



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

DISCIPLINA DE GENÉTICA

A composite image illustrating forensic genetics. It features a human skull in the upper left, a colorful DNA double helix structure in the upper right, and a forensic scientist in a white lab coat working at a computer workstation in the lower right. The background is dark with a blue and purple glow.

**Genética Forense:
estudo de casos**

Prof^a. ILÍADA RAINHA DE SOUZA - BEG

CIÊNCIA FORENSE

PERÍCIA CRIMINAL

À Procura da Verdade

- A idéia de que **a verdade** está presente na **perícia** vem pelo fato desta, estar buscando, de forma *imparcial*, a **dinâmica**, a **materialidade** e a **autoria de um fato criminoso** por meio de exames e análises sempre fundamentadas em *conceitos e conhecimentos científicos reconhecidos*.

A cada dia que passa, as ações criminosas são atos complexos e organizados, o que demanda um trabalho bastante elaborado na obtenção e interpretação das provas, que são essenciais e indispensáveis para as sentenças judiciais.



Áreas da Perícia Criminal



Há necessidade de uma

INTERDISCIPLINARIEDADE

entre todas as áreas da Ciência Forense



Qual a Função da perícia?

É **processar os vestígios e indícios**, interpretando-os, resultando na elaboração do **laudo pericial** que dará suporte ao processo de investigação criminal e à denúncia do Ministério Público.

Atualmente, o testemunho e a confissão não são considerados tão próximos da verdade quanto à **prova material**. Não é à toa que a prova pericial é reconhecida como a **rainha das provas** e grande companheira na defesa dos direitos humanos.

Áreas da Perícia Criminal





- Os Crimes Ambientais possuem uma natureza complexa e multidisciplinar, exigindo a atuação conjunta de profissionais de diversas áreas afins.
- Essa equipe trabalha integrada na elaboração da prova material de crimes contra o meio ambiente, como desmatamento, incêndios florestais, poluição, extração mineral irregular, tráfico de animais silvestres (criação e comercialização destes), além de crimes contra o patrimônio histórico e artístico.



ANÁLISE CROMOSSÔMICA

Quem executa estes estudos e os demais,
na nossa realidade?

Biólogos;

Bioquímicos-farmacêuticos;

Engenheiros agrônomos, florestais, etc.



Brasília

Florianópolis



**SECRETARIA DE ESTADO DE SEGURANÇA
PÚBLICA E DEFESA DO CIDADÃO**



Frente do Instituto Geral de Perícias



Instituto Geral de Perícias



SANTA CATARINA

"Ex Probatione Oritur Veritas"

"Da Prova Nasce a Verdade"



Instituto de
Criminalística

IC

Instituto
Médico
Legal

IML



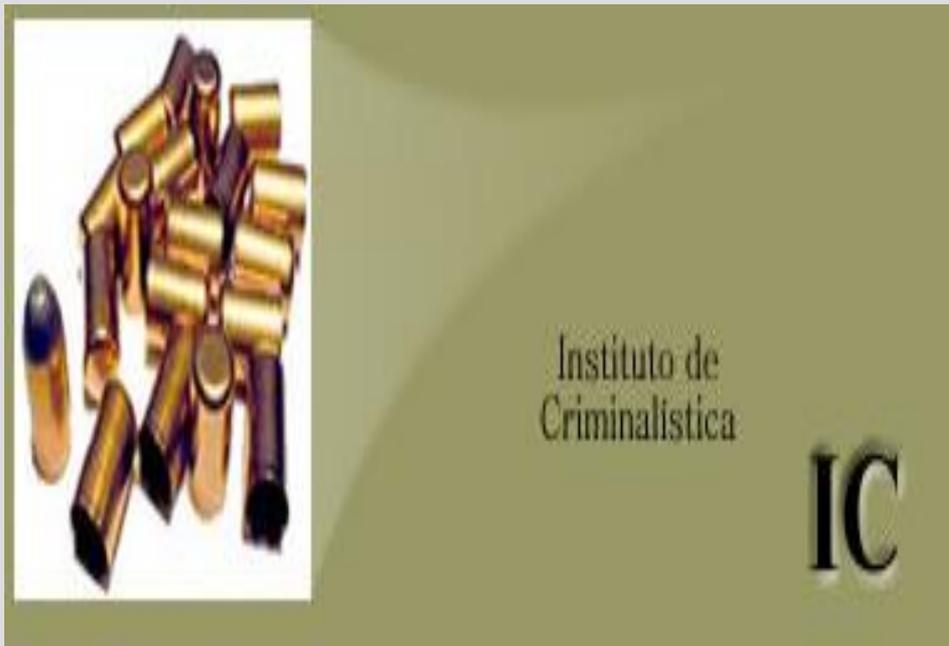
Instituto de
Análises
Laboratoriais

IAL

II

Instituto de
Identificação

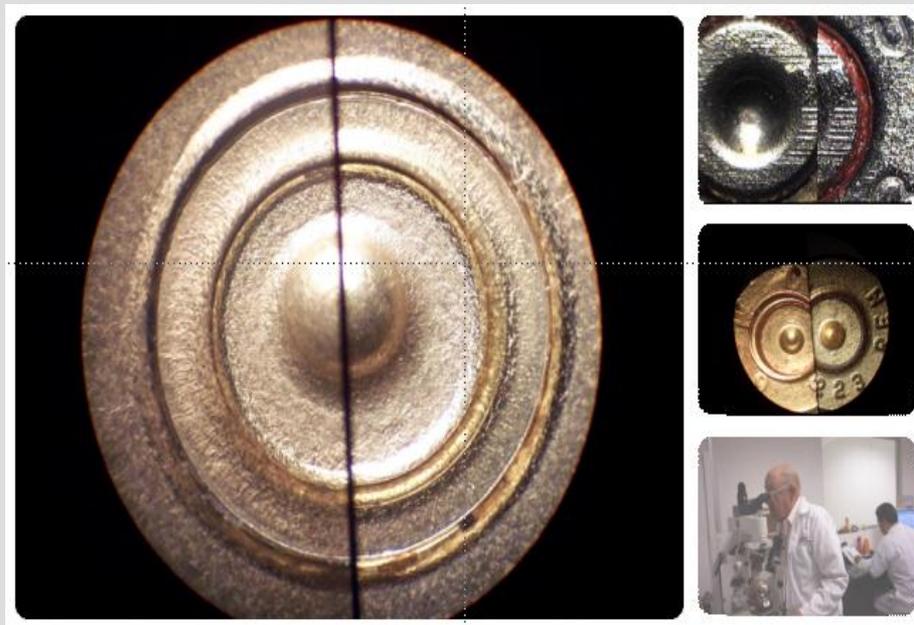




- BALÍSTICA
- DOCUMENTOSCOPIA
(grafotecnia)
- AUDIO VISUAL E ELETRÔNICOS

Balística forense.

- Ela é responsável por analisar as armas de fogo, os elementos que compõem as munições e os **efeitos dos disparos**.



INSTITUTO DE CRIMINALÍSTICA (IC)



Microscópio comparador balístico

INSTITUTO DE IDENTIFICAÇÃO (II)



MEDICINA LEGAL



Realização do exame de necrópsia

IML

Instituto
Médico
Legal



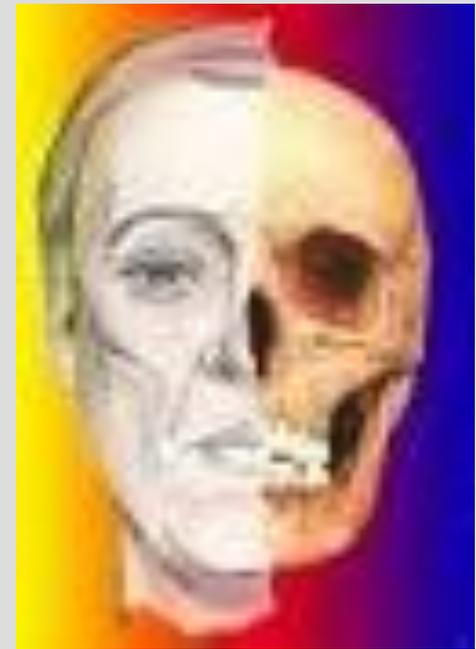
**Traumatologia
Toxicologia
Antropologia Forense
Psicologia e Psiquiatria
Forense**



INSTITUO MÉDICO LEGAL (IML)

- **ODONTOLOGIA LEGAL**

pesquisa de fenômenos físicos, químicos e biológicos que podem atingir ou ter atingido o homem vivo, morto ou ossada, e mesmo fragmentos ou vestígios de ossos da face e dentes.





- Química forense
- Análise de Sangue e Esperma
- Genética Forense



Química Forense



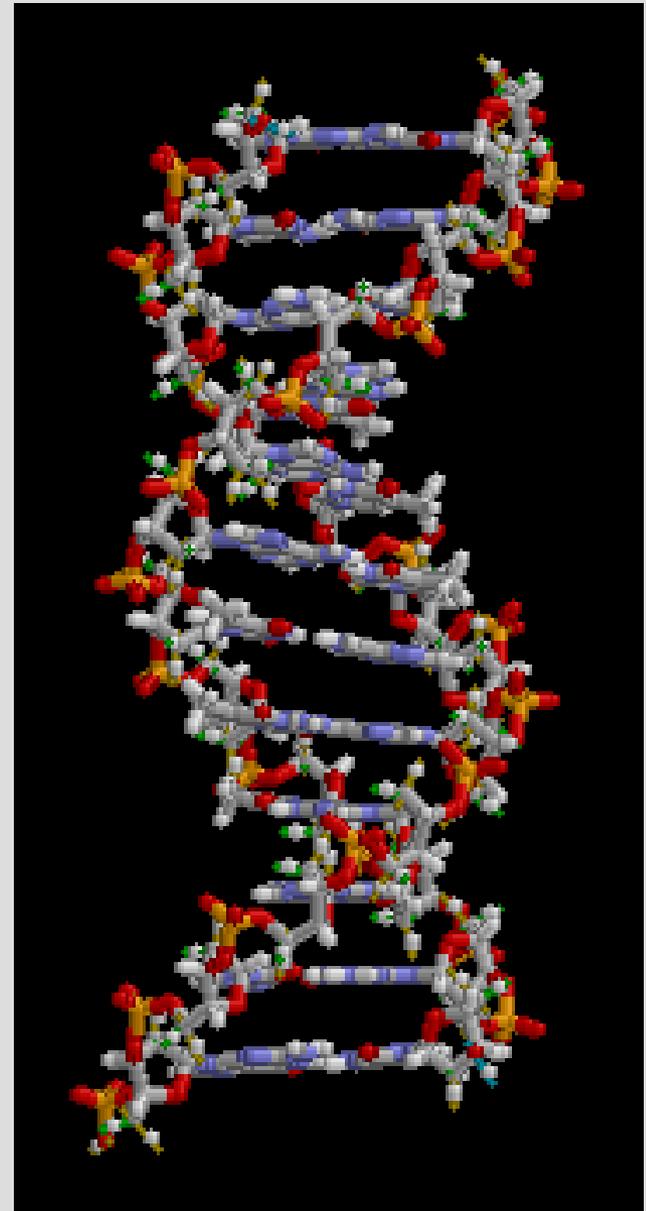
- Análise Toxicológica
- Dosagem Alcoólica
- Drogas *in natura*
- Inflamáveis

Genética Forense



Análise de **DNA**: o DNA tem sido uma das mais modernas e eficientes ferramentas à disposição da perícia na elucidação de crimes.

- fio de cabelo com ou sem bulbo,
- osso putreficado,
- manchas com material biológico, são evidências a serem utilizadas pelo perito no exame de DNA.



INSTITUTO DE ANÁLISES LABORATORIAIS (IAL) (Laboratório de Genética Forense)



IGP-SC

- Quando acontece um crime,
que procedimentos se seguem até a
análise de DNA?



VALORIZAÇÃO DA EVIDÊNCIA NO LOCAL

1º ISOLAMENTO DO LOCAL DE CRIME (PM e PC)

2º AÇÃO DO PERITO CRIMINAL

-HABILIDADE E EXPERIÊNCIA : RECONHECIMENTO DA IMPORTÂNCIA DE DETERMINADA EVIDÊNCIA

-CORRETO MANUSEIO E COLETA DA EVIDÊNCIA



HÁ NECESSIDADE DE UMA EDUCAÇÃO
CONSTANTE DE POLICIAIS, PERITOS E CIDADÃOS

Vestígios biológicos susceptíveis de tipagem por DNA

Sangue e mancha de sangue
Saliva (com células nucleadas)
Sêmen e mancha de sêmen
Osso
Dente
Cabelo com raiz
Haste do cabelo
Urina
Fezes
Material sob a unha
Tecido muscular
Toco de cigarro
Selo postal
Aba de envelope
Impressão digital

Artigos pessoais: lâmina de barbear, chiclete, boné, toca de meia-calça, relógio de pulso, tampão de ouvido, escovas de dente e cabelo.



MAS AFINAL,

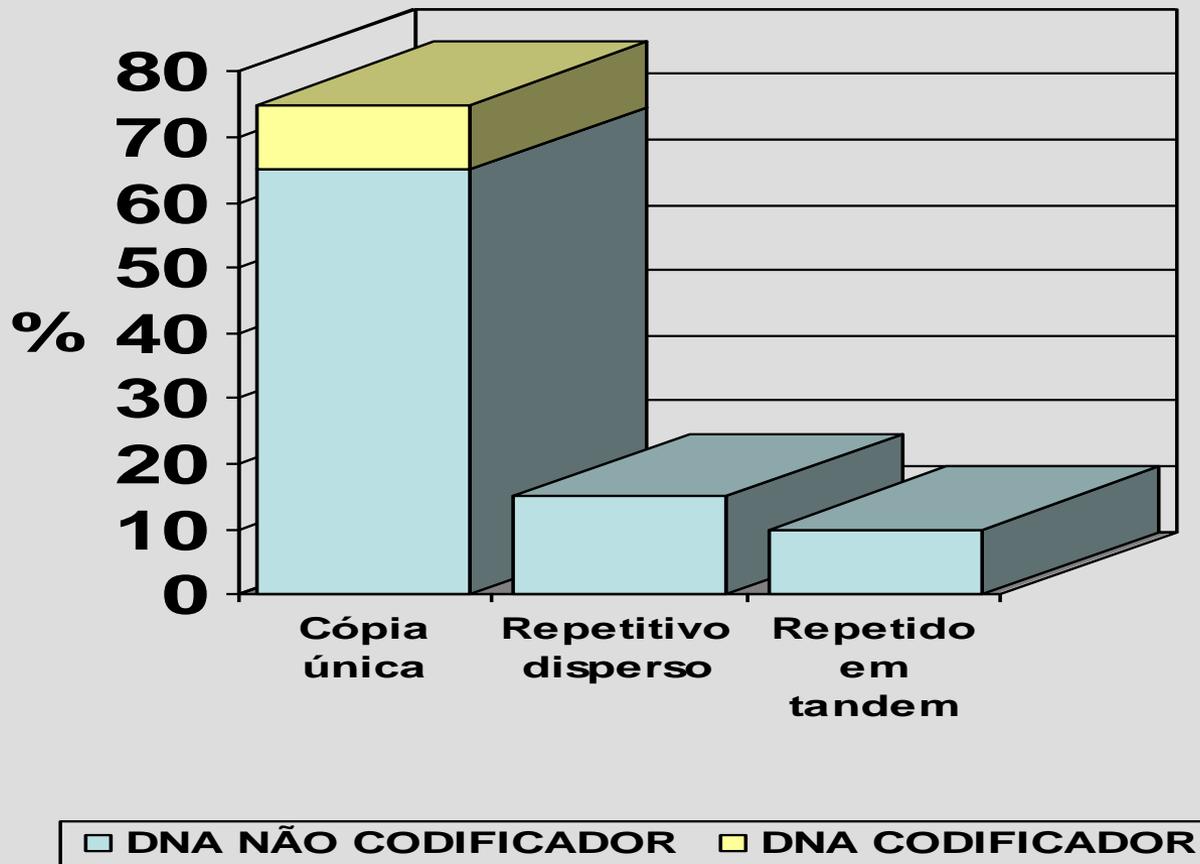
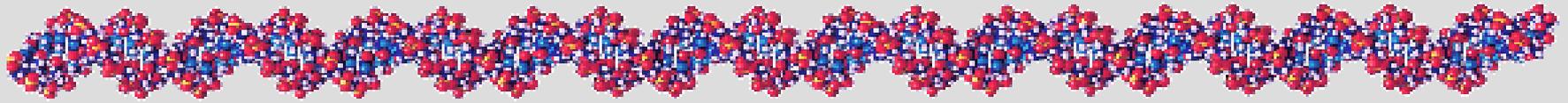
O QUE IDENTIFICAR E ANALISAR ?

Human Genome Project



Em relação à seqüência de pares de bases, o que observaram ?

Tipos de DNA Genômico



Em relação às seqüências de pares de bases, ENTRE OS INDIVÍDUOS, o que observaram ?

Indivíduos compartilham ~ 99,5 % das seqüências, já que somos da mesma espécie.

Nas regiões de variabilidade, ocorrem polimorfismos (variações na seqüência de DNA, alelos com freq. = ou > 1% na população).

CLASSES DE POLIMORFISMOS DE DNA

1- Polimorfismo de seqüência - SNP (SINGLE NUCLEOTIDE)

-----AGACTAGACATT----- INDIVÍDUO 1
-----TCTGATCTGTAA-----

-----AGATTAGACATT----- INDIVÍDUO 2
-----TCTAATCTGTAA-----

Onde este polimorfismo tem sido estudado na análise forense ?

LOCALIZAÇÃO EXTRANUCLEAR DO DNA

DNA mitocondrial

- O genoma mitocondrial é constituído por moléculas circulares de DNA, que estão presentes em cópias múltiplas por organela.
- Nos casos em que não é possível a identificação utilizando-se DNA nuclear, pode ser usado DNA mitocondrial (fios de cabelo sem bulbo, ossos antigos).

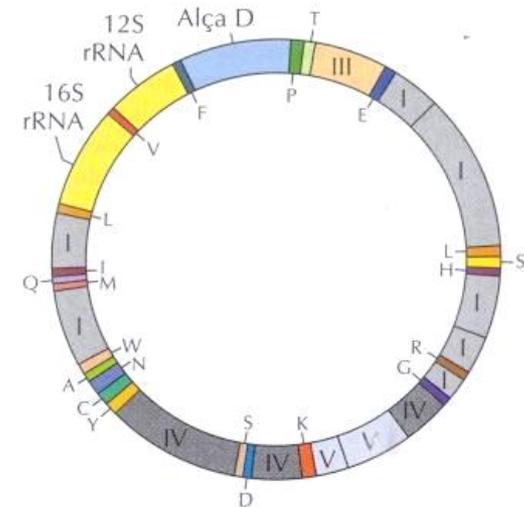


Figura 10.3

O genoma mitocondrial humano possui 13 seqüências codificadoras de proteínas identificadas como componentes dos complexos respiratórios I, III, IV ou V. Além disso, contém os genes para os rRNAs 12S e 16S e para os tRNAs 22S, identificados com o código de uma letra para o aminoácido correspondente. A região do genoma identificada como "alça D" possui uma origem de replicação e seqüências promotoras de transcrição.

VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DE mtDNA

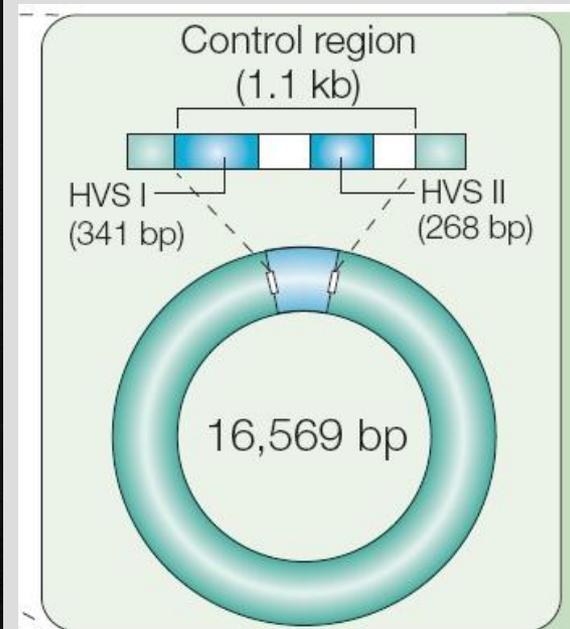
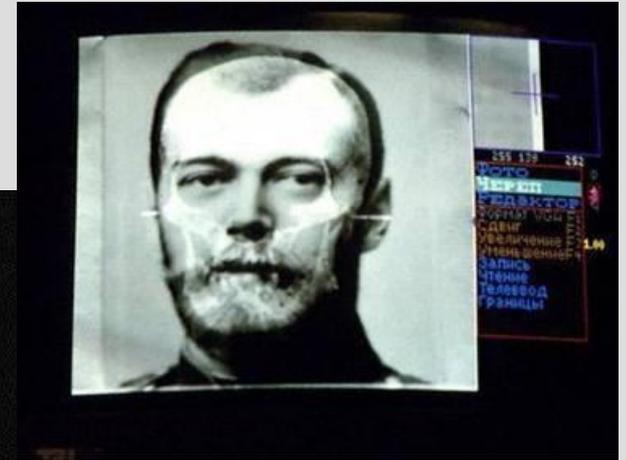
- Herança materna (matrilinhagem)
- Taxa de mutação 5 vezes maior que DNA nuclear
- Há uma média de 8 e 15 mutações dentro das regiões hipervariáveis (HV1 e 2) entre indivíduos de origem europeia e africana, respectivamente.
- Ausência de recombinação.
- Homoplasma (comum) e heteroplasma (rara).
- Grande número de cópias por células (10.000).
- Encontrado em fios de cabelo sem bulbo, escovas de dentes (tragédia do World Trade Center usou-se mtDNA).
- Uso em Antropologia devido à baixa degradação (Ex.: Neandertal, múmias, família do Czar Nicholas II-esposa e filhas,...)
- Sequenciamento é baseado na referência de Anderson *et al.*, disponível na rede.

Budowle *et al.*, Annual Review of Genomics and Human Genetics, Sep 2003, Vol. 4, pp. 119-141.

CASOS FAMOSOS RESOLVIDOS COM O USO DE mtDNA



Caso Romanov



Caso Romanov



Referência:

Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, Hagelberg E, Sullivan K. "Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis." **Nature Genetics**, 1994, Feb,6(2):130-5.

- **Nicolau II** foi o último czar russo. Foi assassinado em 1918 durante a revolta bolchevique, juntamente com toda a sua família (a mulher e 5 filhos), 3 criados e o médico da corte.
- O local onde estavam os corpos permaneceu desconhecido até 1991, época em que se desenterraram de uma vala vários corpos que se suspeitavam ser da família real russa e assim peritos forenses os tentaram identificar.

Caso Romanov



- Foram recuperados e reconstituídos 9 esqueletos. Utilizaram-se métodos computacionais para fazer a reconstituição facial a partir dos crânios, verificando-se parecenças assombrosas com fotos do czar e da czarina Alexandra.
- Os esqueletos mostravam que tinha existido uma morte violenta e os dentes continham traços de materiais usados em tratamentos dentários associados com a realeza.
- No entanto nesta vala apenas foram encontrados os corpos de 3 crianças e nenhuma delas de sexo masculino. Ficavam assim por encontrar os corpos do príncipe Alexei e como veio mais tarde a verificar-se da filha mais nova do Czar, Anastásia.

Caso Romanov



- Para identificar os corpos e verificar que pertenciam a pessoas da mesma família recorreu-se à análise do **DNA mitocondrial** (mtDNA) - verifica-se diferenças muito grandes entre 2 pessoas que não estejam relacionadas por laços de consangüinidade, pelo contrário, quando as pessoas provém da mesma família.
- Verificou-se que os corpos das 3 crianças e de um dos adultos do sexo feminino estavam estreitamente relacionados.
- O duque de Edimburgo, sobrinho-neto da czarina forneceu a amostra de DNA que permitiu confirmar a identificação da Czarina Alexandra e das 3 filhas.

Caso Romanov

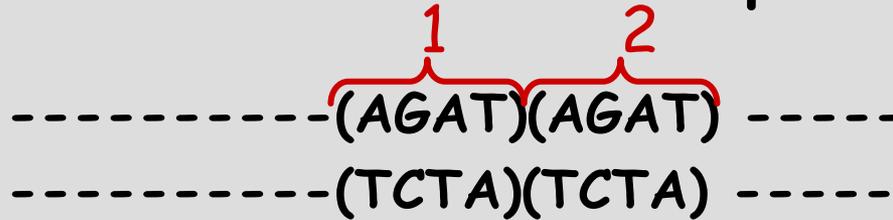


- Todos eles tinham a mesma sequência na região analisada no mtDNA (D-Loop).
- A identificação do Czar deu mais trabalho. Tikhon Kulikovsky, o sobrinho do czar recusou-se a ceder uma amostra do seu DNA como represália por o Reino Unido não ter dado asilo aos Romanov após a revolução (o estudo genético estava sendo feito por peritos ingleses) e a exumação do gran-duque Georgij não era possível por razões políticas e financeiras.
- A identificação foi feita analisando o DNA de parentes distantes, não tendo a igreja ortodoxa russa ficado convencida do resultado.
- Finalmente em 1994 o gran-duque Georgij foi exumado, e o seu DNA analisado, permitindo identificar, inequivocamente, o czar Nicolau Romanov.

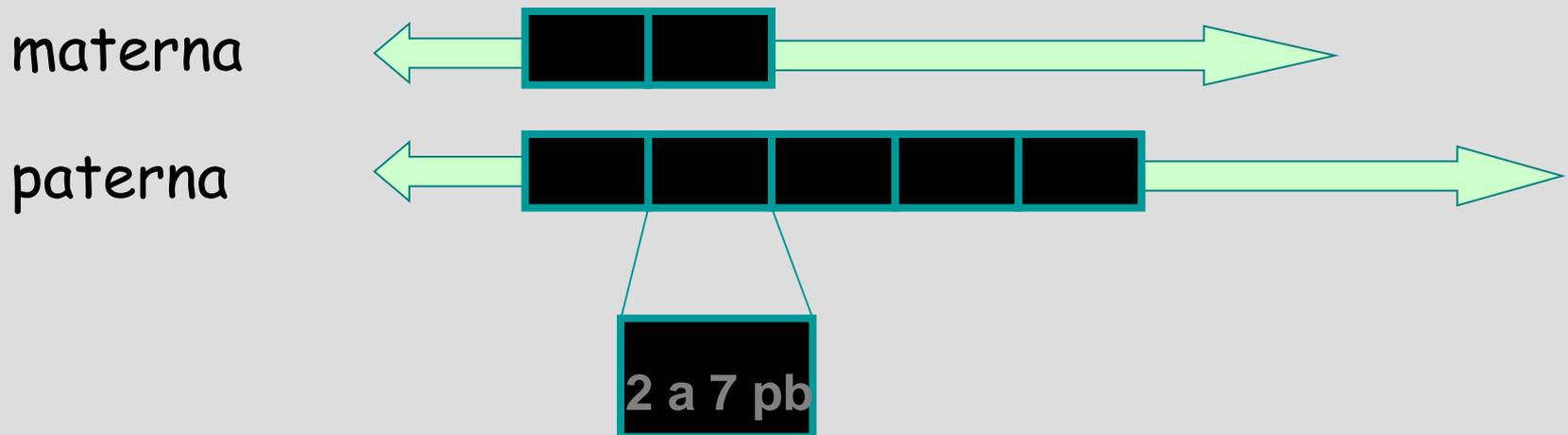
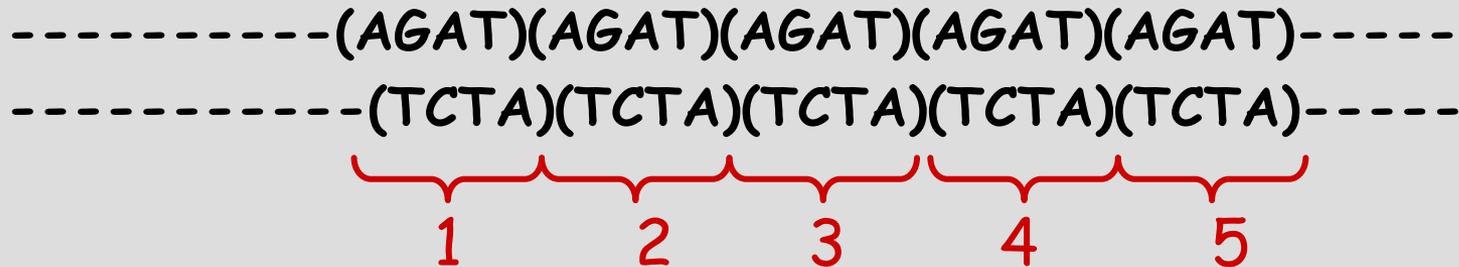
CLASSES DE POLIMORFISMOS DE DNA

1- Polimorfismo de seqüência - SNP (SINGLE NUCLEOTIDE)

2- Polimorfismo de comprimento



MICROSSATÉLITES



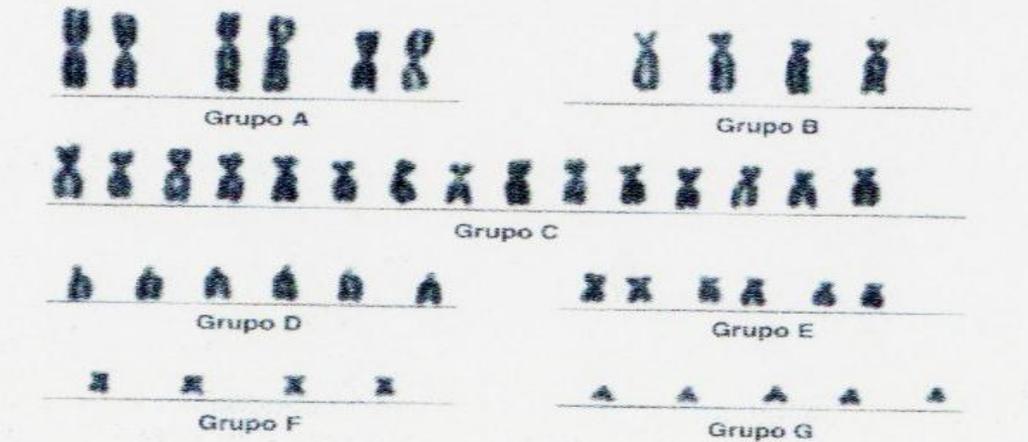
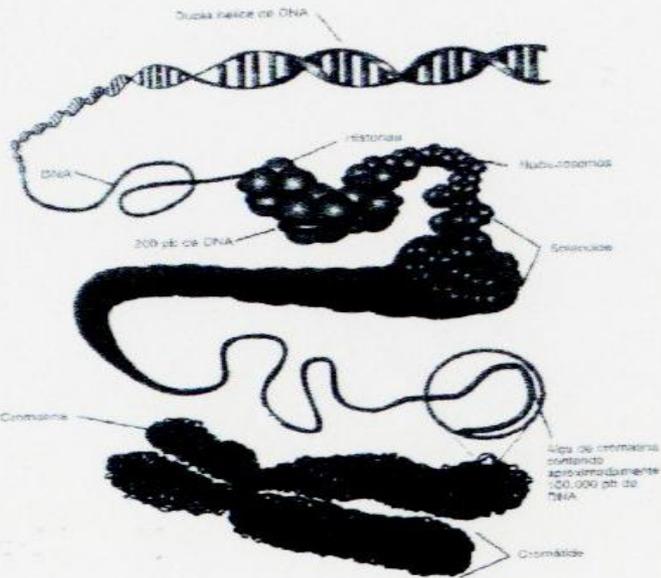
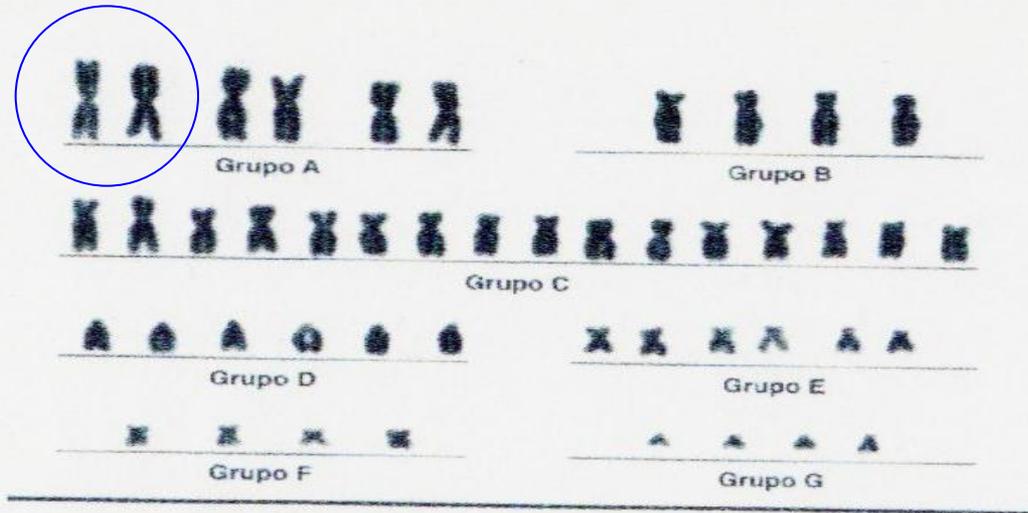
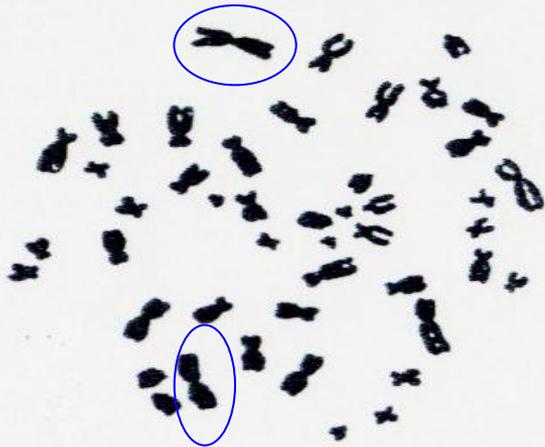
CLASSES DE POLIMORFISMOS DE DNA

DNA REPETIDO EM TANDEM (DNA SATÉLITE) :

São repetições aglomeradas em alguns pontos do cromossomo (em tandem).

- **Microssatélites** : de apenas 2 a 7 pb, que se repetem até algumas dezenas de pb.
- **Minissatélites** : de 7 a 70 pb , que se repetem até alguns milhares de pb.
- **(Alfa-)satélites** : cerca de 70 A 170 pb, que podem se estender por milhões de pb.

CROMOSSOMOS HUMANOS



46 moléculas de DNA por núcleo celular

F13B GenBank Sequence
(Accession M64554)

```

5'
1  TAACTGTAAT  ATTTGCTACA  ACGTTAATAA  CCAAATTGTT
   ATTGACATTA  TAAACGATGT  TGCAATTATT  GGTTTAACAA

   |----->
41  TATGAGGTGG  TGTACTACCA  TATTTGAACA  TGTGCTCAAA
   ATACTCCACC  ACATGATGGT  ATAAACTTGT  ACACGAGTTT

81  TATTGTTAAA  GAGACACAAT  TAAAGAAAGA  ATGACCCTTG
   ATAACAATTT  CTCTGTGTTA  ATTTCTTTCT  TACTGGGAAC

121  GAATTTTATT  TAATTTTATT  TATTTATTTA  TTTATTTATT
   CTTAAAATAA  ATTAAAATAA  ATAAATAAAT  AAATAAATAA

   1 2 3 4 5 6 7
   8 9 10
161  TATTTATTTA  TTTAGAGACA  GAGTCTTGCT  CTGTGCCCA
   ATAAATAAAT  AAATCTCTGT  CTCAGAACGA  GACAGCGGGT

   3 2 1
201  GCCTAGAGTG  CAATGGCATG  ATCTTGGCTC  ACTGCAATTT
   CGGATCTCAC  GTTACCGTAC  TAGAACCGAG  TGACGTTAAA

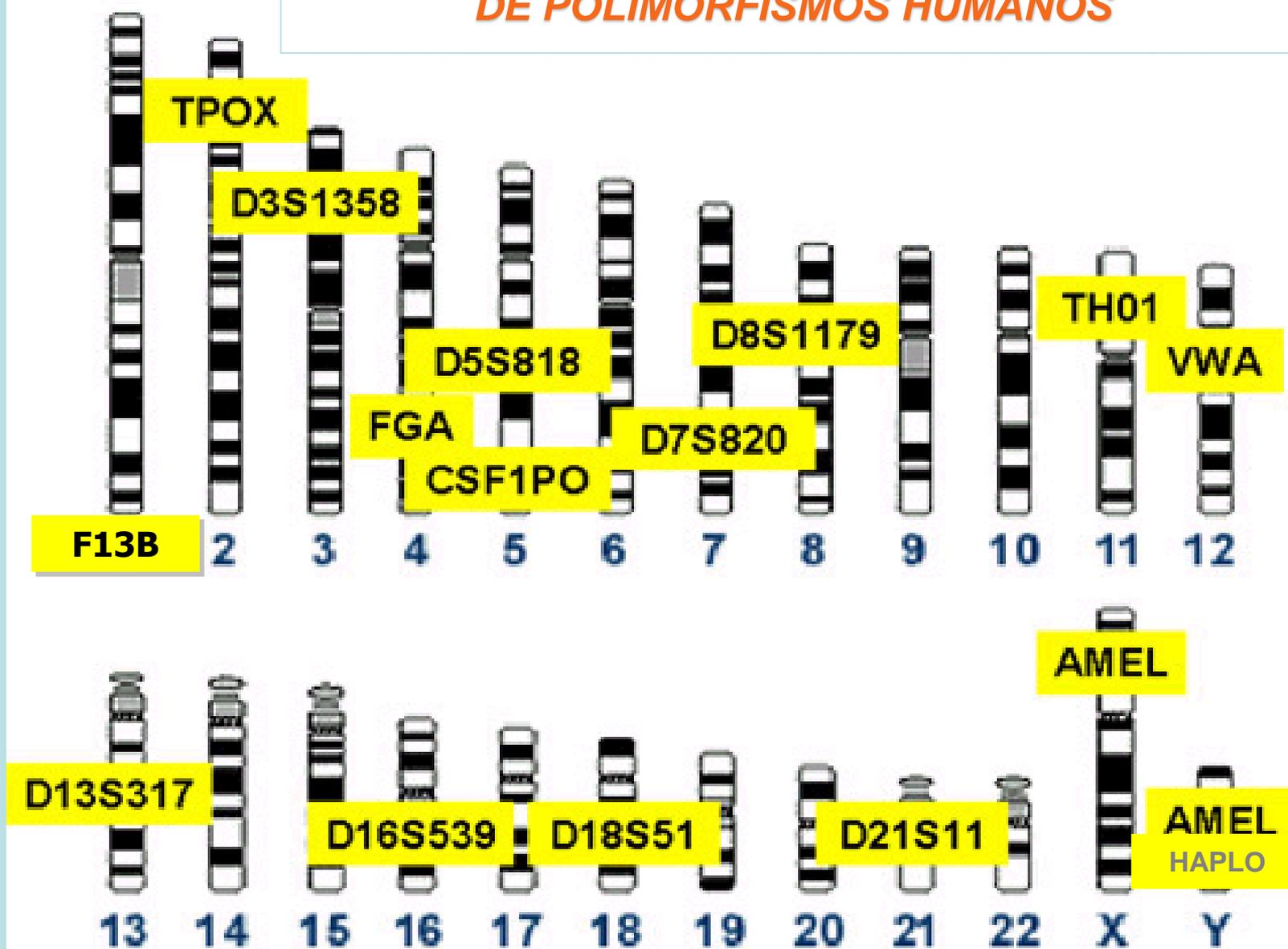
   <-----|
241  TTGCCTCCCG  GGTTC AAGCA  ATTCTCCTTC  CTCAGCCTTC
   AACGGAGGGC  CCAAGTTCGT  TAAGAGGAAG  GAGTCGGAAG

281  CAAGTAGCTG  GGATTACAGG  CGTGTACCAC  CACGCCCGCT

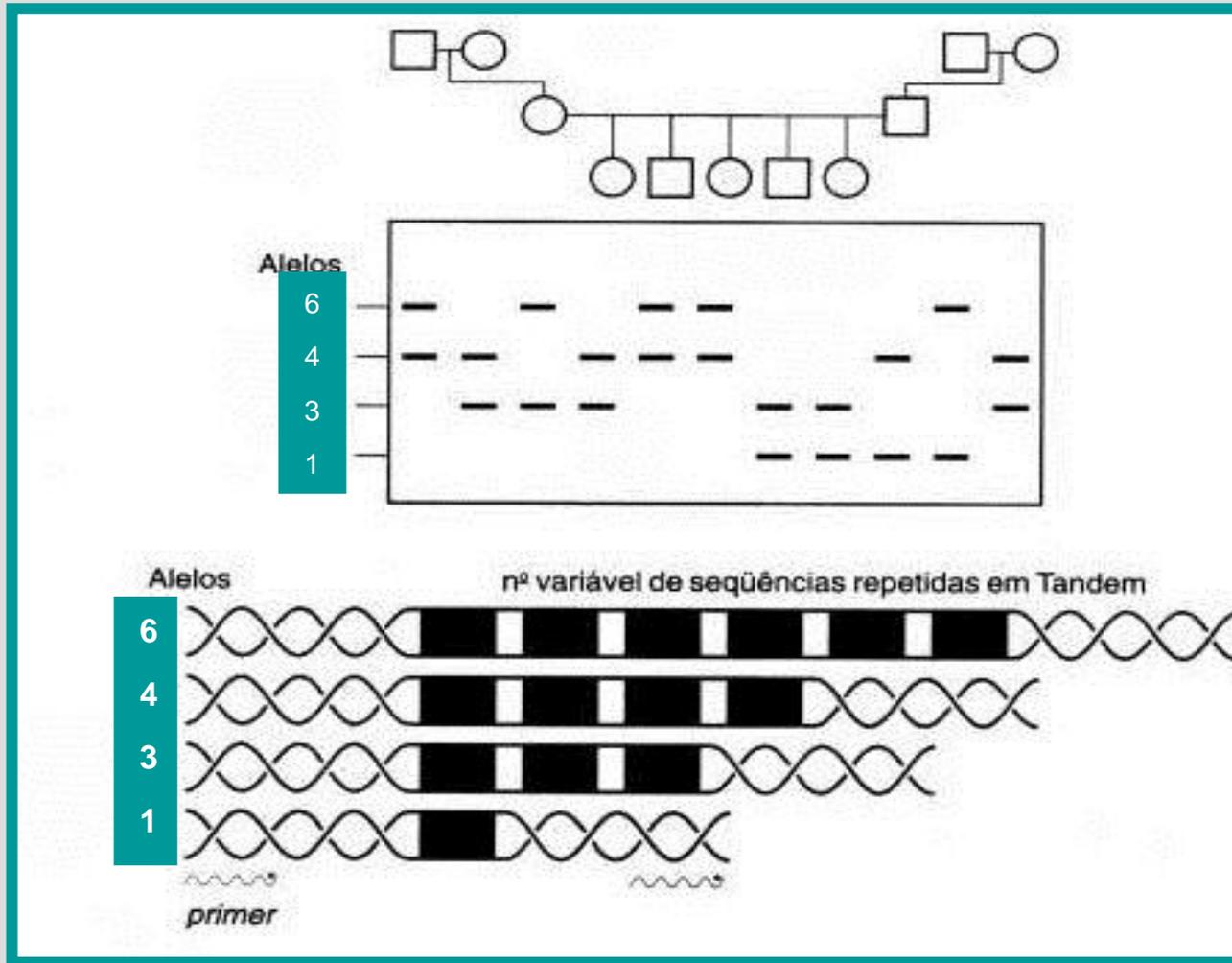
```

PARTE DA SEQÜÊNCIA DE DNA DO CROMOSSOMO 1

MARCADORES STRS UTILIZADOS NO ESTUDO DE POLIMORFISMOS HUMANOS



COMO É A HERANÇA DOS STRs ?



METODOLOGIA

- **COMO FAZER A IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS QUESTIONADAS E DOS INDIVÍDUOS ?**

1- Extração do DNA

2- Genotipagem do DNA

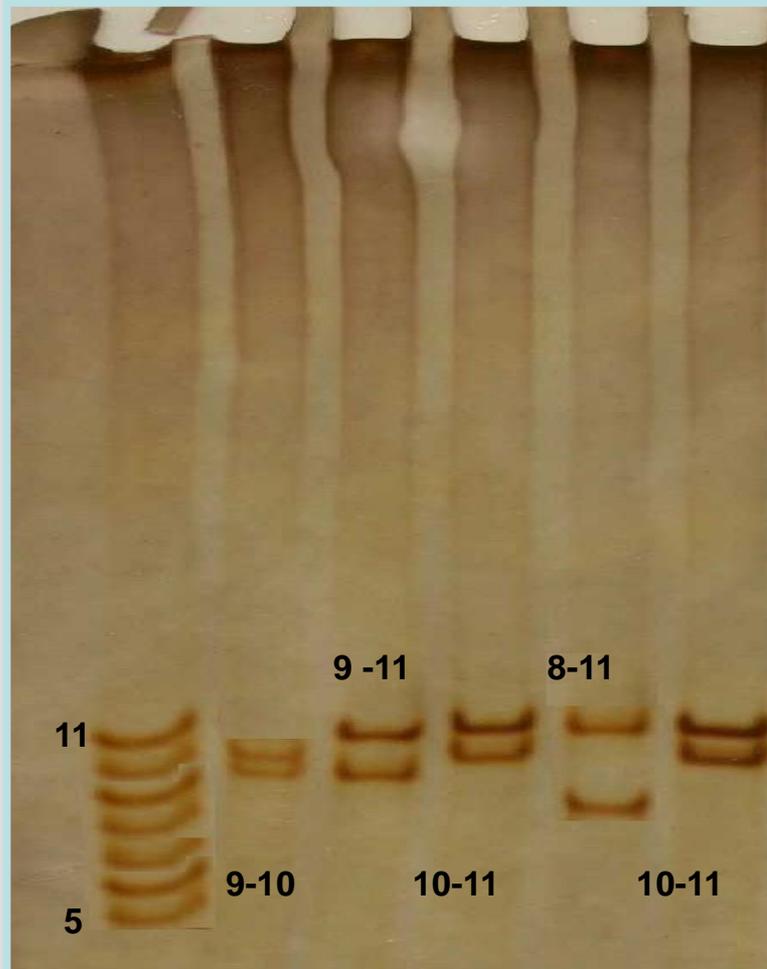
3- Verossimilhança do DNA

Tabela 1 - Conteúdo de DNA presente nas amostras biológicas

Tipo de Amostra	Quantidade de DNA em ng
Sangue	20.000 - 40.000 ng/ml
Mancha em tecido (1cm ²)	~200 ng
Mancha em tecido (1mm ²)	~2 ng
Sêmen	150.000 - 300.000 ng/ml
Swab vaginal	0 - 3.000 ng/ml
Saliva	1.000 - 10.000 ng/ml
Urina	1 - 20 ng/ml
Cabelo extraído com a raiz	1 - 750 ng/fio

METODOLOGIA

Visualização : eletroforese vertical, gel de poliacrilamida



Gel de poliacrilamida, coloração com nitrate de prata, evidenciando o loco STR TH01.

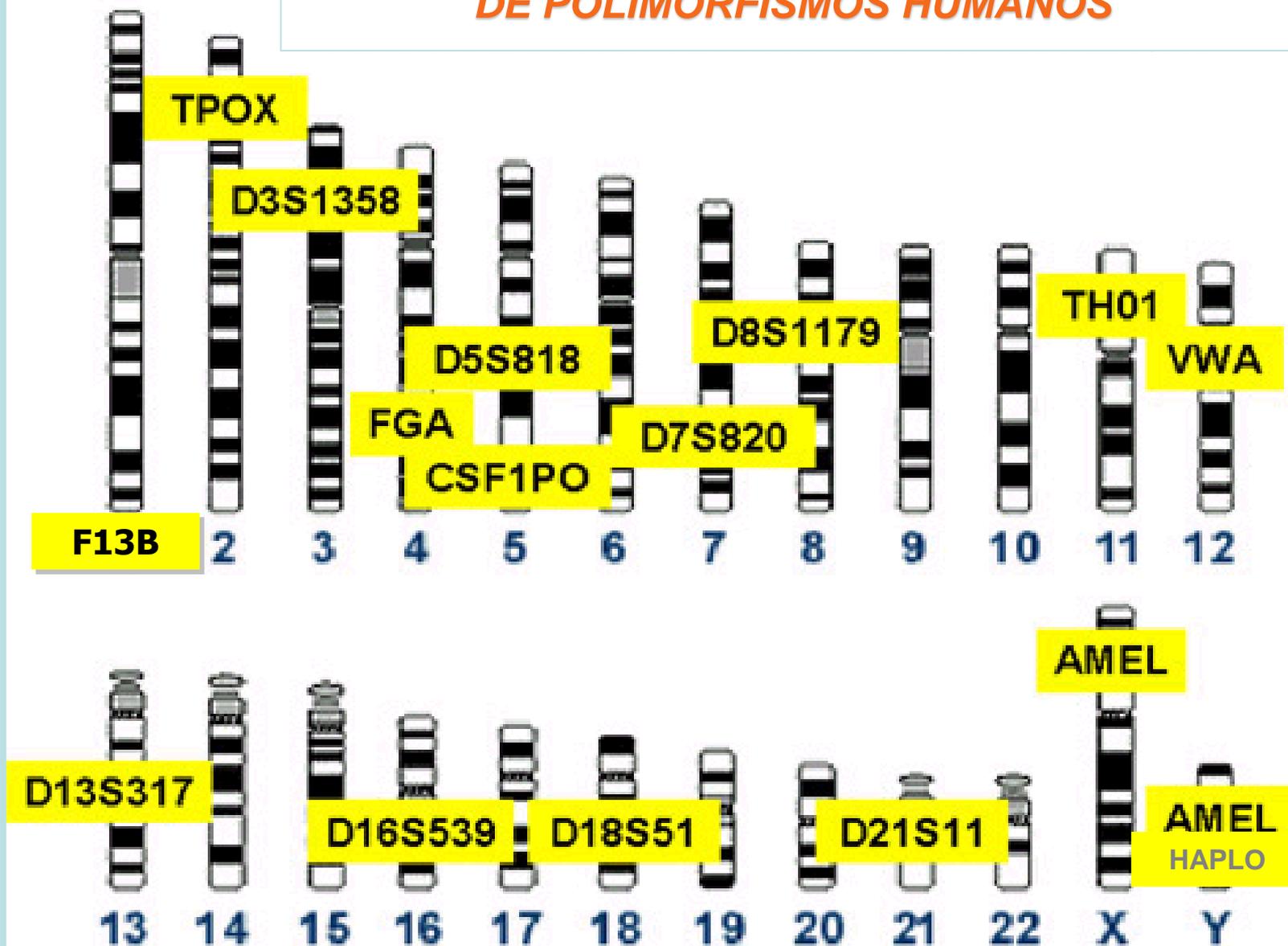
1a. coluna: "Leader" ou escala alélica (5 ao 11);
2a. a 6a. colunas: indivíduos amostrados.

Estudo de casos

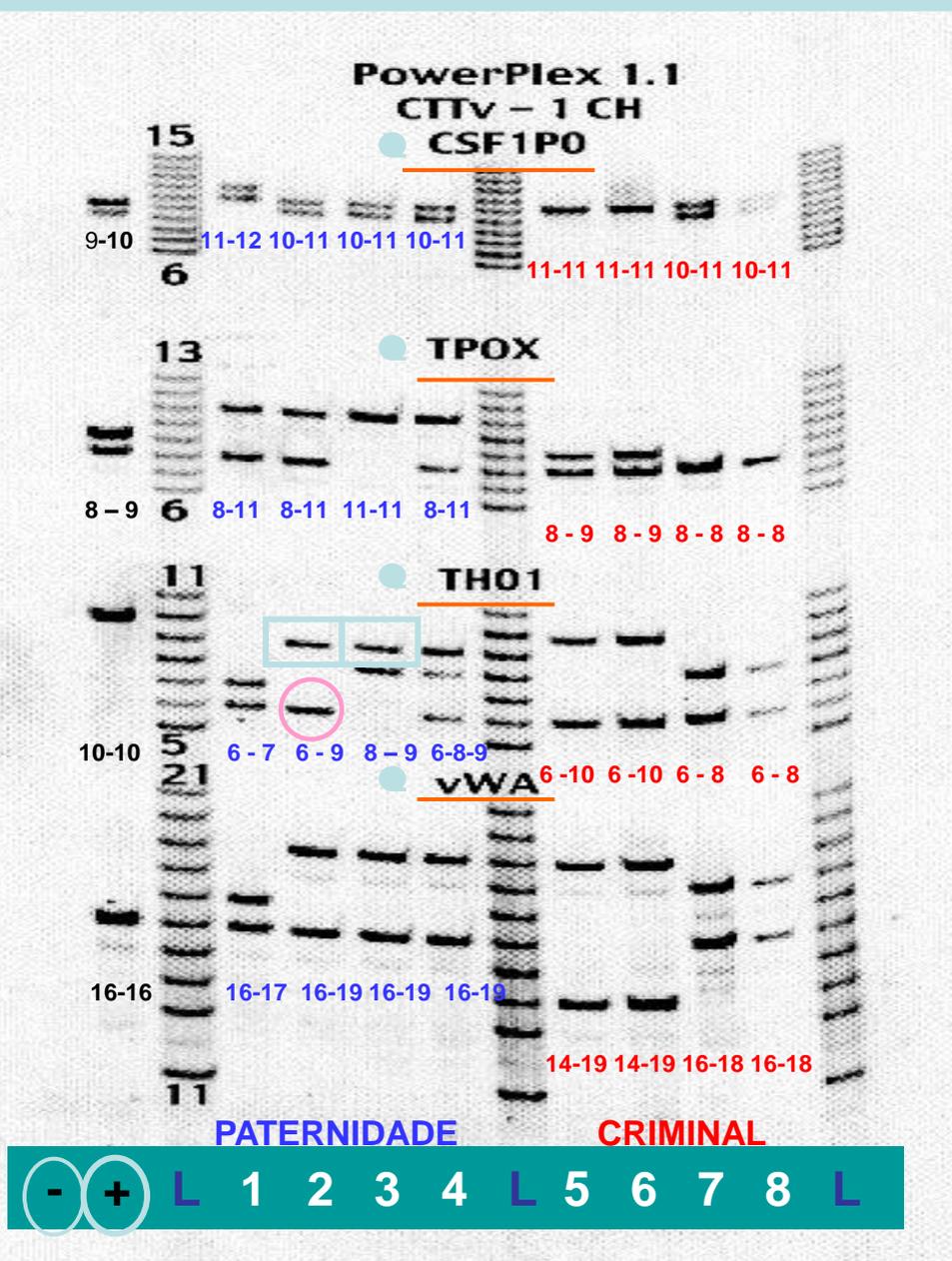
Caso 1: Identificação de paternidade

Caso 2: Investigação criminal

MARCADORES STRS UTILIZADOS NO ESTUDO DE POLIMORFISMOS HUMANOS



RESULTADOS e DISCUSSÃO



Resultados de 4 locos STRs, em gel de poliacrilamida:

- = controle negativo do laboratório
+ = controle positivo do laboratório

L = Leader (escala alélica)

1 = Mãe

2 = Criança (C)

3 = Suposto pai (SP)

4 = C + SP

5 = Prova n. 1 (amostra questionada 1)

6 = Suspeito 1 (amostra referência 1, sangue com anti-oagulante)

7 = Suspeito 2 (amostra referência 2, sangue com anti-coagulante)

8 = Suspeito 2 (amostra referência 3, coágulo)

Paternidade

QUANDO INCLUIR OU EXCLUIR ?

Inclusão

Os alelos paternos obrigatórios da criança têm alelos correspondentes no suposto pai.

Exclusão

Os alelos paternos obrigatórios da criança **não** tem alelos correspondentes no suposto pai.

OUTRO CASO

Cenário: **CRIME DE ESTUPRO**

◇ amostras padrão

1. sangue da vítima
2. suspeito A
3. suspeito B

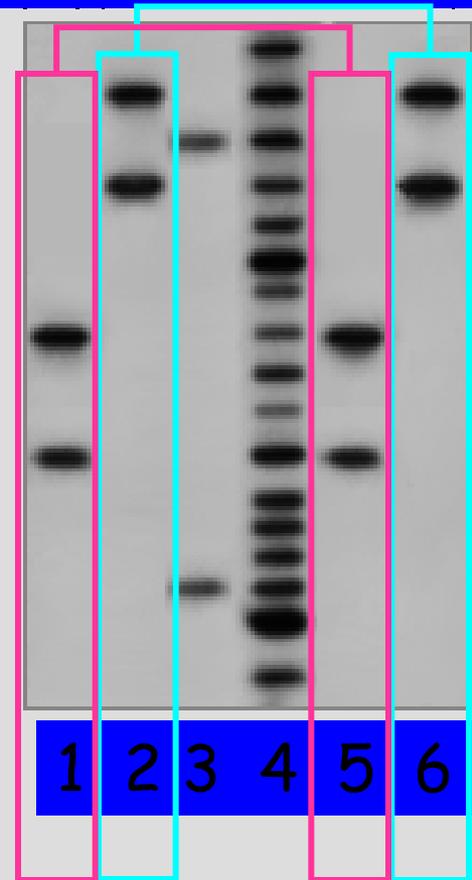
◇ marcador de DNA

4. fragmentos padrões

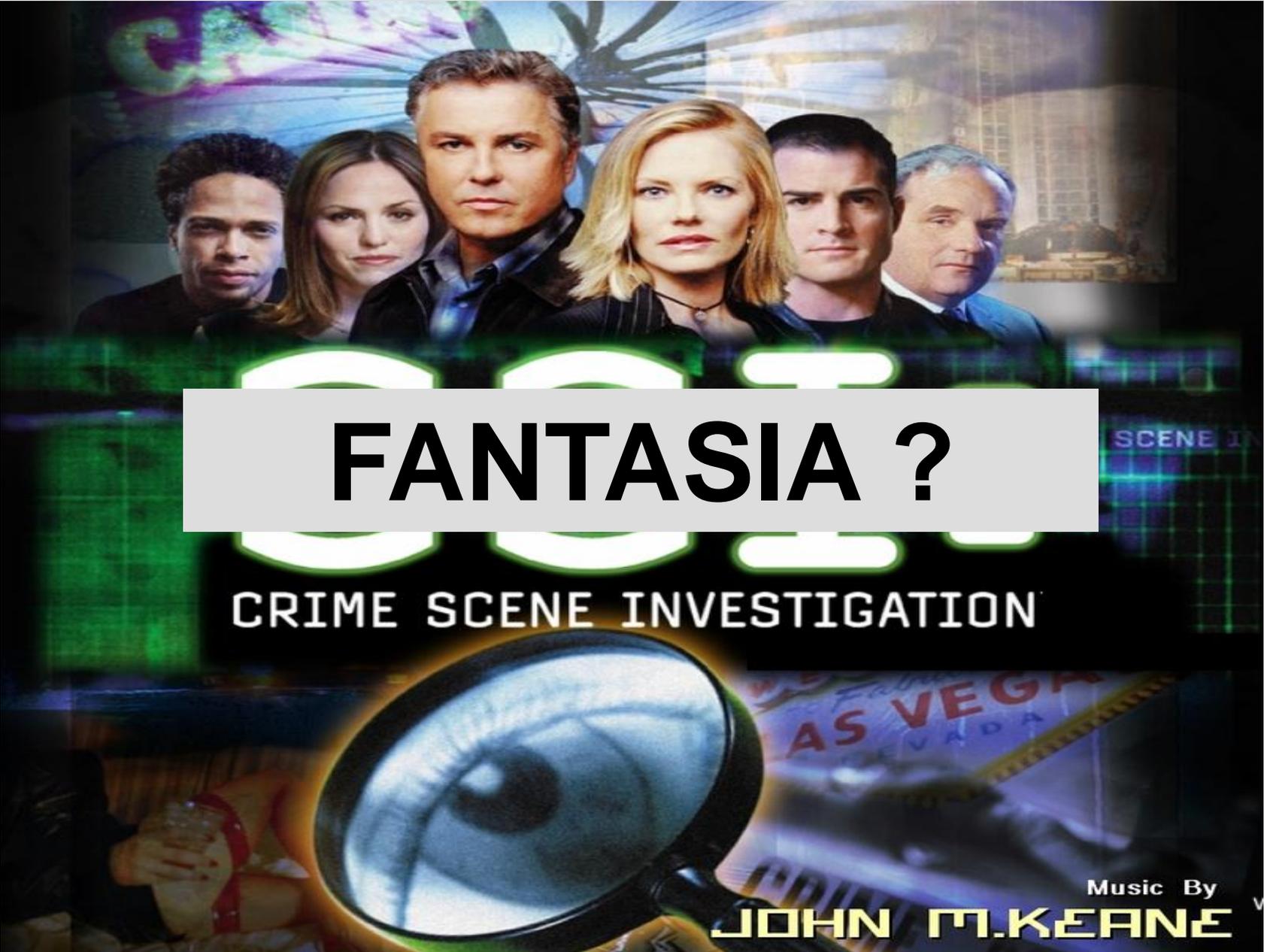
◇ amostra questionada *swab* vaginal

5. fração feminina
6. fração masculina

Qual suspeito, A ou B, não pode ser excluído de ter SEU DNA no corpo da vítima?
(autor do crime de estupro...)



Outras aplicações da Genética Forense



FANTASIA ?

CRIME SCENE INVESTIGATION

Music By
JOHN M. KEARNE

AS MENTIRAS DO CSI:

1. TIRA A MÃO GRISSOM !

- *Volta e meia o agente Grissom toca provas na cena do crime sem luvas ou com objetos pessoais, como um lápis.*

**ERRO BÁSICO QUE PODE
CONTAMINAR A AMOSTRA !!!**

AS MENTIRAS DO CSI:

2. LEVANTA E CORTA !

- *Um perito jamais entrevista suspeitos e testemunhas.*

**O CONTATO DELE E DE TÉCNICOS DE
LABORATÓRIO COM SUSPEITOS PODE
INFLUENCIAR SUBJETIVAMENTE O RESULTADO
DOS LAUDOS !!!**

AS MENTIRAS DO CSI:

3. REALITY SHOW !

– Na TV eles trabalham só em um caso por vez.

*EM UM PLANTÃO DE 12 HORAS, EM SÃO PAULO,
UM PERITO CHEGA A ATENDER 12
OCORRÊNCIAS, EM FPOLIS, 4 !!!*

AS MENTIRAS DO CSI:

4. A JUSTIÇA TARDA !

- *A cena do crime pode ser periciada tão logo o delegado responsável pelo caso solicite.
Mas buscas na casa de suspeitos dependem de mandado judicial, em qualquer lugar do mundo.*

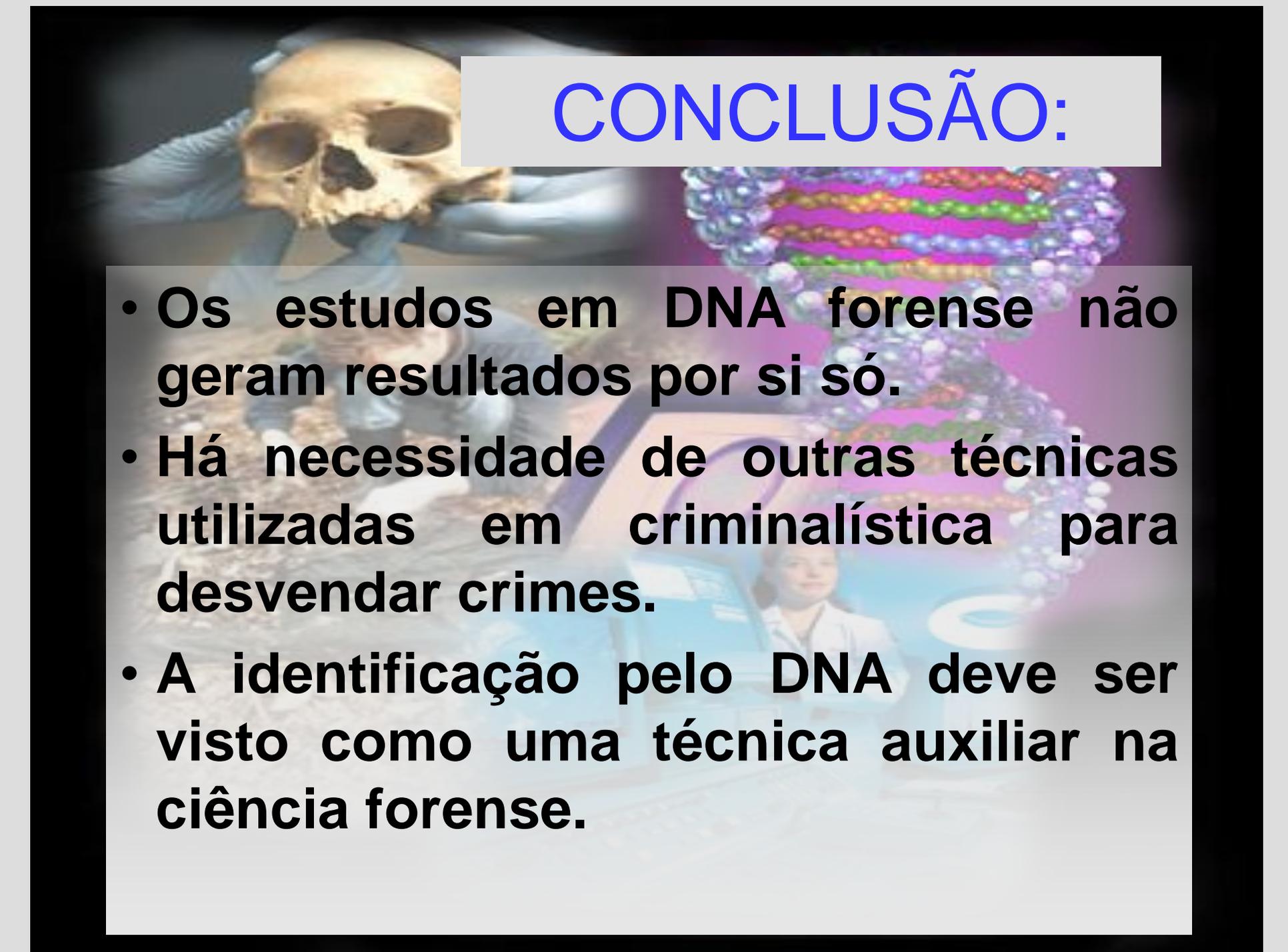
**VOCÊ JÁ VIU UMA EQUIPE DO CSI
ESPERANDO MANDADO ?**

AS MENTIRAS DO CSI:

5. A CIÊNCIA TARDA, TAMBÉM !

- *A agilidade com que o resultado dos testes acontece é sempre um exagero. Tudo fica pronto no mesmo dia.*

NA REALIDADE ALGUNS PROCEDIMENTOS PODEM LEVAR DIAS, DEVIDO ÀS LIMITAÇÕES DAS PRÓPRIAS TÉCNICAS EMPREGADAS.



CONCLUSÃO:

- Os estudos em DNA forense não geram resultados por si só.
- Há necessidade de outras técnicas utilizadas em criminalística para desvendar crimes.
- A identificação pelo DNA deve ser visto como uma técnica auxiliar na ciência forense.

FIM