

Vrjednovanje i provjera interpretacijskih protokola rada s AmpF ℓ STR[®] Identifier[®] s uzorcima koji sadrže malu količinu izvorne DNA

Cilj Testirati pouzdanost, učinkovitost i reproducibilnost profiliranja kratkih udvojenih sljedova u radu s malim količinama izvorne DNA, rabeći definirani skup parametara za testiranje i interpretaciju rezultata.

Postupci DNA znanih davatelja izmjerena je kvantitativnom polimeraznom lančanom reakcijom (*engl.*, PCR) u realnom vremenu, koja detektira količine manje od 1 pg/ μ L DNA s faktorom varijacije 0,3. Ekstrakti su amplificirani u tri primjerka s pomoću reagenata AmpF ℓ STR[®] Identifier[®], uz pojačanu PCR. Uzorci umnožene DNA nezavisno su ispitani, a aleli potvrđeni koristeći konsenzusni pristup. S obzirom na uočene stohastičke učinke koji su inherentni uzorcima s malom količinom izvorne DNA, razvijeni su interpretacijski protokoli a njihova točnost potvrđena je ispitivanjem više od 800 uzoraka.

Rezultati Amplifikacija 100 pg DNA ili manje dala je reproducibilne rezultate, s očekivanim stohastičkim efektima. Čak i kod količine od 25 pg DNA, detektirano je 92% ili više očekivanih alela, dok su kod manjih količina dobiveni djelomični profili. Iako su kadšto uočeni lažni aleli u repliciranim uzorcima, oni se nisu ponavljali. Kako bi se odgovorilo na pitanje gubljenja alela, smjernice za interpretaciju su posebno stroge kad su u pitanju homozigotni aleli. Zbog povećane heterozigotne neravnoteže, filteri za smetnje strogo su namješteni ali male primjese u smjesi DNA nisu se mogle otkriti. Koristeći se novonastalim interpretacijskim protokolima, točno smo rasporedili 100% alela u više od 107 uzoraka iz slučajeva na kojima smo radili i poslije u još 319 forenzičkih uzoraka.

Zaključak Protokoli i smjernice za interpretaciju koji su ovdje opisani čine testiranje uzoraka s malim količinama DNA pouzdanim i učinkovitim. Uporaba ove metode, ili one koja je verificirana, u sprezi s primjerenim programima kontrole kakvoće, osigurava da se testiranje DNA prilagodi sudskomedicinskim potrebama.