

DETECÇÃO DE ALELO NULO EM ANÁLISE DE VÍNCULO GENÉTICO

ISABELLA LACERDA FERNANDES*; RICARDO GOULART RODOVALHO;
FABRÍCIO JOSÉ DE QUEIROZ; THAÍS CIDÁLIA VIEIRA GIGONZAC;
APARECIDO DIVINO DA CRUZ; CLÁUDIO CARLOS DA SILVA.

Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC GOIÁS, GOIÂNIA – GO, BRASIL.

bekalacerda@hotmail.com

Genética e Biologia Molecular

Submetido em: xxxx/2015

Aceito em: xxxx/2015

Publicado em: xxxx/2015

1. INTRODUÇÃO:

Em 1985, pesquisadores descobriram nas moléculas de DNA regiões hereditárias hipervariáveis, que revolucionaram os métodos de identificação humana no âmbito forense e testes de vínculo genético. Estas regiões, denominadas microssatélites, possuem uma alta variação alélica, assumindo um poder de discriminação dos indivíduos de uma forma precisa e específica utilizando a comparação da correspondência dos alelos parentais. Portanto, o indivíduo deverá ter obrigatoriamente um alelo materno e um paterno em cada *locus* analisado. O CODIS – *Combined DNA Index System* – determina que seja utilizado no mínimo 13 marcadores microssatélites para identificação de um indivíduo. Contudo, alguns casos de investigação de vínculo genético surgem inconsistências pelo não anelamento do primer na sequência alvo. Em consequência, surge a ocorrência de alelos nulos, que podem ser identificados com o uso de diferentes primers para este mesmo *locus*.

2. OBJETIVOS:

O objetivo deste trabalho foi relatar um caso de alelo nulo em uma análise de investigação de vínculo genético entre o trio (mãe/filho/suposto pai) detectado em um Laboratório em Goiânia – GO.

3. METODOLOGIA:

Foi realizada uma investigação sobre um registro de uma suposta mutação genética para confirmação de ocorrência de alelo nulo. Foram analisadas 3 amostras biológicas, sendo elas correspondentes a Mãe, Filho e Suposto Pai, procedentes da rotina técnica de investigação de vínculo genético no Laboratório Biocroma - Clínica de Exames de DNA, Goiânia/GO Brasil. Os procedimentos técnicos de extração e amplificação do DNA seguiram os protocolos internos estabelecidos pelo laboratório. Para obtenção dos dados genéticos, análise preliminar de paternidade e análise complementar para confirmação de ocorrência de alelo nulo, utilizou-se dois sistemas de amplificação molecular. O primeiro, tratou-se de um sistema desenvolvido *in house*, composto por 21 *loci* autossômicos altamente polimórficos e amelogenina e o segundo, um sistema de amplificação molecular comercial (AmpFISTR® NGM™ Applied Biosystems®), composto por 15 *loci* autossômicos altamente polimórficos e amelogenina. Os dados genotípicos correspondentes aos produtos de PCR foram obtidos através de eletroforese capilar pelo sequenciador automático ABI 3500 Genetic Analyzers - Applied Biosystems®, e analisados com a utilização do *software* de análises genéticas GeneMapper® ID-X.

4. RESULTADOS:

A análise preliminar de investigação de vínculo genético realizada a partir da utilização do sistema de amplificação simultânea desenvolvido *in house*, demonstrou, através da comparação dos perfis genéticos entre mãe, filho e suposto pai,

correspondências alélicas em 21 *loci* analisados entre o filho e o suposto pai. Porém, na comparação entre os perfis alélicos referentes à mãe e ao filho, foram observadas correspondências alélicas apenas em 20 *loci* STR's analisados, sendo, no entanto, detectada a ausência do alelo materno obrigatório no *locus* TH01, o que caracterizou exclusão de vínculo genético para este *locus*. Por outro lado, o perfil genético observado a partir de uma análise complementar, com o uso do sistema de amplificação simultânea comercial AmpFISTR® NGM™, foi observado, a presença do alelo 7, comum à mãe e ao filho, adicional ao perfil alélico obtido anteriormente. Dessa forma, a ausência da amplificação do alelo 7 associada à utilização de um sistema de amplificação molecular, na análise preliminar independente ao sistema utilizado posteriormente, caracteriza a ocorrência de alelo nulo, provocado possivelmente por uma falha de amplificação do alelo 7 no sítio de anelamento do primer TH01, correspondente ao sistema utilizado na análise preliminar.

5. CONCLUSÃO:

Como a ocorrência de alelo nulo em uma rotina de investigação de vínculo genético perturba consideravelmente as análises dos perfis alélicos obtidos, sendo sua frequência bastante relatada nestas situações, é importante que se tome condutas adequadas, a fim de evitar erros analíticos. Estes cuidados estão associados tanto aos procedimentos técnicos operacionais de obtenção dos perfis genéticos, quanto aos processos de análise dos dados obtidos. A aplicação de mais de um sistema de amplificação molecular envolvendo loci coincidentes sobre as mesmas amostras de DNA contribuem para indicar ocorrência de alelos nulos. Outras cautelas se baseiam na análise do percentual de homozigose obtido, bem como na intensidade dos picos eletroforéticos de representação alélica. Concluindo, o processo de investigação de vínculo genético pela análise e manipulação do DNA é bastante complexo, o que o torna sua precisão vulnerável frente à ocorrência de mutações que podem provocar alelos nulos. Contudo, é fundamental que as pesquisas se intensifiquem nos aspectos referentes à origem e consequências de eventos envolvendo alelos nulos.

Palavras-chaves: Microsatélites, vínculo genético, sistemas de amplificação, alelo nulo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALCÂNTARA, H.R. *Perícia médica judicial*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara 2, (1982)
2. BUDOWLE, B.; CHAKRABORTY, R.; GIUSTI, A.M.; EISENBERG, A.J.; ALLEN, R.C. Analysis of the VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. *Am J Hum Genet*, 48:137–144, 1991.
3. BUDOWLE, B. STR Allele Concordance Between Different Primer Sets: A Brief Summary. *Profiles In Dna*, v. 3, n. 3, p.10-11, 2000. Disponível em: <<http://www.promega.com.br/resources/profiles-in-dna/2000/str-allele-concordancebetween-different-primer-sets-a-brief-summary/>>. Acesso em: 05 ago. 2014.
4. BUDOWLE, B.; MASIBAY, A.; ANDERSON, S.J.; BARN, C.; BIEGA, L.; BRENNKE, S.; BROWN, B.; CRAMER, J.; DEGROOT, G.; DOUGLAS, D.; DUCEMAN, B.; EASTMAN, A.; GILES, R.; HAMILL, J.; HAASE, D.; JANSSEN, D.; KUPFERSCHMID, T.; LAWTON, T.; LEMIRE, C.; LLEWELLYN, B.; MORETTI, T.; NEVES, J.; PALASKI, C.; SCHUELER, S.; SGUELIA, J.; SPRECHER, C.; TOMSEY, C.; YET, D. STR primer concordance study. *Forensic Sci Int*, 124:47–54, 2001.
5. BUTLER, J.M.; COBLE, M.D.; VALLONE, P.M.; Short tandem repeat typing technologies used in human identity. *Forensic Science Medicine Pathology*, v.3, p.200–205, 2007.

6. CARVALHO, S.P.M. *Avaliação da qualidade do DNA obtido de saliva humana armazenada e sua aplicabilidade na identificação forense em odontologia legal*. Bauru, 2009. Dissertação (Mestrado em Ortodontia e Odontologia em Saúde Coletiva) - Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo.
7. DECORTE, R. Genetic identification in the 21st century—current status and future developments. *Forensic Sci Int*, 201:160–164, 2010.
8. DELAMOYE, M.; DUVERNEUIL, C.; RIVA, K.; LETERREUX, M.; TAIEB, S.; et al. False homozygosities at various loci revealed by discrepancies between commercial kits: implications for genetic databases. *Forensic Sci Int*, 143: 47–52, 2004.
9. DOLINSKY, L.C.; PEREIRA, L.M.C.V. DNA Forense. *Saúde e ambiente em Revista*, Duque de Caxias, v.2, n.2, p.11-22, jul-dez, 2007.
10. DRABEK, J.; CHUNG, D.T.; BUTLER, J.M.; MCCORD, B.R. Concordance study between miniplex assays and a commercial STR typing kit. *J Forensic Sci*, 49: 859–860, 2004.
11. GARCIA, I.A. *A segurança na identificação: a biometria da íris e da retina*. São Paulo, 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, USP, São Paulo.
12. GJERTSON, D.W.; BRENNER, C.H.; BAUR, M.P.; et al. ISFG. Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Sci Int: Genetics*, 1 (3-4): 223-231, 2007.
13. HILL, C.R.; BUTLER, J.M.; VALLONE, P.M. A 26plex autosomal STR assay to aid human identity testing. *J. Forensic Sci*. v.54, n. 5, 2009.
14. JEFFREYS, A.J.; WILSON, V.; THEIN, S.L. Individual-specific 'fingerprints' of human. *DNA.Nature*, 316, 76–79, 1985.
15. JOBLING, M.A.; HURLES, M.E.; TYLER-SMITH, C. *In Human Evolutionary Genetics*, Chapter 15: Identity and identification. Abingdon: Garland Science, p. 474–497, 2003.
16. REY, M.; USAQUEN, W.; ACOSTA, E.; PARRA, J.; TRONCOSO, J.P. Datos poblacionales de los microsatélites de ADN humano D2S1338, D19S433, PENTA D, PENTA E e Y SE-33 de la región cetral Colombiana. *Acta Biologica Colombiana*, v.14, n.2, 161–168, 2009.
17. SCHLOTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365-371, 2000.
18. SUTHERLAND, G.R.; RICHARDS, R.I. Simple tandem DNA repeats and human genetic disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 92: 3636-3641, 1995.
19. VANRELL, J.P.; BORBOREMA, M.L. *Vademecum de Medicina Legal e Odontologia Legal*. São Paulo: JHMizuno, p. 97-156, 2007.
20. ZIETKIEWICZ, E.; et al. Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis. *J Appl Genetics*. 53: 41-60, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002120>>. Acesso em 20 jun. 2014.

Endereço: Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Núcleo de Pesquisas Replicon. Rua 235, 40, Área 4, Bloco L, PUC Goiás. Setor Universitário. CEP: 74605-050. Goiânia – GO – Brasil.