

BIOTECNOLOGIA

Prof. Kennedy Ramos

UNIDADE 04: Investigação Criminal e Teste de Paternidade

Conceitos Básicos

Na espécie humana, o material genético é diplóide e se localiza nos núcleos das células constituindo 23 pares de cromossomos e nas mitocôndrias (apenas de origem materna). Os gametas, elementos haplóides, apresentam 23 cromossomos. Na fertilização, com a união de um espermatozóide e um óvulo, o número diplóide da espécie é reconstituído na célula ovo. Assim, sem exceção, nos indivíduos da espécie, cada progenitor contribui com 23 cromossomos na formação de cada um dos seus descendentes. Como os cromossomos são elementos formados por ácido desoxi-ribonucleico (DNA), observa-se, na espécie humana, que o DNA é herdado quantitativa e qualitativamente, na proporção de 50%, de cada um dos progenitores.

Polimorfismos no DNA Humano

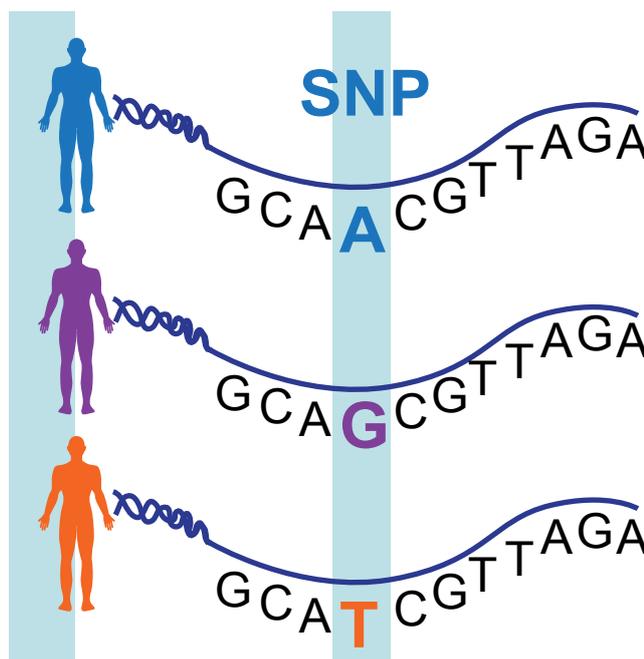
A variação genética ou polimorfismo mais comum encontrada na espécie humana é o chamado Polimorfismo de Nucleotídeo único ou SNP (single nucleotide polymorphism). Essas diferenças são importantes para investigação criminal ou teste de paternidade. Além do Polimorfismo único, no Genoma humano existem regiões variáveis ou polimorfismos caracterizadas por apresentarem sequências nucleotídicas repetidas em conjunto ou "in tandem".

Estas observações levaram à constatação da ocorrência de um Polimorfismo de Tamanho de Fragmentos de Restrição ("RFLP-restriction fragment length polymorphisms"). São polimorfismos que podem ser clivados por enzimas de restrição.

Quando as repetições tem mais de 8 a mais 50 bases, chamamos de VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) ou número variável de repetições em conjunto. Todos esses polimorfismos são exclusivos de cada indivíduo, mas são herdados 50% do pai e 50% da mãe

Investigação Criminal com DNA

Para a análise de DNAs preparados a partir de sangue ou sêmen desidratados, ossos, bulbo capilar, saliva, pele, esfregaços anal, oral ou vaginal, por exemplo, são requeridas ampliações por PCR (Reação em cadeia da polimerase) para a amplificação do DNA. Assim, é observado mundialmente o emprego da tipagem humana por DNA como instrumento adicional importante na produção de provas relacionadas com ações de investigação de paternidade, maternidade, crimes sexuais e homicídios, por exemplo, tornando-se de relevante importância para os poderes judiciário e executivo.

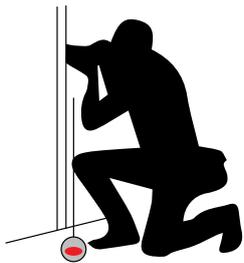


Nos dias atuais, o emprego desta tecnologia é amplo em processos que envolvem material biológico como evidência, visto que, devido ao seu alto poder discriminativo, é possível vincular ou não suspeitos a diversos tipos de crimes.

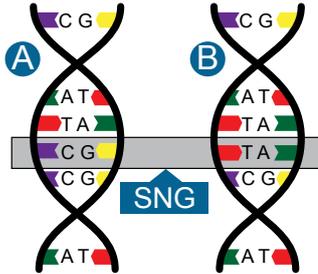
Existem diversas técnicas de DNA para a investigação Criminal, mas sempre procuram polimorfismos no DNA que diferenciam um indivíduo do outro.

Como funciona a técnica para detectar a cor do cabelo

1 O bandido deixa alguns rastros de seu DNA no local do crime, como um pouco de saliva ou uma gota de sangue

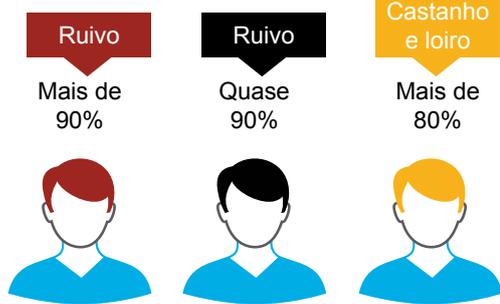


2 Os pesquisadores vasculham o DNA à procura de um conjunto específico de SNPs (pronuncia-se “snips”, trocas de uma só letra química de genes)



3 Dependendo do conjunto de SNPs, os cientistas conseguem atribuir ao DNA as seguintes cores de cabelo, com precisão de:

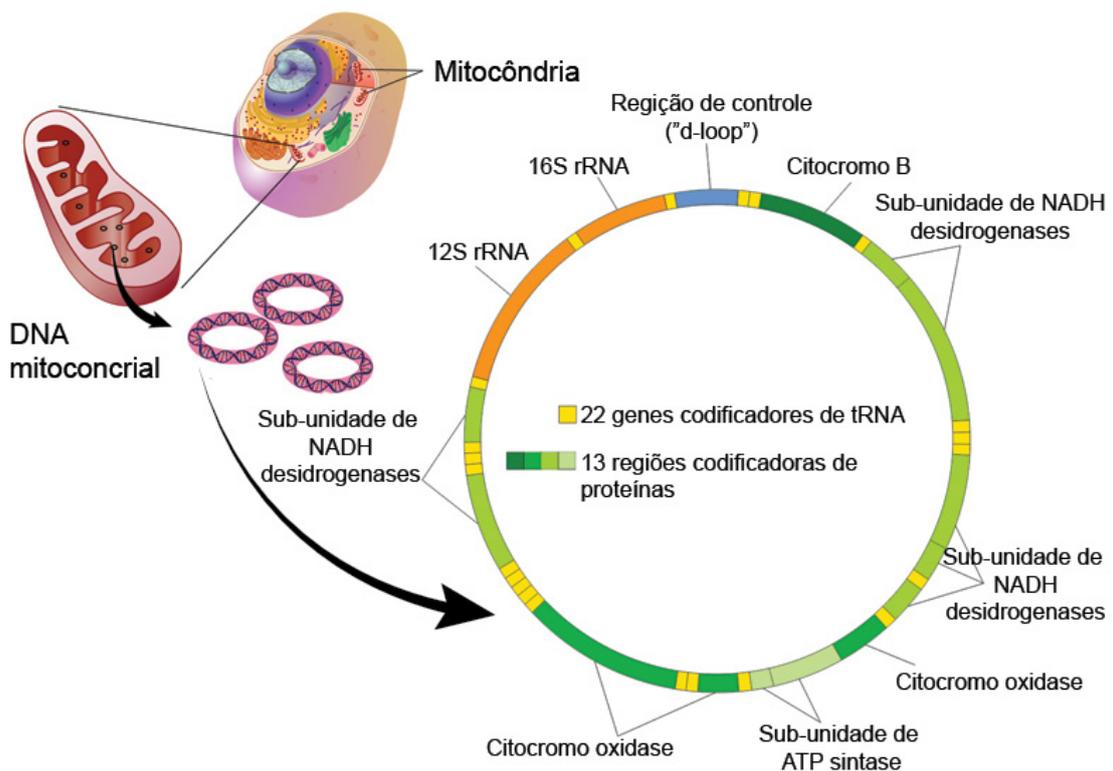
O método também consegue distinguir mudanças de cor, como o loiro-escuro ao ruivo com tons de loiro



DNA mitocondrial (DNAm)

O DNA mitocondrial é circular e é uma herança exclusivamente materna. A molécula contém 16.569 pares de bases e foi completamente sequenciado por Anderson e colaboradores em 1981. Através desta mais recente metodologia, um indivíduo pode ser identificado através da comparação do seu DNA mitocondrial com aqueles de seus parentes genéticos maternos. Investigações através deste tipo de DNA consistem em sequenciar e comparar as regiões hipervariáveis HVI e HVII do DNA mitocondrial de evidências biológicas e de indivíduos referências à luz do conhecimento da sequência padrão publicada por Anderson e colaboradores.

A análise do DNA mitocondrial é a metodologia de escolha para a identificação humana a partir de ossos e dentes obtidos de restos humanos antigos, investigações criminais onde as únicas evidências são pelos sem bulbos ou quando somente DNA altamente degradado é obtido de evidências biológicas. A metodologia é ainda utilizada em estudos antropológicos e evolutivos.



É proibida a reprodução, total ou parcial, deste material

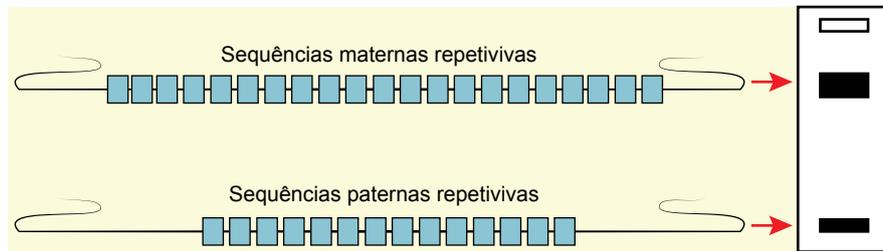
Teste de Paternidade

O teste de DNA, chamado de DNA *fingerprint* ou impressão digital genética, fornece um grau de confiabilidade bastante alto, ultrapassando 99,9% de certeza em seu resultado. Devido a isso, esse teste é muito empregado na determinação de paternidade e na resolução de crimes.

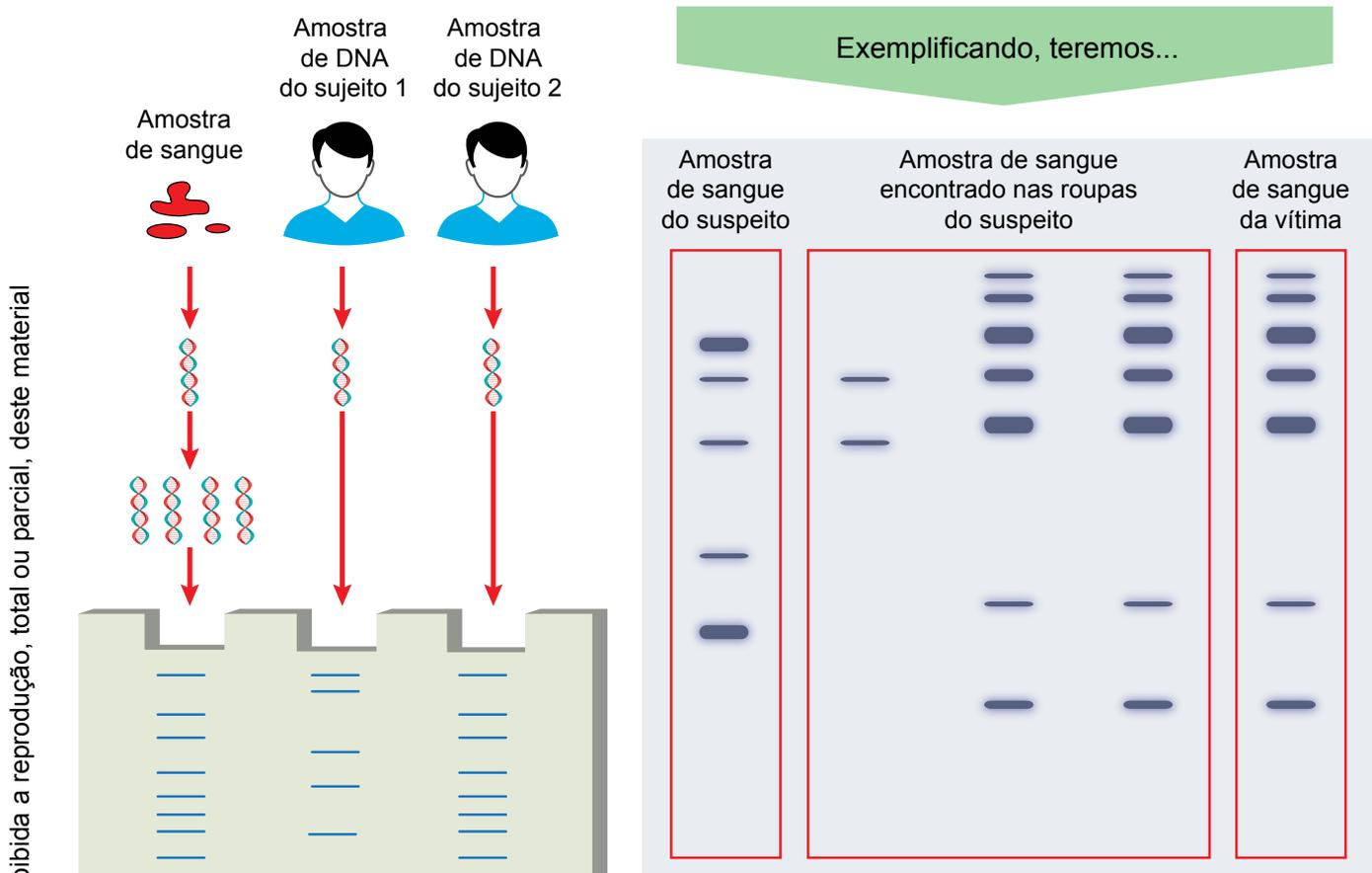
Quando amostras de DNA são obtidas através de pêlos, sangue, pedaços de pele, esperma etc., é possível o isolamento do DNA utilizando enzimas de restrição. Após o uso das enzimas, o DNA fica fragmentado, ou seja, separado em pequenos pedacinhos. Em seguida, esses pequenos pedaços são separados em um processo chamado de eletroforese, que utiliza corrente elétrica. Após o término da eletroforese, um equipamento que utiliza luz ultravioleta e corante específico traduz a imagem do DNA, que então poderá ser estudada pelos pesquisadores.

As faixas observadas são únicas para cada pessoa e por isso ela é chamada de impressão digital de DNA ou impressão digital genética.

No genoma humano existem sequências curtas de DNA, com algumas dezenas de pares nucleotídeos, que se repetem ao longo de trechos da molécula de DNA, sendo o número de repetições destas sequências variável de pessoa para pessoa. Estas sequências, chamadas **VNTR's** (número variável de repetições em sequência, do inglês variable number of tandem repeats), são reconhecidas e cortadas por determinadas enzimas de restrição. Estas enzimas dividem o DNA em fragmentos de VNTR's cujas dimensões, dependendo do número de repetições, variam de pessoa para pessoa e refletem as diferenças entre os alelos dos vários loci.



Estes fragmentos de DNA movimentam-se de modo diferente devido o tamanho, quando submetidos a eletroforese, e o resultado é um padrão de bandas que difere de indivíduo para indivíduo.



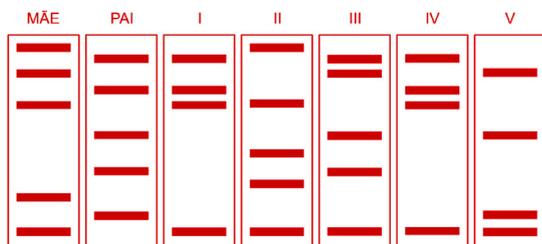
É proibida a reprodução, total ou parcial, deste material



ATIVIDADES PROPOSTAS



01. (Pucrj) A figura abaixo representa o resultado de um teste de paternidade. Este teste baseia-se na identificação de marcadores genéticos compartilhados ou não por pai, mãe e filhos:



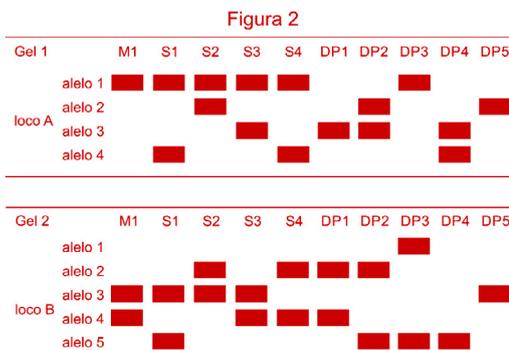
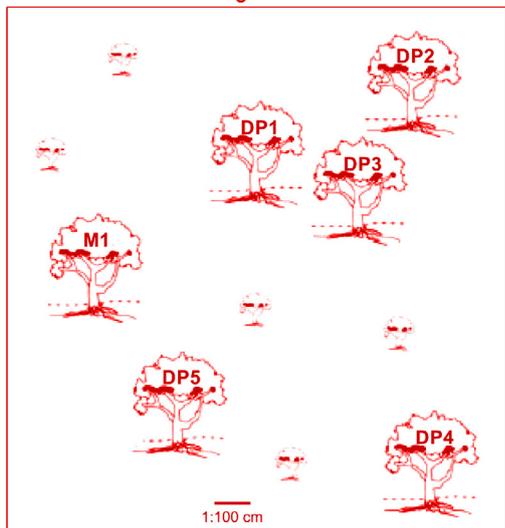
Considerando a figura, NÃO é correto afirmar que:

- a) I é filho biológico do casal.
- b) V não pode ser filho biológico deste casal.
- c) II não é filho deste pai.
- d) III é irmão biológico de I.
- e) IV e I são irmãos gêmeos monozigóticos.



02.(Ufu) Na figura 1 considere um fragmento com uma árvore matriz com frutos (M1) e outras cinco que produziram flores, sendo consideradas apenas provedoras de pólen em potencial (DP1, DP2, DP3, DP4 e DP5). Foi excluída a capacidade de autopolinização da árvore. Os genótipos das matrizes, sementes (S1, S2, S3 e S4) e prováveis fontes de pólen foram obtidos pela análise de dois locus (loco A e loco B) de marcadores, amostrados em perfil eletroforético para os locus (Figura 2). Aqueles indivíduos que apresentarem uma banda (alelo) no gel são considerados homocigotos para tal locus. Aqueles que apresentarem duas bandas (alelos diferentes) são heterocigotos.

Figura 1



Qual foi a doadora de pólen para a progênie S2?

- a) DP2.
- b) DP1.
- c) DP5.
- d) DP4.



03. (Unifor) “Conhecer o padrão desses mosaicos genéticos pode ajudar no tratamento e diagnóstico de doenças e até em investigações policiais”.

Revista Época, outubro/2013.

Analizando o texto, pode-se inferir que:

- a) Uma vez que o mosaicismo pode surgir a partir de mutações espontâneas que determinadas células sofrem, conclui-se que a maioria das variações será do tipo maligna.
- b) Uma vez que o mosaicismo pode surgir a partir de mutações espontâneas que determinadas células sofrem, essas variações serão mais fáceis de diagnosticar.
- c) Uma vez que o mosaicismo pode ocorrer antes da separação das células germinativas, a mutação será diagnosticada em 50% da prole, enquanto os outros 50% serão normais.
- d) Uma vez que o mosaicismo acarreta num indivíduo células com material genético diferente, as doenças desse padrão poderão ser estudadas através de sequências nucleotídicas do indivíduo afetado.
- e) Uma vez que o mosaicismo acarreta num indivíduo células com material genético diferente, será possível que alguém vá preso porque uma mutação o torna parecido com o de um criminoso.



04. Leia o texto a seguir referente às aplicações das técnicas moleculares da genética.

Marcadores moleculares podem ser utilizados com grande eficiência para identificar e inibir a comercialização ilegal de produtos. Existem kits de identificação de diferentes espécies baseados na análise de polimorfismos de DNA de genes mitocondriais e nucleares.

É proibida a reprodução, total ou parcial, deste material



A vantagem desses é que podem ser obtidos a partir de material processado e industrializado, que não permitiria a identificação de outra maneira. Assim, é possível identificar com sucesso camarão descascado e congelado, salgado e seco ao sol (como o do acarajé) e em lata. Outro exemplo seria o de peixes brasileiros, como o mero (*Epinephelus itajara*), cuja carne é frequentemente vendida como se fosse garoupa (*Epinephelus marginatus*), devido a sua semelhança. Isso torna possível que órgãos de fiscalização ambiental identifiquem, facilmente e sem ambiguidade, o material apreendido.

Essa identificação de espécies é possível, pois:

- a) a sequência que contém o sítio de restrição não variável é amplificada, o produto é incubado com uma enzima de restrição qualquer e posteriormente testado em gel, para verificar se houve o corte.
- b) é possível caracterizar moléculas de DNA por meio do padrão eletroforético de fragmentos gerados pela digestão com enzimas de restrição, produzindo uma impressão molecular única para todos os indivíduos de uma espécie.
- c) os polimorfismos de DNA podem ser analisados pela digestão de amostras de DNA genômico com a enzima de restrição relevante e pela identificação de fragmentos de restrição específicos, cujos tamanhos representam alelos.
- d) polimorfismos de DNA se constituem em um conjunto de marcadores numerosos e distribuídos por todo o genoma, permitindo a construção de mapas físicos, por enzimas de restrição, embora sua localização genética não possa ser determinada.
- e) um pequeno número de sequências de reconhecimento para enzimas de restrição é conhecido, porém muitos polimorfismos de mutação de DNA serão caracterizados pelos alelos que possuem.



05. (Ufrgs) Uma das técnicas atualmente utilizadas para analisar casos de paternidade civil é o emprego de marcadores de microssatélites. Os microssatélites são repetições de trechos de DNA que ocorrem em número variável na população. O número de repetições é transmitido geneticamente. A análise de microssatélites foi utilizada em um teste de paternidade. A tabela abaixo apresenta os resultados relativos ao número de repetições encontradas para a mãe, para o suposto pai e para o filho, em diferentes locos.

Amostras de acordo com o número de repetições	Mãe	Suposto pai	Filho
Locos			
1	12 ; 13	9 ; 14	13 ; 14
2	32 ; 35	29 ; 32	35 ; 35
3	8 ; 10	10 ; 12	10 ; 10
4	7 ; 9	6 ; 9	7 ; 7
5	12 ; 14	11 ; 12	12 ; 14
6	15 ; 17	15 ; 15	15 ; 15
7	18 ; 22	17 ; 19	21 ; 22

Com base nos dados apresentados na tabela, é correto afirmar que

- a) apenas um indivíduo, pela análise, é homocigoto para o loco 6.
- b) os locos 2, 4 e 7 excluem a possibilidade de paternidade do suposto pai.
- c) o filho é heterocigoto para a maioria dos locos analisados.
- d) a mãe referida não é mãe biológica deste filho.
- e) os locos 1 e 3 excluem a possibilidade de paternidade do suposto pai.



ATIVIDADES ENEM



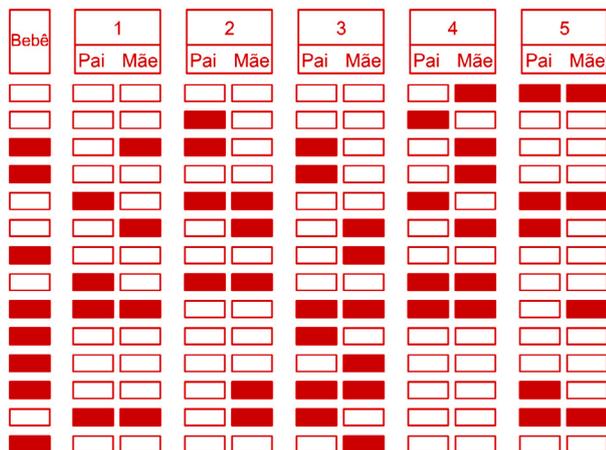
06. (MODELO ENEM) Para a identificação de um rapaz vítima de acidente, fragmentos de tecidos foram retirados e submetidos à extração de DNA nuclear, para comparação com o DNA disponível dos possíveis familiares (pai, avô materno, avó materna, filho e filha). Como o teste com o DNA nuclear não foi conclusivo, os peritos optaram por usar também DNA mitocondrial, para dirimir dúvidas. Para identificar o corpo, os peritos devem verificar se há homologia entre o DNA mitocondrial do rapaz e o DNA mitocondrial do(a):

- a) pai.
- b) filho.
- c) filha.
- d) avó materna.
- e) avô materno.



07. (MODELO ENEM) Cinco casais alegavam ser os pais de um bebê. A confirmação da paternidade foi obtida pelo exame de DNA.

O resultado do teste está esquematizado na figura, em que cada casal apresenta um padrão com duas bandas de DNA (faixas, uma para cada suposto pai e outra para a suposta mãe), comparadas à do bebê.



Que casal pode ser considerado como pais biológicos do bebê?

- a) 1
- b) 2
- c) 3
- d) 4
- e) 5.



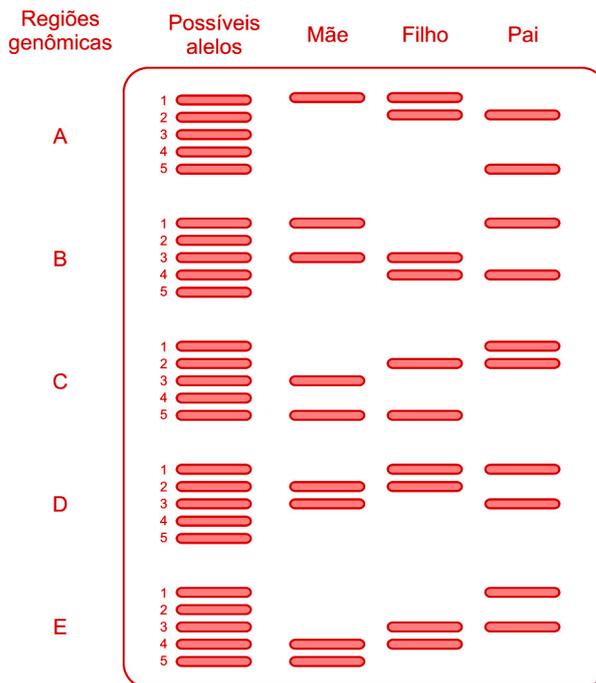
08. (MODELO ENEM) Assim como ocorre em animais, o teste de DNA pode ser utilizado para a identificação da paternidade de árvores. Quando os pais de uma árvore juvenil são identificados em uma floresta, é possível calcular a distância entre pais e filhos. As distâncias percorridas pelo pólen e pela semente que deram origem ao juvenil correspondem, respectivamente, à distância entre.

- a) a mãe e o juvenil e entre o pai e o juvenil.
- b) a mãe e o juvenil e entre o pai e a mãe.
- c) o pai e o juvenil e entre a mãe e o juvenil.
- d) o pai e a mãe e entre o pai e o juvenil.
- e) o pai e a mãe e entre a mãe e o juvenil.



09. (MODELO ENEM) Na investigação de paternidade por análise de DNA, avalia-se o perfil genético da mãe, do suposto pai e do filho pela análise de regiões do genoma das pessoas envolvidas. Cada indivíduo apresenta um par de alelos, iguais ou diferentes, isto é, são homocigotos ou heterocigotos, para cada região genômica.

O esquema representa uma eletroforese com cinco regiões genômicas (classificadas de A a E), cada uma com cinco alelos (1 a 5), analisadas em urna investigação de paternidade:



Quais alelos, na sequência das regiões apresentadas, filho recebeu, obrigatoriamente, do pai?

- a) 2,4,5,2,4.
- b) 2,4,2,1,3.
- c) 2,1,1,1,1.
- d) 1,3,2,1,3.
- e) 5,4,2,1,1.



10. (MODELO ENEM) Uma vítima de acidente de carro foi encontrada carbonizada devido a uma explosão. Indícios, como certos adereços de metal usados pela vítima, sugerem que a mesma seja filha de um determinado casal. Uma equipe policial de perícia teve acesso ao material biológico carbonizado da vítima, reduzido, praticamente, a fragmentos de ossos. Sabe-se que é possível obter DNA em condições para análise genética de parte do tecido interno de ossos. Os peritos necessitam escolher, entre cromossomos autossômicos, cromossomos sexuais (X e Y) ou DNAm (DNA mitocondrial), a melhor opção para identificação do parentesco da vítima com o referido casal.

Sabe-se que, entre outros aspectos, o número de cópias de um mesmo cromossomo por célula maximiza a chance de se obter moléculas não degradadas pelo calor da explosão.

Com base nessas informações e tendo em vista os diferentes padrões de herança de cada fonte de DNA citada, a melhor opção para a perícia seria a utilização:

- do DNAm_t, transmitido ao longo da linhagem materna, pois, em cada célula humana, há várias cópias dessa molécula.
- do cromossomo X, pois a vítima herdou duas cópias desse cromossomo, estando assim em número superior aos demais.
- do cromossomo autossômico, pois esse cromossomo apresenta maior quantidade de material genético quando comparado aos nucleares, como, por exemplo, o DNAm_t.
- do cromossomo Y, pois, em condições normais, este é transmitido integralmente do pai para toda a prole e está presente em duas cópias em células de indivíduos do sexo feminino.
- de marcadores genéticos em cromossomos autossômicos, pois estes, além de serem transmitidos pelo pai e pela mãe, estão presentes em 44 cópias por célula, e os demais, em apenas uma.



GABARITOS

QUESTÃO 01: Gabarito: [B]

Comentário: O indivíduo V é filho biológico do casal, porque os registros de seus segmentos de DNA coincidem com o referido casal.

QUESTÃO 02: Gabarito: [A]

Comentário: Dado que a planta matriz (M1) contribuiu com os alelos 1 e 3, a doadora de pólen para a progênie S2, fornecedora dos alelos 2, dos locos A e B foi a DP2.

QUESTÃO 03: Gabarito: [D]

Comentário: Os mosaicismos genéticos podem ser detectados em indivíduos afetados por doenças genéticas através de suas sequências nucleotídicas diferenciais, em relação aos indivíduos normais e não portadores.

Questão 04: Gabarito: [C]

Comentário: A identificação genômica das espécies é possível porque estas possuem em seu material genético sequências denominadas polimorfismos que podem ser obtidos pela hidrólise do DNA por enzimas de restrição.

Questão 05: Gabarito: [B]

Comentário: Os locos 2, 4 e 7 excluem a possibilidade de paternidade pelos supostos pais porque seus microssatélites não aparecem no filho, cuja paternidade é discutida.

Questão 06: Gabarito: [D]

Comentário: Os peritos devem verificar se há homologia entre o DNA mitocondrial do rapaz e o DNA mitocondrial de sua avó materna. As mitocôndrias são organelas herdadas pela linhagem matrilinear, por meio do citoplasma do óvulo.

Questão 07: Gabarito: [C]

Comentário: O casal 3 pode ser considerado como pais biológicos do bebê, devido às coincidências de suas bandas de DNA com o pai e a mãe.

Questão 08: Gabarito: [E]

Comentário: As distâncias relativas percorridas pelo pólen e pela semente permitem estimar as distâncias, respectivamente, entre a planta pai e a planta mãe, bem como a distância desta com a planta jovem.

Questão 09: Gabarito: [B]

Comentário: O perfil eletroforético de bandas do DNA revela que o filho herdou, obrigatoriamente, do pai, as sequências 2, 4, 2, 1 e 3 das regiões genômicas A, B, C, D e E, respectivamente.

Questão 10: Gabarito: [A]

Comentário: O DNA mitocondrial é o mais indicado para ser usado nesse caso. Como uma única célula pode conter várias mitocôndrias, esta pode fornecer várias cópias de um único cromossomo.

REFERENCIAL TEÓRICO

GRIFFITHS, A.J.F. et al. Introdução à Genética. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 9ª ed., 2010.

SNUSTAD, D.P. e SIMMONS, M.J. Fundamentos de genética. 2º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 200.

GARDNER, E. J. e SNUSTAD, D.P. Genética. 7º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 1986

BURNS, G. W. e BOTTINA, P. J. Genética 6º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan,

STANFIELD, W. D. Genética 2º ed. Editora Mc Graw - Hill.

JUNIOR, C.S.; SASSON, S.; JUNIOR, N.C. Biologia VOL 1 – 9° Ed. São Paulo, Saraiva, 2010.

JUNIOR, C.S.; SASSON, S.; JUNIOR, N.C. Biologia VOL 2 – 9° Ed. São Paulo, Saraiva, 2010

LOPES, S.; ROSSO, S.; BIO volume 2. 1. Ed. São Paulo: Saraiva, 2010.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 1: Biologia das Células 2. Ed. São Paulo: Moderna, 2004.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 1: Biologia das Células 2. Ed. São Paulo: Moderna, 2010.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 2: Biologia dos Organismos 3. Ed. São Paulo: Moderna, 2004.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 2: Biologia dos Organismos 3. Ed. São Paulo: Moderna, 2010.

LINHARES, S.; GEWANDSZNAJDER, F.; Biologia, volume único 1. Ed. São Paulo: Ática, 2011.

DOS SANTOS, F.S.; VICENTIN, J.B; DE OLIVEIRA, M.M.A. Ser Protagonista- Biologia (ensino médio) – Vol 2. 1° edição, São Paulo, Edições SM, 2010.