

IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE LA FOSA DEL PEDROCHE

Resumen

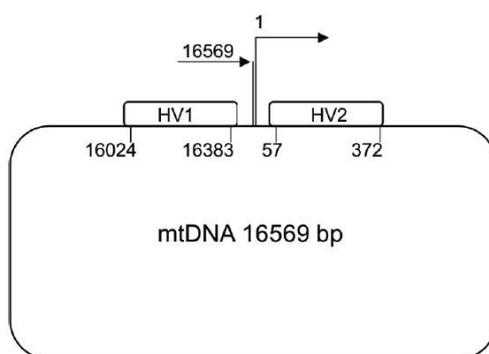
La fosa del Pedroche contenía los restos correspondientes a 2 personas. Un grupo de familiares de los desaparecidos iniciaron el proceso para la exhumación de la fosa con la ayuda del “Equipo técnico Foro por la Memoria”. La dotación genética de los cuerpos se comparó con la de un familiar que buscaba un desaparecido que se sabía con certeza que podría estar en esta fosa. La comparación del ADN mitocondrial de los cuerpos de la fosa y del familiar permitió la identificación del desaparecido.

Introducción

El ADN mitocondrial (mtDNA) se transmite íntegramente de madre a hijos y por lo tanto, su secuenciación es una técnica muy apropiada para demostrar relaciones de parentesco entre personas del mismo linaje matrilineal. La comparación directa de dos dotaciones mitocondriales mediante el software adecuado es habitualmente suficiente para demostrar o excluir el vínculo familiar.

El mtDNA se refiere a una secuencia estándar o de referencia, conocida como la secuencia de Anderson o CRS. El mtDNA tiene un tamaño de 16569 pares de bases, pero para el análisis de identificación mitocondrial sólo se utiliza una zona de unos 1000 pares de bases. Esta zona incluye las dos zonas hipervariables, HV1 y HV2. Estas zonas permiten diferenciar individuos según su linaje matrilineal. Se puede aproximar que dos individuos tomados al azar presentan de siete a ocho diferencias en las zonas hipervariables.

Como muestra la siguiente figura, el mtDNA es un DNA circular al que se le definió la posición 1 en la zona entre HV1 y HV2. Consecuentemente, la zona HV1 está situada al final de la secuencia (16024-16383) mientras que la zona HV2 se localiza al inicio (57-372).



La fosa del Pedroche contenía los restos de dos cuerpos. Los responsables de la exhumación nos entregaron muelas de cada uno de los cuerpos. Las muestras fueron procesadas con el mismo número con que llegaron y se añadió el sufijo PE para facilitar su proceso (PE1 y PE2).

Metodología

Las muestras de la fosa fueron tratadas como se expone a continuación; primero se procedió a eliminar la capa externa de las muestras mediante el uso de una lima acoplada a una taladradora del tipo Dremel. Posteriormente, las muestras se pulverizaron y se guardan separadas de muestras de ADN moderno.

El mtDNA se obtiene a partir de las muestras pulverizadas mediante una variación de los métodos clásicos de extracción de ADN. La extracción se finaliza con el uso de un kit para la purificación de ADN. Paralelamente se analiza el mtDNA de los familiares.

La única muestra de referencia proviene de un familiar con un desaparecido que con toda seguridad está enterrado en la fosa del Pedroche (según información comunicada por los responsables de la exhumación). El familiar se codifica como FPE1. El ADN del familiar y de las muestras de la fosa se analiza mediante PCR con los oligonucleótidos espe cíficos para cada reacción. Las amplificaciones son monitorizadas para evitar contaminaciones y artefactos.

Cuando las amplificaciones se obtienen de manera consistente y reproducible, pasando todos los controles de calidad se llevan al servicio de secuenciación de la UAB. Posteriormente las secuencias se alinean y se comparan junto con las de la secuencia de referencia.

Resultados

Secuenciación del ADN mitocondrial del familiar

La secuenciación de la muestra perteneciente al familiar permitió caracterizar su dotación genética mitocondrial.

FPE1: CRS (desde 16093 a 16399)

El familiar es idéntico a la secuencia de referencia (CRS) en la zona analizada que va desde 16093, al principio de HV1, a 16399, final de HV1.

Análisis de los cuerpos de la fosa. ADN mitocondrial.

La Tabla 2 muestra la secuenciación del ADN mitocondrial correspondiente a los dos cuerpos de la fosa. Sólo se indican las posiciones que presentan cambios respecto de la secuencia de referencia (CRS). La columna de la derecha muestra los emparejamientos.

cuerpo	Perfil (HV1; 16142-16399)	Coincide con
PE1	CRS	FPE1
PE2	16355T, 16363T	

El ADN muestra que el familiar y uno de los desaparecidos, PE1, comparten el mismo perfil genético, lo que implica que probablemente son de la misma familia mitocondrial. El ADN mitocondrial de PE2 es diferente al del familiar, lo que permite excluir este cuerpo. No obstante, el perfil mitocondrial del familiar es tan común que no nos permite incluir inequívocamente a PE1 como cuerpo del desaparecido.

Conclusiones

-El ADN mitocondrial de un cuerpo coincide completamente con el del familiar, mientras que el otro muestra diferencias respecto al familiar. De esta manera se puede excluir con certeza a uno de los dos cuerpos

-Des del punto de vista del ADN mitocondrial el cuerpo PE1 podría ser el del desaparecido que busca la familia de FPE1, pero esta relación no es unívoca ya que este perfil mitocondrial es muy común en Europa. Un análisis complementario, como el estudio del ADN nuclear de los cuerpos y la muestra de referencia, (que aún no está puesta a punto en nuestro laboratorio), podría ayudar a incluir definitivamente el cuerpo PE1.

-La identificación presentada en este informe se apoya en la certeza obtenida de las fuentes orales que permiten asegurar que el desaparecido de FPE1 estaba, sin lugar a dudas, en la fosa del Pedroche. Mediante el descarte mitocondrial de PE2 y la inclusión basada en las fuentes orales, se puede concluir que el cuerpo PE1 es, con un elevado grado de certeza, el desaparecido que se intentaba identificar.

Agradecimientos

Este estudio genético se ha realizado en el laboratorio de identificación genética de la Unidad de Biología Celular y Genética Médica de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) como resultado del acuerdo marco de colaboración firmado entre la Universidad y la Associació per a la Recuperació de la Memòria Històrica de Catalunya (ARMHC).

El Grupo de Identificación Genética de la Autònoma, que pertenece al departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología de la facultad de Medicina, está formado por las profesoras Rosa Miró y Montserrat García, los doctores en Biología Maria Oliver y Pere Puig y la técnica especialista Àngels Niubó. El estudio ha recibido la colaboración imprescindible del Servicio de Secuenciación de la UAB, formado por la Doctora Anna Barceló y Roger Lahoz, técnico especialista del servicio. Igualmente, nuestro grupo quiere agradecer la ayuda recibida por el equipo de Adolf Samper del Servicio de Lámina Fina de la Universitat de Barcelona (UB).

Este estudio se ha podido llevar a cabo con el apoyo incondicional de la UAB y del antiguo DURSI, actualmente Departament d'Innovació, Universitats i Empresa. El vice-rectorado de Investigación y el de Proyectos Estratégicos de la UAB han cofinanciado este trabajo junto con la Direcció General de Recerca de la Generalitat de Catalunya.

Muchas gracias a todas y a todos.

Rosa Miró i Ametller

Montserrat Garcia i Caldés

Pere Puig i Rosell

Catedrática

Catedrática

Doctor en Biología

Dpto. de Biología Celular

Dpto. de Biología Celular

Dpto Biología Celula