

Estudio preliminar sobre la transferencia del DNA-TPPR sobre la superficie de contacto y su patrón de distribución



De Candia CA¹, Postillone MB¹, Chirillano LA¹.

¹Departamento de Genética Forense, Dirección Química Legal, Superintendencia de Policía Científica, Ministerio de Seguridad, Calle 91 Nro 1829, San Martín, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Introducción

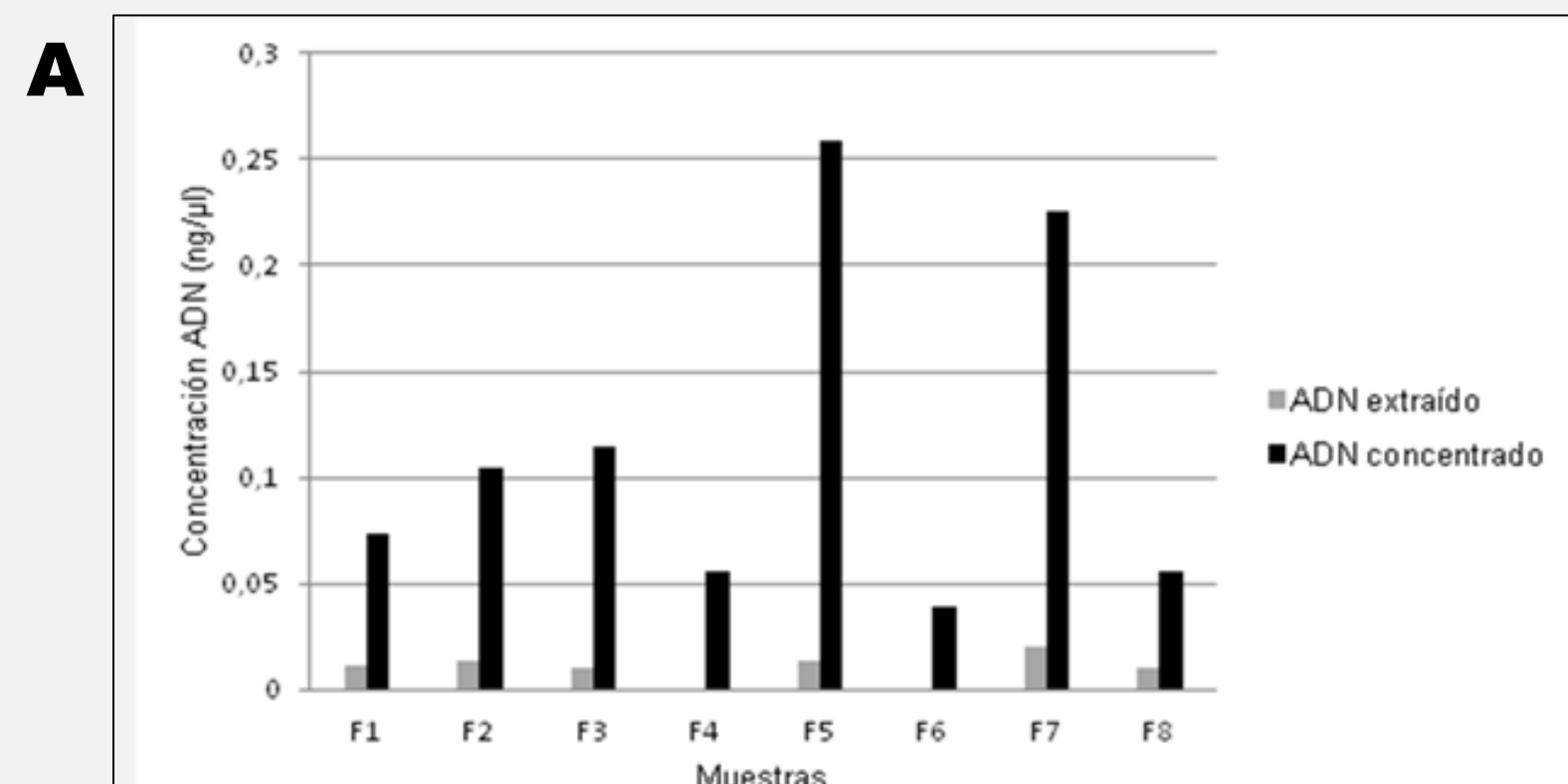
En la superficie de la piel humana pueden encontrarse alrededor de 2.000.000 de células, de las cuales, en un día pueden desprenderse cerca de 400.000 (Wickenheiser, 2002). La capacidad de poder atribuir un perfil genético a un individuo en particular, a partir de trazas de ADN de descamación epitelial, ha hecho que se soliciten cada vez más estudios genéticos a objetos posiblemente manipulados que aparecen en la escena del crimen. La efectividad en la recuperación de los indicios biológicos puede variar debido a varios factores, como ser el tiempo que transcurre entre el depósito de la traza y el momento de realizar el análisis de ADN, características propias del donante de la muestra, la superficie a la que debe adherirse la célula y las condiciones ambientales (Meakin y Jamieson, 2013). Recientemente, se acuñó el término DNA-TPPR, para hacer referencia a la transferencia, persistencia, prevalencia y recuperación del ADN de muestras biológicas. Para mejorar nuestro conocimiento acerca del DNA-TPPR, estudiamos si la transferencia del ADN a la superficie de un objeto es regular o irregular. Esto es de suma importancia, dado que permitiría al perito seleccionar el área de toma de muestra y asimismo evaluamos llevar a cabo la concentración del DNA recuperado y su implicación en la obtención de perfiles de baja concentración de ADN.

Materiales y Métodos

Se utilizaron como soportes tres tazas de 24 cm de diámetro, previamente descontaminadas con Etanol 70%. A cada una se le agregó 20 ml de agua. Un sujeto masculino y otro femenino bebieron de cada una de ellas. Posteriormente, las tazas se dejaron secar 24 hs y se delimitaron parcelas de muestreo de a 3 cm (en total 8 muestras por taza) y se muestreó con hisopo embebido en solución fisiológica, el borde de las tazas donde fueron apoyados los labios al beber el líquido. Una tercera taza se usó como control negativo. A los dos individuos se les pidió un hisopado bucal para usar como muestra de referencia para cotejar con los perfiles obtenidos en las tazas. El ADN se extrajo usando el kit comercial FDF Kit (Nexttec™). Se cuantificó el ADN mediante el Kit Quantifiler® Human DNA Quantification usando Step-One Real-Time PCR System y analizadas mediante el Software StepOne™ Software v2.2.2. La amplificación de las muestras será llevada a cabo usando Kit AmpFℓSTR® Identifiler® Plus para investigar el polimorfismo de los loci D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, AMELOGENINA, D5S818, FGA. Los productos amplificados fueron detectados usando ABIPRISM 3130 Genetic Analyser junto al AmpFℓSTR® Identifiler® Plus Allelic Ladder y GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard. Para el control positivo de la amplificación se utilizó ADN 9947A para la evaluación de la eficiencia de la amplificación y como controles negativos se usaron agua y reactivos únicamente. Los datos se analizaron con el software Genemapper ID, versión 3.2. Finalmente, se evaluó la concentración de ADN, porcentaje de Alelos Transferidos y se hizo el cotejo de ADN como éxito o fracaso.

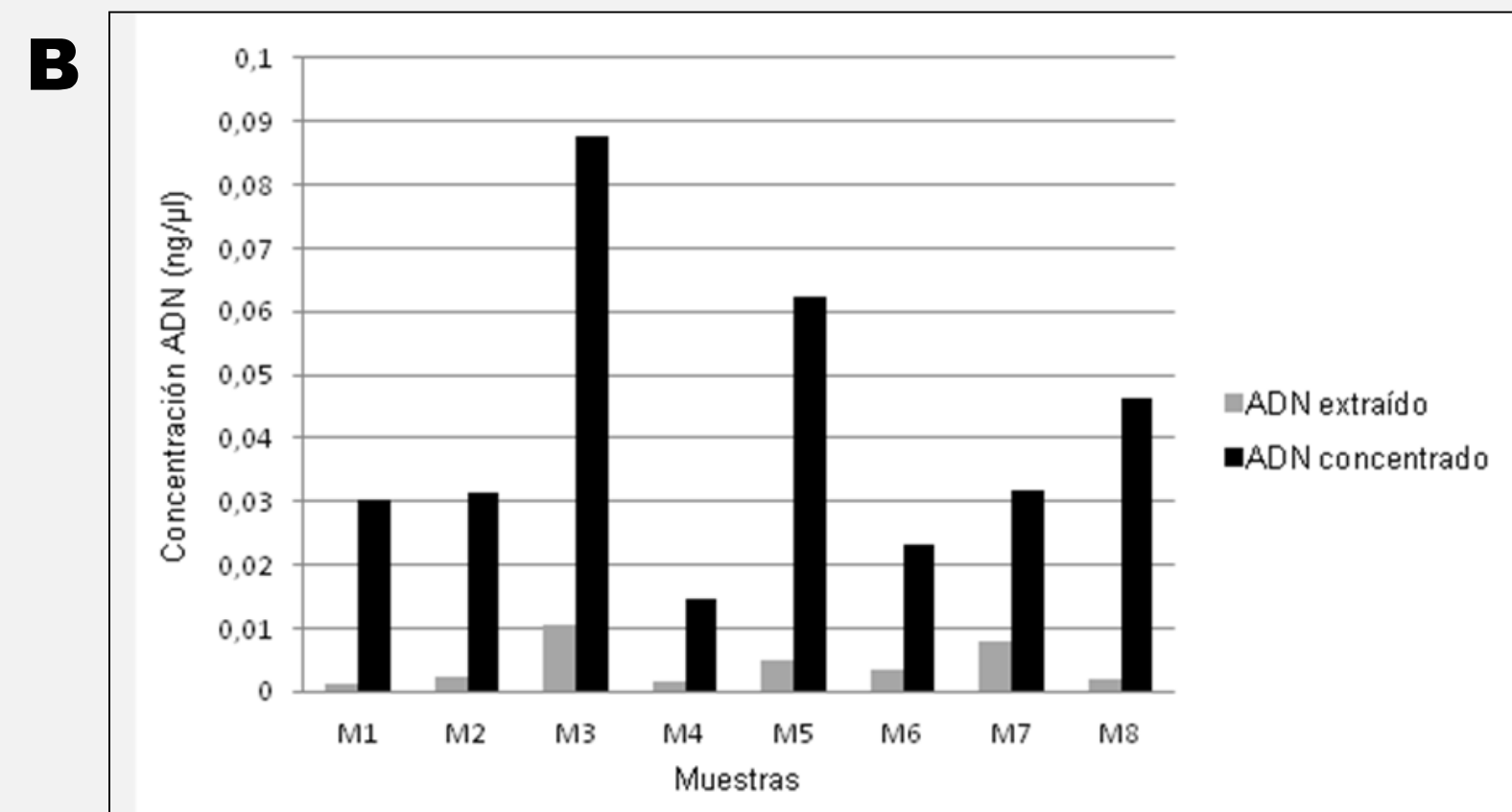
Resultados

A partir de los resultados obtenidos, se pudo observar que el depósito de ADN en la superficie de un objeto, en este caso una taza, es azaroso. No sigue un patrón entre cantidad de ADN y obtención de un perfil genético. Para el sujeto femenino se obtuvo una media de ADN extraído y concentrado de 0,011 ng/μl y 0,11 ng/ μl, respectivamente. Mientras que en el sujeto masculino fue de 0,0043 ng/ μl y 0,04 ng/ μl. En ambos casos de las muestras concentradas se obtuvo 10 veces más ADN que el previamente extraído. Los perfiles genéticos fueron analizados como porcentaje de alelos transferidos. En el sujeto femenino se logró obtener un perfil completo en 2 de las 8 muestras y en 4 de las 8 muestras concentradas. En cambio, en las muestras analizadas del sujeto masculino no se logró obtener 100% de alelos transferidos. Sin embargo, en 3 de las 8 muestras concentradas se obtuvo un perfil genético que coincidía totalmente con el perfil del sujeto masculino.



Marcadores Autosómicos	Hisopado BUCAL FEMENINO							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
D8S1179	12-14	8-9-10-11-12-13-14-15-17	12-14	12-14	8-9-10-11-12-13-14-16	12-14	12-14	12-14
D21S11	29-33.2	29-33.2-35	29-33.2	29-33.2	29-33.2-31.1-32.1	29-33.2	29-33.2	29-33.2
D7S820	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12
CSF1PO	10	10-11	10-11	10-11	10-11	10-11	10-11	10-11
D3S1358	16-17	14-15-16-17	16-17	16-17	16-17	16-17	16-17	16-17
TH01	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3	6-9.3
D13S317	11	11	11	11	11	11	11	11
D16S539	11-12	11	11-12	11-12	11	11-12	11-12	11-12
D2S1338	18-22	18-22	18-22	18-22	18-22	18-22	18-22	18-22
D19S433	14.2-15	14.2-15	14.2-15	14.2-15	14.2-15	14.2-15	14.2-15	14.2-15
VWA	16-17	16-17-18	16-17	16-17	16-17-18	16-17	16-17	16-17
TPOX	8-11	8-11	8-11	8-11	8-11	8-11	8-11	8-11
D18S51	10-12	10-12	10-12	10-12	10-12	10-12	10-12	10-12
AMEL	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX
D5S818	9-12	9-10-12	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12	9-12
FGA	19-20	20-22	19-20	19-20	19-20	19-20	19-20	19-20

Tabla 1. Perfiles genéticos de ADN concentrado de la muestra de referencia y las muestras del Ind. Femenino



Marcadores Autosómicos	Hisopado BUCAL MASCULINO							
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
D8S1179	10-14	8-9-13-14-15	9-10-12-13-14	10-14	9-12-13-14	10-14	10-14	10-14
D21S11	25.2-32.2	28.2-31.2	25.2-29-32.2	25.2-32.2	28.2	25.2-32.2	25.2-32.2	25.2-32.2
D7S820	10-11	ND	ND	10-11	10	10-11	10	10-11
CSF1PO	8-11	ND	8-11	8-11	8	8-11	8-11	8-11
D3S1358	14-15	14-15	14-15-16-17	14-15	ND	14-15	14-15	14-15
TH01	8-9.3	7-9.3	7-8-9-9.3	8.9.3	7-8-9.3	8-9.3	8-9.3	8-9.3
D13S317	10-11	15	10-11	10-11	10	10-11	10-11	10-11
D16S539	12	12	12	12	12	12	12	12
D2S1338	17-18	ND	ND	17-18	18	17-18	17-18	17-18
D19S433	14	14	12-13-14	14	12-14	14	14	14
VWA	16-17	17	14-16-17	16-17	16-17	16-17	16-17	16-17
TPOX	8	8	8	8	8	8	8	8
D18S51	12-19	19	12	12-19	ND	12-19	ND	12-19
AMEL	X-Y	X-Y	X-Y	X-Y	X-Y	X-Y	X-Y	X-Y
D5S818	11-12	11-12	11-12-13	11-12	ND	11-12	11-12	11-12
FGA	20-22	20-22	21-22	20-22	ND	20-22	20-22	20-22

Tabla 2. Perfiles genéticos de ADN concentrado de la muestra de referencia y las muestras del Ind. Masculino

Figura 1. Cuantificación del ADN extraído y concentrado. A- Ind. Femenino, B- Ind. masculino

Conclusión

El depósito de ADN sobre la superficie de un objeto es azaroso. No obstante, este trabajo es una prueba preliminar por lo que se deberá en el futuro aumentar el número de objetos a evaluar. Se recomienda muestrear la mayor superficie posible de un objeto. Por otro lado, en caso de no obtener un perfil genético en muestra de DNA-TPPR, realizar una concentración del ADN extraído aumenta las probabilidades de obtener un perfil genético apto para cotejo.