

TEMA 5

Marcadors de llinatge

1. Els marcadors de llinatge
2. Utilitat dels marcadors del cromosoma Y
3. Utilitat dels marcadors mitocondrials
4. Resolució de problemes

1. Els marcadors de llinatge

Els perfils dels STR autosòmics deuen la seua variabilitat a tres processos:

- segregació independent
- entrecreuament
- rares mutacions espontànies

Els marcadors de llinatge són aquells l'associació dels quals no canvia de generació en generació.

Aquests requisits, els compleixen els marcadors de la regió no recombinant del cromosoma Y i del DNA mitocondrial. En ambdós casos els seus marcadors es transmeten de generació en generació sense canvis, excepte per rares mutacions (relativament freqüents al mtDNA).

Llinatge patern →

Marcadors del Cromosoma Y

Llinatge matern →

Marcadors del DNA mitocondrial

Aplicacions i limitacions dels marcadors de llinatge davant els marcadors autosòmics:

Principals aplicacions:

- Genètica forense: mostres molt degradades o contaminades.
- Estudis evolutius: filogènies i estudis de migració de poblacions.
- Investigacions genealògiques: estudis de parentiu amb membres dels quals no es poden obtenir mostres de DNA.

Limitacions per a l'ús en genètica forense:

- No es pot utilitzar la regla del producte per estudiar coincidències d'identitat (ja que no segreguen independentment).
- No es pot distingir entre parents directes:
 - El perfil dels marcadors del cromosoma Y podria ser de qualsevol mascle en la família.
 - El perfil dels marcadors del mtDNA és el mateix en tots els familiars per línia materna.

Comparació dels diferents marcadors utilitzats en Genètica Forense:

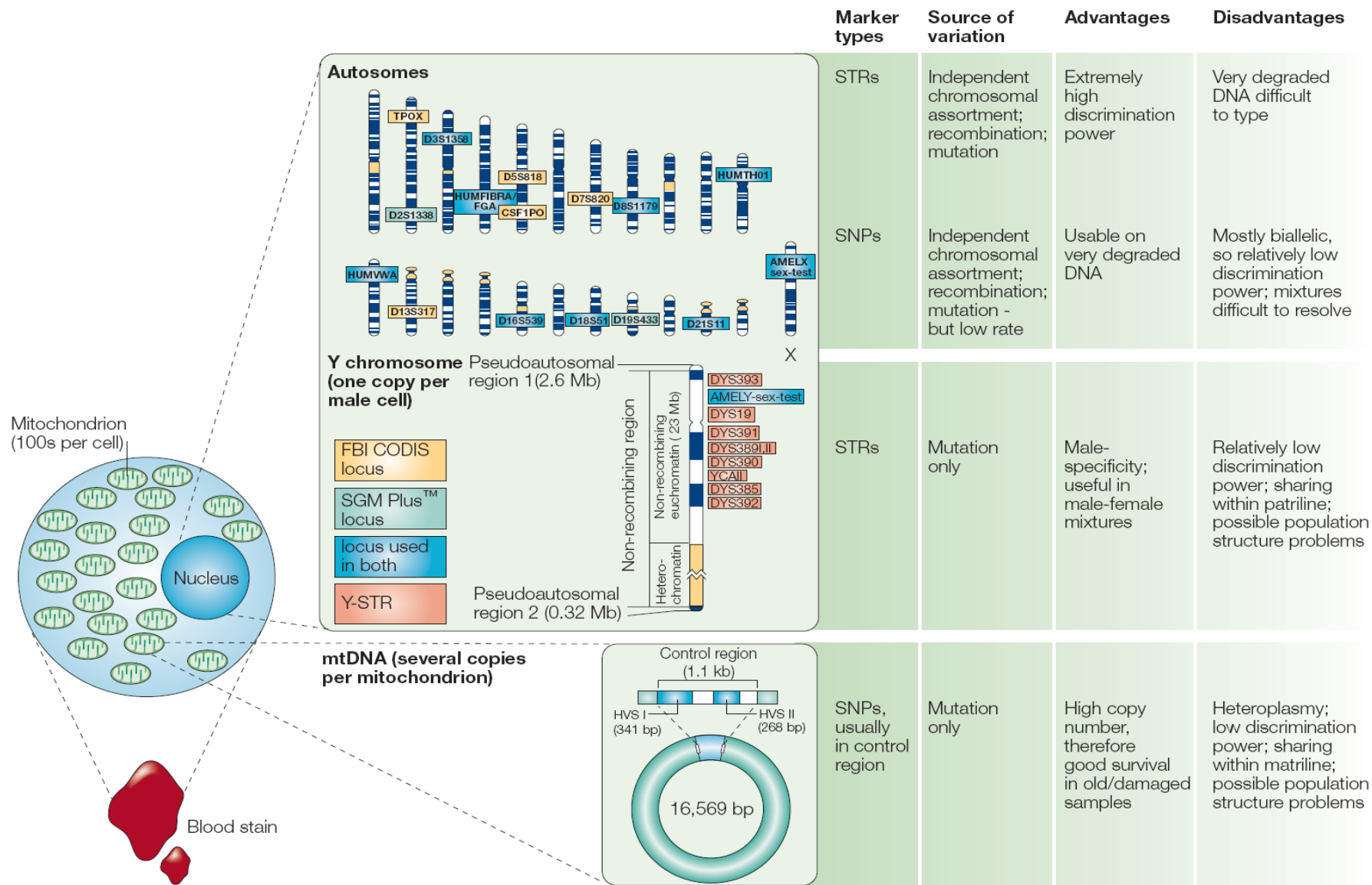


Figure 1 | **Sources of human genetic variation used in forensic analysis.** Further details of the properties of different loci can be found in the text. Heteroplasmy describes the presence of two or more different mitochondrial DNA sequences in the same cell, or individual. FBI CODIS, US Federal Bureau of Investigation Combined DNA Index System; HVS, hypervariable site; Mb, megabase; mtDNA, mitochondrial DNA; SGM, second generation multiplex; STR, short tandem repeat.

2. Utilitat dels marcadors del cromosoma Y

Al cromosoma Y podem distingir-hi dos tipus de regions:

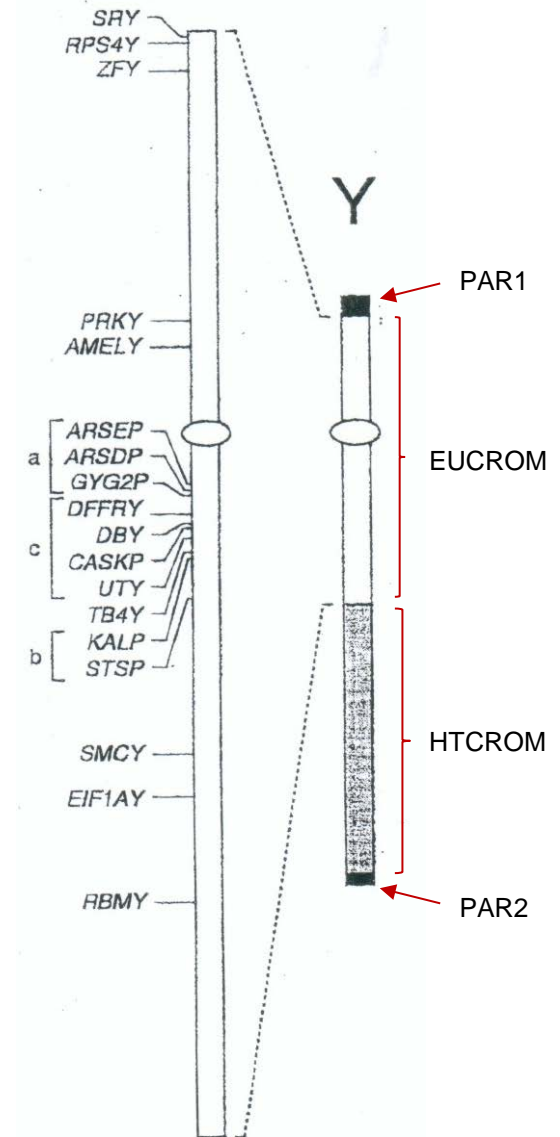
- les regions pseudoautosòmiques (PAR1 i PAR2).
- les regions específiques del cromosoma Y (MSR, de “male specific region”), que no recombinen.

Dins de la regió no recombinant es pot distingir:

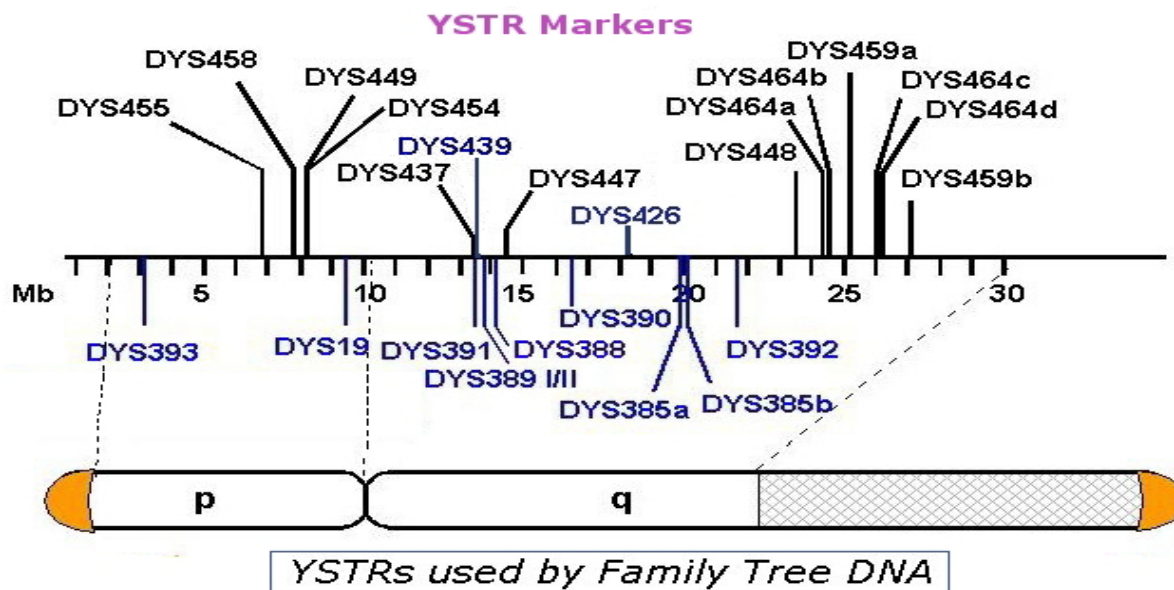
- la regió d'eucromatina (codificant, amb loci que tenen homòlegs al cromosoma X).
- la regió d'heterocromatina (no codificant).

Dins de la regió eucromàtica destaquen:

- el locus *SRY*, responsable del sexe.
- el locus *AMELY* (*amelogenina-Y*), àmpliament utilitzat en proves de determinació del sexe.



Els marcadors més utilitzats en el cromosoma Y són els STR de la regió eucromàtica:



El conjunt d'al·lels dels diferents marcadors constituirà una combinació que no s'alterarà per recombinació i que es transmetrà de mascle a mascle. És el que s'anomena un haplotip.

Un **haplotip** (del grec: haploûs, "únic, simple") és una combinació d'al·lels de diferents loci d'un cromosoma que són transmesos junts.

Aplicacions dels Y-STR

<u>Ús forense</u>	<u>AVANTATGES</u>
Assalt sexual	Ampliació específica del DNA del mascle.
Mascles deficientes en amelogenina	Anàlisi Y-STR identifica el mascle.
Prova de paternitat	Si no es disposa de mostra materna. També, quan el pare putatiu ha mort, o no vol aportar mostra. Només per a fills mascles.
Persones desaparegudes, identificació de restes en accidents, atemptats...	Qualsevol parent mascle serveix com a referència. Només mascles.
<u>Migració/evolució humana</u>	L'absència de recombinació permet traçar el llinatge.
<u>Investigació genealògica</u>	L'absència de recombinació permet traçar el llinatge.

Ús forense:

En els casos d'assalt sexual, els Y-STR són útils especialment en els casos :

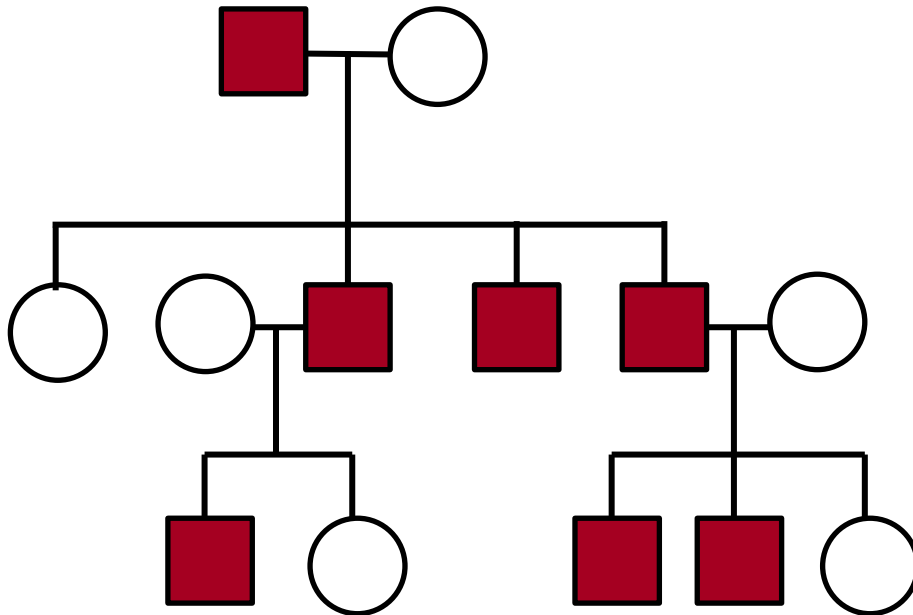
- Quan el violador pateix de azoospèrmia (no s'obté prou DNA genòmic per poder estudiar els polimorfismes autosòmics).
- El mateix per a individus vasectomitzats.
- Mostres mixtes:
 - Si hi ha excessiu DNA de la dona, aquest interfereix amb l'amplificació del DNA de l'home i no es pot llegir el genotip masculí.
 - En cas de violacions múltiples, poder identificar més fàcilment el DNA procedent dels agressors.

L'anàlisi dels Y-STRs ens proveeix d'un mètode únicament "excloent" sobre la determinació de la identitat (p.e., culpabilitat):

- Si el perfil d'Y-STR no coincideix, la prova serveix per excloure un sospitós.
- La coincidència del perfil d'Y-STR significa que podria haver sigut el sospitós, o qualsevol dels seus parents mascles per línia paterna.

En el cas de coincidència del perfil Y-STR, la interpretació ha de ser qualitativa, més que quantitativa. En presentar els resultats davant un jutge diríem:

“ El perfil de l’escena del crim coincideix amb el del sospitós. Per tant, no podem excloure aquest sospitós, ni cap parent patrilíneal, o un nombre desconegut de mascles sense parentiu”.



Tots els mascles descendents d'I-1 tenen el mateix patró d'Y-STRs

S'han trobat 219 Y-STRs, però normalment és prou amb l'anàlisi de només entre 9 i 11 loci.

S'ha construït una base de dades amb més de 24.000 perfils de 9 loci de 200 poblacions. Això permet estimar la probabilitat de trobar un determinat haplotip en una determinada població.

Las aproximacions matemàtiques usades són:

1. Mètode del comptatge:

$$\text{Probabilitat} = \frac{\text{Nombre d'individus amb aquest perfil}}{\text{Nombre total de perfils analitzats}}$$

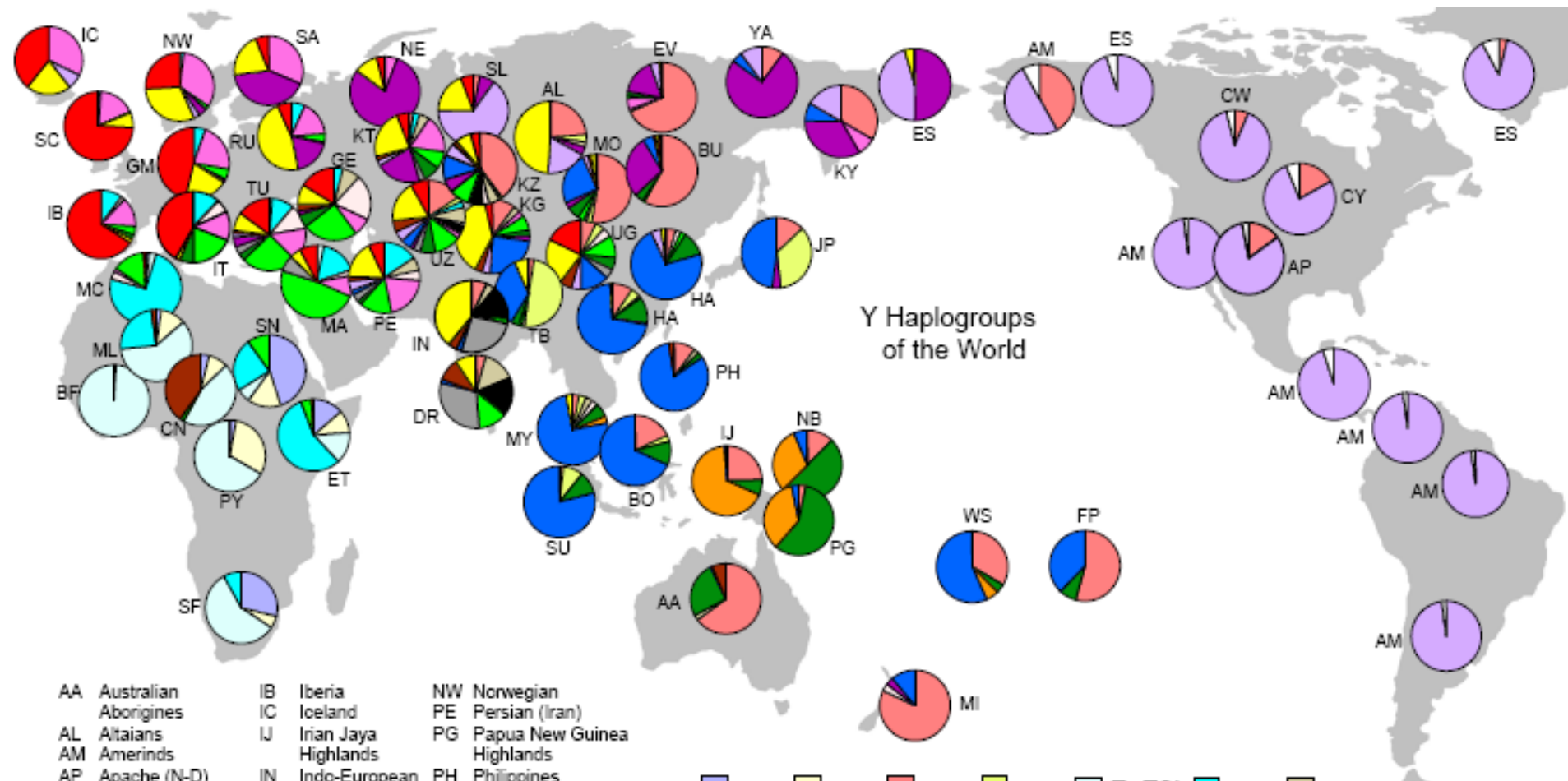
2. Aproximació bayesiana (combinant-la amb la informació obtinguda per a altres marcadors autosòmics).

Ús en estudis de migració/evolució humana:

El cromosoma Y té característiques evolutives especials comparat amb altres loci nuclears:

- Major taxa de mutació (és el resultat del pas exclusiu dels cromosomes Y a través de la línia germinal masculina).
- Major divergència de seqüència entre espècies diferents.
- Menor divergència de seqüència dintre d'una espècie (a causa de la menor mesura efectiva de la població, el cromosoma Y tendeix a patir deriva i es distingeixen haplotips i haplogrups típics de determinades regions).

Un **haplogrup** és un conjunt d'haplotips similars que suposadament ha derivat d'un avantpassat comú relativament proper.



Y Haplogroups of the World

- | | | |
|--------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| AA Australian Aborigines | IB Iberia | NW Norwegian |
| AL Altaians | IC Iceland | PE Persian (Iran) |
| AM Amerinds | IJ Irian Jaya Highlands | PG Papua New Guinea Highlands |
| AP Apache (N-D) | IN Indo-European | PH Philippines |
| BF Burkina Faso | IT Italy | PY Pygmy |
| BO Borneo | JP Japan | RU Russia |
| BU Buryats | KG Kyrgyzstan | SA Saami |
| CN Cameroon | KT Kazan Tatar | SC Scotland |
| CW Chippeway (N-D) | KY Koryaks | SL Selkups |
| CY Cheyenne | KZ Kazakhstan | SF South Africa |
| DR Dravidian | MA Mideast Arabs | SN Sudan |
| ES Eskimos | MC Morocco | SU Sumatra |
| ET Ethiopia | MI Maori | TB Tibet |
| EV Evenks | ML Mali | TU Turkish |
| FP French Polynesia | MO Mongols | UG Uygurs |
| GE Georgia-Armenia | MY Malaysia | UZ Uzbek |
| GM Germany | NB New Britain | WS Western Samoa |
| HA Han Chinese | NE Nenets | YA Yakuts |

- | | | | | | | |
|---|---|---|---|-------|-----|-------|
| A | B | C | D | ExE3b | E3b | F |
| G | H | I | J | K | L | M |
| N | O | P | Q | RxR1 | R1a | R1b |
| | | | | | | Other |

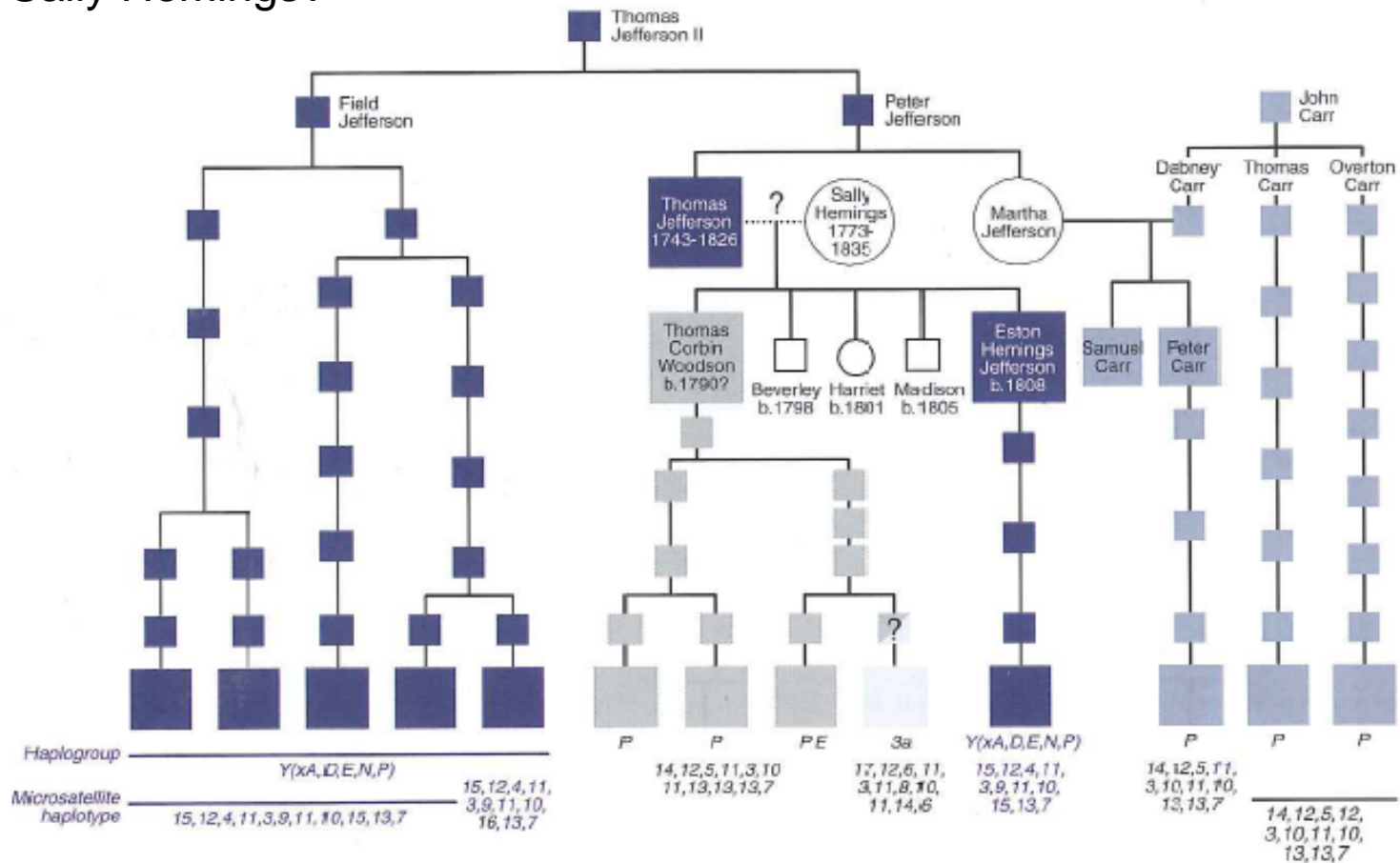
The data in this map is supposed to represent the situation before the recent European expansion beginning about 1500 AD. In some cases such as some Native American tribes and the Maori this can be done reliably because STR typing was done. In other cases, especially in America, it is guesswork. The "Other" sectors in America indicate this. Native American groups are labeled by language group as Amerind, Na-Dene (N-D), and Eskimo. F, K, L, and P are in some cases "catchall" groups because some researchers did not use enough markers for a full haplotype determination.

Copyright © 2005 J. D. McDonald

El cromosoma Y constitueix la part del genoma humà més informativa des del punt de vista geogràfic

Ús en estudis de genealogies:

Es pot voler investigar el parentiu entre dues famílies, com va ocórrer amb “El cas Jefferson”: va ser Thomas Jefferson el pare d’algun dels fills de la seua esclava, Sally Hemings?



Contra aquesta acusació i per explicar el parentiu d’un dels fills de Sally amb la família Jefferson, es va plantejar que el veritable pare era un dels nebots de Jefferson (Samuel o Peter Carr) . Al 1999 es va fer un estudi molecular, sol·licitat pels descendents legítims i els suposadament biològics.

3. Utilitat dels marcadors mitocondrials

El mtDNA és una molècula circular de doble cadena, que codifica:

- 13 polipèptids implicats en la fosforilació oxidativa
- 2 rRNAs
- 22 tRNAs
- Existeix, a més a més, una regió de control (de 1100 pb) que conté dues regions hipervariables.

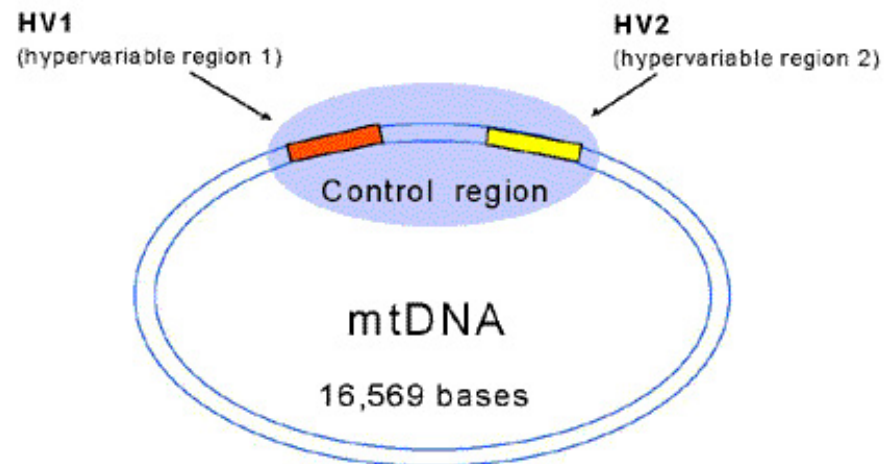
El genoma mitocondrial té una taxa de mutació més alta que el nuclear, per la baixa fidelitat de la mtDNA polimerasa i l'absència de mecanismes de reparació.

En cada cèl·lula somàtica pot haver-hi fins a 100 mitocondris.

En cada mitocondri hi ha entre 2 i 17 còpies de mtDNA.



Hi ha entre 200 i 1.700 còpies del mtDNA per cèl·lula!



L'anàlisi de DNA mitocondrial consisteix, generalment, en la seqüenciació de les dues regions hipervariables (HVS I i HVS II).

Adicionalment, es pot afegir la informació sobre algun SNP de fora de les regions hipervariables (normalment de la regió control).

La nomenclatura dels SNPs del mtDNA humà es basa en les diferències respecte a la seqüència de referència de Cambridge revisada (rCRS), que és la seqüència mitocondrial humana respecte a la qual es comparen totes les altres (seqüència d'Anderson et al.), i correspon a l'haplogrup H2a2a:

- Els **polimorfismes** en el mtDNA es designen mitjançant un número i una lletra. El número indica la posició del nucleòtid en la CRS, i la lletra el nucleòtid que ocupa aquesta posició, quan aquest és diferent de la seqüència de referència. Per exemple: **16311 C** (citosina en lloc del nucleòtid en la CRS).
- El nucleòtid original generalment no s'especifica, llevat que resulte d'utilitat. En aquest cas, s'indica abans del número. Per exemple: **T 16311 C**
- Les **delecions** s'indiquen amb el número del nucleòtid desaparegut, seguit d'una D o un signe -. Per exemple: **249D** o **249-**
- Les **insercions** s'especifiquen a partir del nucleòtid anterior que coincideix amb la seqüència estàndard: **16192.1C** indicaria que entre la posició 16192 i 16193 hi ha inserida una C.

Ús forense:

Els marcadors mitocondrials tenen alguns avantatges per al seu ús forense:

- El DNA mitocondrial s'hereta per via materna.

Excepte mutacions, la seqüència en germans i tots els parents materns és idèntica. Igual que succeïa amb el cromosoma Y, aquesta característica es pot utilitzar per identificar persones desaparegudes, quan els parents materns poden aportar mostres de referència amb què comparar el DNA trobat a la font.

- L'elevat nombre de còpies de mtDNA per cèl·lula.

L'anàlisi de marcadors mitocondrials és especialment útil en mostres degradades (ossos i dents) o on no hi haja DNA nuclear (ungles i pèls, sobretot si aquests porten poca o cap arrel).

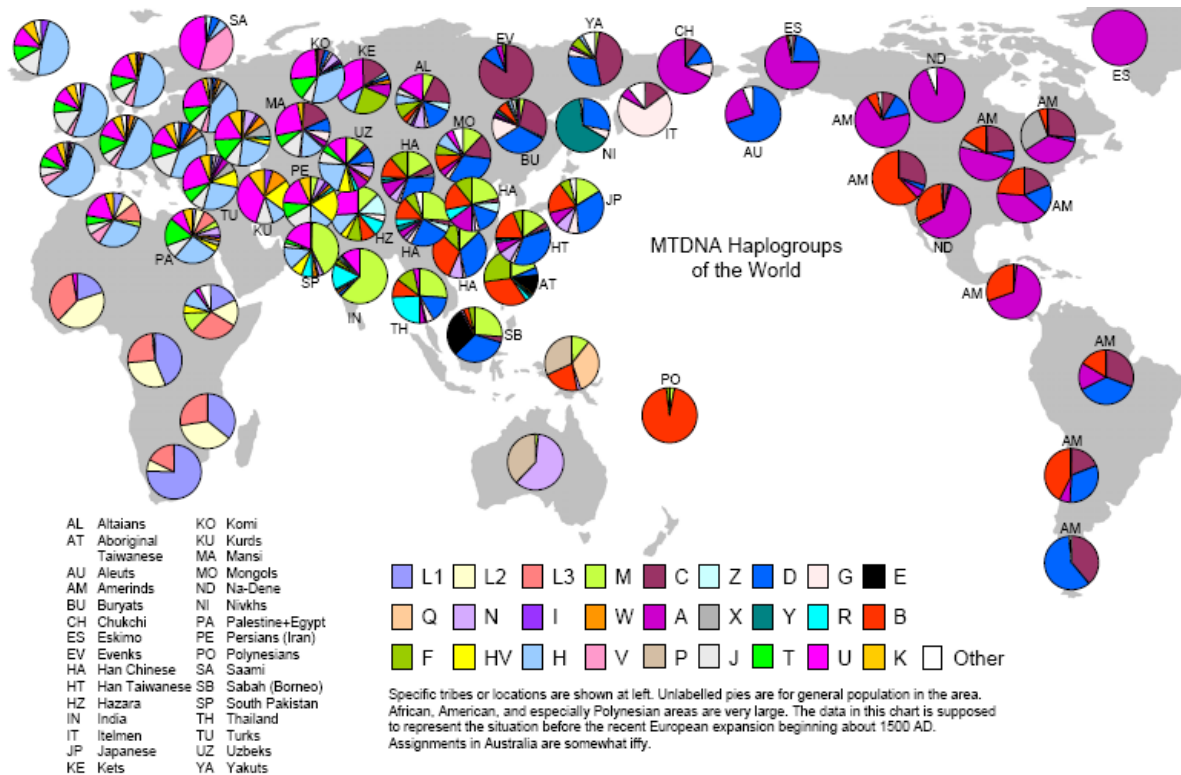
- Pot presentar heteroplàsmia (coexistència de variabilitat al mtDNA d'una mateixa cèl·lula).

Tot i ser un inconvenient, pot ser útil a l'hora d'augmentar l'evidència de parentiu entre dues mostres.

Ús en estudis de migració/evolució humana:

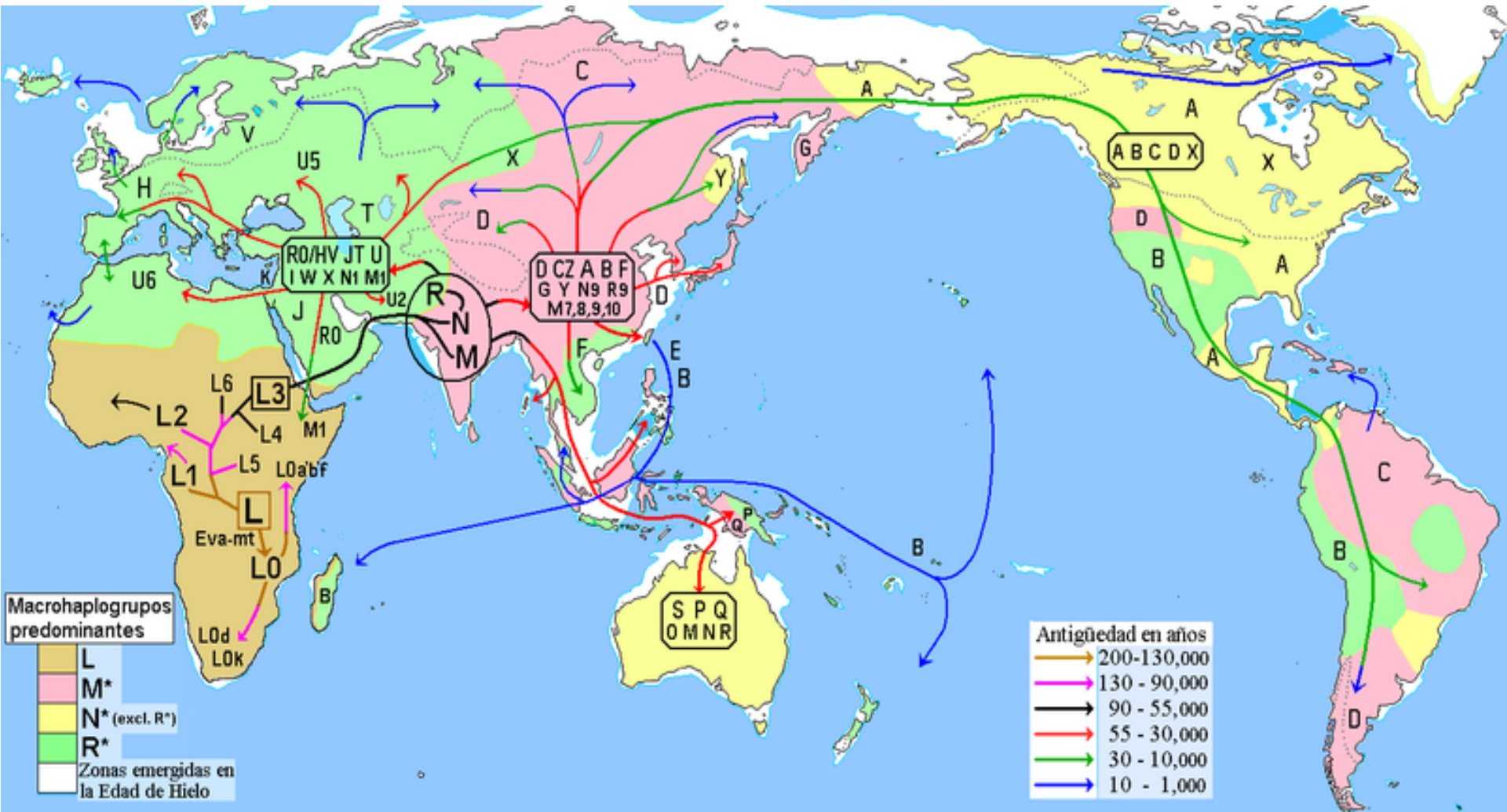
El mtDNA té característiques evolutives especials comparat amb altres loci nuclears:

- Major taxa de mutació (absència de mecanismes de reparació i una DNA polimerasa amb alta taxa d'error).
- Major divergència de seqüència entre espècies diferents.



Les poblacions humanes es poden agrupar en base a l'haplogrup de mtDNA al qual pertanyen.

L'anàlisi de les relacions filogenètiques dels haplogrups del mtDNA permet realitzar estudis de migració de les poblacions humanes, així com estudis evolutius, arribant a la mare Eva mitocondrial.



Ús en estudis de genealogies:

També es pot aplicar a l'estudi de membres desapareguts d'una família, com va passar amb "El cas de la família reial russa". El 1970 es va trobar la tomba en la qual havien estat enterrats els membres de la família reial. L'anàlisi dels ossos, juntament amb l'estudi de loci STR autosòmics, ha indicat que faltaven les restes de l'hereu al tron, Alexei, i d'una de les seves quatre germanes, possiblement Maria o Anastàsia.

Table 1. Analysis of complete mtDNA sequences: Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) found throughout the entire mitochondrial genome sequence retrieved from the remains N146 (putative Alexei), N147 (putative Maria), N7 (putative Empress Alexandra Feodorovna), and distant Queen Victoria maternal line relatives

NN	SNP position	CS	N 146	N146 em ⁺	N 147	N 7	V1	V2	Frequency	Location
1	263	A	G	G	G	G	G	G	0.997	D-loop
2	315.1	—	C	C	C	C	C	C	0.961	D-loop
3	524.1	—	A	A	A	A	A	A	0.014	D-loop
4	524.2	—	C	C	C	C	C	C	0.014	D-loop
5	750	A	G	G	G	G	G	G	0.992	12S rRNA
6	1438	A	G	G	G	G	G	G	0.969	12S rRNA
7	3010	G	A	A	A	A	A	A	0.203	16S rRNA
8	4137	C	T	T	T	T	T	T	0.001	ND1
9	4769	A	G	G	G	G	G	G	0.989	ND2
10	8860	A	G	G	G	G	G	G	0.998	ATPase6*
11	15326	A	G	G	G	G	G	G	0.994	Cytb*
12	16111	C	T	T	T	T	T	T	0.019	D-loop
13	16357	T	C	C	C	C	C	C	0.013	D-loop
14	16519	T	C	C	C	C	C	C	0.597	D-loop

Alexei

María

Alexandra

Parientes

L'anàlisi de les restes trobades en una tomba propera va demostrar que ni Alexei ni la seua germana no havien escapat al magnicidi.