancia también se registrará y se calculará la concentración de ADN por medio del Software del equipo. Se tomaron en cuenta los parámetros de calidad A260/280 y A280/260.

#### *6.4.3. PCR en tiempo real*

Cuantificación de ADN utilizando el kit Quantifiler®Duo (Applied Biosystems®) y el equipo para PCR Tiempo Real Rotor Gene 6000® (QIAGEN®).

A continuación se muestra el contenido de los reactivos del kit Quantifiler®Duo:

REACTIVOS KIT Quantifiler® Duo	CONTENIDO
<b>Mezcla de Primer Quantifiler® Duo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Pares de Primers para la amplificación de RPPH1, SRY e IPC</li> <li>✓ TaqMan® sondas para RPPH1, SRY e IPC, los cuales son etiquetados con VIC®, FAM™ and NED™ respectivamente.</li> <li>✓ Plantilla IPC.</li> </ul>
<b>Mezcla deReacción para PCR Quantifiler®Duo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ MgCl<sub>2</sub>, dNTPs, suero bovino, albúmina y Polimerasa AmpliTaq Gold® en buffer y sales.</li> </ul>
<b>ADN estándar Quantifiler®Duo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ADN genómico humano masculino.</li> </ul>
<b>Buffer de dilución ADN Quantifiler®Duo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 10 mM Tris HCl buffer pH 8.0, contiene 0.1 mM EDTA</li> </ul>

**MATERIALES:**

- ✓ Tubos para centrífuga de 2 mL.
- ✓ ADN de las muestras que se extrajo y se purificó.
- ✓ Tubos para PCR.
- ✓ Micropipetas de 10, 100 y 1000 µL.
- ✓ Puntas para las micropipetas.

**REACTIVOS:**

- ✓ Quantifiler® Duo mezcla de Primers.

- ✓ Quantifiler® Duo ADN estándar.
- ✓ Quantifiler® Duo mezcla de reacción.
- ✓ Quantifiler® Duo Buffer de dilución.

**PROCEDIMIENTO:**

Preparación de estándares para la cuantificación de ADN. Se realizaron diluciones en serie para la elaboración de la curva estándar como se muestra a continuación:

ESTANDARD	CONCENTRACIÓN (ng/ μL)	CANTIDADES	FACTOR DE DILUCIÓN
<b>Std 1.</b>	50.000	50 μL [200ng/ μL stock] + 150 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	4X
<b>Std 2</b>	16.700	50 μL [Std. 1] + 100 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X
<b>Std 3</b>	5.560	50 μL [Std. 2] + 100 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X
<b>Std 4</b>	1.850	50 μL [Std. 3] + 100 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X
<b>Std 5</b>	0.620	50 μL [Std. 4] + 100 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X
<b>Std 6</b>	0.210	50 μL [Std. 5] + 100 μL buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X

<b>Std 7</b>	0.068	50 $\mu$ L [Std. 6] + 100 $\mu$ L buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X
<b>Std 8</b>	0.023	50 $\mu$ L [Std. 7] + 100 $\mu$ L buffer de dilución Quantifiler® Duo	3X

Preparación de las reacciones en los tubos para PCR. A continuación se muestran las cantidades de los componentes para la reacción de PCR.

<b>COMPONENTE</b>	<b>VOLUMEN POR REACCIÓN</b>
<b>Quantifiler® Duo mezcla de Primers.</b>	10.5 $\mu$ L
<b>Quantifiler® Duo mezcla de reacción.</b>	12.5 $\mu$ L

- 1) Se agitó vigorosamente.
- 2) Se añadió a esta mezcla 2  $\mu$ L de estándar, muestra, control positivo (Quantifiler® Duo ADN estándar) o control negativo (agua libre de nucleasas), teniéndose así un volumen final de 25  $\mu$ L por tubo.
- 3) Se metieron los tubos en el equipo para iniciar la PCR Tiempo Real siguiendo las instrucciones de uso del Rotor Gene 6000® (QIAGEN®).
- 4) Las condiciones de temperatura, números de ciclos y tiempo se muestra a continuación:

TEMPERATURA	TIEMPO	CICLOS
50°C	2 min.	
95°C	10 min.	
95°C	15 seg	40 ciclos
60°C	1 min	Hold

### 6.5. Amplificación de STR's del cromosoma X y Análisis de fragmentos

La amplificación de marcadores del cromosoma X se realizó con el kit Investigator Argus X-12 que consta de:

- ✓ Mezcla de primers.
- ✓ Mezcla de reacción
- ✓ ADN control XX28.
- ✓ Polimerasa Multi Taq2.
- ✓ ADN estándar 550 (BTO)
- ✓ Escalera alélica Argus X-12.
- ✓ Agua libre de endonucleasas.
- ✓ Matriz estándar BT5 multi cap. 25: 6-FAM, BTG, BTY, BTR y BTO.

MATERIALES:

- ✓ Micropipetas de 10 y 100 µL

✓ Puntas para Micropipetas de 10 y 100  $\mu\text{L}$ .

✓ Tubos para PCR.

✓ Marcador indeleble.

**PROCEDIMIENTO:**

- 1) Preparación de la mezcla maestra. La siguiente tabla muestra el volumen de los reactivos para PCR por 25  $\mu\text{L}$  de volumen de reacción.

<b>COMPONENTE</b>	<b>VOLUMEN</b>
<b>Agua libre de nucleasas</b>	15.9 $\mu\text{L}$
<b>Mezcla de reacción A*</b>	5.0 $\mu\text{L}$
<b>Mezcla de Primers</b>	2.5 $\mu\text{L}$
<b>Polimerasa Multi Taq2</b>	0.6 $\mu\text{L}$
<b>Volumen de mezcla maestra</b>	24.0 $\mu\text{L}$

\*Contiene  $\text{Mg}^{2+}$ , dNTPs, BSA

- 2) Una vez preparada la mezcla maestra se añadió 1.0  $\mu\text{L}$  de muestra (ADN extraído y purificado), control positivo (ADN XX28) o control negativo (agua libre de nucleasas), para tener un volumen final de 25  $\mu\text{L}$  en cada tubo.
- 3) Se mezcló todo vigorosamente.
- 4) Se metieron los tubos al termociclador AB9700 para PCR tiempo final siguiendo los siguientes parámetros de tiempo, ciclos y temperatura:

TEMPERATURA	TIEMPO	CICLOS
94°C	4 min.	
96°C	30 s	5 ciclos
63°C	20 s	
72°C	75 s	
94°C	30 s	25 ciclos
60°C	120 s	
72°C	75 s	
68°C	60 min	Hold
10°C	∞	

### 6.6. Preparación de la muestra para análisis de fragmentos X-STR

En el analizador genético ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems®), siguiendo el protocolo del equipo, se realizó la electroforesis capilar para la separación y análisis experimental de los fragmentos STR-X amplificados. Se prepararon placas de 96 pozos que contienen:

<b>VOLUMEN</b>	<b>COMPUESTO</b>	
<b>0.4 µL</b>	Ladder Argus X-12	Por corrida
<b>0.2 µL</b>	ADN estándar 550 (BTO)	Por pozo (incluyendo donde va el ladder)
<b>12 µL</b>	Hi- Di™ Formamida	Por pozo
<b>1 µL</b>	Producto de PCR (muestras)	Por pozo

Una vez concluida la corrida, los perfiles obtenidos fueron analizados usando el software GeneMapper ID versión 1.1 (Applied Biosystems®), para obtener los genotipos X-STR de las muestras.



## **7. RESULTADOS**



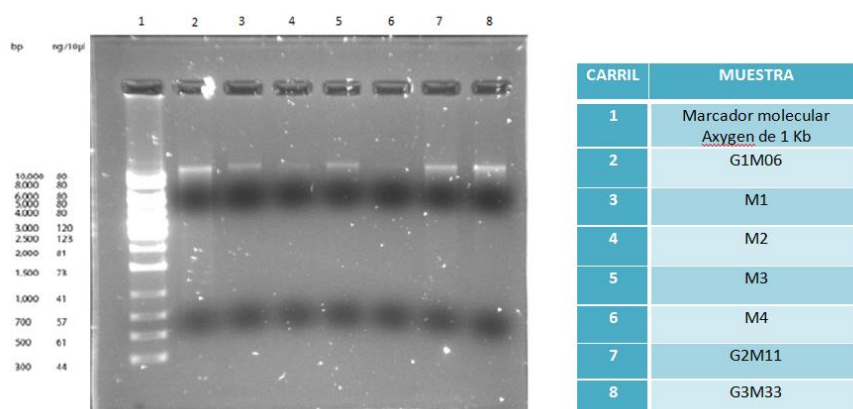
## 7.1. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD E INTEGRIDAD DEL ADN.

### Cuantificación de ADN por geles de agarosa.

La concentración e integridad del ADN extraído, así como el tamaño de fragmentos distintos de ADN pueden ser verificados mediante electroforesis en geles de agarosa. Esta técnica se basa en que el ADN esta homogéneamente cargado de forma negativa a pH neutro, por lo que la relación carga: masa es constante y migrará hacia el polo positivo al aplicarse una corriente eléctrica. En términos generales, para las electroforesis realizadas en este trabajo se usó agarosa al 1% en TAE 1X como concentración estándar, se utilizaron cámaras horizontales a voltaje constante (100 V) y como tampón se TAE 1X.

El tamaño de los fragmentos de ADN se visualizó mezclando el ADN con tampón de carga acoplado a un colorante fluorescente (buffer de carga EZ Vision ®.), lo cual permitió evaluar su integridad y estimar su concentración mediante un análisis comparativo con patrones de concentración conocida. Como estándares de talla molecular se utilizó el Marcador de AXYGEN® de 1 Kb, que incluye fragmentos de 10,000, 8,000, 6,000, 5,000, 4,000, 3,000, 2,500, 2000, 1,500, 1,000, 700, 500, 300, pb. Para la visualización de los geles de agarosa ADN se empleó el equipo UVP BioDoc-It Imaging.

La figura 29 muestra el gel representativo de algunas muestras evaluadas donde se aprecia una buena integridad y calidad del ADN extraído, lo que nos indica que tenemos una buena cantidad de ADN total de gran tamaño sin degradación aparente.



**Figura 29:** Electroforesis en gel que muestra la integridad y calidad del ADN.

## 7.2. CUANTIFICACIÓN Y ESTIMACIÓN DE LA PUREZA DEL ADN.

### *EXTRAÍDO MEDIANTE ESPECTROFOTOMETRÍA Y PCR EN TIEMPO REAL.*

En la mayoría de los casos cuando se trabaja con ADN es importante realizar una cuantificación de la cantidad con la que se dispone. Uno de los métodos más utilizados para la cuantificación del ADN es el análisis de la absorción UV, ya que los nucleótidos poseen máximos de absorción alrededor de los 260 nm (por ejemplo, dATP: 259 nm; dCTP: 272 nm; dTTP: 247 nm). Este método proporciona una estimación simple y precisa de la concentración de una muestra, pero sólo si ésta se encuentra pura, sin contaminación significativa de proteínas o solventes orgánicos que absorben a longitudes de onda cercanas. Para evaluar la pureza de la muestra debe determinarse la proporción OD 260nm/OD 280nm. Si la relación es mayor a 1,6 puede estimarse que la muestra es lo bastante pura para confiar en la cuantificación espectrofotométrica.

Dado que el máximo de absorbancia de las proteínas se encuentra en  $\lambda \sim 280$  nm, es posible estimar el grado de impurezas de origen proteico a partir del cociente A260/A280. La presencia de proteínas en la muestra hará que el cociente A260/A280 sea menor que el esperado para ácidos nucleicos puros. Para el ADN de doble hebra en soluciones de alta pureza se espera una relación  $A260/A280 \geq 1.8$ , y para el ARN de  $A260/A280 \geq 2.0$ .

Para que la cuantificación de ácidos nucleicos sea adecuada se requiere la habilidad de medir de manera exacta y reproducible. El transferir volúmenes pequeños de líquidos es crítico para obtener resultados confiables es por ello que en los laboratorios de biología molecular utilizan volúmenes pequeños. Para la cuantificación por espectrofotometría, el equipo que se utilizó fue el Nanodrop 2000®. Se leyó la absorbancia de las muestras a longitud de onda de 260 nm, tomando en cuenta los parámetros de calidad (A260/280 y A280/260).

En los trabajos de índole forense, muchas veces el ADN humano se encuentra mezclado con el ADN de otras fuentes, como bacterias, hongos, insectos y otros organismos. Esto puede generar falsas expectativas en la cuantificación del ADN total por espectrofotometría de luz UV, ya que la fracción

de ADN humano puede ser ínfima, respecto al ADN de otras especies. La Cuantificación por PCR tiempo real utilizando el kit Quantifiler Duo permite a través de sondas específicas de humano medir sólo el ADN de éste. Nosotros usamos el equipo para PCR Tiempo Real Rotor Gene 6000® (QIAGEN®) para las determinaciones. La siguiente tabla presenta los datos arrojados al cuantificar el ADN obtenido de las muestras bucales de los participantes de este proyecto, usando ambas técnicas.

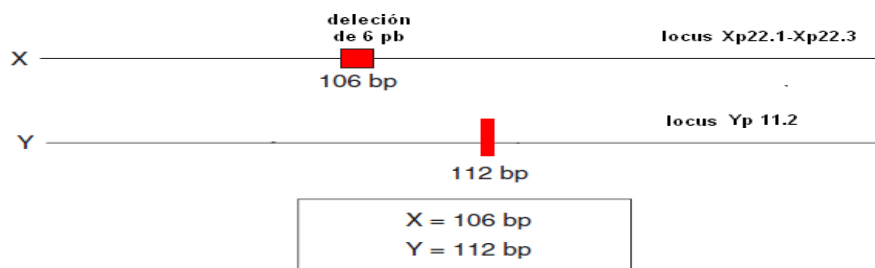
MUESTRAS	ESPECTROFOTOMETRÍA UV NANODROP	PCR EN TIEMPO REAL QUANTIFILER DUO
	ng/µl	ng/µl
G1M01	51.05	42.87
G1M02	31.8	14.49
G1M03	21.6	16.9
G1M04	38	10.9
G1M05	50.65	22.74
G1M06	12.9	10.18
G1M07	17.1	11.02
G1M08	22.4	12.44
G1M09	22.8	22.11
G1M10	37.3	38.02
G2M01	24	35.72
G2M02	17	12.94
G2M03	5.3	3.45
G2M04	2.5	4.62
G2M05	6	7.62
G2M06	35.6	38.18
G2M07	2.2	4.81
G2M08	16	12.15
G2M09	14.8	21.63
G2M10	11.5	9.11
G2M11	9.45	6.02
G2M12	36.75	40.97
G3M01	5.35	2.04
G3M02	10.7	7.71
G3M03	4.6	1.61
G3M04	5.5	1.72
G3M05	5.45	2.27
G3M06	5.5	1.81
G3M07	6.45	0.838

<b>G3M08</b>	5.35	1.21
<b>G3M09</b>	20.9	24.35
<b>G3M10</b>	25.3	28.26
<b>G3M11</b>	26.1	24.78
<b>G3M12</b>	10	10.9
<b>G3M13</b>	5.4	2.34
<b>G3M14</b>	6.46	4.95
<b>G3M15</b>	7.06	3.05
<b>G3M16</b>	3.5	1.01
<b>G3M17</b>	4.45	0.449
<b>G3M18</b>	5.7	3.03
<b>G3M19</b>	5.4	2.57
<b>G3M20</b>	5.2	2.05
<b>G3M21</b>	4.8	1.3
<b>G3M22</b>	6.25	1.86
<b>G3M23</b>	7.2	2.24
<b>G3M24</b>	5.65	1.04
<b>G3M25</b>	7.15	0.979
<b>G3M26</b>	5.5	1.05
<b>G3M27</b>	4.1	2.9
<b>G3M28</b>	5.35	1.59
<b>G3M29</b>	8.5	3.75
<b>G3M30</b>	31.2	37.51
<b>G3M31</b>	16.5	19.75
<b>G3M32</b>	25	30.34
<b>G3M33</b>	9.2	6.8
<b>M1</b>	14.05	3.41
<b>M2</b>	12.6	3.59
<b>M3</b>	12.1	2.56
<b>M4</b>	9.55	1.64

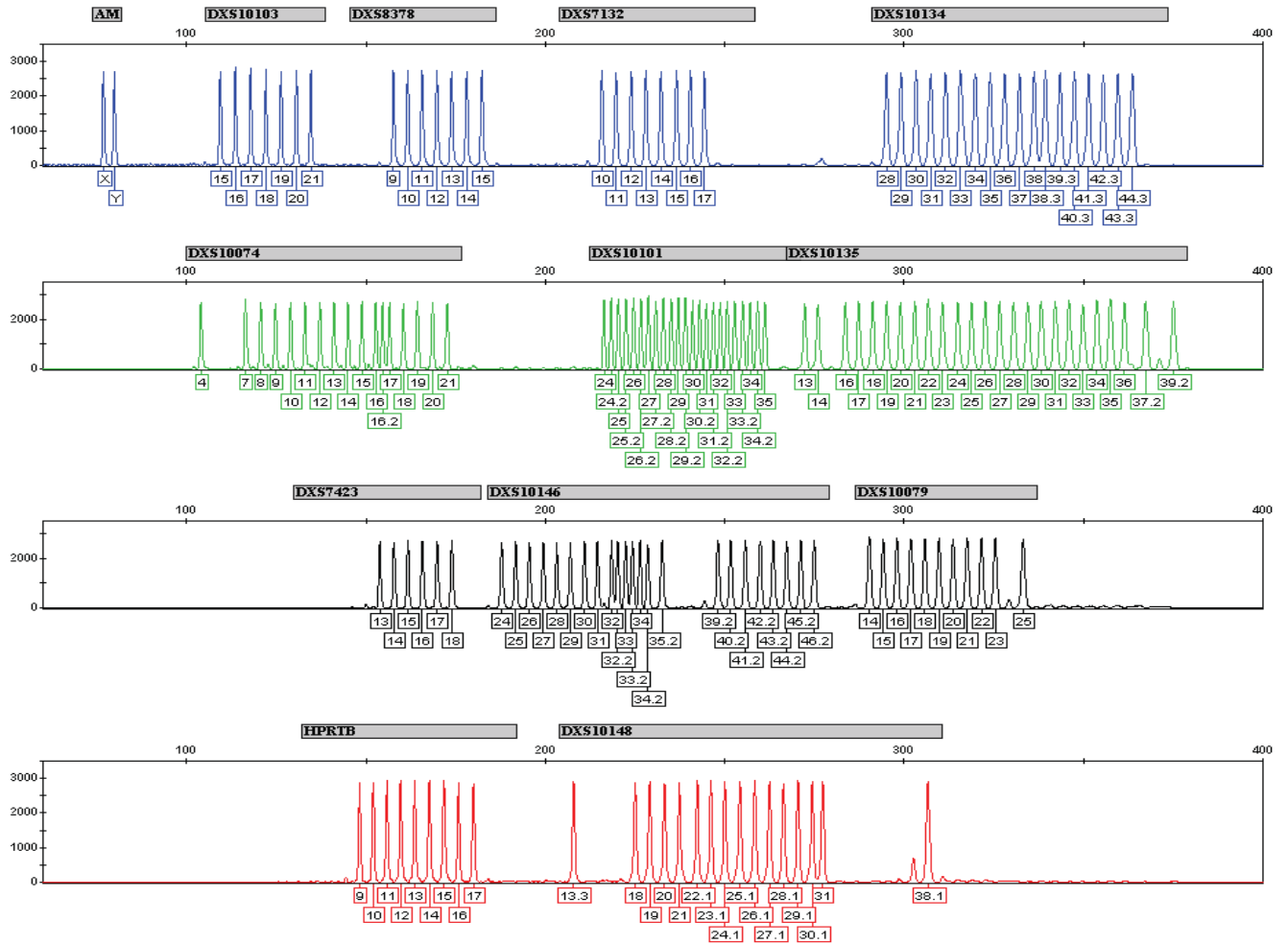
### 7.3 Perfiles STRs de cromosoma X

Para el análisis de varios STRs del Cromosoma X simultáneamente (PCR múltiplex), seguido por electroforesis capilar se usó el Kit Investigator Argus X-12 (QIAGEN). Durante la PCR los productos amplificados (STRs) se etiquetaron con diferentes fluorocromos formándose así grupos de STRs que fueron marcados con el mismo color, pero evitando que alelos de STRs diferentes se sobrelapen en tamaño.

A continuación se muestra el electroferograma de la escalera alélica del kit Investigator Argus X-12® (figura 31), que contiene todos los fragmentos que corresponden a los alelos identificados en la población para estos 12 X-STRs. Gracias a la inclusión de esta corrida en el análisis el software es capaz de asignar a cada fragmento un número de repetido correspondiente, identificándose los genotipos en las muestras de interés. Además el kit contiene un juego de primers para la determinación del sexo de la muestra a partir de la amplificación del gen de la amelogenina. La amelogenina es un locus localizado en una región homóloga de los cromosomas sexuales (Xp22.1-Xp22.3 e Yp 11.2) (figura 30).

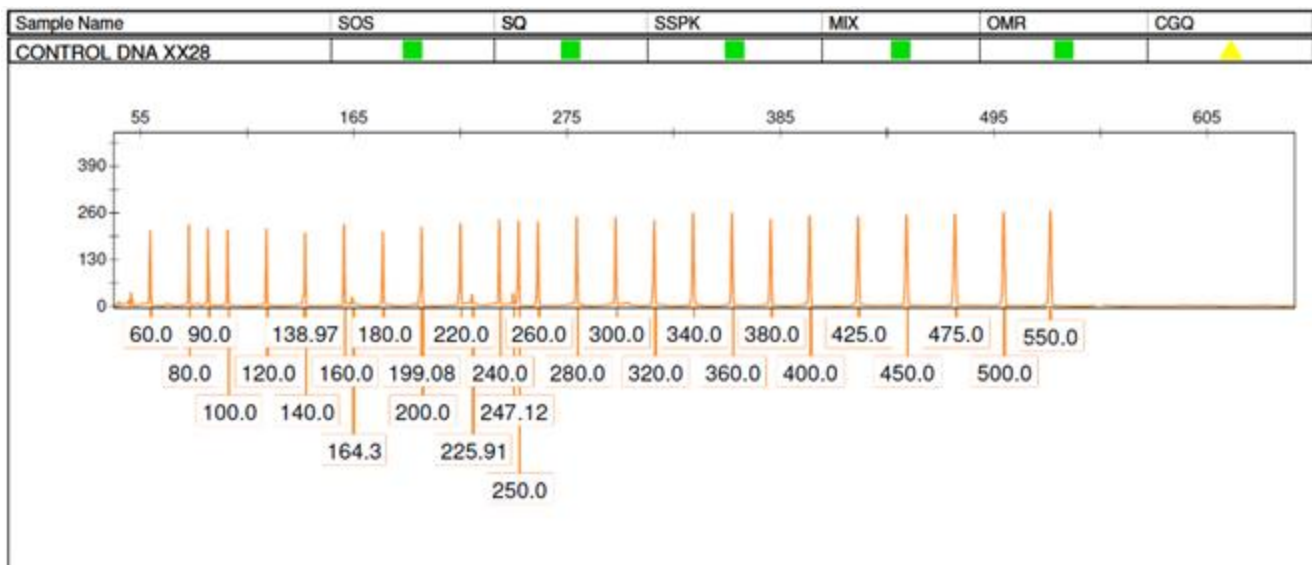


**Figura 30:** Existe una diferencia de 6 pares de bases entre el tamaño del alelo presente en el cromosoma X y el Y, que se debe a una pequeña delección en el cromosoma X.



**Figura 31:** Electroferograma de la Escalera alélica o Ladder mostrando los diferentes alelos representativos de la población para los X-STRs.

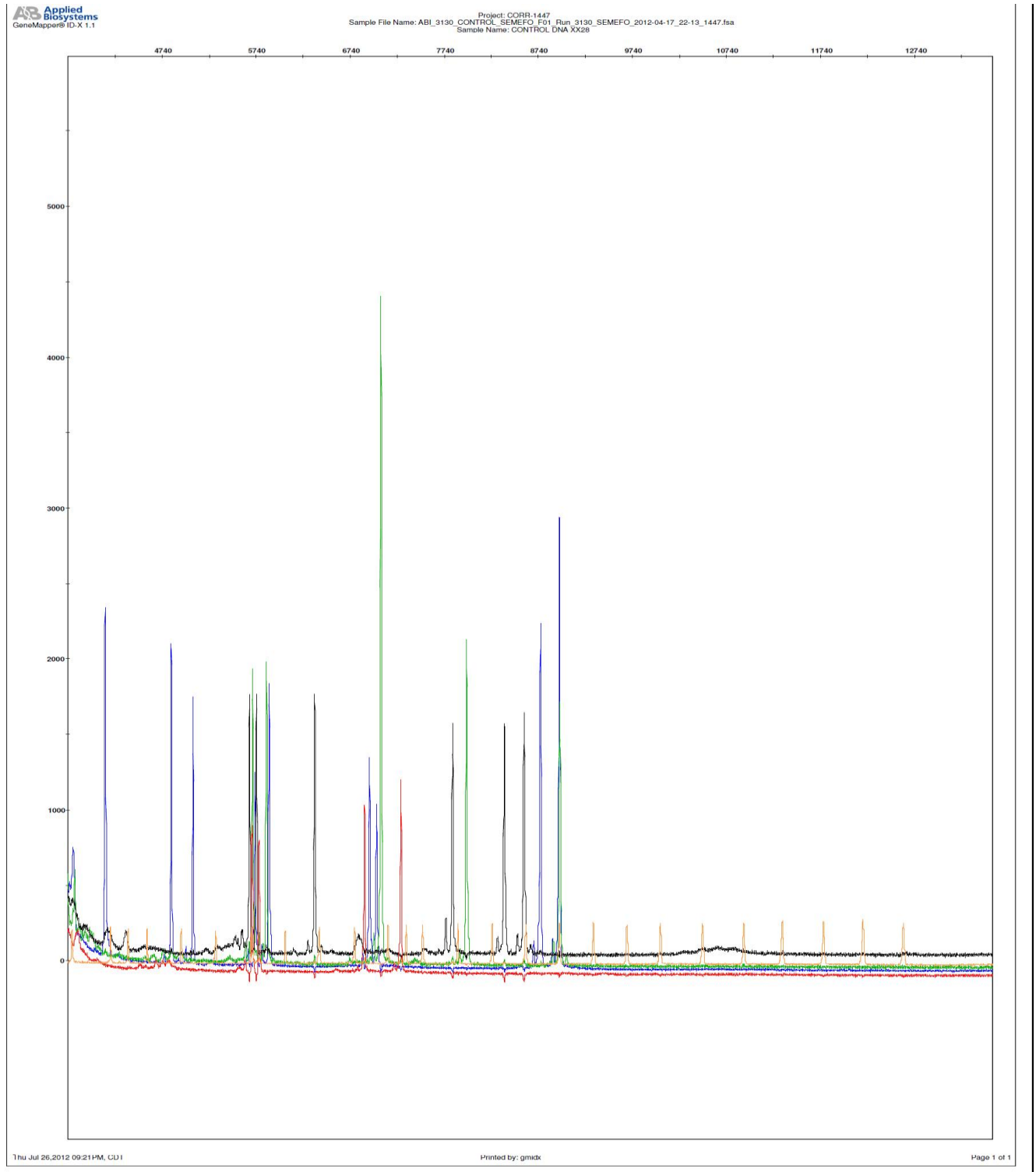
Otro componente importante del ensayo es el denominado BTO, que consiste en una mezcla de fragmentos de ADN de talla conocida (de los 60 a los 550 pb), cuyas diferencias entre sus tamaños no superan los 25 pb. El BTO es usado para verificar los tamaños de los fragmentos de ADN conforme se separan en la electroforesis capilar. La figura 32 muestra un electroferograma típico de una corrida de BTO. Este control de talla se añade a cada muestra problema y va marcado con un fluorocromo diferente, de modo que su señal es totalmente excluible de la de los X-STRs analizados.



**Figura 32:** Electroferograma del BTO mostrando los 26 fragmentos de ADN contenidos (60-550 pb)

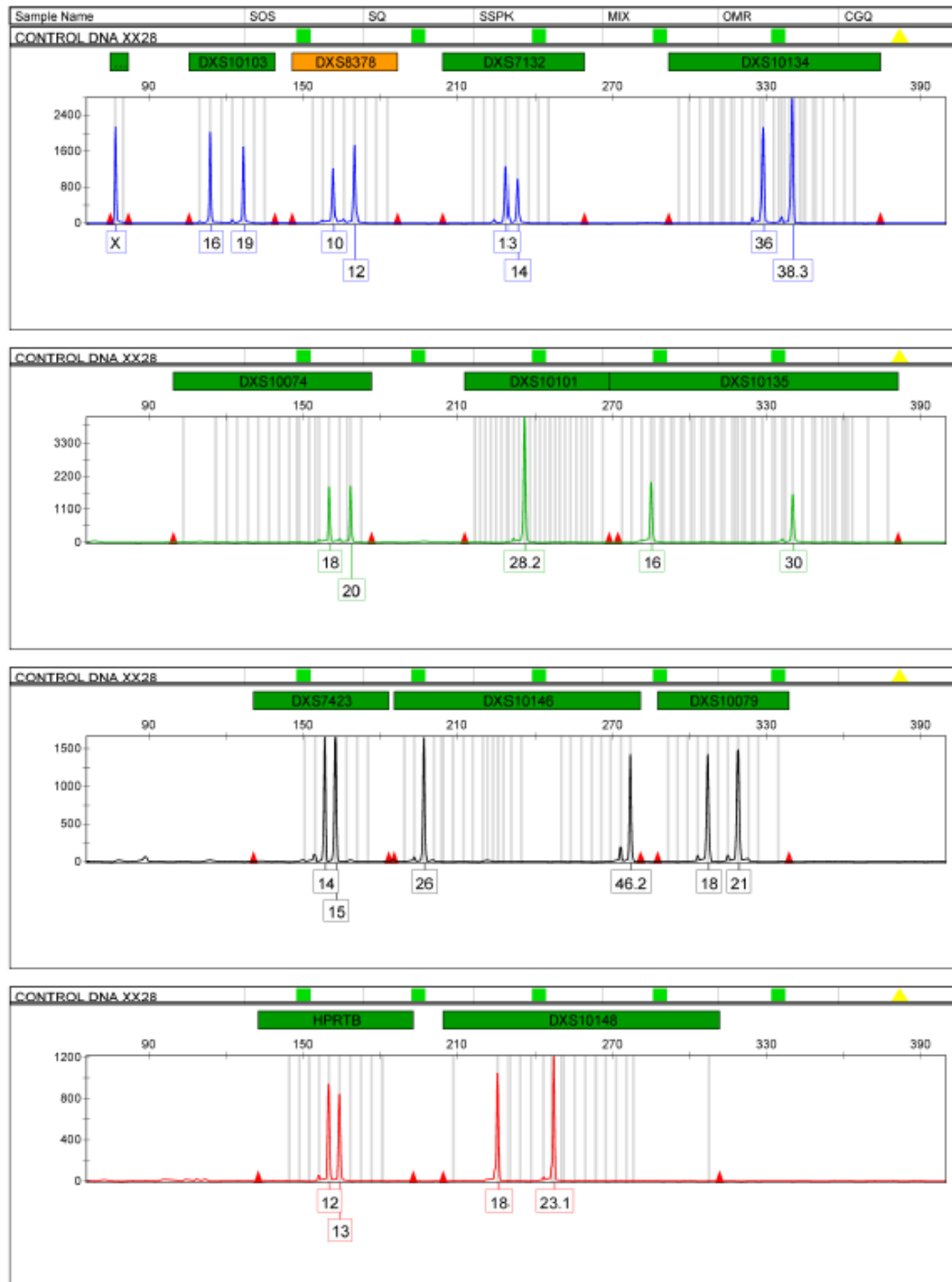
Previo al análisis de los picos separados en la electroforesis capilar con el software se obtienen los “datos crudos” de la corrida. La figura 33 evidencia un ejemplo de los mismos.





**Figura 33:** Representación gráfica de los datos crudos de la electroforesis capilar.

El kit comercial además incluye un ADN control XX28 (figura 34) el cual corresponde a una muestra de una mujer. Este perfil es previamente conocido y siempre debe salir positivo para asegurarnos que el procedimiento ha sido realizado conforme al protocolo establecido.



**Figura 34:** Electroferograma del ADN control XX28 incluido en el kit Argus X-12.

Entonces el genotipo de esta muestra es:

GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	ALELOS
	AMELOGENINA	X,X
<b>1</b>	DXS10148	18,23.1
	DXS10135	16,30
	DXS8378	10,12
<b>2</b>	DXS7132	13,14
	DXS10079	18,21
	DXS10074	18,20
<b>3</b>	DXS10103	16, 19
	HPRTB	12,13
	DXS10101	28.2
<b>4</b>	DXS10146	26,46.2
	DXS10134	36,38.3
	DXS7423	14,15

Como pudimos apreciar en la figura anterior toda mujer analizada proveerá dos alelos para cada marcador X-STRs. Por el contrario, el genotipo de un hombre será siempre menos complejo, pues contiene un alelo por marcador. La figura 35 muestra un genotipo de un individuo del sexo masculino esto con el fin de observar las diferencias entre los perfiles obtenidos de una mujer y de un hombre.

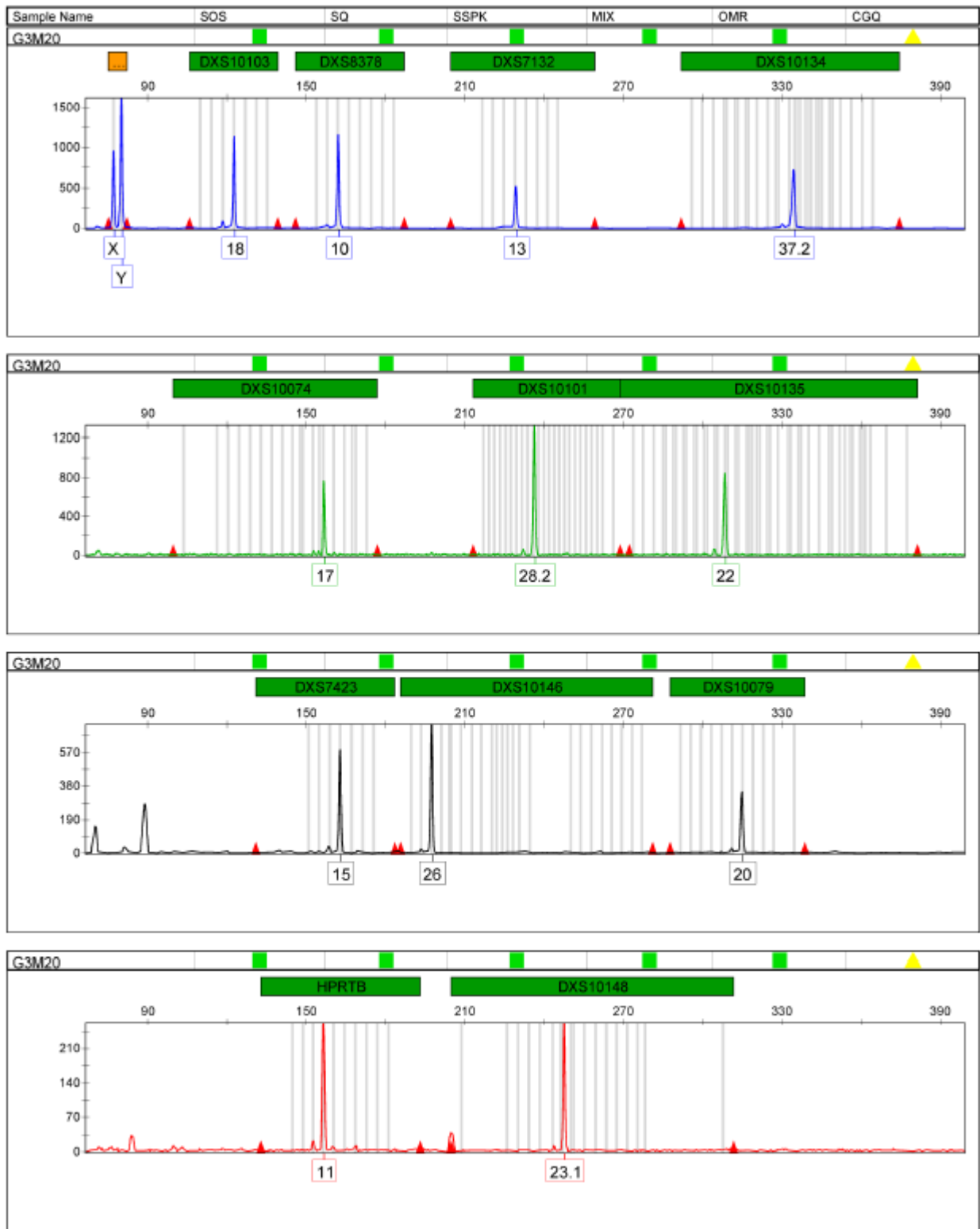


Figura 35: Electroferograma de un individuo del sexo masculino (muestra G3M20).

Por lo tanto el genotipo de este individuo es:

GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	ALELOS
	AMELOGENINA	X,Y
1	DXS10148	23.1
	DXS10135	22
	DXS8378	10
2	DXS7132	13
	DXS10079	20
	DXS10074	17
3	DXS10103	18
	HPRTB	11
	DXS10101	28.2
4	DXS10146	26
	DXS10134	37.2
	DXS7423	15

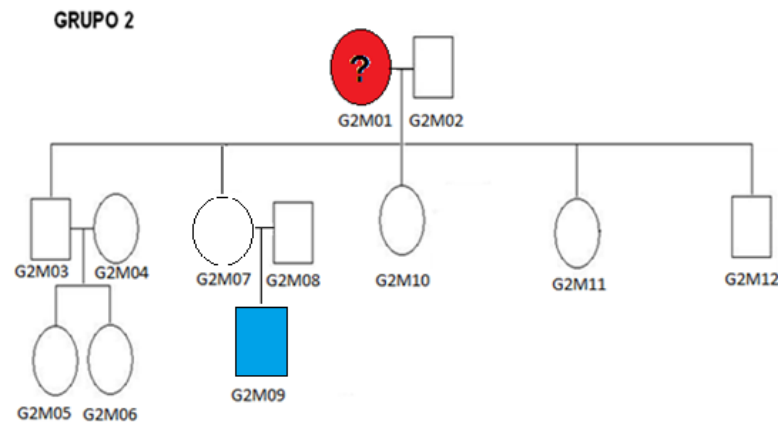
## 7.4. Inferencia de genotipos de cromosoma X desconocidos a partir de perfiles de familiares

### RELACIÓN FILIAL: ABUELO (A) $\longleftrightarrow$ NIETO (A)

Esta es una forma indirecta de determinar relaciones familiares, si los abuelos son los abuelos biológicos del niño, entonces es probable que tengan marcadores genéticos comunes, esto se basa en el hecho de que un niño(a) recibe la mitad de su ADN de cada uno de los padres y los padres a su vez reciben la mitad de su ADN de cada uno de sus progenitores. Una parte del ADN de los abuelos es transmitido a los niños (as) y esto es lo que puede ser probado para demostrar la relación filial, entonces revelará una probabilidad de relación, que puede extenderse del 1% al 99%.

#### CASO 1. Abuela materna – nieto.

Inferencia del perfil de la abuela materna G2M01 a partir del nieto G2M09:

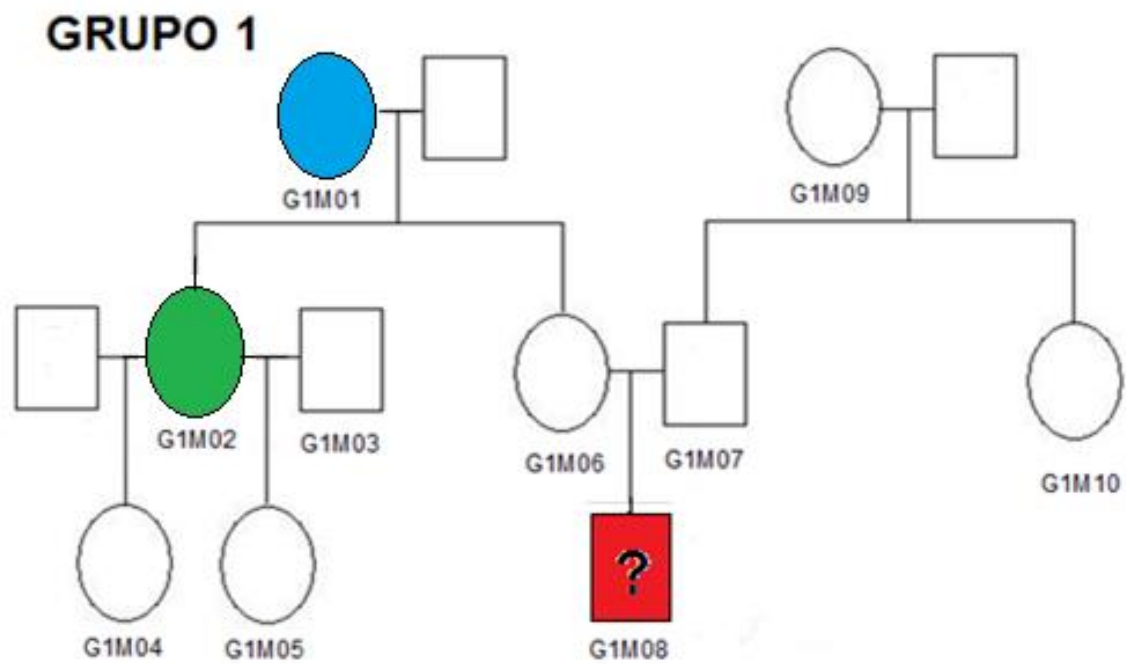


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G2M09	G2M01		G2M01	
		NIETO	INFERENCIA.		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X
1	DXS10148	24.1	24.1	-	24.1	24.1
	DXS10135	26	26	-	22	26
	DXS8378	10	10	-	10	10
2	DXS7132	14	14	-	14	14
	DXS10079	21	21	-	22	21
	DXS10074	15	15	-	18	15
3	DXS10103	17	17	-	16	16
	HPRTB	15	15	-	13	13
	DXS10101	30	30	-	33	31
4	DXS10146	26	26	-	28	26
	DXS10134	37	37	-	36	37
	DXS7423	17	17	-	14	17

Se infirió el perfil de la abuela materna G2M01, a partir del nieto G2M09, considerando que hay una probabilidad muy alta que el cromosoma X pasa de la abuela a sus hijos y después a sus nietos, como se puede observar si es posible la inferencia, aunque hay casos en los que el cromosoma X del nieto pudo haber sido heredado del abuelo materno. Además en este caso tenemos un entrecruzamiento en el grupo de ligamiento 3.

## Nieto - Abuela materna

Inferencia del perfil del nieto G1M08 a partir de la abuela materna G1M01



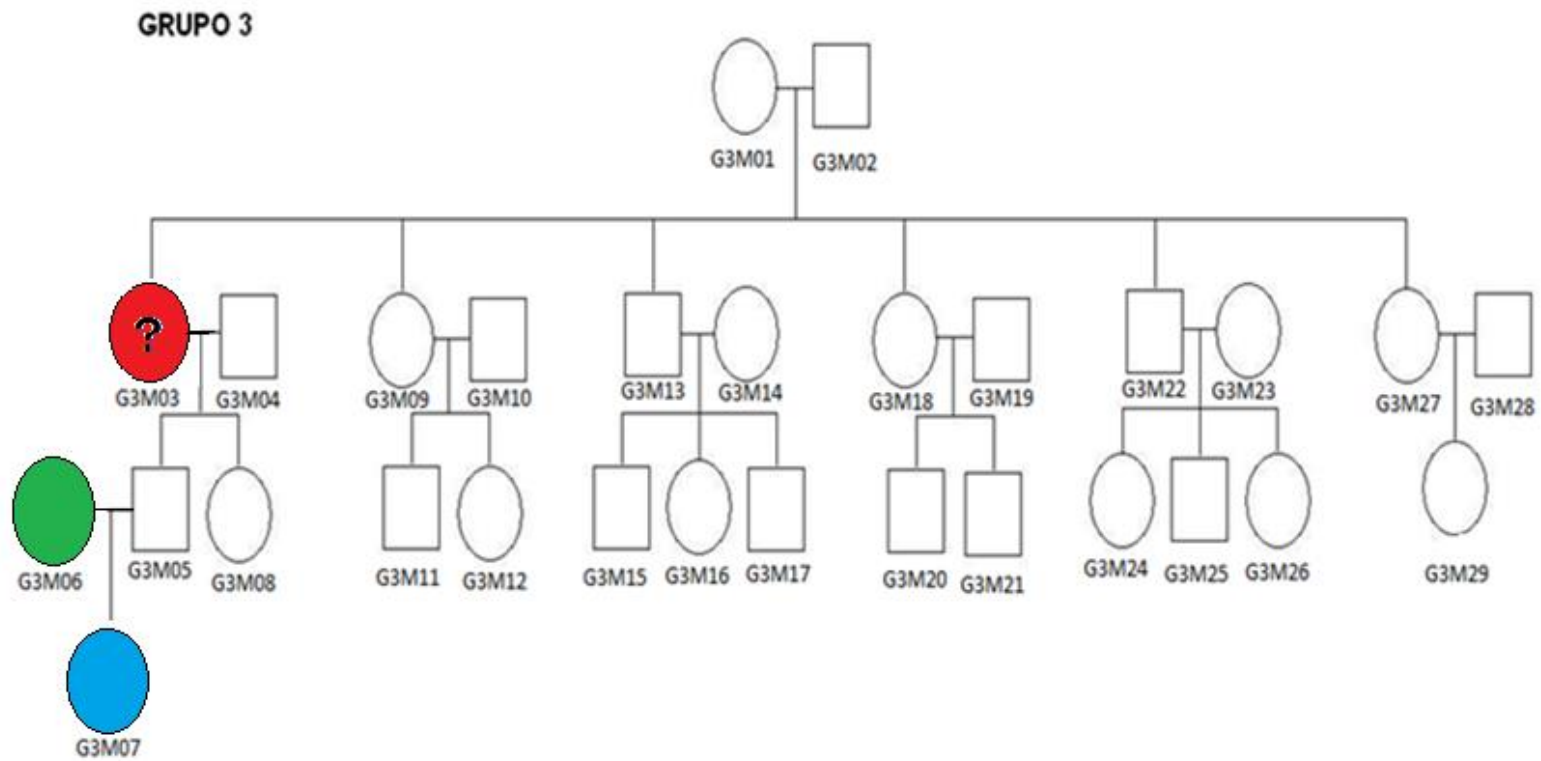


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G1M01		G1M02		G1M08			G1M08
		ABUELA MATERNA		CONTROL TÍA MATERNA		INFERENCIA. NIETO			PERFIL OBTENIDO
		X1	X2	X1	X2	X1(G1M01)	X2(G1M02)	X2(G2M02)	X
1	DXS10148	23.1	24	23.1	18	23.1	24	18	23.1
	DXS10135	18	27	18	16	18	27	16	18
	DXS8378	11	12	11	12	11	11	12	11
2	DXS7132	15	14	15	14	15	14	14/15	14
	DXS10079	19	20	19	21	19	20	21	20
	DXS10074	17	16	17	12	17	16	12	16
3	DXS10103	21	19	21	18	21	19	18	19
	HPRTB	13	15	13	13	13	15	13	15
	DXS10101	30.2	31.2	30.2	29	30.2	31.2	29	31.2
4	DXS10146	26	30	26	26	26	30	26	26
	DXS10134	33	36	33	36	33	36	36	33
	DXS7423	15	14	15	15	15	14	15	15

Se infirió el perfil del nieto G1M08, a partir de la abuela materna G1M01, utilizando como referencia el perfil de la tía materna G1M02. De color azul se observan el juego de alelos STRs-X que muy probablemente la abuela materna (G1M01) transmitió a su hija (G1M02), también se observa el juego de alelos que tiene la tía materna (G1M02), heredados tanto por G1M01 como de su padre (no se cuenta con ese perfil), obteniendo así las posibles inferencias para G1M08, teniendo en cuenta la existencia de recombinación entre cada grupo. Aquí se puede observar un entrecruzamiento en los grupos de ligamiento 2 y 3 por parte de la abuela materna.

## CASO 2. Abuela paterna – nieta.

Inferencia del perfil de la abuela paterna G3M03 a partir de la nieta G3M07:

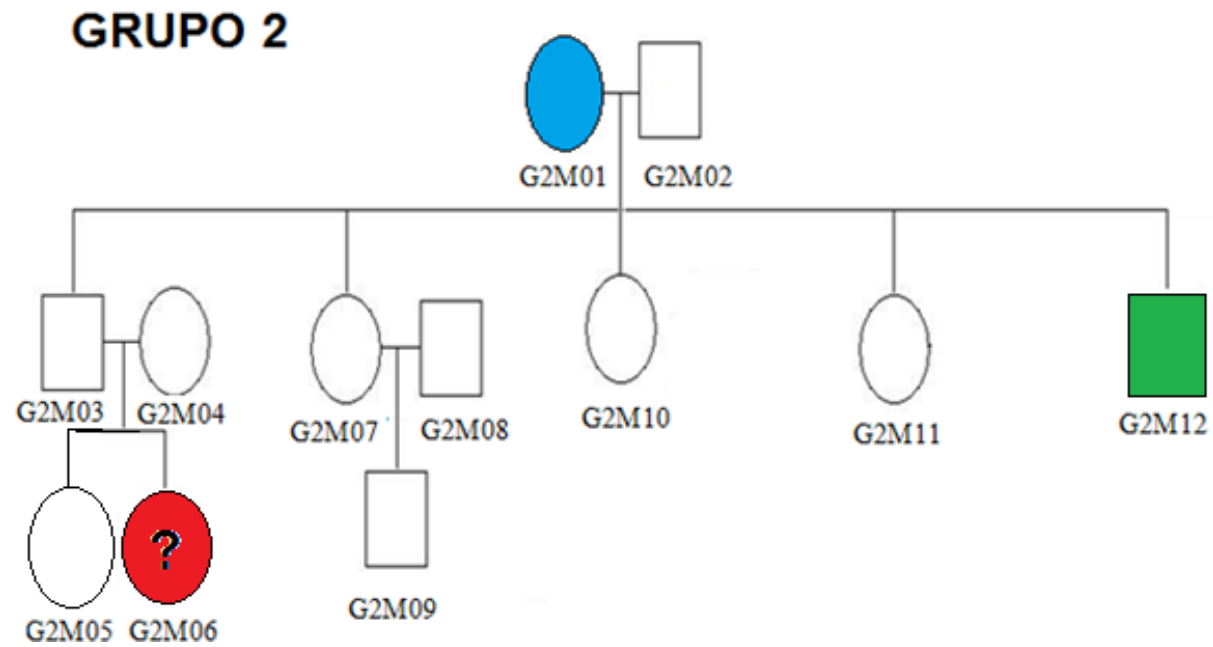


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M07		G3M06		G3M03		G3M03	
		NIETA		CONTROL MADRE		INFERENCIA ABUELA PATERNA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	27.1	18	28.1	27.1	-	23.1	27.1
	DXS10135	15	25	24	24	25	-	21	25
	DXS8378	10	13	10	12	13	-	10	13
2	DXS7132	13	13	13	14	13	-	15	13
	DXS10079	20	20	20	22	20	-	21	20
	DXS10074	15	17	15	16	17	-	18	17
3	DXS10103	16	18	16	16	18	-	19	18
	HPRTB	13	11	13	13	11	-	13	11
	DXS10101	31	28.2	31	31	28.2	-	32.2	28.2
4	DXS10146	23	26	23	27.3	26	-	28	26
	DXS10134	34	OL	34	OL	OL	-	37	OL
	DXS7423	15	15	15	15	15	-	14	15

Se infirió el perfil de la abuela paterna G3M03 a partir de la nieta G3M07, tomando como referencia el perfil de la madre G3M06, la participación de la madre es importante porque se elimina su contribución a la mitad del ADN de la niña, de color rosa se muestra los marcadores que se transmitieron por vía materna, dejando así la posibilidad de saber cuál es el juego de alelos heredado por el padre (color amarillo), para tener la inferencia del perfil de la abuela paterna, como se pudo observar aquí si se lleva a cabo una buena inferencia. Además se muestra una variación de un nucleótido para el marcador DXS10146 (de color verde) y esto se puede deber a errores durante el proceso de amplificación de los fragmentos introducidos por la DNA Polimerasa.

## Nieta - Abuela paterna

Inferencia del perfil de la nieta G2M06 a partir de la abuela paterna G2M01:

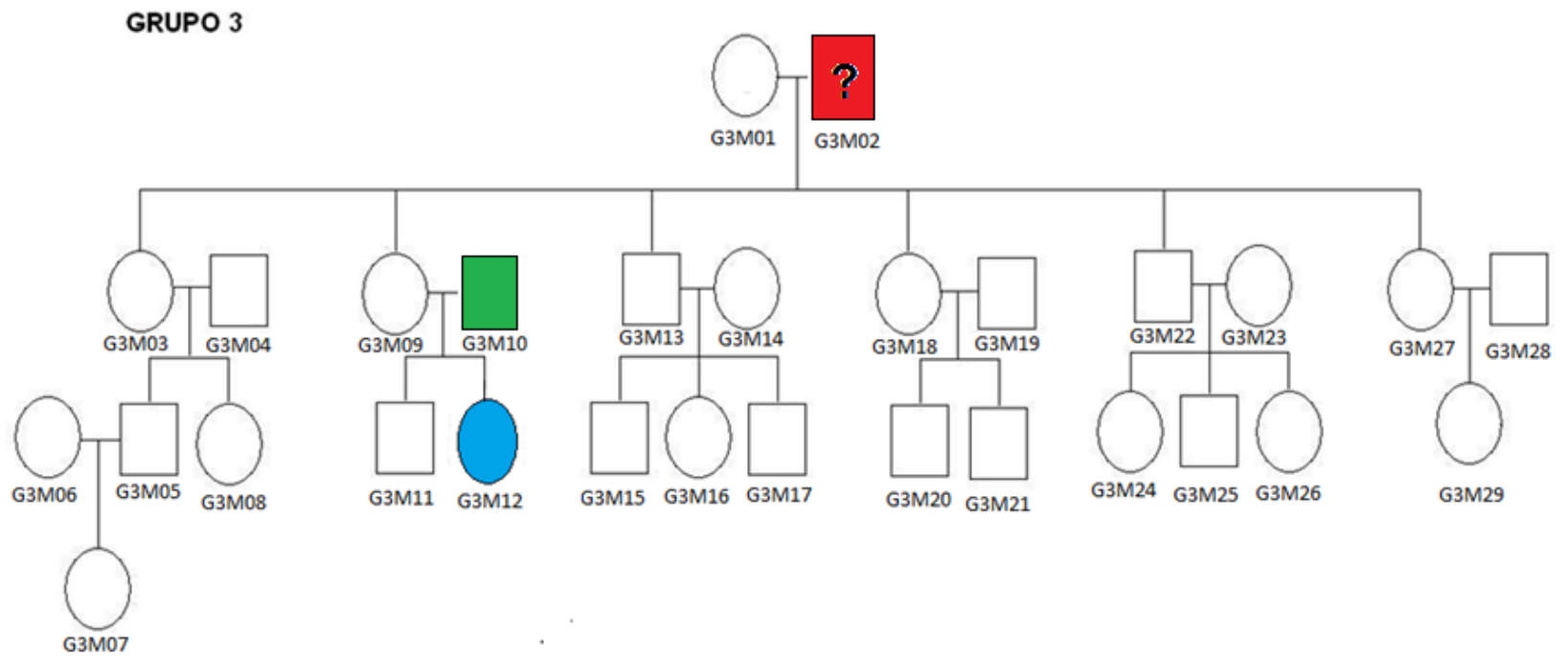


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G2M01		G2M12	G2M06		G2M06	
		ABUELA PATERNA		CONTROL TÍO PATERNO	INFERENCIA NIETA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	24.1	24.1	24.1	24.1	24.1	18	24.1
	DXS10135	22	26	22	22	26	23	22
	DXS8378	10	10	10	10	10	10	10
2	DXS7132	14	14	14	14	14	14	14
	DXS10079	22	21	22	22	21	19	21
	DXS10074	18	15	18	18	15	19	15
3	DXS10103	16	16	16	16	16	16	16
	HPRTB	13	13	13	13	13	14	13
	DXS10101	33	31	33	33	31	31	31
4	DXS10146	26	28	26	26	28	30	28
	DXS10134	37	36	37	37	36	38	36
	DXS7423	17	14	17	17	14	16	14

Se infirió el perfil de la nieta G2M06 a partir de la abuela paterna G2M01, utilizando como control el perfil del tío paterno G2M12, se puede observar de color azul, el juego de alelos que fue heredado de la abuela paterna a su hijos, y que a su vez, probablemente fueron heredados a su nieta por parte del padre. Así abuela paterna y nieta deberán tener grupos de ligamiento similares, lo cual se cumple aunque hay un entrecruzamiento en el grupo de ligamiento 1. Aun así la otra posibilidad en este tipo de inferencias que ambos hermanos no compartieran los mismos alelos del cromosoma X y por tanto no hubiese sido posible la inferencia a partir de este tipo de relaciones filiales; siendo lo más conveniente utilizar el perfil del padre biológico para la inferencia.

### CASO 3. Abuelo materno – nieta.

Inferencia del perfil del abuelo materno G3M02 a partir de la nieta G3M12:



GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M12		G3M10	G3M02	G3M02
		NIETA		CONTROL PADRE	INFERENCIA ABUELO MATERNO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X	X	X
1	DXS10148	23.1	25.1	25.1	23.1	23.1
	DXS10135	22	29	29	22	22
	DXS8378	10	10	10	10	10
2	DXS7132	14	14	14	14	15
	DXS10079	20	17	17	20	21
	DXS10074	16	15	15	16	18
3	DXS10103	19	17	17	19	19
	HPRTB	13	14	14	13	13
	DXS10101	32.2	32	32	32.2	32.2
4	DXS10146	28	24	24	28	28
	DXS10134	37	37.3	37.3	37	37
	DXS7423	14	15	15	14	14

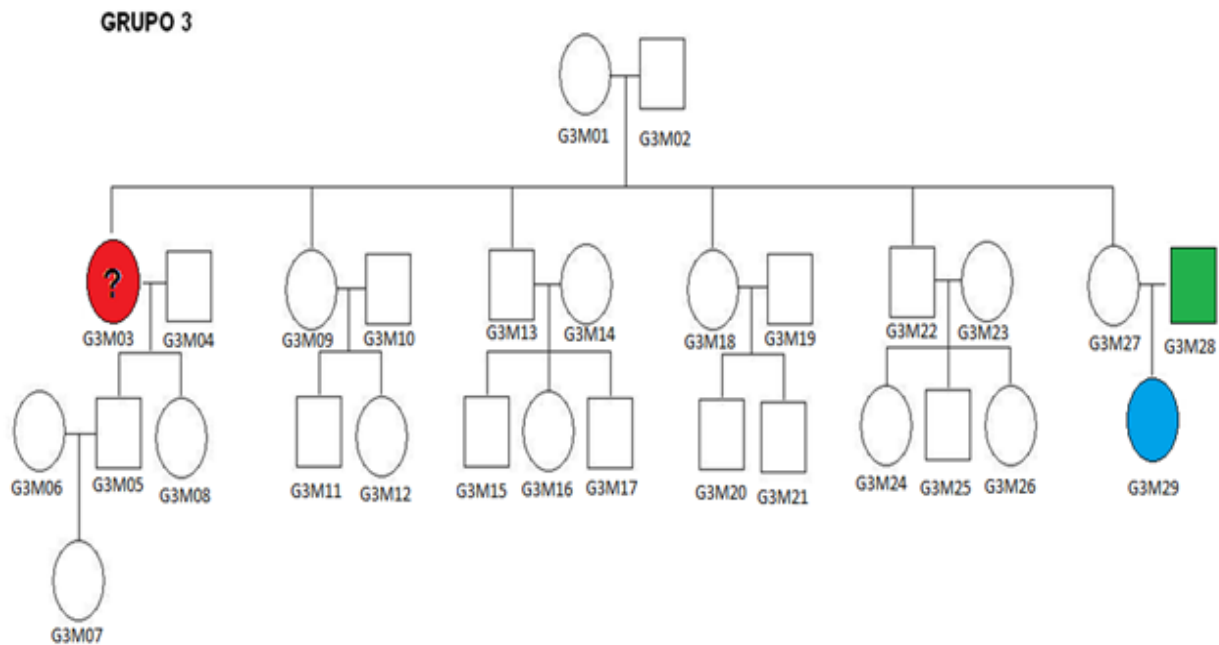
Se infirió el perfil del abuelo materno G3M02 a partir de la nieta G3M12, tomando como referencia el perfil del padre G3M10, esto para descartar los marcadores que fueron heredados de él a su hija (de color azul), de color amarillo está el juego de alelos heredados por vía materna, para así obtener el perfil del abuelo materno; en este caso se logró una inferencia casi completa pero puede haber el caso en que la nieta halla heredado alguno de los dos cromosomas de su abuela materna y si fuera el caso no se podría lograr la inferencia abuelo materno-nieta. Como se puede observar en el grupo de ligamiento 2 se puede deber a un entrecruzamiento.

**RELACIÓN FILIAL: TÍA (O)  $\longleftrightarrow$  SOBRINA (O)**

Las relaciones de Parentesco entre Tíos (as) y Sobrinos (as), viceversa, es también una excelente alternativa para comprobar relaciones filiales.

**CASO 4. Tía materna - sobrina**

Inferencia del perfil de la tía materna G3M03 a partir de la sobrina G3M29:



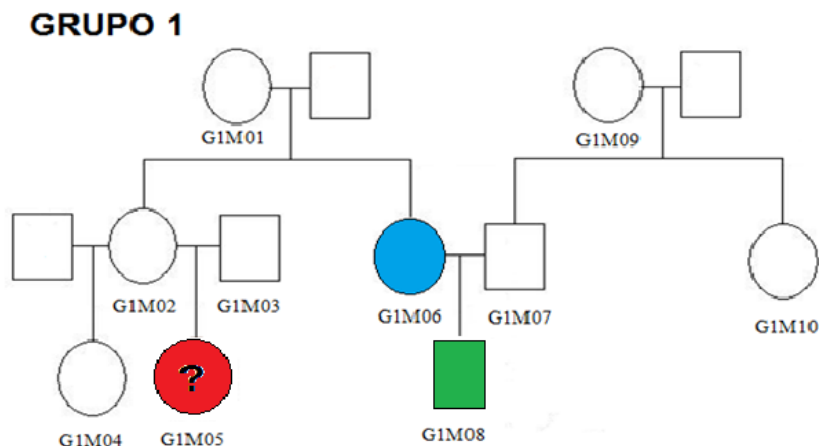


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M29		G3M28	G3M03		G3M03	
		SOBRINA		CONTROL PADRE	INFERENCIA TÍA MATERNA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	23.1	18	23.1	-	23.1	27.1
	DXS10135	16	22	16	22	-	21	25
	DXS8378	10	10	10	10	-	10	13
2	DXS7132	14	15	14	15	-	15	13
	DXS10079	20	21	20	21	-	21	20
	DXS10074	16	18	16	18	-	18	17
3	DXS10103	19	19	19	19	-	19	18
	HPRTB	12	13	12	13	-	13	11
	DXS10101	29.2	32.2	29.2	32.2	-	32.2	28.2
4	DXS10146	31	28	31	28	-	28	26
	DXS10134	34	37	34	37	-	37	OL
	DXS7423	14	14	14	14	-	14	15

Se infirió el perfil de la tía materna G3M03 a partir de la sobrina G3M29, tomando como referencia el perfil del padre G3M28, se marcó de color azul los alelos paternos y de color amarillo los maternos para así poder inferir el perfil de la abuela materna, teniendo una buena inferencia sin entrecruzamientos. Este tipo de relación nos da sólo la mitad del perfil, no es posible obtener un perfil completo, además de que tenemos la posibilidad de que no compartan este cromosoma.

## Sobrina - Tía materna

Inferencia del perfil de la sobrina G1M05 a partir de la tía materna G1M06:



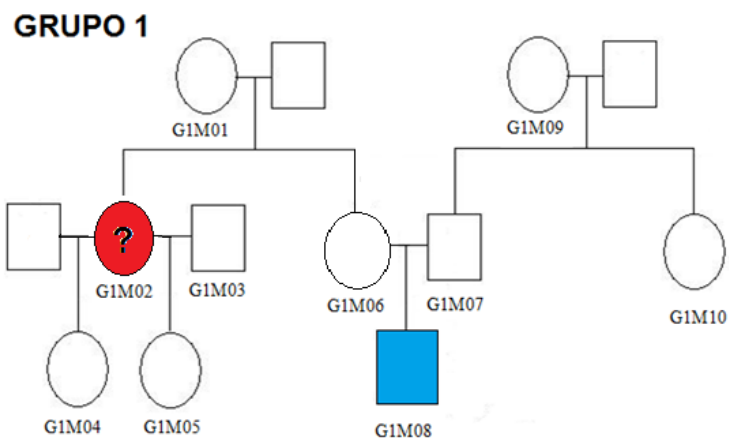
GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G1M06		G1M08	G1M05		G1M05	
		TÍA MATERNA		CONTROL PRIMO	INFERENCIA SOBRINA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	23.1	23.1	18	23.1	18	23.1
	DXS10135	16	18	18	16	18	16	22.1
	DXS8378	12	11	11	12	11	12	11
2	DXS7132	14	14	14	14	14	15	17
	DXS10079	21	20	20	21	20	18	19
	DXS10074	12	16	16	12	16	16.2	17
3	DXS10103	18	19	19	18	19	19	21
	HPRTB	15	15	15	15	15	13	14
	DXS10101	29	31.2	31.2	29	31.2	30	30.2
4	DXS10146	26	26	26	26	26	26	46.2
	DXS10134	36	33	33	36	33	33	38.3
	DXS7423	15	15	15	15	15	15	16

Se infirió el perfil de la sobrina G1M05 a partir de la tía materna G1M06, utilizando como referencia el perfil del primo G1M08, se observa de color azul los juegos de alelos del primo hijo de la tía materna y de color amarillo la posible inferencia para la sobrina. Se observa entrecruzamiento

en los grupos de ligamiento 1 y 4; en este ejemplo fue posible solamente obtener los alelos de estos grupos de ligamiento, por lo que lo ideal sería inferir el perfil de la sobrina a partir del de sus padres o abuelos.

### Tía materna - sobrino.

Inferencia del perfil de la tía materna G1M02 a partir del sobrino G1M08.

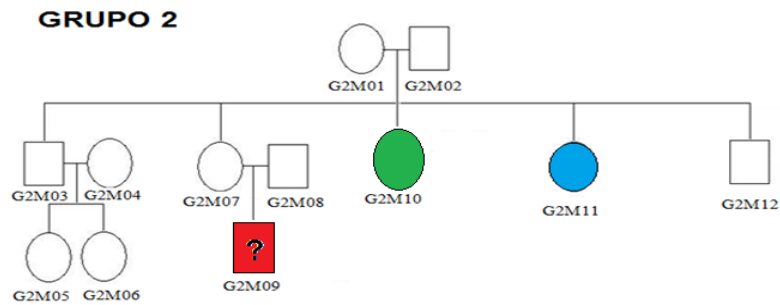


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G1M08	G1M02		G1M02	
		SOBRINO	INFERENCIA TIA MATERNA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X
1	DXS10148	23.1	23.1	-	18	23.1
	DXS10135	18	18	-	16	18
	DXS8378	12	12	-	11	12
2	DXS7132	14	14	-	14	15
	DXS10079	20	20	-	21	19
	DXS10074	16	16	-	12	17
3	DXS10103	19	19	-	18	21
	HPRTB	15	15	-	13	13
	DXS10101	31.2	31.2	-	29	30.2
4	DXS10146	26	26	-	26	26
	DXS10134	33	33	-	36	33
	DXS7423	15	15	-	15	15

Se infirió el perfil de la tía materna G1M02 a partir del sobrino G1M08, de color amarillo se observan los alelos que comparten, teniendo en cuenta que pudieron o no haber heredado el mismo cromosoma X de parte de la madre de G1M22 y abuela de G1M02 además de que el nieto pudo haber heredado el cromosoma de su abuelo paterno. Lo ideal sería inferir al sobrino a partir de los abuelos en el mejor de los casos a partir de sus padres.

### Sobrino - Tía materna.

Inferencia del perfil del sobrino G2M09 a partir de la tía materna G2M11:



Se infirió el perfil del sobrino G2M09 a partir de la tía materna G2M11, utilizando como referencia a la tía materna G2M10, tomando en

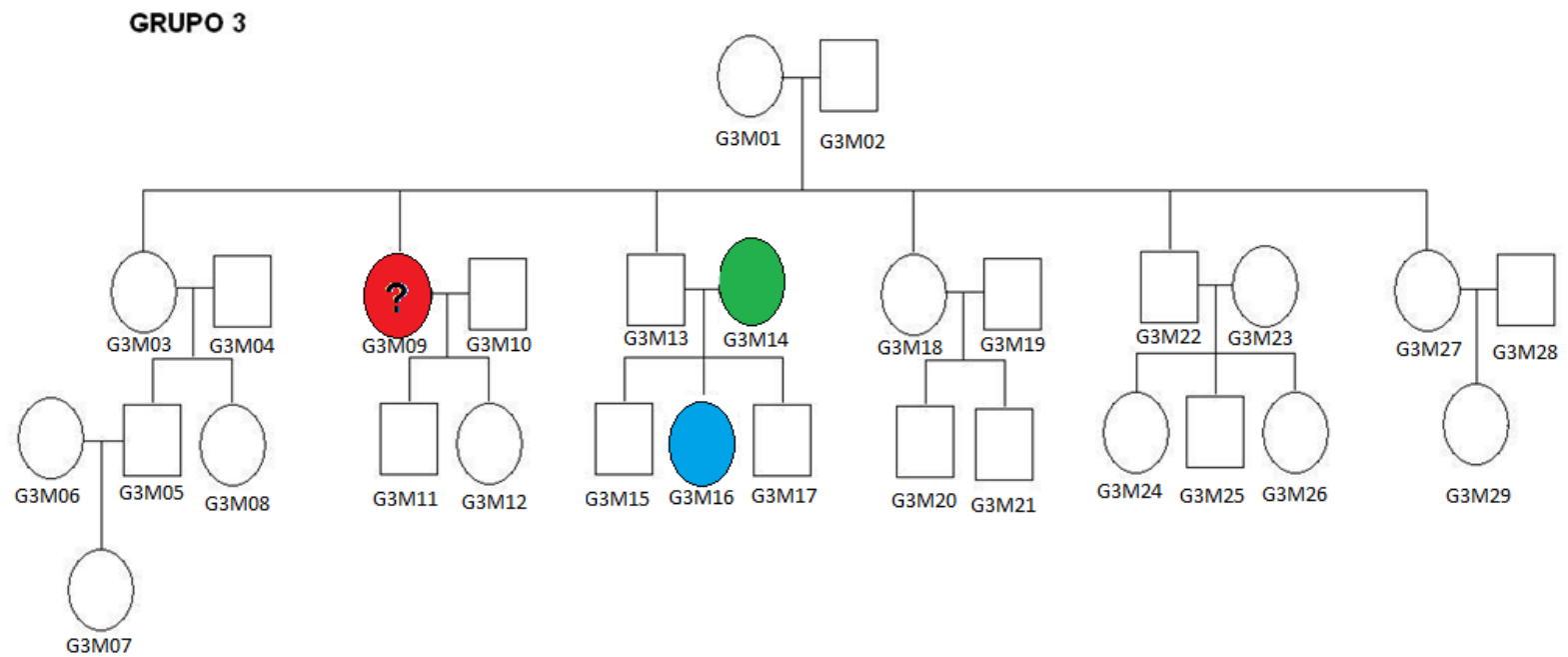
GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G2M11		G2M10		G2M09		G2M09
		TÍA MATERNA		CONTROL TÍA MATERNA		INFERENCIA SOBRINO		PERFIL OBTENIDO
		X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	24.1	18	24.1	18	24.1	24.1
	DXS10135	19	22	19	22	19	22	26
	DXS8378	10	12	10	12	10	12	10
2	DXS7132	14	15	14	15	14	15	14
	DXS10079	21	22	21	21	21	21	21
	DXS10074	17	18	15	17	15	17	15
3	DXS10103	16	17	16	17	16	17	17
	HPRTB	13	15	13	15	13	15	15
	DXS10101	33	30	33	30	33	30	30
4	DXS10146	28	28	28	28	28	28	26
	DXS10134	36	38	36	38	36	38	37
	DXS7423	14	15	14	15	14	15	24.1

cuenta que la probabilidad de herencia del mismo cromosoma por vía matrilineal es alta, el sobrino tiene la probabilidad de heredar hasta tres juegos de alelos del cromosoma X, dos por parte de su abuela y uno por parte de su padre, aquí solo se puede saber si heredo alguno de los de sus tías, observando -en color amarillo- los alelos que comparte con sus tías teniendo un entrecruzamiento en los grupos de ligamiento 2 y 3.

Como se ha comentado en casos anteriores de relaciones filiales tios (as)- sobrinos (as) puede que compartan todos los alelos del cromosoma X que tienen en común, sólo algunos grupos de ligamiento o existe la posibilidad de que no tengan algún cromosoma X en común. Lo ideal sería utilizar, si se cuenta con ellos, familiares más cercanos como abuelos, padres o hermanos e incluso medios hermanos (as).

### CASO 5. Tía paterna - sobrina.

Inferencia del perfil de la tía paterna G3M09 a partir de la sobrina G3M16:

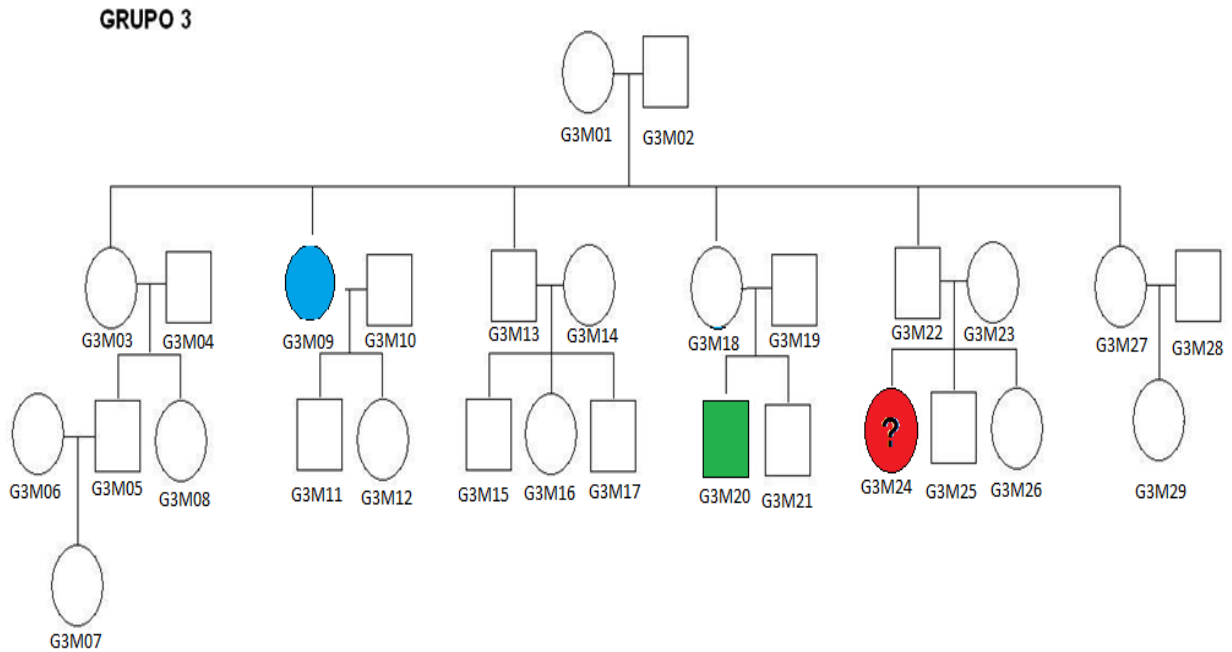


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M16		G3M14		G3M09		G3M09	
		SOBRINA		CONTROL MADRE DE G3M16		INFERENCIA TÍA PATERNA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	24.1	27.1	24.1	26.1	27.1	-	23.1	27.1
	DXS10135	27	26	27	23	26	-	22	26
	DXS8378	10	13	10	10	13	-	10	13
2	DXS7132	16	13	16	14	13	-	15	14
	DXS10079	18	19	18	17	19	-	21	20
	DXS10074	16	17	16	8	17	-	18	16
3	DXS10103	19	16	19	19	16	-	19	18
	HPRTB	11	13	11	11	13	-	13	11
	DXS10101	28.2	31	28.2	30.2	31	-	32.2	28.2
4	DXS10146	27	29	27	27	29	-	28	26
	DXS10134	38	37	38	36	37	-	37	OL
	DXS7423	15	15	15	15	15	-	14	15

A partir del perfil de la sobrina G3M16 se infirió parcialmente el perfil de la tía paterna G3M09. Se tomó como un control a G3M14 (madre de G3M16) para saber el juego de alelos que heredó de su madre (de color rosa) y cuáles podría compartir con G3M09 (de color amarillo). En este solamente comparten los alelos del primer grupo de ligamiento, por lo que lo ideal sería inferir el perfil de la sobrina a partir del de sus padres, abuelos, hermanos o medios hermanos.

## Sobrina - Tía paterna

Inferencia del perfil de la sobrina G3M24 a partir de la tía paterna G3M09:



GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M09		G3M20	G3M24		G3M24	
		TÍA PATERNA		CONTROL PRIMO	INFERENCIA SOBRINA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	23.1	27.1	23.1	23.1	27.1	23.1	26.1
	DXS10135	22	26	22	22	26	20	22
	DXS8378	10	13	10	10	13	10	12
2	DXS7132	14	15	13	13	15	13	15
	DXS10079	21	20	20	21	20	19	20
	DXS10074	16	18	17	17	18	17	18
3	DXS10103	18	19	18	18	19	16	18
	HPRTB	11	13	11	11	13	11	13
	DXS10101	28.2	32.2	28.2	28.2	32.2	32	28.2
4	DXS10146	26	28	26	26	28	26	26
	DXS10134	37	OL	37.2	37	OL	OL	37.2
	DXS7423	15	14	15	15	14	15	15

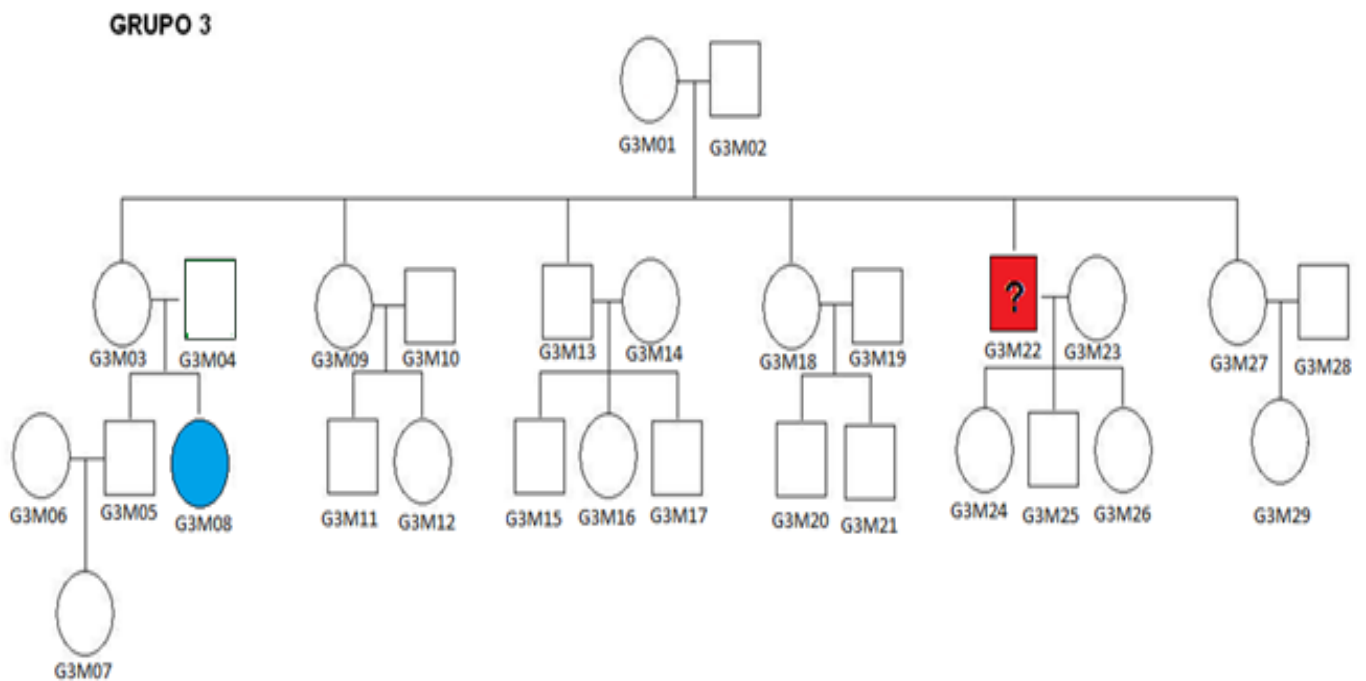


Se infirió perfil de la sobrina G3M24 a partir de la tía paterna G3M09, utilizando como referencia al primo G3M20, de color azul tenemos los alelos que pudieron haber sido heredados de forma matrilineal, se observó que comparte el grupo de ligamiento 3,4 y entrecruzamiento en el grupo 1.

Para una mejor inferencia de la sobrina, sería mejor utilizar el perfil de sus padres o abuelos.

## CASO 6. Tío materno – sobrina.

Inferencia del perfil del tío materno G3M22 a partir de la sobrina G3M08.



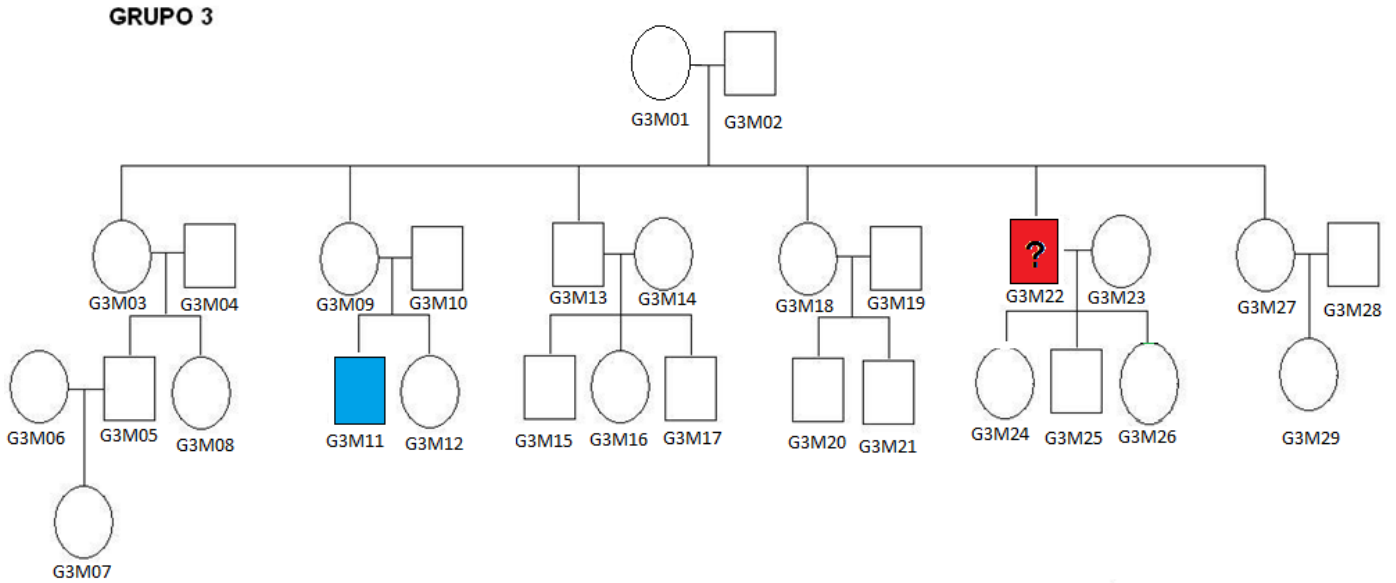
GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M08		G3M04	G3M22	G3M22
		SOBRINA		CONTROL PADRE	INFERENCIA TÍO MATERNO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X	X	X
1	DXS10148	23.1	24.1	24.1	23.1	26.1
	DXS10135	22	24	24	22	22
	DXS8378	10	12	12	10	12
2	DXS7132	15	14	14	15	13
	DXS10079	21	20	20	21	20
	DXS10074	18	18	18	18	17
3	DXS10103	19	19	19	19	18
	HPRTB	13	14	14	13	11
	DXS10101	32.2	30.2	30.2	32.2	28.2
4	DXS10146	28	29	29	28	26
	DXS10134	OL	37	37	OL	OL
	DXS7423	15	16	16	15	15

A partir del perfil de la sobrina G3M08 se infirió el perfil del tío materno G3M22. Se tomó como control a G3M04, poniendo en azul los alelos que comparten y, por lo tanto, de color amarillo se encuentra el posible perfil del tío. Al descubrir el perfil de G3M22 se observó no tienen alelos en común, lo que hace suponer que el cromosoma X heredado por G3M08 no es el mismo que el heredado por G3M22 de parte de G3M01.

Para una mejor inferencia del tío materno, sería mejor utilizar el perfil de sus padres o abuelos.

### Tío materno – sobrino.

Inferencia del perfil del tío materno G3M22 a partir del sobrino G3M11:

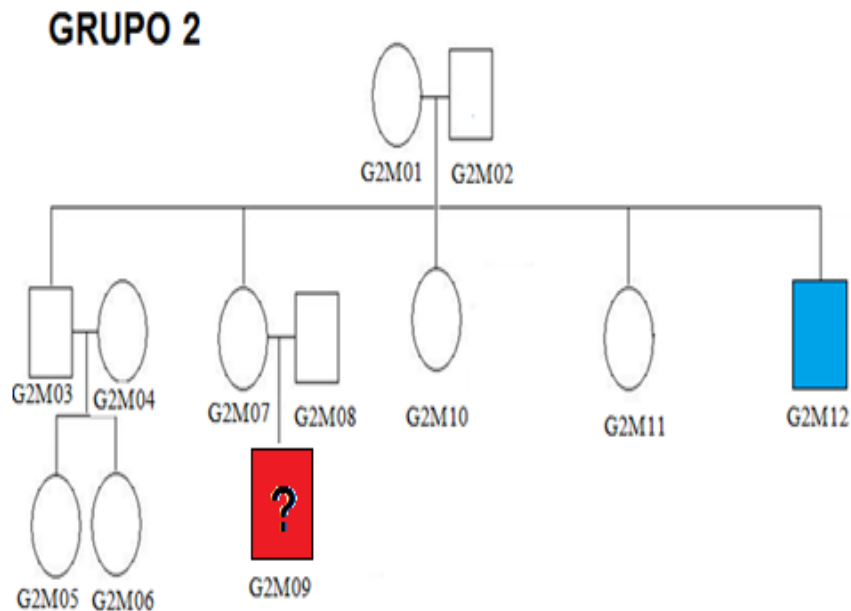


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M11	G3M22	G3M22
		TÍO MATERNO	INFERENCIA. SOBRINO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X
1	DXS10148	23.1	23.1	26.1
	DXS10135	22	22	22
	DXS8378	10	10	13
2	DXS7132	15	15	13
	DXS10079	21	21	20
	DXS10074	18	18	17
3	DXS10103	19	19	18
	HPRTB	13	13	11
	DXS10101	32.2	32.2	28.2
4	DXS10146	28	28	26
	DXS10134	OL	OL	OL
	DXS7423	14	14	15

A partir del perfil del sobrino G3M11 se infirió el perfil del tío materno G3M22, de color rojo se encuentra el posible perfil del tío. Al descubrir el perfil de G3M22 se observó no tiene alelos en común, lo que hace suponer que el cromosoma X heredado por G3M11 no es el mismo que el heredado por G3M22 de parte de la abuela materna G3M11. Para estos casos se recomienda que se usen los perfiles de familiares más cercanos como son progenitores, abuelos u hijas, ya que no se tiene la certeza de que hereden el mismo cromosoma.

## Sobrino - Tío materno

Inferencia del perfil del sobrino G2M09 a partir del tío materno G2M12:

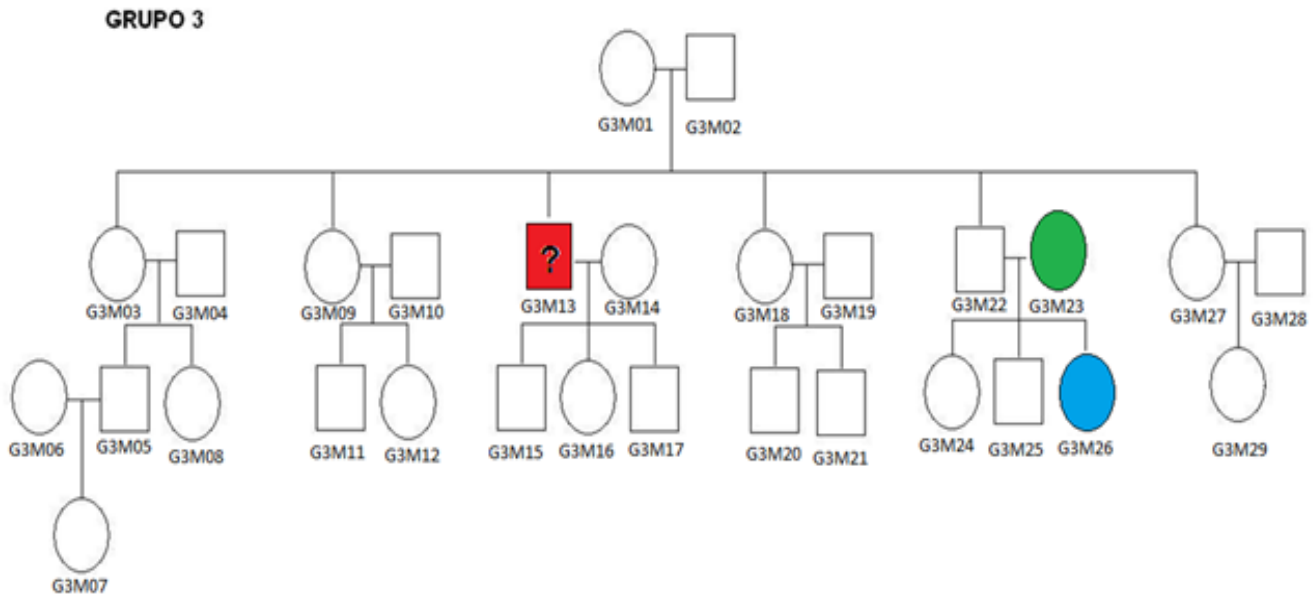


GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G2M12	G2M09	G2M09
		TÍO MATERNO	INFERENCIA. SOBRINO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X
1	DXS10148	24.1	24.1	24.1
	DXS10135	22	22	26
	DXS8378	10	10	10
2	DXS7132	14	14	14
	DXS10079	22	22	21
	DXS10074	18	18	15
3	DXS10103	16	16	17
	HPRTB	13	13	15
	DXS10101	33	33	30
4	DXS10146	26	26	26
	DXS10134	37	37	37
	DXS7423	22	22	17

A partir del perfil del tío materno G2M12 se infirió el perfil del sobrino G2M09, de color rojo se encuentra el posible perfil del sobrino. Al descubrir el perfil de G2M09 se observó no tiene alelos en común, lo que hace suponer que el cromosoma X heredado por G2M09 no es el mismo que heredo G2M12 de parte de la abuela materna. Para estos casos se recomienda que se usen los perfiles de familiares más cercanos como son progenitores, abuelos, ya que no se tiene la certeza de que hereden el mismo cromosoma.

## CASO 7. Tío paterno – sobrina.

Inferencia del perfil del tío paterno G3M13 a partir de la sobrina G3M26:



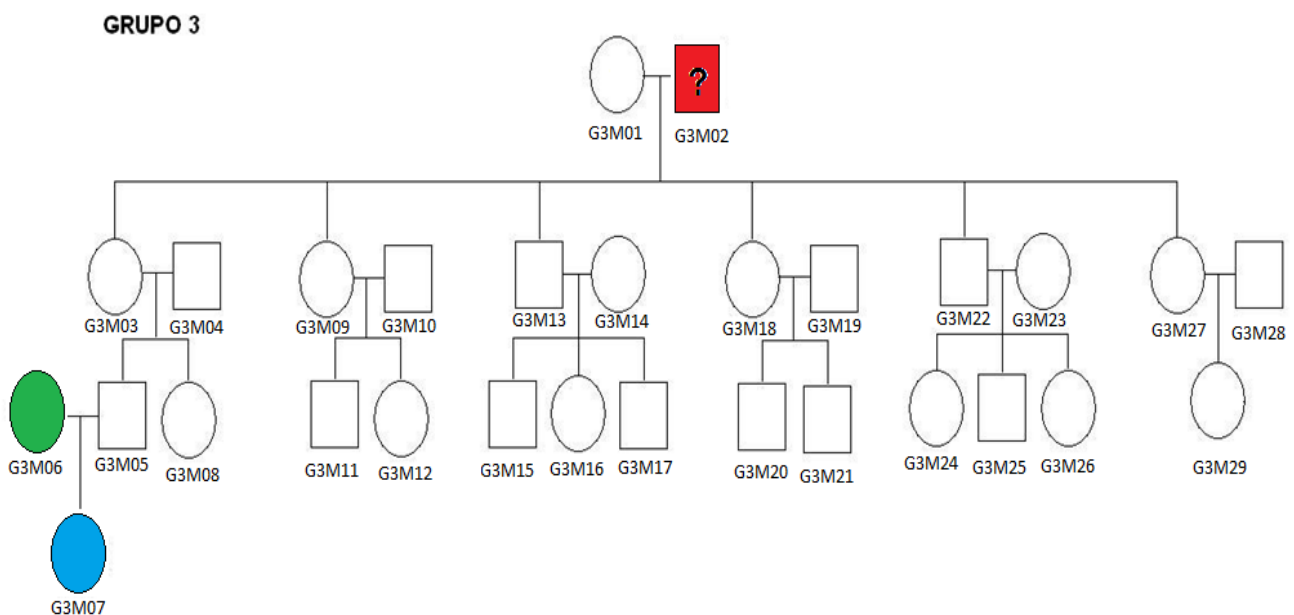
GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M26		G3M23		G3M13	G3M13
		SOBRINA		MADRE DE G3M26		INFERENCIA TÍO PATERNO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	26.1	18	26.1	26.1	27.1
	DXS10135	28	22	28	20	22	26
	DXS8378	11	12	11	10	12	13
2	DXS7132	15	13	15	15	13	13
	DXS10079	19	20	19	20	20	20
	DXS10074	18	17	18	19	17	17
3	DXS10103	18	18	18	16	18	16
	HPRTB	13	11	13	13	11	13
	DXS10101	29.2	28.2	29.2	32	28.2	31
4	DXS10146	26	29	26	29	29	29
	DXS10134	OL	37.2	OL	37	37.2	37
	DXS7423	15	17	15	17	17	15

Para inferir el perfil de G3M13 a partir de G3M26 se usó a G3M23 como control (madre de G3M23) para saber los alelos que comparten (de color rosa) y, por lo tanto, el otro juego de alelos es el que comparte con G3M13. En este caso se observa que solo tiene un grupo de ligamiento en común. En este ejemplo fue posible solamente obtener los alelos de estos grupos de ligamiento, por lo que lo ideal sería inferir el perfil de la sobrina a partir del de sus padres o abuelos

**RELACION FILIAL: BISABUELO (A)  $\longleftrightarrow$  BISNIETO (A)**

### CASO 8. Bisabuelo paterno - bisnieta

Inferencia del perfil del bisabuelo paterno G3M02 a partir de la bisnieta G3M07:



GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M07		G3M06		G3M02	G3M02
		BISNIETA		MADRE DE G3M07		INFERENCIA BISABUELO PATERNO	PERFIL OBTENIDO
		X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	27.1	18	28.1	27.1	23.1
	DXS10135	15	26	24	24	26	22
	DXS8378	10	13	10	12	13	10
2	DXS7132	13	13	13	14	13	15
	DXS10079	20	20	20	22	20	21
	DXS10074	15	17	15	16	17	18
3	DXS10103	16	18	16	16	18	19
	HPRTB	13	11	13	13	11	13
	DXS10101	31	28.2	31	31	28.2	32.2
4	DXS10146	28	26	27	27.3	26	28
	DXS10134	34	OL	34	OL	OL	37
	DXS7423	15	15	15	15	15	14

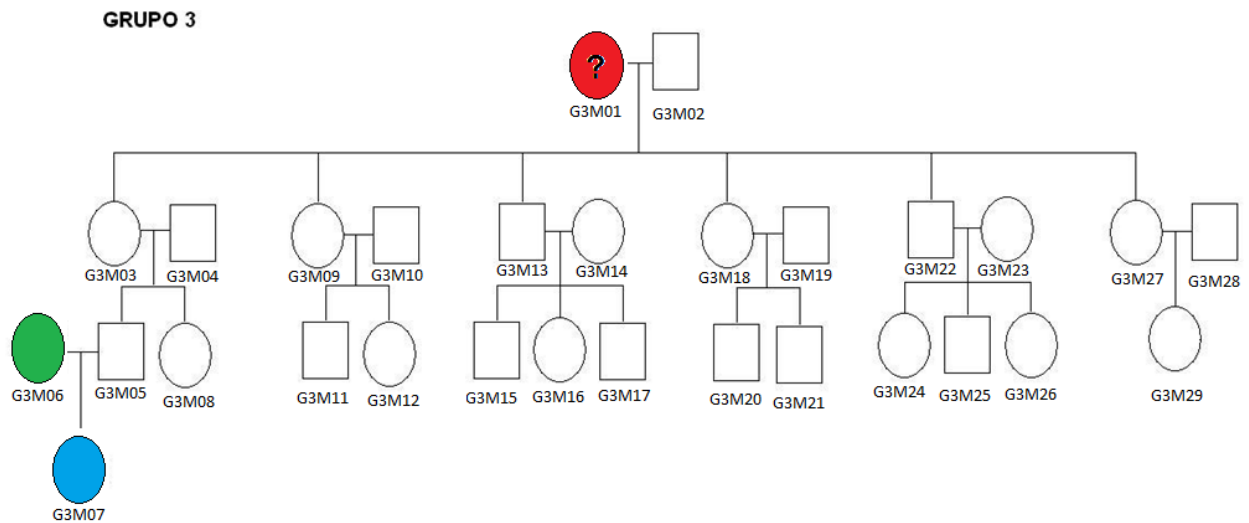
Para inferir el perfil de G3M02 a partir de G3M07 se usó a G3M06 como control (madre de G3M07), de color rosa se observan los alelos que comparten, es decir los que se probablemente se heredan de forma matrilineal y se descartaron para la inferencia.

Posteriormente se observó que no se pudo inferir el perfil del bisabuelo paterno (G3M02) a partir de la bisnieta (G3M07), ya que no comparte ningún grupo de alelos, deduciendo así que el cromosoma X heredado a la bisnieta por parte del padre y de la abuela es muy probable que sea el de la bisabuela paterna.



## Bisabuela paterna - bisnieta

Inferencia del perfil de la bisabuela paterna G3M01 a partir de la bisnieta G3M07:



GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	G3M07		G3M06		G3M01		G3M01	
		BISNIETA		MADRE DE G3M07		INFERENCIA BISABUELA PATERNA		PERFIL OBTENIDO	
		X	X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	18	27.1	18	28.1	27.1	26.1	27.1	
	DXS10135	26	15	24	24	26	22	26	
	DXS8378	10	13	10	12	13	12	13	
2	DXS7132	13	13	13	14	13	13	14	
	DXS10079	20	20	20	22	20	20	20	
	DXS10074	15	17	15	16	17	16	17	
3	DXS10103	16	18	16	16	18	16	18	
	HPRTB	13	11	13	13	11	13	11	
	DXS10101	31	28.2	31	31	28.2	31	28.2	
4	DXS10146	28	26	27	27.3	26	29	26	
	DXS10134	34	OL	34	OL	OL	37	OL	
	DXS7423	15	15	15	15	15	15	15	

Para inferir el perfil de G3M01 a partir de G3M07 se usó a G3M06 como control (madre de G3M07), de color rosa se observan los alelos que comparten, es decir los que se probablemente se heredaron de forma matrilineal y se descartaron para la inferencia.

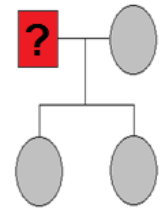
Se observó que si se pudo inferir el perfil de la bisabuela paterno (G3M02) a partir de la bisnieta (G3M07), ya que comparte los cuatro grupos de ligamiento, deduciendo así que el cromosoma X heredado a la bisnieta por parte del padre y de la abuela es de herencia matrilineal heredado a partir de la bisabuela paterna.

## 7.5. Aplicación del uso de STR's de cromosoma X en un caso forense

### Caso 1

A continuación se presenta un caso en el cuál se duda de la paternidad de una de las niñas. No se cuenta con el perfil del supuesto padre, pero si con el de la madre. Para resolver este caso se planteó las siguientes hipótesis:

- Hipótesis 1: Hermanas completas.
- Hipótesis 2: Medias hermanas



GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	MADRE		HERMANA 1		HERMANA 2	
		X	X	X	X	X	X
		1	DXS10148	18	23.1	18	26.1
	DXS10135	16	18	16	17	22.1	18
	DXS8378	12	11	12	10	11	11

2	DXS7132	15	14	15	12	15	17
	DXS10079	19	21	19	20	19	18
	DXS10074	17	12	17	18	17	16.2

3	DXS10103	18	21	18	15	19	21
	HPRTB	13	13	13	13	14	13
	DXS10101	29	30.2	29	33	30	30.2

4	DXS10146	26	26	26	26	26	46.2
	DXS10134	33	36	33	37	33	38.3
	DXS7423	15	15	15	14	15	16

En este caso se observa que comparten algunos grupos de ligamiento en común pero corresponden a la madre de ambas. Deberían de tener un perfil completo en común el cuál debería de ser al del supuesto padre biológico, lo que hace suponer que son medias hermanas.

## Caso 2

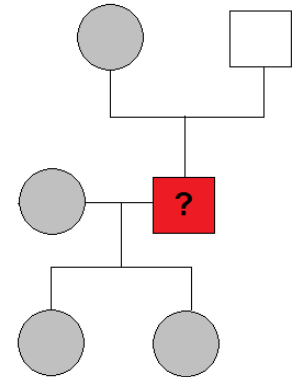
En este caso está en disputa una herencia pero la abuela paterna de dos niñas duda de la paternidad de ambas. Para esto no se cuenta con alguna muestra de ADN del supuesto padre. En este caso se plantearon las siguientes hipótesis:

¿Es el padre de las dos niñas o no?

Hipótesis 1: Padre de ambas niñas.

Hipótesis 2: No es el padre de ambas niñas.

Hipótesis 3: Es el padre de una sola niña.



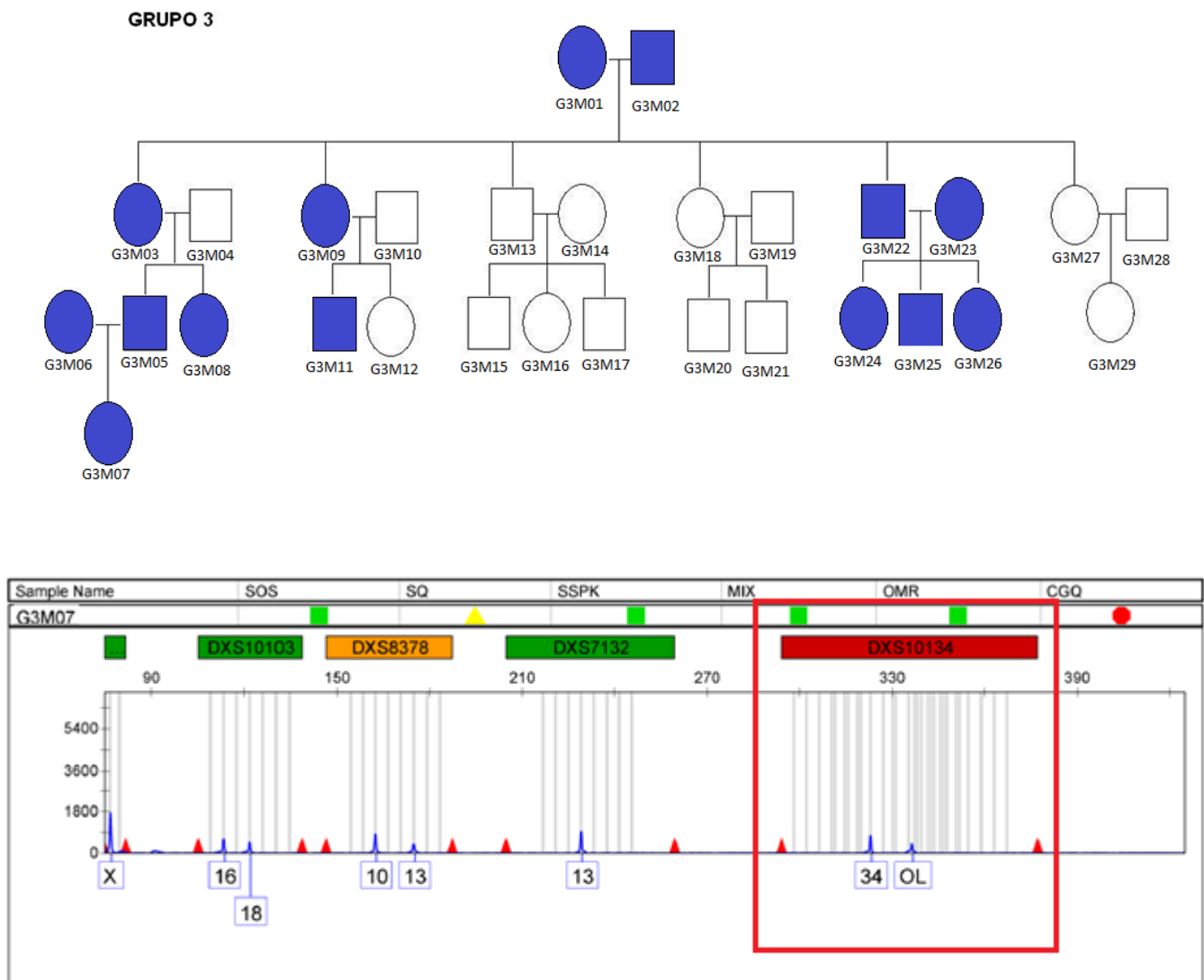
Para la resolución de este caso se utilizará el ADN de ambas niñas cuya paternidad es cuestionada, además del de la madre de éstas y la abuela paterna, ya que no se cuenta con alguna muestra de ADN del supuesto padre biológico. Con estos perfiles esperamos que se pueda resolver este caso.

GRUPO DE LIGAMIENTO	MARCADOR	MADRE		NIÑA 1		NIÑA 2		ABUELA	
		X	X	X	X	X	X	X	X
1	DXS10148	26.1	18	26.1	26.1	26.1	18	26.1	27.1
	DXS10135	20	28	20	22	22	28	22	26
	DXS8378	10	11	10	12	12	11	12	13
2	DXS7132	15	15	15	13	13	15	13	14
	DXS10079	19	20	19	20	20	20	20	20
	DXS10074	18	19	18	17	17	18	17	16
3	DXS10103	16	18	16	18	18	18	18	16
	HPRTB	13	13	13	11	11	13	11	13
	DXS10101	32	29.2	32	28.2	28.2	29.2	28.2	31
4	DXS10146	26	29	26	26	26	29	26	29
	DXS10134	OL	37	OL	37.2	37.2	OL	37	OL
	DXS7423	15	17	15	15	15	17	15	15

En este caso se puede observar los alelos que comparte la madre con las niñas (de color morado y rosa, respectivamente), en color amarillo se muestran los alelos que las niñas comparten con el supuesto padre biológico cuyo perfil no se encuentra y, por lo tanto, para establecer la paternidad se requirió de la supuesta abuela paterna comprobándose así que las niñas son las nietas legítimas.

## **“ALELO QUE NO SE ENCUENTRA EN LA ESCALERA ALÉLICA, MARCADOR DXS10134”**

Al momento de analizar los electroferogramas se observó que existían alelos OL, es decir alelos que se encuentran “fuera de la escalera alélica” del kit Argus X-12 y que además éste caso se repetía en distintos individuos. A continuación se muestra un esquema de los individuos que presentan este alelo además del electroferograma (figura 56):



**Figura 56:** Presencia del alelo OL en la muestra G3M05

Se observaron 14 muestras con el alelo “fuera de la escalera” (OL, por sus siglas en inglés) en el marcador DXS10134.

Muestra	Marcador OL DXS10134
G3M01	335.58
G3M02	336.41
G3M03	336.5
G3M05	336.33
G3M06	346.69
G3M07	336.41
G3M08	336.39
G3M09	335.83
G3M11	333.51
G3M22	334.33
G3M23	331.7
G3M24	333.45
G3M25	331.7
G3M26	330.39

rango de tamaño 330.39 – 336.41

Marcador/Alelo	Tamaño (bp)	Otros alelos.
DSX10134 6-FAM		
28	295	
29	299	
30	303	
31	307	31.1
32	311	32.1
33	315	33.1
34	319	
35	324	35.3
36	328	37.2
37	332	37.2
38	336	38.2
38.3	339	
39.3	343	39,39.2
40.3	347	40
41.3	351	41
42.3	355	
43.3	359	
44.3	363	

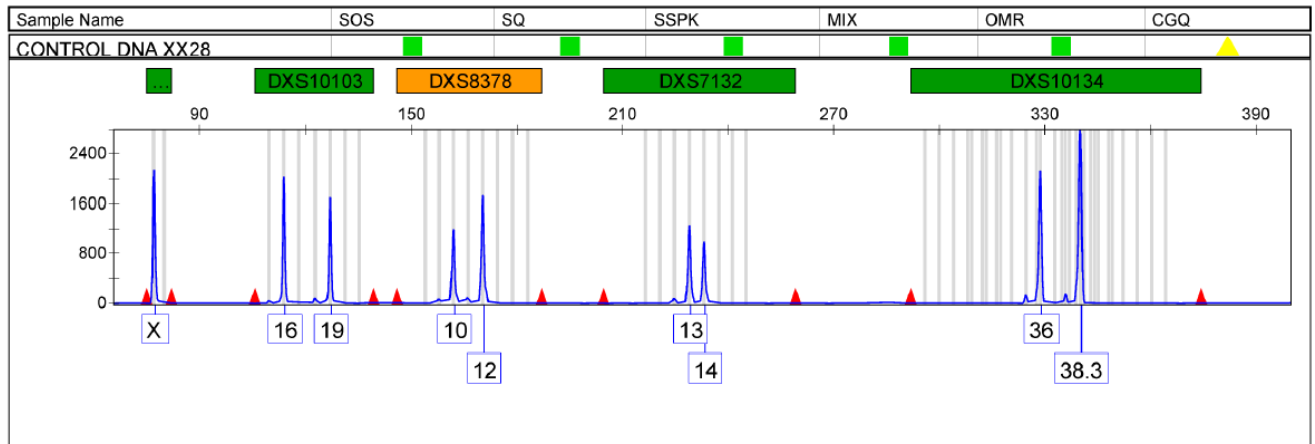
*Longitud de fragmentos de la escalera alélica de Argus X-12, analizados por el ABIS PRIS 310 (handbook Kit Argus X 12).*

## **8.DISCUSIÓN**

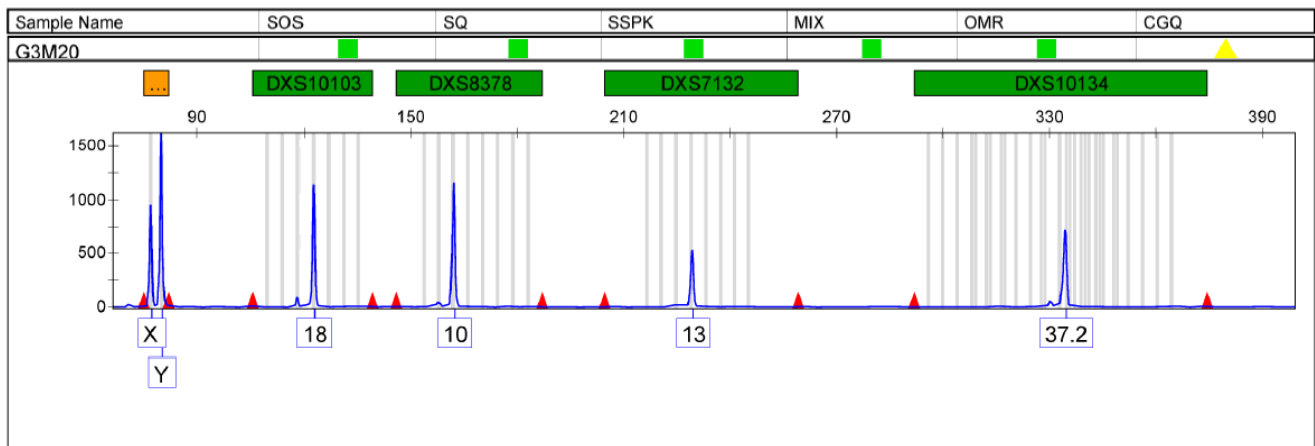


### PERFILES STR DEL CROMOSOMA X

En la figura 54, que corresponde al perfil de un individuo femenino, se observan dos juegos de alelos en cada marcador (heterocigotos u homocigotos para cada marcador) ya que las mujeres tienen un par de cromosomas X; en tanto los hombres (figura55) tienen solo un juego de alelos debido a que solo presentan un cromosoma X, su otro cromosoma es Y.



**Figura 54:** Perfil STR del cromosoma X correspondiente a un individuo femenino (ADN XX28).



**Figura 55:** Perfil STR del cromosoma X correspondiente a un individuo masculino. (G3M20).



### OBSERVACIONES EN LAS RELACIONES FILIALES

Al realizar las inferencias para estas relaciones filiales nos encontramos con distintos acontecimientos en distintos casos, como entrecruzamientos:

RELACIÓN FILIAL	ENTRECRUZAMIENTO	GRUPOS DE LIGAMIENTO EN LOS QUE HUBO ENTRECRUZAMIENTO	CASOS EN LOS QUE SE LOGRÓ UNA INFERENCIA
Abuela materna - nieto		3	
Nieto - abuela materna		2 y 3	
Abuela paterna - nieta			
Nieta - abuela paterna		1	
Abuelo materno - nieta			
Tía materna - sobrina			
Sobrina – tía materna		1 y 4	Perfil incompleto
Tía paterna – sobrino		3	Solo un grupo de ligamiento
Sobrino – tía paterna		2 y 3	Perfil incompleto
Tía paterna – sobrina		1	Solo un grupo de ligamiento
Sobrina – tía paterna	X	-	X
Tío materno – sobrina	X	-	X
Tío materno – sobrino	X	-	X
Sobrino – tío materno	X	-	X
Tío paterno – sobrina		2 y 4	Perfil incompleto
Sobrina – tío paterno		1	Perfil incompleto
Bisabuelo paterno – bisnieta	X	-	X
Bisabuela paterna – bisnieta	X	X	
Medias hermanas		1 y 3	Perfil incompleto

Como se puede observar los entrecruzamientos en los cromosomas X son muy comunes, ya que éstos pueden recombinarse entre sí comportándose de manera similar a los autosómicos, hablando en términos de su herencia (M.Farfán,). Este entrecruzamiento ocurre durante la meiosis e incluye la ruptura de un cromosoma materno y uno paterno homólogos, en este caso cromosomas X, y el intercambio de las secciones de ADN correspondientes y su unión al otro cromosoma. Ésta recombinación hace aumentar en gran medida la variación genética entre la descendencia de

progenitores que se reproducen por vía sexual (<http://www.canaricultura.es/articulos/crossing.htm>).

En los casos estudiados los grupos de ligamiento que presentan más entrecruzamientos son los grupos 1 y 3 seguido del grupo 2 y por último el 4. Para saber cuáles grupos de ligamiento presentan más entrecruzamientos hay que tomar un número de muestreo mayor a éste y escogerlos al azar.

En casos cuyo parentesco es más cercano se pudo realizar una inferencia aunque existiendo la problemática de los entrecruzamientos en los grupos de ligamiento, aunque, como pudimos observar, éstos siempre se heredan en bloque.

Para los casos en los cuáles no se pudieron resolver, la mayoría eran relaciones filiales de tío (a) - sobrino (a). Se recomienda que se utilicen parientes más cercanos como abuelos, padres e hijos.

Para estos casos corroboramos que dos personas pueden ser más o menos parecidas, sobre todo entre familiares cercanos, pero nunca son idénticos, los individuos consanguíneos llevarán dos copias del mismo alelo que son idénticos por descendencia (un ancestro en común), a través de la replicación del ADN.

La identificación positiva de relaciones de parentesco en base al análisis de marcadores genéticos depende de cuántos y qué tipos de marcadores estudiemos de las personas investigadas, es decir, cuántos loci estudiemos en ellos, hay marcadores más discriminantes que otros. Además, en cada locus hay alelos más frecuentes y alelos menos frecuentes. Si dos individuos comparten un alelo que tiene una frecuencia muy baja en la población, es más probable que sean parientes que si comparten un alelo muy frecuente. .

Cuando sólo los parientes más lejanos están disponibles para proporcionar muestras de referencia, análisis de parentesco no pueden proporcionar estimaciones fiables de las relaciones. En general, cuando se tiene a los parientes más cercanos disponibles como referencia, mejores serán las posibilidades de alcanzar el umbral de identificación. Por ejemplo, cuando tríos estándar de paternidad (madre, padre, hijo) están disponibles, los cocientes de probabilidad pueden ser suficientemente altos. Sin embargo, si sólo uno de los hermanos está disponible para proporcionar una muestra de

referencia de la familia, es poco probable que un umbral estadístico de una identificación basada en el ADN.

La capacidad de emparejar a las víctimas con sus parientes depende del grado de parentesco que tengan los parientes con la víctima. Las muestras más útiles de ADN provienen de parientes consanguíneos cercanos, como la madre, el padre, los hijos, hermanos o las hermanas biológicas de la víctima. Esto se debe a que el ADN de los parientes cercanos se asemeja más que el ADN de parientes distantes. Si se usa el ADN de los hijos de la víctima, es útil obtener el ADN de los hijos del otro padre biológico.

Es posible usar el ADN de parientes más distantes, pero esta tarea es más difícil. En algunos casos, se podrían solicitar muestras de parientes específicos. Por ejemplo, es posible solicitar muestras de ADN de un pariente por parte de la madre de la víctima, como la tía, el tío o los hermanastros o hermanastras de la víctima del lado de la familia de la madre.

Para los casos de relación filial entre tío (a) – sobrino (a), es más complicado el rastreo filial, ya que pueden heredar uno de los dos cromosomas X de la madre y existe la probabilidad que no sea el mismo cromosoma heredado a sus descendientes, por lo cual hace más complicada la transmisión de los mismos alelos.

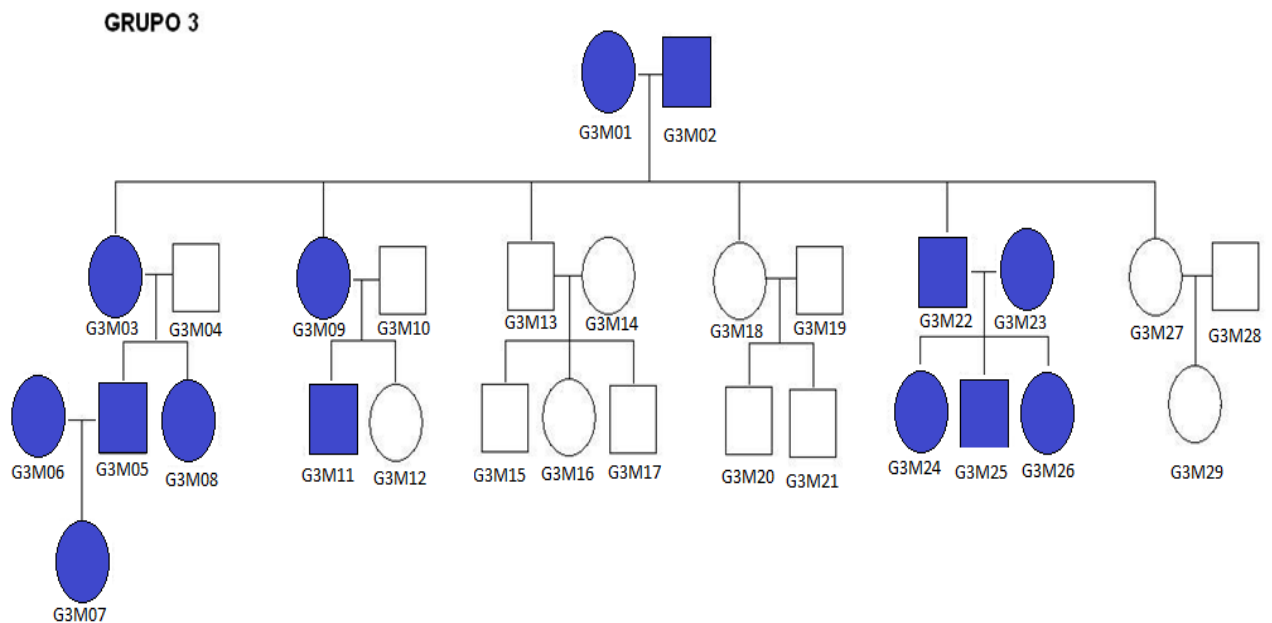
A continuación se muestra una tabla con los parientes que son más útiles a la hora de identificar a una víctima.

<b>FUENTES DE ADN.</b>	<b>EJEMPLOS.</b>	<b>GRADO DE UTILIDAD.</b>
<b>Parientes cercanos</b>	Padres biológicos de la víctima Hijos de la víctima Hermano o hermana de la víctima.	Útil
<b>Otros parientes</b>	Parientes maternos (tías, tíos, primos, hermanastras o hermanastros del lado de la madre de la víctima)	Menos útil

## **“ALELO QUE NO SE ENCUENTRA EN LA ESCALERA ALÉLICA, MARCADOR DXS10134”**

El genotipo de STR típicamente se lleva a cabo utilizando comparaciones de tamaños de la muestra con escaleras alélicas estandarizadas que poseen los alelos más comunes, que han sido secuenciados para obtener el verdadero número de repeticiones.

A partir de los electroferogramas analizados de los perfiles STR-X se precisó que existían variantes alélicas, pues éstas son asignadas como alelos “fuera de la escalera” (OL, por sus siglas en inglés) en el marcador DXS10134, cuyo esquema de los individuos que lo presentan se muestra a continuación:



Al confirmar su presencia se determinó en pares de bases, para así establecer a cual variante hacía referencia. A medida que más muestras se analizaron, corroboramos que no posee el tamaño exacto con la escalera alélica. Estos alelos fuera de la escalera, pueden ser variantes con más o menos de la repetición central que presentan los alelos comunes encontrados en las escaleras alélicas disponibles comercialmente. Alternativamente, estas variantes alélicas pueden contener repeticiones parciales o inserciones/deleciones en la región flanqueante de la repetición.

Las variantes alélicas que surgen en una población no pueden ser analizadas por el software disponible comercialmente, pues son leídos como alelos fuera del ámbito de tamaño esperado e inducen a errores de interpretación o dificultan la lectura de los resultados de las investigaciones.

El alelo OL no encontrado en la escalera alélica, nos hace suponer que es un alelo presente en la población Mexicana, al menos eso se cree, debido a la herencia que se observa y a su presencia en individuos que no están relacionados genéticamente.

## **9.CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

Los marcadores STRs de cromosoma X en la mayoría de los casos deberán ser usados como un complemento de los marcadores autosómicos, por sí solos, en algunos casos no brindan la suficiente información para resolverlos.

En este trabajo hicimos varias inferencias de distintas relaciones filiales; en el caso de las mujeres el análisis es complicado debido a que cuentan con dos cromosomas X y además hay entrecruzamiento en los grupos de ligamiento. Los hombres solo cuentan con un cromosoma X, lo que facilita la interpretación de este tipo de perfiles.

En las relaciones filiales Abuelo(a)-Nieto(a) se logra una buena inferencia, aunque existe el riesgo de entrecruzamiento, aun así, si se cuenta con los abuelos para el uso de estos marcadores es recomendable para la resolución de casos.

En parentesco tío(a)-sobrino(a) las inferencias son más complicadas, en uno que otro caso se pudo llegar a una inferencia correcta, aunque se corre el riesgo de que no se puedan resolver adecuadamente los perfiles, por lo tanto si se cuenta con parientes más cercanos sería deseable el uso de los perfiles de éstos. En el caso en el que no se cuenten con parientes más cercanos se recomienda utilizar otros sistemas para la identificación por medio de ADN como los marcadores autosómicos, STR-Y o incluso el ADN mitocondrial.

Para el marcador DXS10134 se encontró un alelo fuera de la escalera alélica, el cual podría ser representativo de la población mexicana, se tiene la sospecha debido a la herencia observada y a que también lo presentan individuos no consanguíneos dentro de la población muestreada. Sin embargo, habrá que corroborar éste hallazgo.

## 10. PERSPECTIVAS



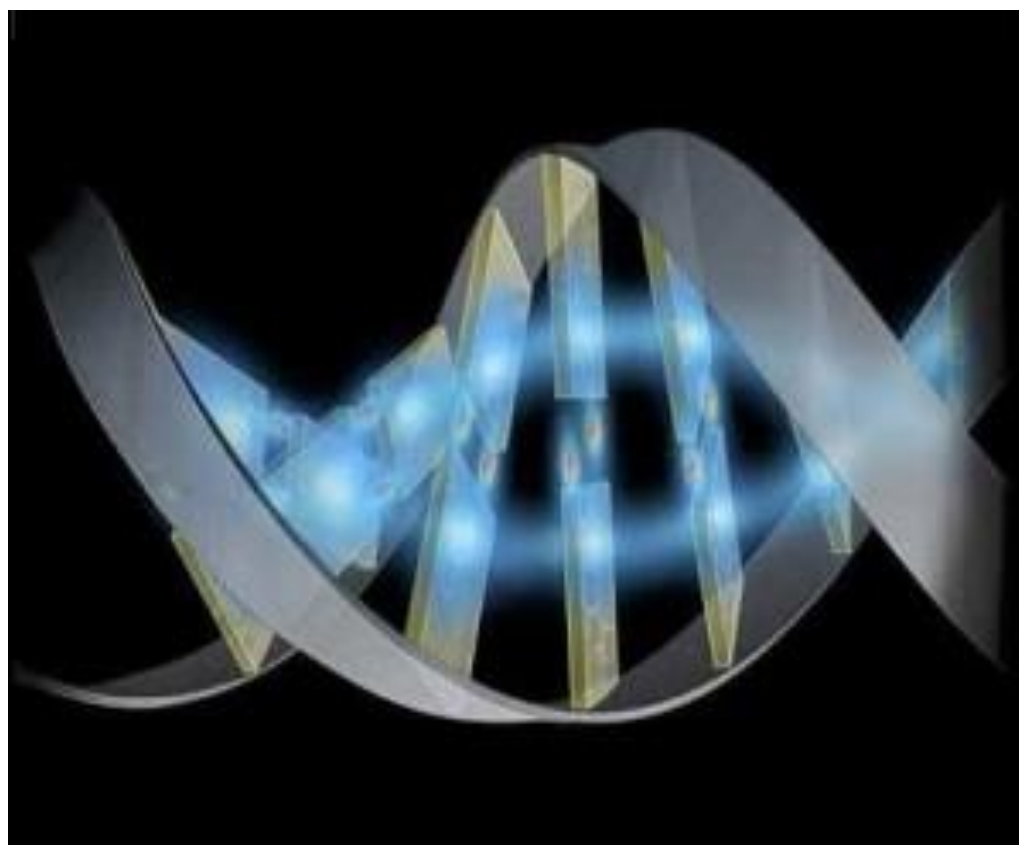


## **PERSPECTIVAS**

Este trabajo es el comienzo del estudio de los marcadores STR-X con fines de validar el kit Argus X-12 como herramienta forense en México, debido a que la población de estudio fue selectiva en base a relaciones de parentesco, se requiere realizar un muestreo más amplio en población mexicana escogida al azar para determinar la frecuencia de estos alelos.

La presencia de un probable alelo no representado en la escalera alélica del kit Argus X-12 deberá ser corroborada por medio de secuenciación automática, que permita determinar el número de repetidos en el marcador DXS10134 y establecerlo, en base a un muestreo más extenso, como representativo o no de la población mexicana.

## **11. GLOSARIO.**



**ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO. (ADN):** El portador de la información genética en las células, compuesto por dos cadenas complementarias de nucleótidos enrolladas en una doble hélice, capaz de autorreplicarse y de dirigir la síntesis de ARN.

**ADENINA. (A):** Base púrica encontrada en DNA y RNA, es una de las cuatro bases nitrogenadas que se encuentran en el ADN.

**ADN MITOCONDRIA:** es el pequeño cromosoma circular que se encuentra en la mitocondria. Las mitocondrias son orgánulos celulares donde se produce energía. Las mitocondrias, y por tanto el ADN mitocondrial, solo se heredan de la madre.

**ADN NO CODIFICANTE:** Secuencias no codificantes de ADN no codifican para aminoácidos. La mayor parte del ADN no codificante se encuentra entre los genes en el cromosoma y no tiene función conocida. Otras secuencias de ADN no codificantes, llamadas intrones, se encuentran dentro de los genes. Parte del ADN no codificante desempeña un papel en la regulación de la expresión génica.

**ADN RECOMBINANTE. (rADN):** Es una tecnología que utiliza enzimas para cortar y unir secuencias de ADN de interés. Las secuencias de ADN recombinado se pueden colocar en unos vehículos llamados vectores que transportan el ADN hacia el lugar adecuado de la célula huésped donde puede ser copiado o expresado.

**ALELOS:** [*Gr. Allelon, el uno del otro*]: dos o más formas diferentes de un gen, los alelos ocupan la misma posición (locus) en los cromosomas homólogos y se separan uno del otro en la meiosis.

**AMINOACIDO:** Monómero que al unirse covalentemente mediante el enlace peptídico forma cadenas polipeptídicas. La secuencia de los aminoácidos en las cadenas polipeptídicas está determinada por el código genético (el que no codifica para la síntesis de aminoácidos).

**ANTICUERPO:** son unas proteínas que forman parte del sistema inmune y circulan por la sangre. Cuando reconocen sustancias extrañas para el organismo, como los virus y las bacterias o sus toxinas, las neutralizan. Una vez el cuerpo se ha expuesto a una sustancia foránea concreta, también llamada antígeno, los anticuerpos producidos para atacarlo persisten en la sangre, ofreciendo protección en el caso que, en un futuro, volvamos a contactar con el mismo antígeno.

**ANTIGENO (Ag):** es un material propio o extraño, que es capaz de despertar una respuesta inmunitaria en un individuo inmunológicamente competente. Difieren en la naturaleza de moléculas reconocidas.

**AUTOSOMA:** [*Gr. Autos, propio + soma, cuerpo*]: Cualquier cromosoma que no sea un cromosoma sexual. Los seres humanos tienen 22 pares de autosomas y un par de cromosomas sexuales.

**ARN:** Abreviatura común del ácido ribonucleico, uno de los dos ácidos nucleídos, localizado esencialmente en los ribosomas del citoplasma celular.

**CARIOTIPO:** es la colección de cromosomas de un individuo. El término también se refiere a una técnica de laboratorio que produce una imagen de los cromosomas de un individuo. El cariotipo es utilizado para buscar números o estructuras anormales de los cromosomas.

**CEBADOR: (Primer):** oligonucleótido de ADN o ARN que luego de la hibridación con un ADN complementario invertido, tiene un extremo 3'-OH al cual la ADN polimerasa puede agregar nucleótidos para sintetizar una cadena nueva

**CÉLULA:** [Lat. *Cella*, cámara]: la unidad estructural de los organismos, rodeada por una membrana y compuesta por citoplasma, y en los eucariotas, uno o más núcleos. En la mayoría de las plantas, hongos y bacterias hay una pared celular por fuera de la membrana.

**CENTRÓMERO:** Región estrecha de un cromosoma que lo separa en un brazo corto (p) y un brazo largo (q). La ubicación del centrómero en el cromosoma determina si un cromosoma es telocéntrico (centrómero en extremo), acrocéntrico (centrómero cercano a extremo), submetacéntrico (centrómero cercano a posición media) ó metacéntrico (centrómero en posición media). Durante la división celular, los cromosomas se replican primero de manera que cada célula hija recibe un conjunto completo de cromosomas. A raíz de la replicación del ADN, el cromosoma queda formado por dos estructuras idénticas llamadas cromátidas hermanas, que están unidas por el centrómero.

**CENTROSOMAS:** Es una estructura celular involucrada en el proceso de división celular. Antes de la división celular, el centrosoma se duplica y entonces, cuando la división empieza, los dos centrosomas se mueven hacia los polos opuestos de la célula. Unas proteínas llamadas microtúbulos se ensamblan para formar un eje entre los dos centrosomas y ayudar a separar los cromosomas replicados en las células hijas.

**CITOCINA:** Base pirimídica que se encuentra en DNA y RNA. En secuencias de doble hebra se une mediante tres enlaces por puente de hidrógeno con G.

**CÓDIGO GENÉTICO:** son las instrucciones que le dicen a la célula cómo hacer una proteína específica. A, T, C y G, son las "letras" del código del ADN; representan los compuestos químicos adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G), respectivamente, que constituyen las bases de nucleótidos del ADN. El código para cada gen combina los cuatro compuestos químicos de diferentes maneras para formar "palabras" de tres letras las cuales especifican qué aminoácidos se necesitan en cada paso de la síntesis de una proteína.

**CODOMINANCIA:** es una relación entre dos versiones de un mismo gen. Los individuos reciben una versión de un gen, llamada alelo, de cada progenitor. Si los alelos son diferentes, normalmente se expresará el alelo dominante, mientras que el efecto del otro alelo, llamado recesivo, queda enmascarado. Pero cuando hay codominancia, entonces ningún alelo es recesivo y el fenotipo de ambos alelos es expresado.

**CODÓN:** es una secuencia de tres nucleótidos de ADN o ARN que corresponde a un aminoácido específico. El código genético describe la relación entre la secuencia de bases del ADN (A, C, G y T) en un gen y la secuencia correspondiente de la proteína que codifica. La célula lee la secuencia del gen en grupos de tres bases. Existen 64 codones diferentes: 61 son específicos de aminoácidos, mientras que los tres restantes se utilizan como señales de parada.

**CONSANGUINIDAD:** Porcentaje de información genética que comparten individuos que descienden de al menos un ancestro común

**CROMOSOMAS:** es un paquete ordenado de ADN que se encuentra en el núcleo de la célula. Los diferentes organismos tienen diferentes números de cromosomas. Los humanos tenemos 23 pares de cromosomas - 22 pares autosómicos, y un par de cromosomas sexuales, X e Y. Cada progenitor contribuye con un cromosoma de su par de autosomas y uno del par sexual, de manera que la descendencia obtenga la mitad de sus cromosomas de su madre y la mitad de su padre.

**CROMÁTIDA:** es cada una de las dos mitades idénticas de un cromosoma duplicado. Durante la división celular, en primer lugar se duplica el cromosoma para que cada una de

las células hijas reciba una dotación cromosómica completa. Después de la duplicación del ADN, el cromosoma pasa a estar compuesto por dos estructuras idénticas, llamadas cromátidas hermanas, que se unen por la zona del centrómero.

**CROMATINA:** es la sustancia que forma un cromosoma y consiste en la combinación de ADN con proteínas. El ADN lleva consigo las instrucciones genéticas de la célula. Respecto a las proteínas, la mayoría de las que componen la cromatina son las histonas, las cuales ayudan a empaquetar el ADN en una forma compacta que cabe dentro del núcleo celular. Los cambios en la estructura de la cromatina se producen cuando el ADN se duplica y durante la expresión génica.

**CROMOSOMA SEXUAL:** es un tipo de cromosoma que participa en la determinación del sexo. Los seres humanos y la mayoría de los otros mamíferos tiene dos cromosomas sexuales, el X y el Y. Las hembras tienen dos cromosomas X en sus células somáticas, mientras que los machos tienen un X y un Y. Todos los óvulos, sin embargo, contienen solo un cromosoma X, mientras que los espermatozoides pueden contener un cromosoma X o uno Y. Esta disposición significa que es el macho el que determina el sexo de la descendencia cuando se produce la fertilización.

**CROMOSOMA AUTOSÓMICO:** Es el no portador de caracteres sexuales y encargado de transmitir características morfológicas, fisiológicas, etc., de carácter hereditario.

**CROMOSOMA X:** es uno de los dos cromosomas sexuales. Los seres humanos y la mayoría de los otros mamíferos tiene dos cromosomas sexuales, el X y el Y. Las hembras tienen dos cromosomas X en sus células somáticas, mientras que los machos tienen un X y un Y.

**CROMOSOMA Y:** es uno de los dos cromosomas sexuales, los espermatozoides pueden contener un cromosoma X o uno Y. Este sistema implica que es el macho el que determina el sexo de las crías.

**DIPLOIDE (2N):** es una célula u organismo que tiene cromosomas emparejados, uno de cada progenitor, es decir el doble del de gametos. En los humanos, todas las células aparte de las sexuales son diploides y tienen 23 pares de cromosomas. Las células sexuales humanas (óvulos y espermatozoides) contienen un solo juego de cromosomas y se conocen como haploides.

**DOBLE HÉLICE:** es la descripción de la estructura de una molécula de ADN. Una molécula de ADN consiste en dos cadenas que serpentean una alrededor de la otra como una escalera de caracol. Cada cadena tiene una espina dorsal en la cual se alternan un azúcar (desoxirribosa) y un grupo fosfato. A cada azúcar se une una de las cuatro bases: adenina (A), citosina (C), guanina (G) o timina (T). Las dos cadenas se mantienen unidas por enlaces entre las bases nitrogenadas, adenina formando enlaces con la timina, y citosina con la guanina.

**DOMINANCIA:** Carácter hereditario "predominante", por el que la información genética de un solo alelo es suficiente para crear en la descendencia una manifestación genotípica.

**DOMINANTE:** se refiere a la relación entre dos versiones de un gen. Cada individuo recibe dos versiones de cada gen, conocidas como alelos, una de cada padre. Si los alelos de un gen son diferentes, el alelo que se expresa es el gen dominante. El efecto del otro alelo, denominado recesivo, queda enmascarado. De acuerdo con la teoría mendeliana, es un sujeto capaz de manifestar en primera generación a su descendencia su fenotipo, en oposición al carácter recesivo que permanece latente. Es decir que cuando un carácter prevalece en primera generación sobre otro, diremos que el que se manifiesta es dominante y el que permanece oculto es recesivo.

**ELECTROFORESIS:** es una técnica que emplean los científicos en el laboratorio utilizada para separar el ADN, el ARN, o moléculas o proteínas en base a su tamaño y carga eléctrica. Se utiliza una corriente eléctrica para mover las moléculas y que se separen a través de un gel. Los poros del gel actúan como un colador, permitiendo que las moléculas más pequeñas se muevan más rápido que las grandes. Las condiciones utilizadas durante la electroforesis se pueden ajustar para separar moléculas en el rango de tamaño que se desee.

**ENZIMA:** es un catalizador biológico. Es una proteína que acelera la velocidad de una reacción química específica en la célula. La enzima no se destruye durante la reacción y se utiliza una y otra vez. Una célula contiene miles de diferentes tipos de moléculas de enzimas específicos para cada reacción química particular.

**ENZIMA DE RESTRICCIÓN:** es una enzima aislada de una bacteria que corta la molécula de ADN en secuencias específicas. El aislamiento de estas enzimas es fundamental para el desarrollo de la tecnología de ADN recombinante (ADNr) y la ingeniería genética.

**EXÓN:** es la porción de gen que codifica aminoácidos. Las partes de la secuencia de genes que contienen la información para producir las proteínas se llaman exones, ya que se expresan, mientras que las partes de la secuencia del gen que no codifican se llaman intrones, porque están en medio o interfieren con los exones.

**EXPRESIÓN GÉNICA:** es el proceso mediante el cual la información codificada en un gen se utiliza para dirigir el montaje de una molécula de proteína. La célula lee la secuencia del gen en grupos de tres bases. Cada uno de estos grupos de tres bases (codón) corresponde a uno de los 20 aminoácidos diferentes usados para construir las proteínas.

**FACTOR LIGADO AL SEXO:** Es el que con lleva caracteres que vienen determinados por genes situados en el mismo cromosoma en el que está ubicado el gen determinante del sexo.

**FENOTIPO:** Conjunto de características y propiedades manifiestas y visibles de un sujeto. Es pues la naturaleza externa, física y biológica que constituye la apariencia de un ser.

**GEMELOS IDÉNTICOS:** son también conocidos como gemelos homocigotos o gemelos monocigotos. Son resultado de que la fertilización de un solo óvulo se escinde en dos. Los gemelos idénticos comparten todos sus genes y son siempre del mismo género. Por el contrario, los mellizos o gemelos no idénticos, dicigotos, se producen por la fertilización de dos óvulos en el mismo embarazo. Comparten la mitad de sus genes, como cualquier otro tipo de hermanos. Los mellizos pueden o no ser del mismo género.

**GEN:** Unidad hereditaria que determina cada alternativa (alelo) de un carácter o rasgo genético. Los genes se transmiten de los padres a la descendencia y contienen la información necesaria para precisar sus rasgos, están dispuestos, uno tras otro, en estructuras llamadas cromosomas. Tienen aproximadamente 23.000 genes organizados en sus cromosomas

**GENETICA:** ciencia de la herencia y las bases hereditarias de los organismos; griego, génesis, origen.

**GENOMA:** conjunto de instrucciones genéticas que se encuentran en una célula. En los seres humanos, el genoma está formado por 23 pares de cromosomas, que se encuentran en el núcleo, así como un cromosoma más pequeño que se encuentra en la mitocondria. En conjunto, la secuencia de ADN de los cromosomas contiene aproximadamente 3.100 millones de pares de bases.

**GENOMA MITOCONDRIAL:** ADN mitocondrial que comprende 16,569 pares de bases en la especie humana.

**GUANINA (G):** es una de las cuatro bases químicas del ADN, Dentro de la molécula de ADN, las bases de guanina localizadas en una hebra forman puentes químicos con la citosina de la hebra opuesta. Las instrucciones genéticas de la célula están codificadas por la secuencia compuesta por las cuatro bases.

**HAPLOIDE:** (*griego haplos: mitad*). Haploidia se refiere a una célula u organismo con un único conjunto de cromosomas. Los organismos que se reproducen asexualmente son haploides. Los organismos con reproducción sexual son diploides (con dos juegos de cromosomas, uno de cada progenitor). En los seres humanos, sólo los óvulos y los espermatozoides son haploides.

**HAPLOTIPO:** conjunto de variaciones del ADN, o polimorfismos, que tienden a ser heredados juntos. Haplotipo se puede referir a una combinación de alelos o a un conjunto de polimorfismos de nucleótido sencillo (SNPs) que se encuentran en el mismo cromosoma. Información acerca de distintos haplotipos está siendo recopilada por el Proyecto Internacional HapMap y utilizada para investigar la influencia de los genes en enfermedades.

**HEREDITARIO:** Un rasgo hereditario es aquel que está determinado genéticamente. Los rasgos heredados se transmiten de padres a hijos según las reglas de la genética mendeliana. La mayoría de los rasgos no están estrictamente determinados por los genes, sino más bien se ven influidas tanto por los genes como por el ambiente.

**HERENCIA MENDELIANA:** se refiere a los patrones de herencia que son característicos de los organismos que se reproducen sexualmente. El monje austriaco Gregor Mendel llevó a cabo a mediados del siglo XIX, miles de cruces con distintas variedades de la planta del guisante. Mendel explicó sus resultados describiendo las dos leyes de la herencia genética que introdujeron la idea de los rasgos dominantes y los recesivos.

**HETEROCIGOTO:** se refiere a haber heredado dos formas diferentes de un gen en particular, una de cada progenitor. Lo contrario es un genotipo homocigoto, donde un individuo hereda formas idénticas de un gen en concreto del padre y de la madre.

**HETEROCIGOCIDAD:** La heterocigocidad de una población es la medida de la proporción de genes que son heterocigotos con respecto al número de individuos que son heterocigotos para un gen en particular.

**HISTONA:** es una proteína que proporciona soporte estructural a un cromosoma. Para que las larguísimas moléculas de ADN quepan en el núcleo celular, se envuelven alrededor de complejos de histonas, dando al cromosoma una forma más compacta. Algunas variantes de las histonas están asociadas con la regulación de la expresión génica.

**HOMOCIGOTO:** se refiere a la composición genética de una característica específica en un organismo diploide. Cada alelo de un gen en particular se hereda de cada progenitor. Si ambos alelos para ese gen en particular son iguales, entonces el organismo es homocigoto.

**HOMOCIGOCIDAD:** La homocigocidad de una población es la proporción de genes que son heterocigotos con respecto al número de individuos que son homocigotos para un gene en particular.

**INTRÓN:** es una parte del gen que no codifica ningún aminoácido. En las células vegetales y animales, la mayoría de las secuencias que codifican para los genes están partidas por uno o más intrones.

**LIGADO AL SEXO:** Es el tipo de herencia biológica, en la que los factores se transmiten a través de genes ubicados en el cromosoma sexual (Ver Factor ligado al sexo). En los seres humanos, el término generalmente se refiere a los rasgos que se encuentran influidos por los genes en el cromosoma X. Esto se debe a que el cromosoma X es grande y contiene muchos más genes que el cromosoma Y que es más pequeño. En una enfermedad ligada al sexo, por lo general los hombres son los afectados porque tienen una sola copia del cromosoma X que porta la mutación. En las mujeres, el efecto de la mutación puede estar enmascarado por la segunda copia sana del cromosoma X.

**LIGADO AL CROMOSOMA X:** es un rasgo en el cual un gen se encuentra localizado en el cromosoma X. Los seres humanos y otros mamíferos tienen dos cromosomas sexuales, el X y el Y. En las enfermedades ligadas al cromosoma X, o sea ligadas al sexo, por lo general son los varones los que se ven afectados porque tienen una sola copia del cromosoma X que porta la mutación. En las mujeres, el efecto de la mutación puede estar enmascarado por la segunda copia sana del cromosoma X.

**LIGAMIENTO:** Tendencia de dos o más marcadores genéticos a heredarse juntos en una proporción mayor a la explicada por el principio de distribución independiente que aumenta con su proximidad al reducirse la probabilidad de ser separados durante una reparación del ADN o los procesos de replicación. Cuanto más cerca están dos genes en el cromosoma, mayor es la posibilidad de que se hereden juntos.

**LISIS:** Destrucción de una célula, normalmente por rotura de la membrana celular mediante un agente específico o un proceso físico.

**LOCUS:** (plural loci): sitio definido de un cromosoma o de una molécula de ADN donde se puede encontrar un gen u otro tipo de secuencia bien definida. Un locus de un gen puede estar ocupado por cualquiera de los alelos de ese gen.

**MARCADOR:** es una secuencia de ADN cuya localización física en el cromosoma es conocida. Los segmentos de ADN que están cercanos entre sí en un cromosoma tienden a heredarse juntos. Los marcadores se usan para trazar la herencia de un gen cercano que no ha sido todavía identificado pero cuya situación aproximada se conoce. El marcador en si mismo puede formar parte de un gen o no tener ninguna función conocida.

**MARCADOR GENÉTICO:** (de ligamiento, génicos): es un segmento de ADN con una ubicación física conocida en un cromosoma. Los marcadores genéticos pueden ayudar a vincular una enfermedad hereditaria con el gen responsable. Los marcadores genéticos pueden ser genes o (más frecuentemente) secuencias no génicas, son marcadores útiles las secuencias polimórficas, como los polimorfismos de longitudes de fragmentos de restricción (RFLP), los minisatélites y los microsátélites.

**MENDEL:** Gregor Mendel fue un monje austriaco que en el siglo XIX estableció las leyes básicas de la herencia genética mucho antes de que el término "gen" fuera acuñado. En la huerta del monasterio, Mendel llevó a cabo miles de cruces con distintas variedades de la planta del guisante. Mendel explicó sus resultados describiendo las dos leyes de la herencia genética que introdujeron la idea de los rasgos dominantes y los recesivos.



**MICROSATÉLITES:** secuencias muy cortas de bases de ADN (usualmente dinucleótidos) repetidas un número variable de veces, dispuestas en posiciones fijas en cada cromosoma, están compuestas de ADN no codificante y nos son parte de ningún gen., son heredadas en forma mendeliana, son muy útiles como marcadores porque el número de repeticiones es muy variable entre personas no emparentadas, es decir que son muy polimórficas. Se utilizan como marcadores genéticos para estudiar la herencia de los genes en las familias.

**MICROGRAMO:** millonésima parte de 1 g ( $1 \times 10^{-9}$  g) o milésima de miligramo; se representa por  $\mu\text{g}$ .

**MINISATÉLITES:** repeticiones en tándem de número variable (RTNV), secuencias cortas, 10-15 pb, repetidas una detrás de la otra, con número variable de repeticiones, que por ser polimórficas en la población humana, sirven como marcadores, aunque menos eficaces que los microsátélites.

**MITOCONDRIAS:** son los orgánulos celulares que generan la mayor parte de la energía química necesaria para activar las reacciones bioquímicas de la célula. La energía química producida por las mitocondrias se almacena en una molécula energizada llamada trifosfato de adenosina (ATP). Las mitocondrias contienen su propio cromosoma (ADN). En general, las mitocondrias, y por lo tanto el ADN mitocondrial, sólo se heredan de la madre.

**NANOGRAMO:** es una unidad de medida de masa del SI, de símbolo ng, equivalente a la milmillonésima parte de un gramo, es decir, un nanogramo corresponde a  $1/1.000.000.000$  gramo.

**NÚCLEO CELULAR:** El núcleo es un orgánulo unido a la membrana que contiene los cromosomas celulares. Los poros en la envoltura nuclear permiten el paso de moléculas dentro y fuera del núcleo.

**NUCLEOSOMA:** es la unidad básica de repetición de la cromatina eucariótica. En una célula humana, cerca de dos metros de ADN deben ser empaquetados en un núcleo con un diámetro inferior a un cabello humano. Un nucleosoma se compone de alrededor de 150 pares de bases de ADN enrolladas alrededor de un núcleo de histonas. Los nucleosomas se organizan como cuentas de un collar las cuales, a su vez, son plegadas sobre sí mismas repetidas veces para formar un cromosoma.

**NUCLEÓTIDO:** es la pieza básica de los ácidos nucleicos. El ARN y el ADN son polímeros formados por largas cadenas de nucleótidos. Un nucleótido está formado por una molécula de azúcar (ribosa en el ARN o desoxirribosa en el ADN) unido a un grupo fosfato y una base nitrogenada. Las bases utilizadas en el ADN son la adenina (A), citosina (C), guanina (G) y timina (T). En el ARN, la base uracilo (U) ocupa el lugar de la timina.

**NUCLEASA:** Enzima que hidroliza los ácidos nucleicos

**PAR DE BASES:** es un par de bases químicas que interactúan entre ellas. Podemos imaginar que la doble hélice de ADN es como una escalera de mano, donde los pasamanos son las dos hebras enrolladas entre sí. La unión entre los pares de bases corresponde al peldaño de la escalera. Cada hebra está formada por la alternancia de un azúcar (desoxirribosa) y un grupo fosfato. En cada azúcar, hay anclada una de las cuatro bases nitrogenadas: adenina (A), citosina (C), guanina (G) o timina (T). Las dos hebras se mantienen juntas gracias a los puentes de hidrógeno entre las bases complementarias, es decir, la adenina con la timina, y la citosina con la guanina.

**PARIENTE DE PRIMER GRADO:** Un familiar de primer grado es un miembro de la familia que comparte el 50 por ciento de sus genes con una persona concreta de su familia. Los familiares de primer grado son los padres, hijos y hermanos.

**PATRIMONIO GENÉTICO:** El patrimonio genético es la diversidad total de genes encontrada dentro de una población o especie. Una extensa diversidad en los genes, incluidas todas sus variaciones, aporta la capacidad de resistir los desafíos planteados por las presiones ambientales. La endogamia contribuye a una disminución de esta reserva genética lo cual hace que las poblaciones o las especies sean más propensas a extinguirse cuando se enfrentan a algún tipo de estrés.

**PEDIGRÍ (GENEALOGÍA):** Una genealogía o pedigrí es la representación genética de un árbol genealógico. Son los diagramas de la herencia de un rasgo o enfermedad, de varias generaciones. El árbol genealógico muestra las relaciones entre miembros de una familia e indica cuales son las personas que expresan un rasgo o lo mantiene en silencio por ser portadores del rasgo en cuestión.

**PICOGRAMO:** Unidad de medida equivalente a la billonésima parte de un gr. o 10<sup>-12</sup> g.

**PIRIMIDINA:** Compuesto orgánico nitrogenado formado por un anillo hexagonal que contiene cuatro átomos de carbono y dos de nitrógeno. Uno de los dos compuestos químicos que las células usan para elaborar los elementos fundamentales del ADN y el ARN. La citosina, la timina y el uracilo son ejemplos de pirimidinas. La citosina y la timina se usan para elaborar el ADN; la citosina y el uracilo se usan para elaborar el ARN.

**POLIMERASA:** enzimas que sintetizan polinucleótidos, ADN o ARN.

**POLIMERASAS TERMORESISTENTES:** polimerasa Taq. ADN polimerasa extraída de bacterias termófilas (que viven a altas temperaturas), como la Taq, que han hecho posible la Reacción en cadena de la polimerasa.

**POLIMORFISMO:** implica una de dos o más variantes de una secuencia particular de ADN. El tipo más común de polimorfismo implica la variación en un solo par de bases. Los polimorfismos también pueden ser de mucho mayor tamaño implicando largos tramos de ADN. Los llamados polimorfismos de nucleótido sencillo, o SNP (por sus siglas en inglés y pronunciado "esnip"), están siendo estudiados por los científicos para ver su correlación en el genoma humano con enfermedades, respuesta a los fármacos, y otros fenotipos.

**POLIMORFISMOS DE MONONUCLEÓTIDOS:** Los polimorfismos de nucleótido único (SNP) son un tipo de polimorfismo que produce una variación en un solo par de bases. Los científicos están estudiando cómo los polimorfismos de nucleótido único, o SNPs (pronunciado "snips"), en el genoma humano se correlacionan con enfermedades, con la respuesta de los fármacos, y con otros fenotipos.

**PROYECTO GENOMA HUMANO:** fue el proyecto internacional que mapeó y secuenció todos los genes humanos. Terminado en abril de 2003, los datos del proyecto están a libre disposición de los investigadores y otros interesados en genética y salud humana.

**PURICAS:** las base púricas están formadas por un anillo doble (Un doble heterociclo), siendo las más abundantes en la célula, la adenina y la guanina.

**REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA:** PCR, técnica muy empleada para amplificar ADN, es decir replicar una o más moléculas de ADN que sirvan de molde, en millones de

copias idénticas en un aparato termociclador, mediante la intervención de polimerasas termorresistentes y primeros de secuencia prefijada.

**RECESIVO:** se refiere a la relación entre dos versiones de un gen. Los individuos reciben una versión de un gen, llamada alelo, de cada padre. Si los alelos son diferentes, el alelo dominante se expresa, mientras que el efecto del otro alelo, denominado recesivo, queda enmascarado. En el caso de un trastorno genético recesivo, un individuo debe haber heredado las dos copias del alelo mutado para que la enfermedad esté presente.

**RFLP:** fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs) son un tipo de polimorfismo que resulta de la variación en la secuencia de ADN reconocida por las enzimas de restricción. Estas son enzimas bacterianas que utilizan los científicos para cortar moléculas de ADN en lugares conocidos. Los RFLPs (se pronuncia "rif lips") y que se utilizan como marcadores en los mapas genéticos. Por lo general, para visualizar los RFLPs se utiliza la electroforesis en gel.

**REPETICIÓN:** en tándem es una secuencia de dos o más pares de bases de ADN que se repite de tal manera que las repeticiones se encuentran uno al lado del otro en el cromosoma. Repeticiones en tándem están generalmente asociadas con el ADN no codificante. En algunos casos, el número de veces que se repite la secuencia de ADN es variable. Dicha variabilidad de repeticiones en tándem se pueden utilizar como una "huella" genética.

**REPLICACIÓN DEL ADN:** es el proceso mediante el cual se duplica una molécula de ADN. Cuando una célula se divide, en primer lugar, debe duplicar su genoma para que cada célula hija contenga un juego completo de cromosomas.

**SATELITE, ADN:** ADN formado por secuencias muy repetidas (altamente repetidas), localizado en regiones de heterocromatina constitutiva, originalmente fue llamado satélite porque se separaba como un pico satélite del pico principal del ADN nuclear en procedimientos de centrifugación isopícnica en gradientes de CLCs.

**SECUENCIACIÓN DEL ADN:** es una técnica de laboratorio utilizada para determinar la secuencia exacta de las bases (A, C, G y T) en una molécula de ADN. La secuencia de bases de ADN lleva la información que una célula necesita para ensamblar proteínas y moléculas de ARN. La información de la secuencia de ADN es importante para los científicos que investigan las funciones de los genes. La tecnología de secuenciación de ADN se hizo más rápida y menos costosa como resultado del Proyecto del Genoma Humano.

**SECUENCIAS REPETIDAS EN TÁNDEM (SRT):** copias de secuencias colocadas sin interrupción una detrás de la otra y en mismo sentido (cabeza a cola) para diferenciarlas de las repeticiones con sentido inverso.

**SONDA:** segmento de ADN o ARN de cadena simple, marcado con un isótopo radiactivo o con un compuesto capaz de ser identificado por un reactivo fluorescente, usado para que se hibride in vitro con un ADN o ARN, con el fin de identificar la localización de la secuencia complementaria de la sonda.

**SOUTHERN BLOT:** técnica utilizada para detectar una secuencia específica de ADN en una muestra de sangre o tejido. Una enzima de restricción se utiliza para cortar una muestra de ADN en fragmentos que se separan mediante electroforesis en gel. Los fragmentos de ADN son transferidos del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a una sonda de ADN marcada con un marcador radiactivo o químico. Si la sonda se une a la membrana, entonces la secuencia de la sonda está presente en la muestra.

**TECNOLOGÍA DE MICROARRAYS:** es una tecnología en desarrollo para estudiar la expresión de muchos genes a la vez. Consiste en colocar miles de secuencias génicas en lugares determinados sobre un portaobjetos de vidrio llamado chip. Una muestra que contiene ADN o ARN se pone en contacto con el chip. El apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y las secuencias de genes en el chip produce una cantidad de luz que se puede medir. Las áreas del chip que producen luz identifican los genes que se expresan en esa muestra.

**TELÓMERO:** es el final de un cromosoma. Los telómeros son secuencias repetitivas de ADN no codificante del cromosoma que protegen de cualquier daño. Cada vez que una célula se divide, los telómeros se acortan. Con el tiempo, los telómeros se vuelven tan cortos que la célula ya no puede dividirse.

**TERMOCICLADOR:** aparatos que permiten programar y condicionar temperaturas constantes y cambios cíclicos de esas temperaturas para efectuar la reacción en cadena de la polimerasa.

**TIMINA (T):** es una de las cuatro bases químicas del ADN, los otros tres son adenina (A), citosina (C) y guanina (G). Dentro de la molécula de ADN, las bases de timina se encuentran en una línea que forma enlaces químicos con las bases de adenina en la cadena opuesta. La secuencia de cuatro bases del ADN codifica las instrucciones genéticas de la célula.

**TRADUCCIÓN:** proceso de traducir la secuencia de una molécula de ARN mensajero (ARNm) a una secuencia de aminoácidos durante síntesis de proteínas. El código genético se describe la relación entre la secuencia de pares de bases en un gen y la secuencia correspondiente de aminoácidos que codifica. En el citoplasma de la célula, el ribosoma lee la secuencia del mRNA en grupos de tres bases para ensamblar la proteína.

**TRANSCRIPCIÓN:** es el proceso por el cual se genera una copia de RNA a partir la secuencia de un gene. Esta copia, llamada una molécula de ARN mensajero (ARNm), deja el núcleo de la célula y entra en el citoplasma, donde dirige la síntesis de la proteína, que codifica.

**URACILO (U):** es una de las cuatro bases químicas que forman parte del ARN. Las otras tres bases son la adenina (A), citosina (C) y guanina (G). En el ADN, la base timina (T) se encuentra en lugar del uracilo.

**WESTERN BLOT:** técnica utilizada para detectar una proteína específica en una muestra de sangre o tejido. El método implica el uso de electroforesis en gel para separar las proteínas de la muestra. Las proteínas separadas se transfieren del gel a la superficie de una membrana. La membrana se expone a un anticuerpo específico contra la proteína en estudio. La unión del anticuerpo se detecta usando un marcador radiactivo o químico.

## **12. ANEXOS**



**UACM**Universidad Autónoma  
de la Ciudad de México*Nada humano me es ajeno*

## 12.1. Carta de consentimiento

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE GENÉTICA POBLACIONAL**

El propósito de esta ficha de consentimiento es proporcionar a los participantes en esta investigación una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como su rol en ella como participantes.

#### **PERFILES GENÉTICOS DEL CROMOSOMA X**

La presente investigación es conducida por la Dra. Mavil López Casamichana, de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México. La meta de este estudio es obtener perfiles genéticos del cromosoma X a partir de muestras de saliva.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.

Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que esto lo perjudique en ninguna forma.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

#### **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.**

En el núcleo de las células se encuentran los cromosomas que empaquetan una molécula llamada ADN, la cual almacena información genética. Esta molécula tiene una serie de fragmentos presentes en todos los individuos, los cuales poseen la característica de ser altamente variables o polimórficos entre los mismos. El análisis de un determinado número de estas secuencias o fragmentos de ADN permite identificar a un individuo con una probabilidad muy cercana al 100%. Debido al alto índice de fallecidos no identificados que año con año hay, se han implementado

marcadores genéticos para la identificación de los mismos. En esta investigación se implementarán marcadores del cromosoma X.

### **OBJETIVO DEL ESTUDIO.**

Obtención de perfiles genéticos usando marcadores del cromosoma X.

### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

Su ADN se solicita para el uso de marcadores del cromosoma X. Éste es el único propósito con el que su ADN se utilizará. Usted tiene el derecho a negarse a que su ADN sea analizado.

### **INVESTIGACIÓN ACERCA DE SU PARTICIPACIÓN**

Si decide participar, su ADN será colectado frotando un citocepillo nuevo y estéril en la cara interna de sus mejillas y se analizará para fines de investigación.

### **RIESGOS**

El material empleado para la toma de muestra de saliva (citocepillo) está totalmente limpio, es decir, estéril y servirá exclusivamente para una sola toma de muestra de saliva.

El ADN será analizado para el propósito de investigación ya mencionado. No es para el diagnóstico de ningún desorden genético conocido.

### **ACLARACIONES**

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, en el entendido que en todo momento se salvaguardará mi identidad y se mantendrá la confidencialidad de los datos vertidos en esta ficha. Convengo en participar voluntariamente en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
**Firma del participante o del padre o tutor**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**

**Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he informado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

\_\_\_\_\_  
**Firma del investigador**

\_\_\_\_\_  
**Fecha**



## Ficha de identificación

**UACM**Universidad Autónoma  
de la Ciudad de México*Nada humano me es ajeno***FICHA DE IDENTIFICACIÓN PARA PARTICIPANTES EN EL  
ESTUDIO DE GENÉTICA POBLACIONAL**

NOMBRE: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_

SEXO: FEMENINO: MASCULINO: 

LUGAR DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_

LUGAR DE NACIMIENTO DE:

PADRE: \_\_\_\_\_

MADRE: \_\_\_\_\_

LUGAR DE NACIMIENTO DE:

ABUELA MATERNA: \_\_\_\_\_

ABUELO MATERNO: \_\_\_\_\_

ABUELA PATERNA: \_\_\_\_\_

ABUELO PATERNO: \_\_\_\_\_

Le han transfundido o ha recibido sangre en los últimos tres meses NO  SI Le han realizado algún trasplante de órgano NO  SI 

Está usted de acuerdo en ser muestreado nuevamente en caso de ser necesario:

 NO SI

MEDIO DE CONTACTO: \_\_\_\_\_

FECHA EN QUE SE RECOLECTÓ LA MUESTRA BIOLÓGICA: \_\_\_\_\_

ACEPTO DAR DE MANERA VOLUNTARIA UNA MUESTRA DE SALIVA QUE SERÁ RECABADA CON MATERIAL  
ESTÉRIL DE UN SOLO USO Y UTILIZADA EXCLUSIVAMENTE PARA LA INVESTIGACIÓN ANTES MENCIONADA.

\_\_\_\_\_

FIRMA

**UACM**Universidad Autónoma  
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

**FORMATO DE CONSENTIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRA  
BIOLÓGICA****MENOR DE EDAD**

NOMBRE: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_

SEXO: FEMENINO: MASCULINO: 

LUGAR DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_

LUGAR DE NACIMIENTO DE:

PADRE: \_\_\_\_\_

MADRE: \_\_\_\_\_

LUGAR DE NACIMIENTO DE:

ABUELOS MATERNOS: \_\_\_\_\_

ABUELOS PATERNOS: \_\_\_\_\_

ABUELOS MATERNOS: \_\_\_\_\_

ABUELOS PATERNOS: \_\_\_\_\_

Le han transfundido o ha recibido sangre en los últimos tres meses NO  SI Le han realizado algún trasplante de órgano NO  SI 

FECHA EN QUE SE RECOLECTÓ LA MUESTRA BIOLÓGICA: \_\_\_\_\_

YO \_\_\_\_\_ COMO PADRE O TUTOR DEL  
 MENOR \_\_\_\_\_ AUTORIZO LA TOMA DE MUESTRA DE  
 SALIVA QUE SERÁ RECABADA CON MATERIAL ESTÉRIL DE UN SOLO USO Y UTILIZADA EXCLUSIVAMENTE PARA  
 LA INVESTIGACIÓN ANTES MENCIONADA.

Está usted de acuerdo en que el menor sea muestreado nuevamente en caso de ser necesario:

 NO SI

MEDIO DE CONTACTO: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
FIRMA

## The PowerPlex® 21 System Locus-Specific Information.

STR Locus	Label	Chromosomal Location <sup>1</sup>	Repeat Sequence <sup>2</sup> 5'→3'
Amelogenin <sup>3</sup>	Fluorescein	Xp22.1-22.3 and Y	NA
D3S1358	Fluorescein	3p21.31 (45.557Mb)	TCTA Complex
D1S1656	Fluorescein	1q42 (228.972Mb)	TAGA Complex
D6S1043	Fluorescein	6q15 (92.449Mb)	AGAT
D13S317	Fluorescein	13q31.1 (81.62Mb)	TATC
Penta E	Fluorescein	15q26.2 (95.175Mb)	AAAGA
D16S539	JOE	16q24.1 (84.944Mb)	GATA
D18S51	JOE	18q21.33 (59.1Mb)	AGAA (19)
D2S1338	JOE	2q35 (218.705Mb)	TGCC/TTCC
CSF1PO	JOE	5q33.1 (149.436Mb)	AGAT
Penta D	JOE	21q22.3 (43.88Mb)	AAAGA
TH01	TMR-ET	11p15.5 (2.149Mb)	AATG (19)
vWA	TMR-ET	12p12 (5.963Mb)	TCTA Complex (19)
D21S11	TMR-ET	21q21.1 (19.476Mb)	TCTA Complex (19)
D7S820	TMR-ET	7q21.11 (83.433Mb)	GATA
D5S818	TMR-ET	5q23.2 (123.139Mb)	AGAT
TPOX	TMR-ET	2p25.3 (1.472Mb)	AATG
D8S1179	CXR-ET	8q24.13 (125.976Mb)	TCTA Complex (19)
D12S391	CXR-ET	12q (12.341Mb)	AGAT/AGAC Complex
D19S433	CXR-ET	19q12 (35.109Mb)	AAGG Complex
FGA	CXR-ET	4q28 (155.866Mb)	TTTC Complex (19)

**Tabla 2:** Principales marcadores autosómicos utilizados en los Laboratorios de Genética Forense

(<http://www.promega.com/search-results/?q=PowerPlex+21>)

Nombre comercial del kit	Loci STR que incluye cada multiplex	Poder de discriminación
<b>Applied Biosystems</b>		
<b>AmpFISTR® Blue</b>	D3S1358, vWA, FGA	$1.0 \times 10^{-3}$
<b>AmpFISTR® Green I</b>	Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO	$7.8 \times 10^{-4}$
<b>AmpFISTR® COfiler</b>	D3S1358, D16S539, Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO, D7S820	$2.0 \times 10^{-7}$
<b>AmpFISTR® Profiler Plus (Pro)</b>	D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Amelogenina	$2.4 \times 10^{-11}$
<b>AmpFISTR® Profiler Plus ID</b>	D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Amelogenina	$2.4 \times 10^{-11}$
<b>AmpFISTR® Profiler</b>	D3S1358, vWA, FGA, Amelogenina, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D7S820	$9.0 \times 10^{-11}$
<b>AmpFISTR® SGM Plus</b>	D3S1358, vWA, D16S539, D2S1338, Amelogenina, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA	$4.5 \times 10^{-13}$
<b>AmpFISTR® Sefiler (SE)</b>	FGA, TH01, vWA, D3S1358, D16S539, D2S1338, D8S1179, D19S433, D21S11, D18S51, SE 33, Amelogenina	$5.1 \times 10^{-15}$
<b>AmpFISTR® Identifiler</b>	D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA, Amelogenina	$7.2 \times 10^{-19}$
<b>Promega Corporation</b>		
<b>PowerPlex® 1.1, 1.2</b>	D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, vWA, TH01, TPOX, CSF1PO	$7.4 \times 10^{-10}$
<b>PowerPlex® 2.1 (para usuarios de Hitachi FMBIO)</b>	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, VWA, D8S1179, TPOX, FGA, Penta E	$3.4 \times 10^{-11}$
<b>PowerPlex® ES</b>	FGA, TH01, vWA, D3S1358, D8S1179, D18S51, D21S11, SE33, Amelogenina	$1.3 \times 10^{-10}$
<b>PowerPlex® 16 System</b>	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX FGA, Amelogenina	$1.2 \times 10^{-18}$
<b>PowerPlex® 16 BIO (para usuarios de Hitachi FMBIO)</b>	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D, vWA, D8S1179, TPOX FGA, Amelogenina	$1.2 \times 10^{-18}$

**Tabla 3:** Algunos Kits comerciales utilizados por los laboratorios forenses para la amplificación de marcadores autosómicos. (Butler y cols, 2003).

Año	Marcador	Ref
1992	DYS19*	Redd AJ 2002
1994	YCAIa/b, YCAII/b, YCAII a/b(DYS413), DXYS156	Mathias et al 1994
1996	DYS389I/II*, DYS390*, DYS391*, DYS392*, DYS393*	Roewer et al 1996
1996	DYF371, DYS425, DYS426	Jobling et al 1996
1997	DYS288, DYS388	Karafet et al 1999
1998	DYS385 a/b	Schneider et al 1998
1999	A7.1 (DYS460), A7.2 (DYS4629, A10, C4, H4)	Walsh et al 1991
2000	DYS434, DYS435, DYS436, DYS437*, DYS438*, DYS439*	Ayub et al 2000
2001	DYS441, DYS442	Lida R et al 2001
2002	DYS443, DYS444, DYS445	Lida R et al 2002
2002	DYS462	Bosch et al 2002
2002	DYS446, DYS447, DYS448*, DYS449, DYS450, DYS452, DYS453, DYS454, DYS455, DYS456*, DYS458*, DYS459a/b, DYS463, DYS464 a/b/c/d	Redd et al 2002
2002	DYS468-DYS596 (129 nuevos Y-STR)	GBD*
2003	DYS597-DYS645 (50 nuevos Y-STR)	GBD*
2004 y 2005	150 nuevos Y-STR caracterizados	Cstl.nist.gov
2006	Determinación de las frecuencias de 27 Y-STR descritos entre 2002-2004 para Caucasicos, Afroamericanos e Hispanos	Butler et al 2006

**Tabla 4.** : Relación de marcadores Y-STR descubiertos en las últimas décadas (L. Díaz, 2010).

<b>Ventajas Forenses de los STR-Y</b>	<b>Desventajas de los STR-Y</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Simplicidad técnica debido a perfil con sólo un alelo; puede potencialmente, recuperar resultados con bajas cantidades de ADN del sospechoso porque no hay preocupación de pérdida de alelos heterocigotos por medio de efecto estocástico en el proceso de amplificación.</li> <li>✓ El número de varones contribuyentes puede ser determinado.</li> <li>✓ Aceptación de reportes estadísticos utilizando el método de conteo debido a experiencia previa con ADN mitocondrial.</li> <li>✓ Ayuda en casos de mezclas ya sea hombre-hombre o mujer-hombre.</li> <li>✓ Situaciones de violaciones tumultuarias para incluir ó excluir contribuidores potenciales</li> <li>✓ Extiende el tiempo después del asalto para recuperar el perfil de ADN del sospechoso (más de 48 horas)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Loci no son independientes el uno del otro y por lo tanto probabilidades de apareamiento al azar raras no pueden ser generadas con la ley del producto; se tienen que usar haplotipos (combinación de alelos observados en todos los 'loci' analizados).</li> <li>✓ Linajes paternos poseen el mismo haplotipo de Y-STR y por lo tanto padres, hijos, hermanos, tíos y primos paternos no pueden ser distinguidos el uno del otro.</li> <li>✓ No es tan informativo como los resultados obtenidos con STR autosómicos ya que todos los individuos que compartan la misma línea paterna tendrán el mismo haplotipo de cromosoma Y.</li> </ul>

**Tabla 5:** Ventajas y desventajas en el uso de STRs del cromosoma Y.

COMPañÍA/NOMBRE COMERCIAL DEL KIT	MARCADORES DEL CROMOSOMA Y AMPLIFICADOS
➤ <b>ReliaGene Technologies (New Orleans, LA)</b>	
✓ Y-PLEX™ 6:	DYS19, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS393, DYS385 a/b
✓ Y-PLEX™ 5:	DYS389I/II, DYS392, DYS438, DYS439
✓ Y-PLEX™ 12:	DYS19, DYS385 a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438, DYS439, amelogenina
➤ <b>Promega Corporation (Madison, WI)</b>	
✓ PowerPlex® Y:	DYS19, DYS385 a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438, DYS439, DYS437
➤ <b>Applied Biosystems (Foster City, CA)</b>	
✓ Yfiler™:	DYS19, DYS385 a/b, DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438, DYS439, DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 (Y-GATA-C4), Y-GATA-H4
➤ <b>Serac (Bad Homburg, Germany)</b>	
✓ genRES® DYSplex-1:	DYS389I/II, DYS390, DYS391, DYS385 a/b, amelogenina
✓ genRES® DYSplex-2:	DYS19, DYS389I/II, DYS392, DYS393

**Tabla 6:** Kits comerciales para el análisis de STRs del cromosoma Y.

<b>VENTAJAS DEL USO DE ADN MITOCONDRIAL</b>	<b>DESVENTAJAS DEL USO DE ADN MITOCONDRIAL</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Se estima que hay de 10-100 mitocondrias por célula y de 10-100 copias de ADNmt por mitocondria, lo que supone de 100-10,000 copias de ADNmt por célula.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ El poder de discriminación del ADNmt es mucho menor que el que se obtiene con ADN nuclear (2 individuos seleccionados al azar de la población blanca de EU serían compatibles 1:~270).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Debido al alto número de copias, el ADN mitocondrial puede ser la única fuente de ADN disponible en especímenes altamente degradados o muestras de poca calidad como las hebras de cabello</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Es necesario considerar el origen étnico porque hay grandes diferencias entre dichos grupos. Esto parece ser debido a que el tiempo que tuvieron las poblaciones para crear mutaciones.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Muy útil en casos forenses que contienen ADN relativamente antiguo y/o degradado, cuando las referencias apropiadas para ADN nuclear no pueden ser obtenidas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Familiares tienen haplotipos indistinguibles a menos que hayan ocurrido mutaciones.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ La transmisión por vía materna favorece y complementa la realización de estudios de identificación aun en circunstancias en que los miembros de alguna generación faltan o no se dispone del padre; todas las mitocondrias de todos los tipos celulares poseen el mismo ADN mitocondrial</li> </ul>	

**Tabla 7:** Ventajas y desventajas del ADNmt, en comparación con el ADN autosómico.



Localización	Marcador	Grupo de ligamiento	Localización física	Localización Genética	Rutgers Map v.2
			[Mb]	[cM Kosambi]	[cM Kosambi]
			NCBI 36	deCODE	
	<u>DXS9900</u>		1.307		0.31
p 22.33	<u>DXS6807</u>		4.753	4.39	14.76
p 22.32	<u>DXS9895</u>		7.387	14.40	17.09
p 22.31	<u>DXS9906</u>		7.391		17.10
p 22.31	<u>DXS10148</u>	X1	9.198		19.84
p 22.31	<u>DXS10135</u>	X1	9.199		20.03
p 22.31	<u>DXS8378</u>	X1	9.330		20.21
p 22.2	<u>DXS9902</u>		15.234	29.55	32.32
p 22.11	<u>DXS6795</u>		23.254		44.24
p 21.1	<u>DXS9907</u>		32.010		55.32
p 11.3	<u>DXS6810</u>		42.804	66.88	75.12
p 11.23	<u>GATA144D04</u>		44.898	69.87	78.96
p 11.23	<u>DXS10076</u>		48.194		85.04
p 11.23	<u>DXS10077</u>		48.202		86.06
p 11.23	<u>DXS10078</u>		48.207		85.07
p 11.21	<u>DXS10161</u>		55.999		89.67
p 11.21	<u>DXS10160</u>		56.506		89.86
centrómero	<u>DXS10159</u>		56.766		90.01
centrómero	<u>DXS10162</u>		61.800		90.65
centrómero	<u>DXS10163</u>		62.000		90.66
centrómero	<u>DXS10164</u>		62.161		90.66
centrómero	<u>DXS10165</u>		63.994		90.73
centrómero	<u>DXS7132</u>	X2	64.572	80.01	90.75
q 12	<u>DXS10079</u>	X2	66.632		90.82
q 12	<u>HumARA</u>		66.682		90.81
q 12	<u>DXS10074</u>	X2	66.894		90.83
q 12	<u>DXS10075</u>	X2	66.915		90.83
q 13.1	<u>DXS981 (STRX1)</u>		68.114		92.81
q 13.3	<u>DXS6800</u>		78.567	86.84	97.49

Localización	Marcador	Grupo de ligamiento	Localización física	Localización Genética	Rutgers Map v.2
			[Mb]	[cM Kosambi]	[cM Kosambi]
			NCBI 36	deCODE	
q 21.2	<a href="#">DXS6803</a>		86.318	88.27	99.40
q 21.31	<a href="#">DXS9898</a>		87.682		101.29
q 21.32	<a href="#">DXS9905</a>		88.749		103.39
q 21.32	<a href="#">DXS6801</a>		92.378		106.08
q 21.33	<a href="#">DXS6809</a>		94.825		108.12
q 21.33	<a href="#">DXS6789</a>		95.336	96.95	108.47
q 21.33	<a href="#">DXS6799</a>		95.336		110.71
q 22.1	<a href="#">DXS7424</a>		100.505		115.25
q 22.1	<a href="#">DXS101</a>		101.300		116.15
q 22.3	<a href="#">DXS6797</a>		107.368	104.57	117.74
q 22.3	<a href="#">DXS7133</a>		108.928		118.18
q 23	<a href="#">DXS6804</a>		111.999	109.48	122.32
q 23	<a href="#">GATA172D05</a>		113.061	110.42	124.36
q 24	<a href="#">DXS7130</a>		118.084		130.28
q 25	<a href="#">GATA165B12</a>		120.706		136.18
q 26.2	<a href="#">DXS10103</a>	X3	133.246		149.37
q 26.2	<a href="#">HPRTB</a>	X3	133.443		149.66
q 26.3	<a href="#">DXS10101</a>	X3	133.482		149.75
q 27.1	<a href="#">GATA31E08</a>		140.062		160.54
q 27.3	<a href="#">DXS9908</a> <a href="#">(DXS7127)</a>		142.769	156.55	169.87
q 28	<a href="#">DXS8377</a>	X4	149.310		183.66
q 28	<a href="#">DXS10146</a>	X4	149.335		183.72
q 28	<a href="#">DXS10134</a>	X4	149.401		183.96
q 28	<a href="#">DXS10147</a>	X4	149.410		184.01
q 28	<a href="#">DXS7423</a>	X4	149.460		184.19
q 28	<a href="#">DXS10011</a>		150.939		188.70

**Tabla 8:** Marcadores del cromosoma X y su localización (<http://www.chrx-str.org/>)

<b>Ventajas del uso de STRs del cromosoma X</b>	<b>Desventajas del uso de STRs del cromosoma X</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Herramienta más poderosa que los STRs autosómicos para la investigación de paternidad de una hija, de la maternidad de un hijo o de una hija y de parentesco de relaciones más lejanas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Análisis complicado en el caso de mujeres ya que cuentan con dos cromosomas X</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Resolución en casos donde no existen parientes directamente relacionados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Menos útil en el caso de relaciones filiales de tío (a)-sobrino (a)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Útil en casos de desastres masivos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Entrecruzamientos en grupos de ligamiento</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Estudio más sencillo en comparación de los autosómicos ya que en los varones se presenta un solo cromosoma X, por lo que lo transmiten intacto a las hijas.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Útil para establecer la relación de maternidad de un hijo o una hija solamente con base en el análisis de la presunta abuela paterna, en el caso de un presunto padre ausente.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Muy útil en casos forenses donde se cuente con ADN degradado, debido a que solo se necesita de un solo cromosoma y no de un juego completo como en el caso de STRs autosómicos.</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Útil en casos de mezclas de muestras, como en los delitos sexuales, ya que la muestra femenina proporcionará dos alelos y la muestra masculina solo uno.</li> </ul>	

**Tabla 9:** Ventajas y desventajas en la utilización de STRs del cromosoma X

Locus	GenBank® accession number	Repeat motif of the reference allele	Reference allele	Allele range
Amelogenin X	M55418			
Amelogenin Y	M55419			
DXS7132	G08111	[TCTA] <sub>13</sub>	13	8-20
DXS7423	AC109994	[TCCA] <sub>2</sub> TCTGTCCT	15	8-19
DXS8378	G08098	[TCCA] <sub>12</sub>	12	7-15
DXS10074	AL356358	[CTAT] <sub>12</sub>	14	4-21
DXS10079	AL049564	[AAGA] <sub>14</sub>	21	14-25
		[AGAG] <sub>3</sub>		
		TGAAAGAG		
		[AGAA] <sub>17</sub> AGAG		
		[AGAA] <sub>3</sub>		
DXS10101	AC004383	[AAAG] <sub>3</sub>	28.2	24-38
		GAAAGAAG		
		[GAAA] <sub>3</sub> A [GAAA] <sub>4</sub>		
		AAGA [AAAG] <sub>3</sub>		
		AAAAAGAA		
		[AAAG] <sub>13</sub> AA		
DXS10103	BV680555	[TAGA] <sub>2</sub> CTGA	19	15-21
		[CAGA][TAGA] <sub>11</sub> [CAGA] <sub>4</sub> [TAGA]		
DXS10134	AL034384	[GAAA] <sub>2</sub> GAGA	35	28-46.1
		[GAAA] <sub>4</sub> AA [GAAA]		
		GAGA [GAAA] <sub>4</sub>		
		GAGA [GACAGA] <sub>3</sub>		
		[GAAA] GTAA		
		[GAAA] <sub>3</sub> AAA		
		[GAAA] <sub>4</sub> AAA		
		[GAAA] <sub>13</sub>		
DXS10135	AC003684	[AAGA] <sub>2</sub> GAAAG	23	13-39.2
		[GAAA] <sub>20</sub>		
DXS10146	AL034384	[TTCC] <sub>2</sub> T [TTCC] <sub>3</sub>	26	24-46.2
		TTTCTCCCTTCC		
		[TTCC] [TCCC]		
		TTCTTCTTTC		
		[TTCC] <sub>2</sub> TTTCTT		
		[CTTT] <sub>2</sub> CTTC		
		[CTTT] <sub>10</sub> T [CTTT] <sub>2</sub>		
DXS10148	AC003684	[GGAA] <sub>4</sub> [AAGA] <sub>12</sub> [AAG] <sub>4</sub> N <sub>6</sub> [AAGG] <sub>2</sub>	22	13.3-38.1
HPRTB*	M26434	[AGAT] <sub>12</sub>	12	6-19

**Tabla 10:** Información de los locus empleados en el kit Investigator Argus X-12® de la compañía QIAGEN®

## 12.2. Soluciones

- ✓ Solución TAE 50 X (1 Litro):
  - 242g de TRIS base (40 mM).
  - 57.1 mL de ácido acético glacial.
  - 37.2g de Na<sub>2</sub> EDTA-2H<sub>2</sub>O (2mM).
  - H<sub>2</sub>O para 1 Litro.
  - pH 8.5.
  
- ✓ Solución TAE 1X (500 ml):
  - 10 mL solución 50 X aforar a 500 ml con agua desionizada.

## **13. BIBLIOGRAFÍA**



1. Adolf Faller, Michael y Gabriele Schûnke. Estructura y función del cuerpo humano. Editorial Paidotribo, España 2006.
2. Ana Lilia Cabrera Ávila, Identificación de Restos Humanos por ADN. T e s i n a, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM., México, D. F. Diciembre 2005
3. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., de Bruijn M.H.L., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.H.J., Staden R., Young I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290: 457-465.
4. Belén Fernández Maroto, Observando mi propio ADN IES Jesús del gran poder, Dos Hermanas, Sevilla. Junio, 2009.
5. Berta Marco Stiefel, Ma Teresa Ibàñez Orcajo. Fronteras de la ciencia. Ediciones Narcea. España, 2007.
6. Berkelman T., Stenstedt T. 2-D Electrophoresis using immobilized pH gradients. Principles & methods. Amersham Pharmacia Biotech Inc. 1998.
7. Bruce Budowle. Angela van Daal. Forensically relevant SNP classes. 2008 .*BioTechniques* 44:603-610 (25 Anniversary Issue, April 2008)doi 10.2144/000112806.
8. Carlos Alberto Arbeláez García, Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medicina y laboratorio*, 2009, 15:329-346. Modulo 22 (Banco de Sangre), numero 3. Editora Medica Colombiana S.A.
9. Carlos Ortiz Hidalgo, Encontramos el secreto de la vida. 50 años del descubrimiento de la estructura del ADN”, *Anales Médicos* Vol. 48, Núm. 3 Jul. - Sep. 2003 pp. 177 – 188.
10. Carmen Alicia Padilla Peña, Jesús Diez Dapena, Emilia Martínez Galisteo, José Antonio Bárcena Ruiz, Concepción García Alfonso. Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico, 2006.
11. Carmen Entrala, Técnicas de análisis del ADN en genética forense Laboratorio de ADN forense, Depto. de Medicina Legal Universidad de Granada, España 2000.
12. CICR (Comité Internacional de Cruz Roja). Personas desaparecidas, análisis forense de ADN e identificación de restos óseos. Guía sobre prácticas idóneas en caso de conflicto armado y de otras situaciones de violencia armada. Segunda edición, 2009.
13. Cristina Rodríguez Carlin, Beatriz Rodarte Murguía, Montserrat Monter Rosales, Aída Cristina Coss Rojas, América Castañeda Sortibrán y Rosario Rodríguez Arnaiz. Genética forense. *Revista Fuente* Año 2, No. 4, Septiembre 2010 ISSN 2007 – 0713.
14. Curtis H. Barnes S. *Biología*. 6a edición. Madrid. 2001: 359-366.

15. Dr. en C. Héctor Rangel Villalobos La prueba de paternidad con ADN. 2010 NOTICONAQUIC 18(49): 40-50.
16. Dr. Jorge Fabricio González Andrade. Tesis de Doctorado: Análisis molecular de variación de polimorfismos STR Autosómicos y de cromosoma Y en grupos étnicos de Ecuador con aplicación Médico-Forense. Zaragoza, junio 2006.
17. Dra. América Nitxin Castañeda Sortibrán y Colb., Genética forense Revista Fuente Año 2, No. 4, Septiembre 2010, ISSN 2007 – 0713.
18. Duina Posso Duque. Electroforesis del adn en geles de agarosa. Protocolos de laboratorio UEG 2009.
19. E. Jones, A. Morris, "Lo esencial en célula y genética", Harcourt, 1999, España: 71-79, 92,93.
20. Eduardo Gómez-Casado y colb., El sistema principal de histocompatibilidad humano (hla) y el trasplante hepático Capitulo 3. 2005
21. Enciclopedia alfatemática Vol. 6. Lexus editores. Alianza educativa, 2000.
22. Esteban Arrieta-Bolaños y colb. Tipificación molecular de los antígenos leucocitarios humanos, Estado del arte y perspectivas para los transplantes de células madre en Costa Rica. ISSN 0001 6002/2010/52/1/8-15 Acta Médica Costarricense, 2010 Colegio de Médicos y Cirujanos.
23. Esther Martínez Espín. Análisis y comparació de 16 loci STR en cromosoma Y de varios grupos poblacionales en la cuenca noroeste Mediterránea. Universidad de Granada, Departament de Medicina Legal, mayo, 2008.
24. F. Francès Y cols. El diagnóstico genético del sexo mediante el test de la amelogenina: Métodos y posibles fuentes de error. 2008. CuadMed Forense; 14(52):119-125.
25. Fernando Lizcano Losada. Fundamentos moleculares en medicina. Editorial Manual moderno, Universidad de La Sabana, junio 2005.
26. Guillermo J, Juvenal y colb, ADN y análisis forense. División bioquímica Nuclear CNEA Numero 4, 2002.
27. Guillermo J. Juvenal, David A. Gangitano, Ricardo A. Padula. ADN y análisis forense. Policía Federal Argentina 2001.
28. Hershey, A and Chase, M (1952) J. Gen. Physiol. 36: 39-56.
29. J. L. Romero Palanco, Libro de Actas: Orfila 4.1990: IV Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense, Cádiz, 19-21 de Abril de 1990.



30. Jesús Salvador Velarde Félix y cols. Identificación del sexo mediante análisis molecular del gen de la amelogenina. Enero - Marzo, 2008. RevMex Patol Clin, Vol. 55, Núm. 1, pp 17-20.
31. John M. Butler. Fundamentals of forensic DNA typing. 2009. ELSEVIER, USA.
32. John M. Butler. Forensic DNA typing. 2005. Second edition. ELSEVIER, USA.
33. José Amador Martínez Tejedor. Recomendaciones para la recogida y envío de muestras con fines de Identificación Genética. Sociedad Internacional de Genética Forense. Grupo Español y portugués. Ministerio de Justicia, 2001.
34. José María Riol Cimas, El camino hacia el ADN Universidad de La Laguna (ULL). Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. ULL 2 de abril de 2008.
35. Katsuya Honda; LutzRoewer, and Peter de Knijff. Male DNA Typing from 25-Year-Old Vaginal Swabs Using Y Chromosomal STR Polymorphisms in a Retrial Request Case. Journal of forensic sciences.
36. Kovatsi L, Nikou D, Triantaphyllou S, Njau SN, Voutsaki S, Kouidou. DNA repair enables sex identification in genetic material from human teeth. 2009. S. HIPPOKRATIA, 13, 3: 165-168.
37. Li Li y cols. Analysis of 14 highly informative SNP markers on X chromosome by TaqMan SNP genotyping assay. 2010 Forensic Science International: Genetics DOI:10.1016/j.fsigen.2010.04.004.
38. Lic. Marcelo F. Goyanes, Estructura del ADN Biología Molecular, 2006.
39. Lisandro Alvarado. Biología celular extracción de ADN. Universidad Centro occidental. Octubre 2009.
40. Lorente Acosta J. A. El ADN y la identificación en la investigación criminal en la paternidad biológica. España 1995; 113-115; 118-121.
41. Luis Franco Vera, Doble hélice, genes y cromosomas. Universidad de Valencia. Departamento de Bioquímica. Facultad de Biológicas. Burjasoto 46100 Valencia 2003.
42. Luisa Fernanda Diaz Sarmiento Tesis análisis de 17 loci de STR de cromosoma y en las poblaciones de Bogotá y Santander con fines genético poblacionales y forenses, Bogotá D.C. 2010.
43. M. Crespillo, M. Paredes, J. Arimany, L. Guerrero y JL. Valverde. Guerra Civil Española (1936-1939): identificación de restos humanos procedentes de fosas comunes en Cataluña mediante análisis de ADN Mitocondrial. A propósito de un caso. Cuadernos de Medicina Forense N° 38 - Octubre 2004.

44. M. Somma, Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente Modificados en Muestras de Alimento, 2010, 9-10
45. M. Somma. Extracción y purificación de ADN, Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente modificados en muestras de alimentos. Organización Mundial de la Salud, 2010.
46. M<sup>a</sup> Teresa Navalón Martínez, El Genoma Humano. Profesora de Biología y Geología del Instituto Español de Andorra 2008.
47. Ma. Luisa Cal Teba. Tesis Análisis de polimorfismos de AND microsatélite de cromosoma Y: estudio de la población de Galicia y aplicaciones forenses. Santiago de Compostela, julio 2000.
48. Marcial Castro Sánchez, Sergio Algarrada Vicioso, José Antonio Lorente Acosta. Identificación de los restos de Cristóbal Colón.
49. Marco Antonio Checa Caratachea. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. Julio-septiembre 2007 Rev. Inst. Nal. Enf. Rresp. Mex. volumen 20 - número 3. páginas: 213- 221.
50. María Dolores Lastra A.,Imunología aplicada 2005
51. María Dolores Ochando.Genes y comportamiento de género: azar o necesidad? Departamento de Genética. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense. Madrid, 2006.
52. María Luisa Judith Bravo Aguilar,La verdad genética de la paternidad, Editorial: Medellín. Editorial Universidad de Antioquia, 2009.
53. Marta S. Moreno Luce, El proyecto genoma humano. Investigadora del Instituto de investigaciones jurídicas de la universidad veracruzana. 2010.
54. MC Ernesto Armienta Aldana. Enfermedades ligadas al cromosoma X. Boletín Médico, núm. 5 Vol. 1, diciembre 2004.
55. Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation.
56. Morera, L., D.F. de Andrés, M. Barbancho, J.J. Garrido y C.J. Barba. Detección de variabilidad genética por microsatélites en el alano español.1999. Departamento de Genética. Avda. Medina Azahara, Córdoba. España.

57. Nádia Pinto y cols. X-chromosome markers in kinship testing: A generalization of the IBD approach identifying situations where their contribution is crucial. 2010 *ForensicSci. Int. Genet*, doi:10.1016/j.fsigen.2010.01.011.
58. Norma Esther Cedillo Díaz Tesis Lineamientos para la recolección de muestras biológicas para el análisis forense del ADN. México D.F, enero 2010.
59. Osiewacz HD., Hermanns J. 1992. The role of mitochondrial DNA rearrangements in aging and human diseases. *Aging Clin Exp Res*. 275:249-255.
60. Outeda García, Patricia, Enfermedad renal quística medular (mckd): estudio molecular búsqueda de genes candidatos. Departamento de Medicina. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Santiago de Compostela. 2007.
61. Patrick Dieltjes y cols. A sensitive method to extract DNA from biological traces present on ammunition for the purpose of genetic profiling. 24 Abril 2010 *Int J Legal Med* DOI 10.1007/s00414-010-0454-4.
62. Quintana-Murci L., Fellous M. 2001. The human Y chromosome: the biological role of a "functional wasteland". *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 1(1):18-24.
63. Quintana-Murci L., Krausz C., McElreavey. 2001. The human Y chromosome: function, evolution and disease. *Foren Sci Int*. 118:169-181.
64. R. Szibor y cols. Use of X-linked markers for forensic purposes. 2003 *J Legal Med*. 117: 67-74. DOI 10.1007/s00414-002-0352-5.
65. Reinhard Szibor. X-chromosomal markers: Past, present and future. 2007. *Forensic Science International: Genetics* 1 (2007) 93-99.
66. *Revista de Divulgación Científico - Tecnológica del Estado de Morelos*, 2008
67. Richard Li. *Forensic Biologt*. CRC Press, Taylor and Francis group. USA, 2008.
68. Richard Stone. Buried, Recovered, Lost again? The Romanovs May Never Rest. *Science* vol. 303, 6 febrero 2004.
69. Roberto A. Pava Díaz. El genoma humano. Introducción a la Bioinformática.
70. Ron C. Michaelis, Robert G. Flanders Jr, Paula H. Wulff. *A litigator's guide to DNA*. 2008 ELSEVIER, USA 2008
71. Ross, M.H., Kaye, G.I., Pawlina, W. *Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular* Editorial Médica Panamericana. Madrid. 2005.
72. Terry Brown. "Genomas. Ed. Médica Panamericana, 2008

73. Tomasz Kupiec y Branicki Wojciech. Examen genético del cráneo putativo de Jan Kochanowski revela su sexo femenino. Sección de Genética Forense, Instituto de Investigación Forense, Cracovia, Polonia. *Croatas Med J.* 2011 Junio, 52 (3): 403-409. 2011
74. Yeminia Valle y cols. Five Five X-chromosome shot tandem repeats in a Western Mexican population. *ClinChem Lab Med*; 46(10):1388-1390 2008 by Walter de Gruyter, Berlín, New York. DOI 10.1515/CCML.2008.279.

#### PÁGINAS WEB CONSULTADAS

<http://blog.progenitest.com.ar/analisis-de-adn/fuentes-de-muestras-para-analisis-de-adn/>  
<http://elmercaderdelasalud.blogspot.mx/2011/08/tejido-oseo-compacto.html>  
<http://es.scribd.com/doc/37741579/PRACTICA-No-4-Cuantificacion-de-Acidos-Nucleicos>  
<http://es.scribd.com/doc/6704578/Biologia-Forense>  
[http://es.scribd.com/Francisco\\_Gorr\\_2261/d/42407528-electroforesis](http://es.scribd.com/Francisco_Gorr_2261/d/42407528-electroforesis)  
<http://es.wikipedia.org/wiki/cromosomax#mw>  
<http://fundacionannavazquez.wordpress.com/2007/12/13/estructura-de-los-acidos-nucleicos/>  
<http://genmolecular.wordpress.com/genetica-del-sexo/>  
<http://javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/electroforesis.html>  
<http://pqax.wikispaces.com/Tema+06.-+Insuficiencia+renal+en+el+paciente+quir%C3%BArgico>  
<http://vanguardia.udea.edu.co/cursos/Ingenieria%20genetica/Clase%20Nov11/Extraccion%20de%20acidos%20nucleicos/Soluciones-QPCR-protocolos.pdf>  
<http://www.biologia.arizona.edu>  
[http://www.biologia.arizona.edu/human/activities/blackett2/str\\_codis.html](http://www.biologia.arizona.edu/human/activities/blackett2/str_codis.html)  
[http://www.biologia.arizona.edu/human/problem\\_sets/DNA\\_forensics\\_1/05t.htmles](http://www.biologia.arizona.edu/human/problem_sets/DNA_forensics_1/05t.htmles)  
<http://www.bioted.es/documentos/ELECTROFORESIS%20BASICA.pdf>  
<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol24/n2/colab.html>  
<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol24/n2/colab.html>  
<http://www.chrx-str.org/>  
<http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/NISTpub.htm>  
<http://www.dentistalerida.es/>  
<http://www.etableros.com/fisiologia/genetica/apuntes/files/GENETICA.doc>  
<http://www.galileog.com/ciencia/biologia/adn/adn1.htm>  
<http://www.iqb.es/cromosomas/cromosomax.htm>

<http://www.labnano.org.mx/esp%20electroforesis.htm>

<http://www.laflecha.net/canales/ciencia/noticias/200503172>.

<http://www.medmol.es/glosario/16/>.

<http://www.microbial-systems.com> La extracción y purificación del ADN para el análisis de PCR. Mitos y realidades. Microbial Núm. 3 enero-febrero2009.

[http://www.semefo.gob.mx/es/SEMFO/Genetica/\\_rid/28/\\_mto/3/\\_wst/maximized?imp\\_act=imp\\_stp3](http://www.semefo.gob.mx/es/SEMFO/Genetica/_rid/28/_mto/3/_wst/maximized?imp_act=imp_stp3)

[http://www.uam.es/personal\\_pdi/ciencias/ldeviat/\\_private/GENMOLHUM/Enf.genet..pdf](http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/ldeviat/_private/GENMOLHUM/Enf.genet..pdf)

<http://www.ucm.es/info/genetica/grupod/Estruadn/estruadn.htm>

<http://www.unav.es/ocw/genetica/tema11-3.html>

<http://www.canaricultura.es/articulos/crossing.htm>