



GOVERNO DE ALAGOAS
SECRETÁRIA DE ESTADO DA SEGURANÇA PÚBLICA
POLÍCIA CIENTÍFICA DO ESTADO DE ALAGOAS



PARECER TÉCNICO

O equipamento analisado genético é utilizado para na análise genética de vestígios biológicos que chegam diariamente a este Laboratório Forense para serem periciados, oriundos de locais de crimes, das Delegacias de Polícia e dos Institutos Médicos Legais (de Maceió e de Arapiraca), onde são coletados de vítimas de mortes violentas, como homicídios, suicídios e acidentes, bem como, de vítimas de crimes sexuais, em sua maioria mulheres e crianças. Por meio do Analisador Genético procede-se à genotipagem do DNA extraído desses vestígios biológicos para que se possa realizar o confronto genético entre os materiais biológicos coletados nas vítimas e nos suspeitos dos crimes, visando elucidar a autoria desses crimes.

De acordo com WATSON *et al* (2006), a compreensão da estrutura e das características do pareamento de bases do DNA e do RNA possibilitou o desenvolvimento de técnicas de hibridização e de sequenciamento, que por sua vez permitiram a análise rápida e detalhada da estrutura e da expressão gênica. Particularidades das atividades das DNA-polimerase, endonucleases de restrição e DNA-ligases viabilizaram o surgimento da técnica da reação em cadeia da polimerase *in vitro*, que permitiu o isolamento de praticamente qualquer segmento de DNA – mesmo de algumas formas pré-históricas de vida – em quantidades limitadas. O sucesso de tais métodos tem sido uma das principais forças propulsoras da biologia molecular nas últimas décadas, assim como, um de seus grandes triunfos.

Os primeiros testes de DNA para a análise da individualidade humana foram desenvolvidos por Alec Jeffreys – professor da Universidade de Leicester, na Inglaterra, que publicou um artigo na revista Nature em 1986, sobre certas regiões do genoma humano que produziam as chamadas impressões digitais do DNA - *DNA fingerprinting*. A partir da descoberta de sequências repetidas do genoma humano, que Jeffreys batizou de VNTRs (Repetições de Número Variável em Tandem), tendo estas, o

comprimento de 400pb a 1000pb, com unidades de repetição de 9 a 30pb que se repetem uma após a outra, denominadas minissatélites¹ (FRANCEZ *et al*, 2016).

As VNTRs são regiões não-codificantes do genoma², isto é, que não são transcritas em RNA e, por conseguinte, não transcrevem proteínas, caracterizam-se por serem altamente polimórficas e hipervariáveis, variando entre os indivíduos de uma população (JEFFREYS *et al*, 1985). Essas sequências são consideradas bons marcadores moleculares utilizados em identificação humana por incluírem um padrão de herança Mendeliana, em que os pais doam alelos aos filhos, sendo a metade dos fragmentos de minissatélites destes, doada pelo pai e a outra metade, pela mãe (JEFFREYS *et al*, 1986).

Apesar de ter seu pioneirismo reconhecido, a técnica do DNA *fingerprinting*, como técnica de identificação humana, apresentava alguns entraves, como a demora na realização dos exames, o alto custo financeiro e a difícil interpretação dos resultados (SANTOS, 2014). Foi com o advento da Reação em Cadeia da Polimerase – PCR (*in vitro*), que a tipagem de DNA teve um significativo refinamento, tendo em vista que, a PCR ocorre por meio de uma reação enzimática que amplifica trechos pré-determinados dos ácidos nucleicos, reproduzindo, a partir de um pequeno fragmento de DNA que se quer amplificar, todo o processo de replicação. Por meio dessa técnica, pequenas quantidades de DNA podem ser amplificadas, incluindo amostras com DNA degradado por fatores diversos (JOBIM, 2005).

Após a descoberta dessa técnica, descobriu-se também um novo tipo de sequências repetitivas do genoma humano: as STR (Repetições Curtas em Tandem). Essas sequências foram denominadas microssatélites (Figura 1), que se caracterizam como regiões hipervariáveis do genoma humano, com cerca de 100 a 400 pb de comprimento, formadas por pequenos fragmentos de DNA não codificante, compostos por 1 a 6pb, sendo amplamente distribuídas em regiões aleatórias de todo o genoma. As STRs se repetem de 5 a 100 vezes em cada *locus* microssatélite³ e possuem um

¹ Sequência de vários nucleotídeos, como por exemplo, (AATGCCGTACTGAGCC)n, repetidas em números diferentes no genoma de cada indivíduo, dando-lhe uma característica única.

² Apenas 2% do genoma humano codificam proteínas que irão definir fenótipos, os outros 98% do genoma humano não codifica proteínas (Molly *et al.*, 2014).

³ Sequências curtas (1 a 6 pb), repetidas em tandem, distribuídas aleatoriamente no genoma dos eucariotos.

grande polimorfismo, motivo pelo qual, esses marcadores⁴ STR possuem um alto poder de discriminação entre os indivíduos, possibilitando uma maior sensibilidade ao exame, quando submetidos à PCR e acoplados a *primers* fluorescentes (MOLLY et al., 2014).

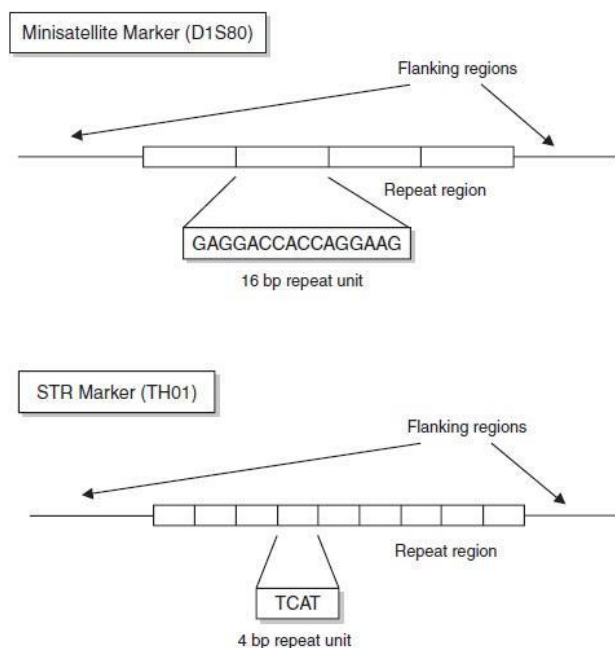


Figura 1 - Representação de sequências de bases nitrogenadas do DNA, apresentando repetições consecutivas de VNTRs e STRs.

Dessa forma, o tamanho reduzido dos STRs, quando comparado aos VNTRs, faz com que eles sejam mais utilizados nas análises de amostras forenses, uma vez que produtos de PCR de menor tamanho têm mais chances de serem amplificados por meio de PCR multiplex - técnica que possibilita a detecção de várias sequências de DNA alvo em uma única reação, apresentando vantagens como rapidez, especificidade e reprodutibilidade na detecção (FRANCEZ et al, 2016).

Após a reação de PCR Multiplex é necessário separar os componentes amplificados de modo a obter um resultado na forma de eletroforegrama. Para tal procede-se a uma eletroforese capilar (CE) no **analisador genético automático**, no qual as amostras são injetadas pelo capilar, que contém **um polímero condutor por meio de aplicação de voltagem**. Essa voltagem faz com que as moléculas

⁴ Sequências de DNA que revelam polimorfismos entre indivíduos geneticamente relacionados

negativas, nomeadamente o DNA e o marcador interno, migrem pelo capilar, do polo negativo (cátodo) para o polo positivo (ânodo). As moléculas de DNA migram de acordo com o seu tamanho, sendo que as moléculas maiores migram mais lentamente que as mais pequenas, atingindo assim a câmara de passagem de laser mais tarde que as moléculas pequenas. Ao atingirem a câmara de passagem de laser, as moléculas marcadas com fluoró cromos, são excitadas por um laser de árgon a 488 nm e emitem fluorescência. Essa fluorescência é então detectada por um aparelho acoplado a uma câmara, sendo esta informação armazenada no software de recolha na unidade RFU (*Relative Fluorescence Units*) (MATOS, 2013).

O equipamento **analisador genético automático que este laboratório possui é o 3500 HID, comercializado no Brasil, apenas pela empresa LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION, conforme consta na carta de exclusividade (número SEI). A empresa LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION comercializa com exclusividade também os insumos para o funcionamento do analisador genético.**

Conforme exposto, a genotipagem de microssatélites autossômicos do tipo STR, com detecção dos produtos de PCR marcados com fluoróforos por eletroforese capilar, é a ferramenta utilizada atualmente nos laboratório de análise forense de DNA no Brasil e no mundo, motivo pelo qual se faz necessária que a manutenção do supracitado analisador genético, seja executada pela empresa **LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION, que conforme carta de exclusividade (número SEI), é a única empresa no Brasil com capacidade técnica de realizar manutenções nos equipamentos da empresa LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION.**

Maceió-AL, 26 de junho de 2024.

Msc BÁRBARA LEÃO DA FONSECA

Perita Criminal

Mestre em Biotecnologia em Saúde

Chefe de Perícias de Biologia e Genética
--

Instituto de Criminalística

Polícia Científica de Alagoas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FBI - Federal Bureau of Investigation. <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis>. Acessado em 11 junho 2017.
2. FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa; RODRIGUES, Eduardo Leal; GARRIDO, Rodrigo Grazinoli. Genética Forense. *In*: DIAS FILHO, Claudemir Rodrigues & FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa. (org). **Introdução à Biologia Forense**. Campinas: Millennium, 2016.
- 14 JEFFREYS, Alec; WILSON V.; THEIN S. L.; WEATHERALL, D. J.; PONDER, B. A. J. **DNA “Fingerprints” and segrestion analysis of multiple markers in human pedigrees**. Annual Journal of Human Genetics, v. 39, p. 11-24, 1986.
- 15 JOBIM, Luiz Fernando; COSTA, Luís Renato da Silveira; Silva, Moacyr da. **Identificação Humana**. Campinas: Millennium, 2005
- 16 MATOS, Sara Mulas Sá de, **Identificação genética humana: Estudo de novos marcadores genéticos do tipo STR e InDel**. Dissertação de Mestrado em Biologia Molecular em Saúde, Escola Superior em Saúde. Almada, 2013.
- 17 MOLLY, Fitzgerald-Hayes.; Reichsman, Frieda. **DNA and Biotechnology**. 3. ed. San Diego: Elsevier. 2014.
- 18 PACHECO, Ana Cláudia. **Emprego de mini-STRs “non-CODIS” em amostras biológicas de DNA forense**. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, 2010.
- 19 RODRIGUES, Eduardo Leal.; FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa.; GARRIDO, Rodrigo Grazinoli. Genética Forense. *In*: DIAS FILHO, Claudemir Rodrigues & FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa. (org). **Introdução à Biologia Forense**. Campinas: Millennium, 2016.
- 20 WATSON, James D.; BAKER, Tania A.; BELL, Stephen P.; GANN, Alexander; LEVINE, Michael; LOSICK, Richard. **Biologia Molecular do Gene**. Tradução: Luciane Passagli, Rivo Fischer. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.