

Faculdade Milton Campos  
Curso *Lato Sensu* em Medicina Legal  
Disciplina: Bioinformática e Investigação Criminal  
Professor: Eduardo Campos dos Santos

# **DNA *profiling*** **parte 2**

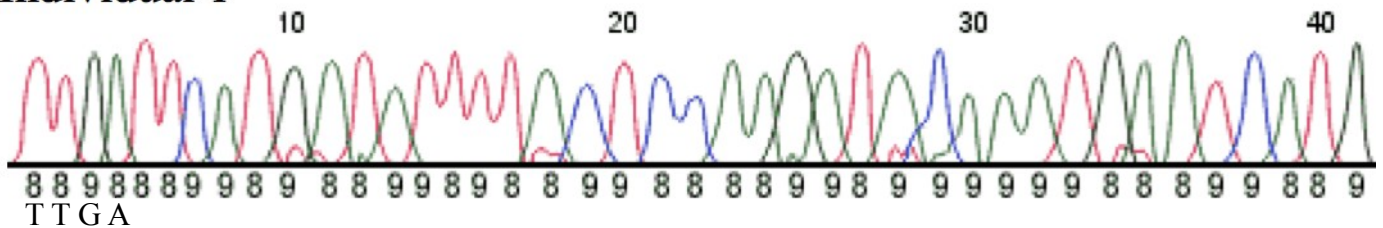
Belo Horizonte  
Outubro/Novembro de 2012

## Questionário

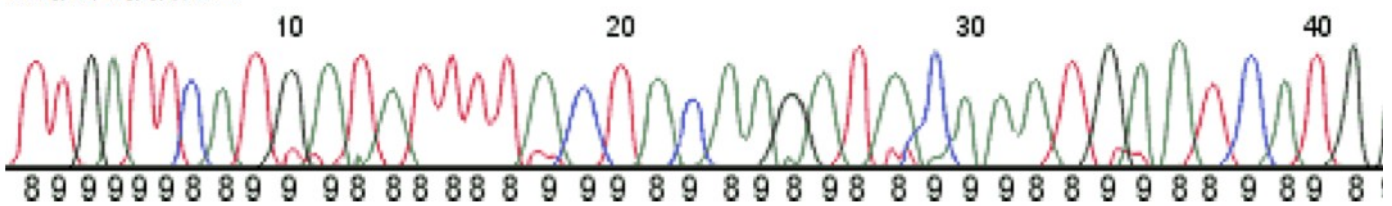
### Questão 1: Lendo e comparando eletroferogramas.

Os eletroferogramas abaixo referem-se a um mesmo locus para três indivíduos. O número abaixo de cada base indica a confiabilidade da determinação daquela base: 8 e 9 indicam que a base foi identificada com grande confiabilidade, enquanto um 0 estaria associado a alguma base não identificada (a ocorrência de muitos 0's indicariam a necessidade de refazer o sequenciamento para a amostra em questão). Determine a sequência deste fragmento de DNA para cada indivíduo assumindo que: o vermelho denota a base **T**, preto denota a base **G**, verde denota a base **A** e azul denota a base **C**. A sequência da esquerda para a direita é na direção da extremidade 5' para a 3'. As quatro primeiras bases da sequência para o primeiro indivíduo (T T G A) são mostradas como exemplo.

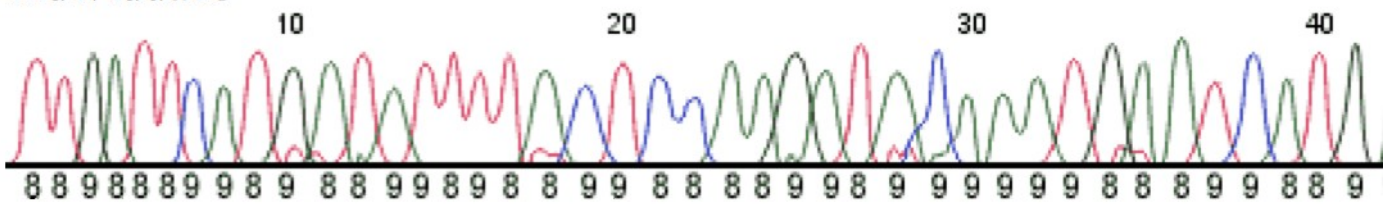
#### Individual 1



#### Individual 2



#### Individual 3



### Questão 2: Investigação criminal – mtDNA

Suponha que o primeiro e o último eletroferogramas do exercício anterior (aqueles identificados por Individual 1 e Individual 3) sejam provenientes de uma região hipervariável do DNA mitocondrial de dois investigados que negam terem estado presentes no local do crime enquanto o segundo eletroferograma (aquele identificado por Individual 2) tenha sido obtido de um fio de cabelo sem bulbo encontrado na cena do crime. Esses eletroferogramas contribuem para inserir ou para excluir algum dos indivíduos à lista de suspeitos? Eles servem para discriminar com precisão os dois indivíduos?

**Questão 3: Investigação criminal – mtDNA.**

Suponha agora que os dois primeiros eletroferogramas correspondem a duas pessoas que estão sendo investigadas e que negam terem estado presente no local no crime enquanto o último refere-se a um fio de cabelo sem bulbo encontrado no local do crime. Esses resultados permitem aumentar as suspeitas com sobre algum dos investigados? Se sim, qual deles torna-se mais suspeito?

**Questão 4: Investigação criminal – eletroferograma de uma amostra com mistura de DNA.**

O eletroferograma Figura 1 foi obtido da análise usando PCR e eletroforese capilar de um esfregaço vaginal de uma vítima de estupro algumas horas após o crime. Abaixo de cada pico, aparece dois números em retângulos, um abaixo do outro: o de cima, indica o número de repetições da unidade repetitiva (que caracteriza o alelo); o de baixo, indica a intensidade do pico em RFUs (Relative Fluorescent Units – Unidades de Fluorescência Relativa). Considerando as informações contidas neste eletroferograma e a tabela dos *kits* comerciais para análise de loci STR, exibida na Figura 2, responda as perguntas.

- a) Qual foi o *kit* de loci STR usado na análise?
- b) Para cada parte do eletroferograma, designada pela cor de um corante fluorescente, observa-se uma redução na amplitude dos picos na medida em que caminhamos para a direita. No caso dos cromossomos 18 e 7, não há picos visíveis. Qual a explicação mais plausível para esse padrão?
- c) Nos loci D3S1358, vWA e D5S818 aparecem três alelos. Quais as possíveis explicações para isso? Você daria a mesma explicação para esses três casos ou considera mais apropriado explicações diferentes considerando os tamanhos relativos dos picos?
- d) Os picos referentes à amelogenina acusam a presença tanto de cromossomo X como também de cromossomo Y. Além disso, observa-se que o pico referente ao cromossomo X é maior do que aquele referente ao cromossomo Y. Considerando tudo o que você sabe sobre a origem da amostra, o que pode explicar este padrão?
- e) Considerando a tabela de frequências dos alelos em indivíduos do nordeste da Polônia no artigo de (Pepinski *et al.*, 2003) (Figura 3), calcule a probabilidade de *matching* de uma mistura contendo o DNA da vítima e de um suspeito com o perfil obtido pelo esfregaço vaginal.

Uma observação adicional sobre os eletroferogramas deste exercício. Trata-se de um eletroferograma usado em um caso real de investigação criminal e que foi, posteriormente, submetido à interpretação de 17 diferentes especialistas. Estes apresentaram interpretações inconsistentes e a maioria apresentou uma interpretação em desacordo com aquela que foi apresentada pelo laboratório na época da investigação. Este estudo foi realizado e publicado por (Dror e Hampikian, 2011) sugere que o conhecimento de outras informações sobre o caso sendo investigado influenciam na subjetividade na interpretação de amostras com mistura de DNA.

(Figuras nas três próximas páginas.)

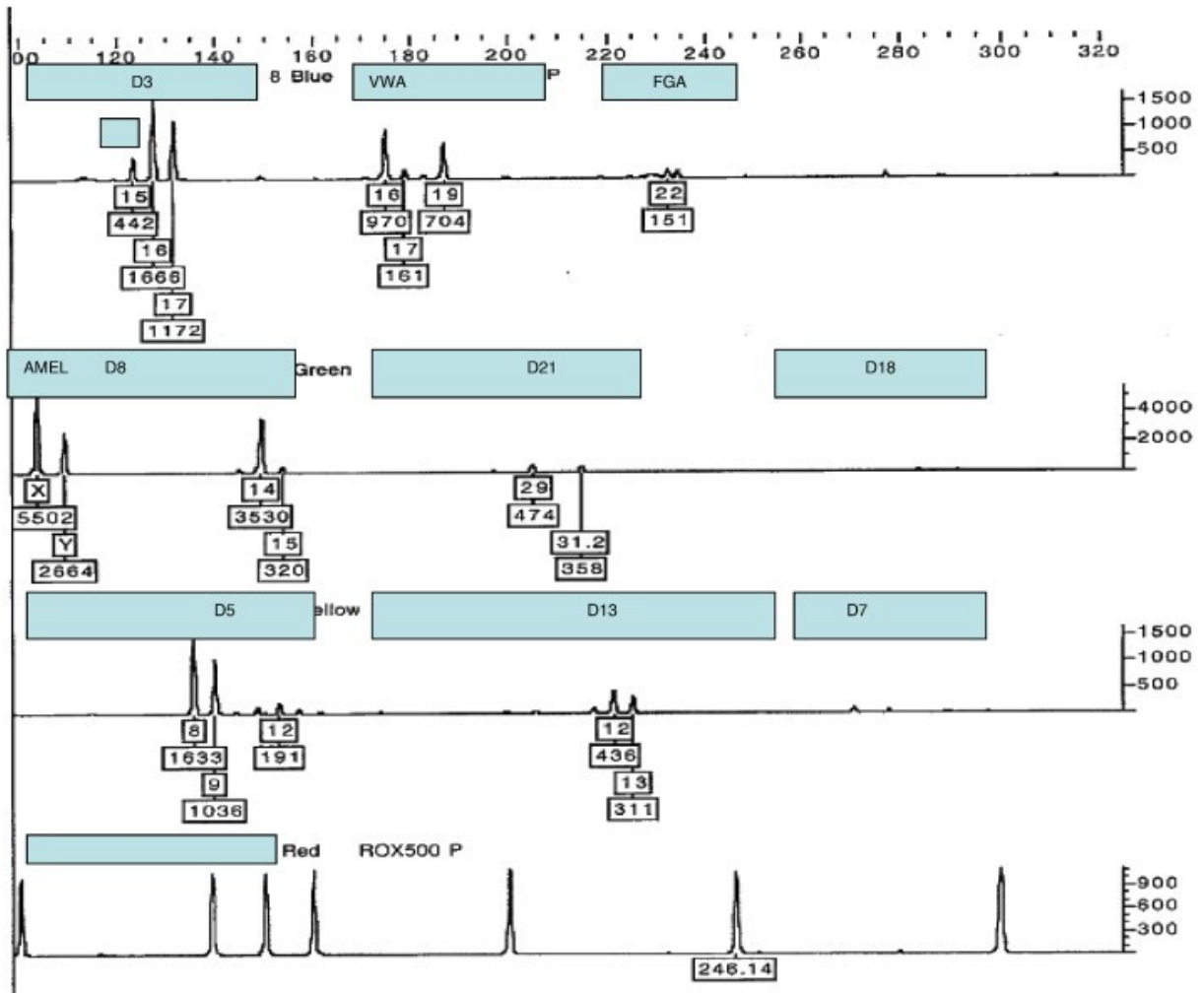


Figura 1: Eletroferograma obtido da análise de um esfregaço vaginal de uma vítima de estupro poucas horas após o crime. (Dror e Hampikian, 2011)

|                                      |                           |   |   |
|--------------------------------------|---------------------------|---|---|
| AmpFISTR®<br>Profiler Plus™          | Applied<br>Biosystems     | B | D3S1358, VWA, FGA                                 |
|                                      |                           | G | Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51               |
|                                      |                           | Y | D5S818, D13S317, D7S820                           |
| AmpFISTR<br>COfiler™                 | Applied<br>Biosystems     | B | D3S1358, D16S539                                  |
|                                      |                           | G | Amelogenin, TH01, TPOX, CSF1PO                    |
|                                      |                           | Y | D7S820  |
| AmpFISTR<br>SGM Plus™                | Applied<br>Biosystems     | B | D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338                    |
|                                      |                           | G | Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51               |
|                                      |                           | Y | D19S433, TH01, FGA                                |
| AmpFISTR<br>Identifiler™<br>(5-dyes) | Applied<br>Biosystems     | B | D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO                   |
|                                      |                           | G | D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338          |
|                                      |                           | Y | D19S433, VWA, TPOX, D18S51,                       |
|                                      |                           | R | Amelogenin, D5S818, FGA                           |
| AmpFISTR<br>SEfiler™<br>(5-dyes)     | Applied<br>Biosystems     | B | D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338                    |
|                                      |                           | G | Amelogenin, D8S1179, SE33                         |
|                                      |                           | Y | D19S433, TH01, FGA                                |
|                                      |                           | R | D21S11, D18S51                                    |
| PowerPlex® 1.2                       | Promega                   | B | D5S818, D13S317, D7S820, D16S539                  |
|                                      |                           | Y | VWA, TH01, Amelogenin, TPOX, CSF1PO               |
| PowerPlex 16                         | Promega                   | B | D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, Penta E            |
|                                      |                           | G | D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, Penta D |
|                                      |                           | Y | Amelogenin, VWA, D8S1179, TPOX, FGA               |
| PowerPlex ES                         | Promega                   | B | D3S1358, TH01, D21S11, D18S51                     |
|                                      |                           | G | SE33 (ACTBP2)                                     |
|                                      |                           | Y | Amelogenin, VWA, D8S1179, FGA                     |
| PowerPlex Y                          | Promega                   | B | DYS391, DYS389I, DYS439, DYS389II                 |
|                                      |                           | G | DYS438, DYS437, DYS19, DYS392                     |
|                                      |                           | Y | DYS393, DYS390, DYS385 a/b                        |
| Y-PLEX™ 6                            | ReliaGene<br>Technologies | B | DYS393, DYS19, DYS389II                           |
|                                      |                           | Y | DYS390, DYS391, DYS385 a/b                        |
| Y-PLEX 5                             | ReliaGene<br>Technologies | B | DYS389I, DYS389II                                 |
|                                      |                           | G | DYS439  |
|                                      |                           | Y | DYS438, DYS392                                    |
| Y-PLEX 12                            | ReliaGene<br>Technologies | B | DYS392, DYS390, DYS385 a/b                        |
|                                      |                           | G | DYS393, DYS389I, DYS391, DYS389II                 |
|                                      |                           | Y | Amelogenin, DYS19, DYS439, DYS438                 |

*Figura 2: Kits comerciais de loci STR exibindo quais os loci reconhecidos e como são colorizados por fluorescência em cada kit.*

TABLE 1— Allele frequencies and forensic efficiency parameters for the CODIS core STR loci in the population of Podlasie, Northeastern Poland.

| Allele     | D3S1358 | vWA   | FGA   | TH01  | TPOX  | CSF1PO | D5S818 | D13S317 | D7S820 | D16S539 | D21S11 | D18S51 | D8S1179 |
|------------|---------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|---------|
| 5          |         |       |       | 0.002 |       |        |        |         |        |         |        |        |         |
| 6          |         |       |       | 0.247 |       |        |        |         |        |         |        |        |         |
| 7          |         |       |       | 0.120 | 0.002 |        |        |         | 0.028  |         |        |        |         |
| 8          |         |       |       | 0.123 | 0.550 | 0.008  | 0.005  | 0.133   | 0.179  | 0.008   |        |        | 0.005   |
| 9          |         |       |       | 0.199 | 0.074 | 0.030  | 0.056  | 0.060   | 0.146  | 0.069   |        | 0.002  | 0.012   |
| 9.3        |         |       |       | 0.298 |       |        |        |         |        |         |        |        |         |
| 10         |         |       |       | 0.010 | 0.078 | 0.266  | 0.077  | 0.050   | 0.280  | 0.030   |        | 0.010  | 0.057   |
| 11         |         |       |       | 0.002 | 0.266 | 0.330  | 0.338  | 0.364   | 0.194  | 0.303   |        | 0.008  | 0.099   |
| 12         |         |       |       |       | 0.030 | 0.284  | 0.356  | 0.256   | 0.144  | 0.348   |        | 0.094  | 0.153   |
| 13         | 0.002   | 0.008 |       |       |       | 0.071  | 0.142  | 0.090   | 0.025  | 0.194   |        | 0.106  | 0.310   |
| 14         | 0.148   | 0.128 |       |       |       | 0.010  | 0.025  | 0.040   | 0.003  | 0.045   |        | 0.145  | 0.224   |
| 15         | 0.227   | 0.109 |       |       |       |        | 0.002  | 0.005   |        | 0.002   |        | 0.173  | 0.103   |
| 16         | 0.229   | 0.180 |       |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.158  | 0.030   |
| 17         | 0.199   | 0.266 |       |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.121  | 0.002   |
| 18         | 0.182   | 0.222 | 0.017 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.086  |         |
| 19         | 0.010   | 0.072 | 0.086 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.040  |         |
| 20         | 0.003   | 0.012 | 0.168 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.034  |         |
| 21         |         | 0.002 | 0.152 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.013  |         |
| 22         |         |       | 0.197 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.007  |         |
| 22.2       |         |       | 0.003 |       |       |        |        |         |        |         |        | ...    |         |
| 23         |         |       | 0.138 |       |       |        |        |         |        |         |        | ...    |         |
| 23.2       |         |       | 0.003 |       |       |        |        |         |        |         |        | ...    |         |
| 24         |         |       | 0.135 |       |       |        |        |         |        |         |        | 0.002  |         |
| 25         |         |       | 0.059 |       |       |        |        |         |        |         |        |        |         |
| 26         |         |       | 0.034 |       |       |        |        |         |        |         |        |        |         |
| 27         |         |       | 0.007 |       |       |        |        |         |        |         | 0.034  |        |         |
| 28         |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.167  |        |         |
| 29         |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.146  |        |         |
| 30         |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.239  |        |         |
| 30.2       |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.057  |        |         |
| 31         |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.072  |        |         |
| 31.2       |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.099  |        |         |
| 32         |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.032  |        |         |
| 32.2       |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.076  |        |         |
| 33.2       |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.069  |        |         |
| 34.2       |         |       |       |       |       |        |        |         |        |         | 0.008  |        |         |
| Ho         | 0.78    | 0.83  | 0.85  | 0.75  | 0.61  | 0.74   | 0.73   | 0.78    | 0.83   | 0.73    | 0.84   | 0.89   | 0.78    |
| He         | 0.80    | 0.81  | 0.86  | 0.78  | 0.61  | 0.74   | 0.73   | 0.77    | 0.81   | 0.74    | 0.86   | 0.88   | 0.80    |
| Exact Test | 0.260   | 0.743 | 0.218 | 0.052 | 0.949 | 0.472  | 0.334  | 0.656   | 0.179  | 0.788   | 0.664  | 0.624  | 0.348   |
| MP         | 0.071   | 0.064 | 0.037 | 0.083 | 0.203 | 0.121  | 0.118  | 0.097   | 0.070  | 0.106   | 0.036  | 0.031  | 0.069   |
| PD         | 0.929   | 0.936 | 0.963 | 0.917 | 0.797 | 0.879  | 0.882  | 0.903   | 0.930  | 0.894   | 0.964  | 0.969  | 0.931   |
| PIC        | 0.77    | 0.79  | 0.84  | 0.75  | 0.56  | 0.69   | 0.69   | 0.74    | 0.78   | 0.70    | 0.85   | 0.87   | 0.78    |
| PE         | 0.558   | 0.666 | 0.685 | 0.511 | 0.309 | 0.486  | 0.468  | 0.560   | 0.653  | 0.466   | 0.666  | 0.773  | 0.565   |
| TPI        | 2.25    | 3.03  | 3.23  | 2.01  | 1.30  | 1.89   | 1.82   | 2.26    | 2.91   | 1.81    | 3.03   | 4.50   | 2.28    |

Ho: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity; MP: matching probability; PD: power of discrimination; PIC: polymorphism information content; PE: power of exclusion; TPI: typical paternity index.

Figura 3: Frequência dos alelos para os 13 loci do CODIS em um estudo sobre a população do nordeste da Polônia. (Pepinski et.al., 2003)