

MATERIA  
Xenética Forense

unidade  
didáctica  
3

TITULACIÓN  
Máster Universitario en Investigación Biomédica

# Aplicación dos novos marcadores xenéticos á xenética forense: a predición de ancestralidade bio-xeográfica

María del Carmen de la Puente Vila

Departamento de Ciencias Forenses, Anatomía Patolóxica,  
Xinecoloxía e Obstetricia, e Pediatría  
Facultade de Medicina

unidadesdidácticas  
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA





Esta obra atópase baixo unha licenza internacional Creative Commons BY-NC-ND 4.0. Calquera forma de reprodución, distribución, comunicación pública ou transformación desta obra non incluída na licenza Creative Commons BY-NC-ND 4.0 só pode ser realizada coa autorización expresa dos titulares, salvo excepción prevista pola lei. Pode acceder Vde. ao texto completo da licenza nesta ligazón: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.gl>

© Universidade de Santiago de Compostela, 2021

**Deseño e maquetación**

J. M. Gairí

**Edita**

Edicións

[usc.gal/publicacions](http://usc.gal/publicacions)

DOI

<https://dx.doi.org/10.15304/9788419155245>

**MATERIA: Xenética Forense**

**TITULACIÓN: Máster Universitario en Investigación Biomédica**

PROGRAMA XERAL DO CURSO

Localización da presente unidade didáctica

**Unidade I. A Xenética Forense: a pericia forense**

Concepto de Xenética Forense

Tipos de pericias

Estrutura da pericia en España e noutros países do mundo

Estandarización e control de calidade. Acreditación de laboratorios

**Unidade II. A Xenética Forense: os polimorfismos e a súa utilidade**

Os polimorfismos humanos

Conceptos básicos de xenética

Os polimorfismos de ADN: Utilidade forense

**Unidade III. Aplicación dos novos marcadores xenéticos á xenética forense: a predición de ancestralidade bio-xeográfica**

**Unidade IV. Aplicación dos novos marcadores xenéticos á xenética forense: a predición de características externas visibles**

**Unidade V. Aplicación dos novos marcadores xenéticos á xenética forense: a predición de idade biolóxica**

**Unidade VI. Aplicación das novas tecnoloxías á xenética forense: a secuenciación masiva en paralelo**

**Unidade VII. Análises de parentesco e criminalística**

Investigación da paternidade e análise de vestixios biolóxicos de interese criminal

Conceptos básicos de estatística bayesiana

Valoración da proba de ADN

Comunicación e interpretación

## ÍNDICE

---

### CONTEXTUALIZACIÓN

- Presentación
- Xustificación

### OBXECTIVOS

### CONTIDOS BÁSICOS

1. Introducción
2. A estrutura xenética das poboacións humanas
3. Os paneis de ancestralidade como ferramentas na xenética forense
  - 3.1. Os marcadores informativos de ancestralidade
    - 3.1.1. Marcadores de liñaxe
    - 3.1.2. Marcadores informativos de ancestralidade individual (AIMs)
  - 3.2. Os datos poboacionais de referencia
  - 3.3. Os sistemas de análise de ancestralidade

### METODOLOXÍA

- Sesión expositiva
- Sesión interactiva
  - Actividade 1. Debate crítico
  - Actividade 2. Resolución dun caso simulado
  - Actividade 3. Lectura e interpretación dun artigo científico
- Aula Virtual

### AVALIACIÓN

### BIBLIOGRAFÍA

## CONTEXTUALIZACIÓN

---

### Presentación

A presente unidade didáctica titulada “Predición de ancestralidade bio-xeográfica” encádrase na materia Xenética Forense (optativa, 3 ECTS) do Máster Universitario en Investigación Biomédica. Esta materia impártese no primeiro cuadrimestre e distribúese nun total de 9 horas de clases expositivas, 12 horas de clases interactivas, 3 horas de titorías e 51 horas de traballo do alumnado.

A presente unidade didáctica estará precedida de todos os contidos necesarios para a comprensión da mesma, en concreto da estrutura da pericia en xenética forense e dos tipos de polimorfismos de ADN e as súas características. Así, a teoría da presente unidade reducirase a unha hora de clase expositiva e os contidos serán traballados principalmente a través de 3 horas de clases interactivas e do traballo do alumnado (aproximadamente 5 horas).

### Xustificación

As ferramentas forenses de predición de ancestralidade, encadradas na intelixencia de ADN, desenvolvéronse a partir de finais da década de 2000 para achegar pistas que guíen as investigacións policiais en casos non resoltos, neste caso mediante a inferencia da orixe bioxeográfica do doante dun vestixio biolóxico a través de ADN.

A súa utilidade queda probada nos casos criminais nos que esta información contribuíu á súa resolución, incluídos casos como o atentado do 11-M en Madrid ou o asasinato de Eva Blanco. Por iso, estas ferramentas implementáronse na rutina forense dos laboratorios máis pioneiros, mentres os diferentes países empezan a legislar o seu uso.

Así, esta unidade didáctica afonda nos contidos de aplicacións dos novos marcadores xenéticos, presentando os últimos avances de investigación no eido da xenética forense e ofrecendo ao alumnado unha visión aplicada deles.

## OBXECTIVOS

---

Os obxectivos xerais (OX) da materia de xenética forense ós que esta unidade didáctica contribúe son os seguintes:

- **OX2:** Proporcionar as bases teórico conceptuais da xenética forense
- **OX3:** Ensinar os métodos de tratamento de datos para a investigación en xenética-forense
- **OX4:** Estudar os patróns globais de diversidade xenética humana e as súas consecuencias na Xenética forense
- **OX5:** Elixir os métodos de análises estatísticas para a práctica forense
- **OX6:** Coñecer as aplicacións concretas da xenética forense
- **OX7:** Manexar os programas de análises de datos xenético-forenses
- **OX8:** Manexar a bibliografía apropiada

A través destes obxectivos, a unidade didáctica relaciónase cos seguintes obxectivos xerais (CX) e específicos (CE) de entre as propostas no Máster Universitario de Investigación Biomédica:

- **CX2:** Poder emitir xuízos sobre hipóteses, propostas experimentais ou experimentos xa realizados do campo da investigación biomédica, tanto sobre a validez científica como sobre aspectos éticos e sociais do axuízado.
- **CX4:** Ser capaz de comunicar as súas propostas, experimentos, resultados, conclusións e críticas tanto ante públicos especializados como non especializados.
- **CX5:** Posuír as habilidades de aprendizaxe necesarias para manterse ao día no campo da investigación biomédica e as súas técnicas de forma autónoma.
- **CE7:** Coñecer a anatomía do xenoma, a información obtida polo proxecto xenoma humano, a distribución de alelos nas poboacións humanas, e os principais tipos de alteracións xenéticas que poden producir enfermidade.
- **CE9:** Coñecer o marco legal no que se desenvolve a investigación biomédica e ser capaz de emitir xuízos autónomos sobre as implicacións éticas desta investigación.

A presente unidade didáctica establece os seguintes obxectivos específicos (OE) relacionados cos obxectivos xerais e as competencias anteriormente mencionadas:

- **OE1:** Proporcionar as bases teóricas das ferramentas de inferencia de ancestralidade en xenética forense (relacionada con OX2, OX4, OX8, CX5 e CE7)
- **OE2:** Manexar os programas especializados para a predición de ancestralidade a través de ADN e acceder aos recursos xenéticos de bases de datos de proxectos de xenomas completos (relacionada con OX3, OX5, OX6 e OX7)
- **OE3:** Entender os límites da predición de ancestralidade e as súas implicacións éticas (relacionada con OX6, CX2, CX4 e CE9)

## CONTIDOS BÁSICOS

---

### 1. Introducción

A predición de ancestralidade englóbase dentro da intelixencia de ADN, unha aproximación da xenética forense que permite inferir características do doante dunha mostra biolóxica a través da propia mostra.

Así, a intelixencia de ADN achega información que pode guiar as investigacións policiais naqueles casos nos que o perfil obtido a través da evidencia non concorda cun individuo coñecido, ben sexa un sospeitoso ou un perfil recollido na base de datos de perfís de interese policial.

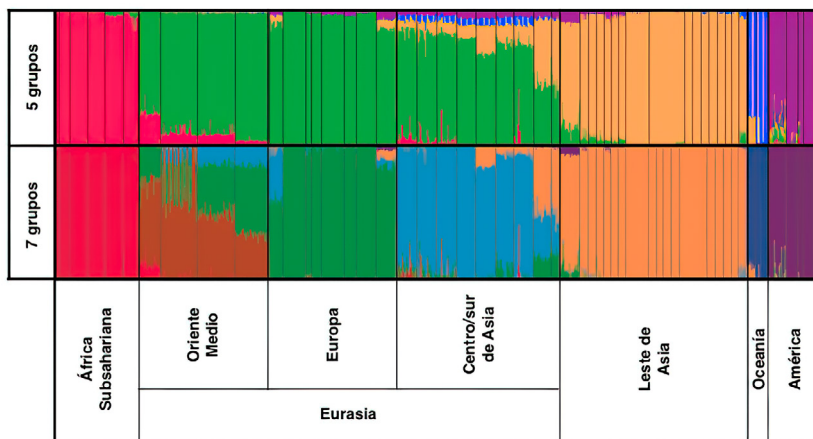
A predición de ancestralidade a través do ADN é posible grazas a que a variabilidade xenética das poboacións humanas presenta estrutura no ámbito

mundial, o que se reflicte tanto nos marcadores informativos de ancestralidade individual coma nos marcadores de liñaxe. Así, as ferramentas máis utilizadas para a predición de ancestralidade consisten en pequenos paneis de marcadores altamente informativos e que presentan alta sensibilidade forense.

## 2. A estrutura xenética das poboacións humanas

A diversidade da especie humana é baixa debido á súa breve historia evolutiva. Os primeiros estudos (Rosenberg *et al.* 2002, Lewontin 1995) que trataron de definir a estruturación das poboacións estimaron as diferenzas intrapoboacionais e interindividuais nun 85-93 %, as interpoboacionais e intragrupoais nun 2,5-5 % e as intergrupoais nun 4-10 %. É este último nivel de diversidade o que nos permite xerar agrupacións atendendo á súa similitude xenética, tal e como demostra o estudo de Li *et al.* (2008), que se reflicte na Figura 1 e identifica 5 e 7 grupos definidos no ámbito continental.

Figura. 1. Estrutura das poboacións mundiais segundo o estudo de Li *et al.* (2008)



Fonte: adaptada de Li et al. 2008

Esta estrutura pode ser explicada mediante diversos factores da historia evolutiva da especie:

- a expansión *out-of-Africa*, polo que a maior diversidade atópase en África e vai diminuindo ata os últimos continentes poboados;
- a existencia de barreiras xeográficas que impiden o apareamento ao azar;
- as introgresións arcaicas, fluxos xénicos das formas arcaicas a subconxuntos de poboacións ancestrais de humanos anatomicamente modernos;

- eventos migratorios e posterior hibridación coas poboacións nativas: expansión Bantú, imperio mongólico, colonialismo europeo, trata de escravos...;
- efectos de selección natural: despigmentación nas poboacións non africanas, resistencia á malaria, adaptación ao consumo de leite en adultos...

### 3. Os paneis de ancestralidade como ferramentas na xenética forense

As ferramentas forenses que permiten inferir a ancestralidade bio-xeográfica a partir dun vestixio biolóxico precisan de tres elementos principais: os marcadores, os datos poboacionais de referencia e os sistemas de análise que permitan realizar as inferencias.

#### 3.1. Os marcadores informativos de ancestralidade

##### 3.1.1. Marcadores de liñaxe

Inclúe os marcadores uniparentais: ADN mitocondrial (ADNm) e o cromosoma Y, que se transmiten como haplotipos por vía materna e paterna, respectivamente (Figura 2, A e B). Os haplotipos clasifícanse en haplogrupos que se poden representar en árbores filoxenéticas. Os diferentes haplogrupos presentan correlación coas diferentes rexións continentais, polo que permiten trazar a historia dos liñaxes humanos e as migracións. Estes marcadores poden apoiar as análises de ancestralidade pero achegan unha información parcial.

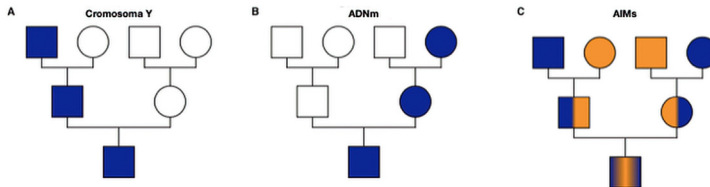
##### 3.1.2 Marcadores informativos de ancestralidade individual (AIMs)

Trátase de marcadores xenéticos que presentan contraste de frecuencias alélicas entre as diferentes poboacións e autosómicos, polo que recollen a información de todos os ancestros evitando o nesgo sexual (Figura 2, C). Os pequenos paneis dun número limitado deste tipo de marcadores, sobre todo SNPs (polimorfismos de nucleótido único), constitúen ferramentas altamente axeitadas ao contexto forense, cunha capacidade de resolución a nivel continental e alta sensibilidade a baixas concentracións de ADN, necesaria para a análise de vestixios traza.

Para escoller os marcadores máis informativos existen unha serie de parámetros relacionados que nos permiten identificar aos marcadores con maiores contrastes de frecuencias alélicas nas poboacións que queremos diferenciar, tales como:  $\delta$  (Shriver *et al.* 1997),  $I_n$  (Rosenberg *et al.* 2003), índice de Diverxencia de JensenShannon (Chen *et al.* 2005) ou índice de fixación  $F_{ST}$  (Wright 1951).



Figura. 2. Modelo de herdanza dos marcadores informativos de ancestralidade



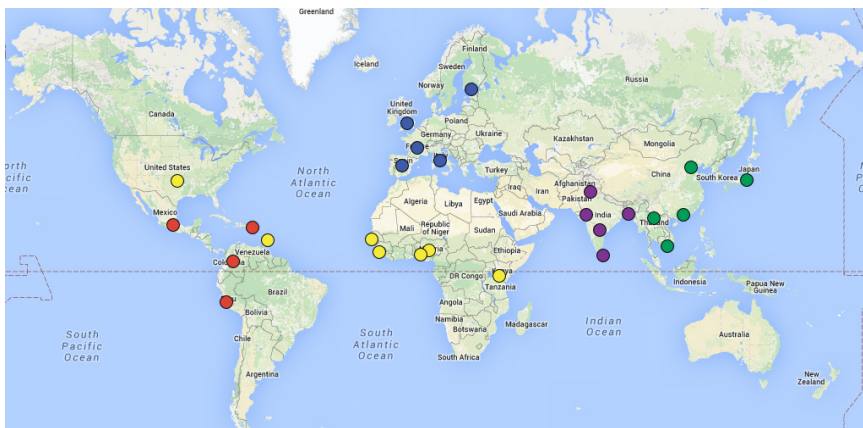
Fonte: adaptada de Santos 2015

### 3.2. Os datos poboacionais de referencia

Para realizar inferencias sobre un novo perfil de orixe descoñecida, é preciso comparalo con perfís de orixe coñecida e perfectamente caracterizados, que forman unha base de datos de referencia que son á base coa que os sistemas de clasificación realizan as inferencias. Actualmente, podemos acceder a datos de xenomas completos de individuos de diferentes poboacións obtidos en grandes proxectos de consorcios internacionais, entre os que destacan os seguintes:

- O Proxecto 1000 Xenomas (The Genomes Project Consortium 2015) inclúe datos xenotípicos de ~81 millóns de variantes en 2504 individuos de 26 poboacións de África, Europa, leste de Asia, sur de Asia e América ( Figura 3).

Figura. 3. Poboacións recollidas polo Proxecto 1000 Xenomas



Fonte: <https://www.internationalgenome.org/>

- O panel HGDP-CEPH (Cann *et al.* 2002, Bergstrom *et al.* 2020) inclúe datos de 929 individuos de 54 poboacións nativas de África, Europa, leste de Asia, centro e sur de Asia, Oriente Medio, América e Oceanía (Figura 4).

Figura. 4. Poboacións incluídas no panel HGDP-CEPH.



Adaptada de Bergstrom et al. 2020

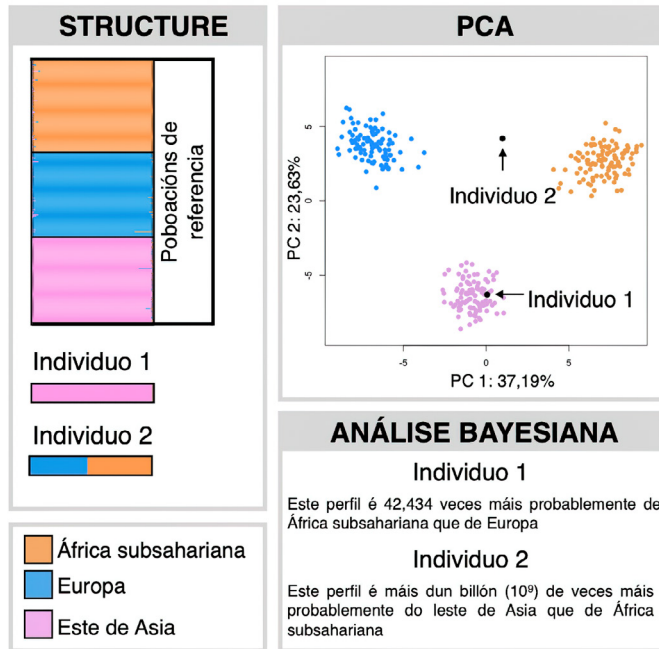
### 3.3. Os sistemas de análise de ancestralidade

Existen diferentes sistemas que poden ser aplicados para obter inferencias de ancestralidade de perfís descoñecidos e que se basean no uso de datos de poboacións de referencia e realizan inferencias a partir dos patróns comparativos de variantes detectados. Os tres sistemas principais (Figura 5) son os seguintes:

- **Análise bayesiana:** para cada individuo descoñecido, calcúlase a probabilidade posterior de pertencer ás poboacións do conxunto de referencia e unha razón de verosimilitude entre a máxima probabilidade calculada e a seguinte.
- **PCA ou análise de compoñentes principais:** trátase dunha análise multivariante que reduce as dimensións dos datos, mantendo o maior grado de información posible. Así, calcúlanse unha serie de variables non correlacionadas ou compoñentes principais (PC) como combinacións lineais das variables orixinais que adoitan representarse bidimensionalmente.
- **STRUCTURE:** trátase dun programa (Pritchard *et al.* 2000) que xera agrupacións atendendo ás similitudes xenéticas. Os individuos asígnanse ao azar a un número predeterminado de grupos, posteriormente calcúlanse as frecuencias das variantes en cada grupo e os individuos volven aos grupos en función destas. Este proceso repítese durante un número de iteracións determinadas polo usuario. Os resultados

adoitan representarse, para cada individuo, como barras que recollen as proporcións de co-ancestralidade de cada un dos grupos inferidos.

Figura. 5. Exemplo de inferencia de ancestralidade mediante tres metodoloxías



Fonte: adaptada de de la Puente 2017

## METODOLOXÍA

Dado que se trata dunha materia optativa, habitualmente matriculase ao redor dunha ducia de persoas (a metade do alumnado do Máster). Tanto as clases expositivas como interactivas son impartidas nunha aula convencional con mobiliario fixo e, como apoio audiovisual, un ordenador cun canón proxector.

### Sesión expositiva

A sesión expositiva acompañarase dunha presentación de diapositivas que sirva de apoio visual aos contidos (tales como gráficas, material recollido de publicacións científicas, mapas...).

Durante a sesión, explicaranse todos os contidos mínimos da unidade, de maneira que toda a base de coñecemento quede comprendida de cara á sesión interactiva.

O alumnado intervirá retomando os contidos pasados cando sexa preciso, a fin de pór en valor a conexións entre as unidades didácticas. Ademais, resolveranse as dúbidas que poidan xurdir durante a clase en relación ao material exposto.

### Sesión interactiva

A sesión interactiva pretende afondar nos contidos con maior detalle e de maneira práctica mediante a realización das actividades propostas nesta unidade. Terá un marcado carácter participativo e, para incentivar a intervención de todo o alumnado, estableceranse quendas de palabra flexibles. Para esta sesión, propóñense as actividades recollidas a continuación.

#### Actividade 1. Debate crítico

Este debate centrarase nos límites de aplicación e as implicacións éticas da inferencia de ancestralidade a través de ADN. A modo de introdución, preséntanse unha serie de casos reais (Phillips e de la Puente 2021), a fin de familiarizar o alumnado co amplo rango de aplicacións da metodoloxía.

Posteriormente, abrirase un debate na aula e o alumnado participará expoñendo a súa opinión crítica a cuestións coma as seguintes:

- ¿En que casos a información presenta utilidade?
- ¿Poden ser os ensaios comerciais que ofrecen predición de ancestralidade unha ferramenta forense?
- ¿Cando sería lícito aplicar estas metodoloxías: ante unha infracción de tráfico leve, ante un roubo, ante un asasinato...?
- ¿Actúa a intelixencia de ADN coma unha testemuña máis?
- ¿Que implicacións podería ter a filtración da información aos medios de comunicación en casos non resoltos?

#### Actividade 2. Resolución dun caso simulado

Presentarase un caso de criminalística para o que pode ser informativo inferir a ancestralidade dos vestixios atopados na escena do crime. O alumnado debe traer á clase un ordenador con conexión a internet e a folla de cálculo de Excel instalada, recibirá os perfís de ADN de diferentes vestixios e terá que compilar información xenética de perfís de referencia de diferentes poboacións mundiais a través do portal SPSSmart (<http://spsmart.cesga.es/>).

Os perfís dos vestixios terán que ser analizados contra os conxunto de referencia para realizar a inferencia de ancestralidade. A través do portal Snipper (<http://mathgene.usc.es/snipper/>) obteranse os resultados da análise bayesiana e un

PCA. O alumnado realizará unha interpretación crítica dos resultados e debaterase na aula como se trasladaría esta información aos corpos de seguridade.

### Actividade 3. Lectura e interpretación dun artigo científico

O alumnado traballará o artigo de Phillips *et al.* 2009 en pequenos grupos de 3-4 persoas. Cada grupo realizará un comentario crítico que se debe entregar para a súa avaliación. Ademais, o alumnado terá que ser capaz de explicar usando os tecnicismos apropiados as diferentes seccións do artigo.

Este artigo presenta a metodoloxía aplicada para a inferencia de ancestralidade durante as investigacións relativas ao atentado bomba do 11-M en Madrid e permite repasar os conceptos expostos na sesión teórica.

As actividades 1 e 2 estarán apoiadas por unha presentación de diapositivas que introduzan os puntos que se van tratar no debate ou guíen ao alumnado para a resolución do caso simulado.

Para a actividade 3, o alumnado debe analizar o artigo científico escollido en pequenos grupos e entregar un comentario do mesmo, estimándose para esta tarefa un total de 5 horas. Na aula, o docente pedirá a parte do alumnado que expoña parte do artigo, de maneira que se poñan en común as interpretacións dos diferentes grupos.

### Aula Virtual

Todo o material relativo ás clases porase a disposición do alumnado a través da aula virtual. Ademais, a través desde canal, o alumnado poderá facer consultas ao docente a modo de titorías.

### AVALIACIÓN

---

A avaliación da materia realízase a través dun exame final (90 % da nota final) e da valoración continuada do alumnado (10 % da nota final). Así, o exame final abarcará os contidos teóricos mínimos presentados durante a sesión expositiva mentres que as actividades da sesión interactiva serán avaliadas como parte da valoración continuada. Para estas últimas, teranse en conta os seguintes aspectos:

- a intervención proactiva e crítica do alumnado durante a actividade 1: utilizarase unha táboa de observación na que se recollan o número intervencións pertinentes e a súa calidade, atendendo a unha exposición razoada e de acordo cos contidos da unidade;
- a capacidade para seguir os procesos requiridos para a resolución da actividade 2: utilizarase unha táboa de observación na que se recolla diferentes criterios como a capacidade para realizar o traballo no ordenador persoal simultaneamente co docente, a localización no fluxo de

- traballo de cada un dos recursos e a interpretación correcta dos resultados obtidos;
- a capacidade de síntese, comprensión e traballo en equipo para a consecución da actividade 3: utilizarase unha rúbrica para avaliar que o traballo entregado demostra unha interpretación axeitada do artigo, articulada en torno ós contidos; que a exposición é razoada e que a achega do alumnado ao equipo de traballo é equilibrada.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- BERGSTROM A, McCarthy SA, Hui R, Almarri MA, Ayub Q, Danecek P, Chen Y, Felkel S, Hallast P, Kamm J, *et al.* (2020). *Insights into human genetic variation and population history from 929 diverse genomes*. Science 367(6484). <https://doi.org/10.1126/science.aay5012>
- CANN HM, de Toma C, Cazes L, Legrand MF, Morel V, Piouffre L, Bodmer J, Bodmer WF, Bonne-Tamir B, Cambon-Thomsen A, *et al.* (2002). *A human genome diversity cell line panel*. Science 296(5566): 261-262. <https://doi.org/10.1126/science.296.5566.261b>
- CHEN HD, Chang CH, Hsieh LC e Lee HC (2005). *Divergence and Shannon information in genomes*. Phys Rev Lett 94(17): 178103. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.94.178103>
- DE LA PUENTE, M (2017). Aplicaciones forenses de las nuevas tecnologías genómicas. Tese de doutoramento, Universidade de Santiago de Compostela.
- LI JZ, Absher DM, Tang H, Southwick AM, Casto AM, Ramachandran S, Cann HM, Barsh GS, Feldman M, Cavalli-Sforza LL, *et al.* (2008). *Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation*. Science 319(5866): 1100-1104. <https://doi.org/10.1126/science.1153717>
- PRITCHARD JK, Stephens M e Donnelly P (2000). *Inference of population structure using multilocus genotype data*. Genetics 155(2): 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- PHILLIPS C, Prieto L, Fondevila M, Salas A, Gómez-Tato A, Álvarez-Dios J, Alonso A, Blanco-Verea A, Brión M, Montesino M, *et al.* (2009). *Ancestry Analysis in the 11-M Madrid Bomb Attack Investigation*. PLoS ONE 4(8): e6583. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2007.06.008>
- PHILLIPS C, de la Puente M (2021). *The analysis of ancestry with small-scale forensic panels of genetic markers*. Emerging Topics in Life Sciences: ETLS20200327. <https://doi.org/10.1042/ETLS20200327>
- ROSENBERG NA, Li LM, Ward R e Pritchard JK (2003). *Informativeness of Genetic Markers for Inference of Ancestry*. Am J Hum Genet 73(6): 1402-1422. <https://doi.org/10.1086/380416>
- SANTOS, C (2015). *Ancestry analysis in Forensic Genetics: new markers and methodology*. Tese de doutoramento, Universidade de Santiago de Compostela.

- SHRIVER MD, Smith MW, Jin L, Marcini A, Akey JM, Deka R e Ferrell RE (1997). *Ethnic-affiliation estimation by use of population-specific DNA markers*. Am J Hum Genet 60(4): 957-964.
- THE GENOMES PROJECT CONSORTIUM (2015). *A global reference for human genetic variation*. Nature 526(7571): 68-74. <https://doi.org/10.1038/nature15393>
- WRIGHT S (1951). *The genetical structure of populations*. Ann Eugen 15(4): 323-354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x>



Unha colección orientada a editar materiais docentes de calidade e pensada para apoiar o traballo do profesorado e do alumnado de todas as materias e titulacións da universidade

unidadesdidácticas  
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA