

Bruna Viviane Vaz

**USO DOS MINISTRIS NON-CODIS 01 NA
PRÁTICA FORENSE: ESTUDO POPULACIONAL DE SANTA
CATARINA**

Orientadora: Dra. Andrea Rita Marrero
Co-orientadora: MSc. Sandra Regina Rachadel Torres

Florianópolis, Dezembro de 2012.

VAZ, B. V.

Uso dos Ministrs Non-CODIS 01 na prática forense: Estudo populacional de Santa Catarina.

Florianópolis, SC, 2012.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas)

85p.

Bruna Viviane Vaz

**USO DOS MINISTRIS NON-CODIS 01 NA
PRÁTICA FORENSE: ESTUDO POPULACIONAL DE SANTA
CATARINA**

Prof.^a Maria Risoleta Freire Marques
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Banca Examinadora:

Dra. Andrea Rita Marrero, Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

MSc. Sandra Regina Rachadel Torres, Co-orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a, Dr.^a Ilíada Rainha de Souza,
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Marcelo Malaghini,
Instituto de Criminalística do Paraná

MSc. Clineu Julien Seki Uehara,
Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

- ✓ À Dra. Andrea Rita Marrero, pela orientação acadêmica e profissional;
- ✓ À MSc. Sandra Regina Rachadel Torres, perita do Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina (IGP/SC), pela aceitação em seu ambiente de trabalho, pela orientação e pelos conselhos;
- ✓ À Dra. Ilíada Rainha de Souza, pela confiança e pelos ensinamentos de Biologia e de vida;
- ✓ Aos integrantes, passados e presentes, do Laboratório de Polimorfismos Genéticos da Universidade Federal de Santa Catarina (LAPOGE/UFSC), pela troca de conhecimento e de experiências científicas, além da amizade de quatro anos;
- ✓ Aos integrantes, passados e presentes, do Programa de Educação Tutorial (PET) da Biologia, incluindo sua tutora Tânia Tarabini Castellani. Agradeço pelo apoio financeiro por três anos da minha vida acadêmica, pelos ensinamentos e conselhos profissionais e pela amizade;
- ✓ À Associação de Universidades do Grupo Montevideú e a Universidade Nacional do Litoral (Santa Fé, Argentina) pelo apoio financeiro e pessoal em quatro meses de intercâmbio e por todas as oportunidades e amizades que surgiram a partir dessa experiência inesquecível;
- ✓ À Dra. Yara Costa Netto Muniz pela orientação, embora indireta, mas igualmente importante;

- ✓ À Secretaria de Segurança Pública de Santa Catarina - Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina, pelo fornecimento de subsídios para realização desta pesquisa;
- ✓ Ao perito Dr. Marcelo Malaghini do Laboratório de Genética Molecular Forense do Instituto de Criminalística da Polícia Científica do Paraná pelos reagentes e protocolos, além do auxílio e prestatividade;
- ✓ A todos que participaram das coletas de material biológico e extração de DNA utilizado nestas análises;
- ✓ Às Agências de fomento PNPd, CAPES, CNPq, FAPESC e UFSC;
- ✓ A todos os peritos em Análises Forenses do IGP-SC, pelo apoio na realização desta pesquisa, em especial aos peritos Odilon, Tânia, Clineu, Alessandra e a técnica Andrea;
- ✓ Aos membros da banca (Dra. Ilíada Rainha de Souza, Dr. Marcelo Malaghini e MSc. Clineu Julien Seki Uehara) que se dispuseram a avaliar e contribuir com sugestões para este trabalho;
- ✓ Aos voluntários que constituem esta amostra populacional, pois sem a sua gentil contribuição, esta pesquisa não se realizaria.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- ✓ A minha mãe, por todos os ensinamentos, pelo incentivo, apoio e amor. Sem você esse trabalho com certeza não existiria;
- ✓ Aos meus familiares, especialmente à Arlete, Antônio e Heloísa, por estarem ao meu lado em tantos momentos importantes, mesmo que à distância. A minha mãe, Maria, Rafael e Helmut, por proporcionarem a realização de um sonho e a aquisição de tantos outros;
- ✓ A minha amiga Emily Justino, uma amizade que se iniciou no primeiro dia da graduação e estendeu-se durante os trabalhos de faculdade e os estágios no LAPOGE e no IGP. Muito obrigada pelo companheirismo, pelas risadas compartilhadas e pela ajuda inestimável durante a realização deste trabalho;
- ✓ As minhas amigas de graduação, Tatiana David, Thais Vianna, Natália Cury e Francis Dias por compartilharem comigo tantos momentos de vida, alegrando a minha rotina universitária;
- ✓ Aos meus amigos de Florianópolis pelo apoio moral, pelas risadas nos fins de semana e pelo companheirismo de uma década ou pelo menos frações dela. Um agradecimento em especial para Bruna, Wolff, Cindy, Luiza, Laís, Marília, Roro, Yuki e Walter, por tudo;
- ✓ Aos meus amigos de Santa Fé, por compartilharem todos os seus dias comigo em quatro meses de intercâmbio. Um agradecimento em especial para Gerardo, Silvia, Thiago, Diana e Elodie, los quiero!
- ✓ A todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado, **MUITO OBRIGADA!**

"A ciência tudo supre, menos a virtude"
Ramón de Campoamor y Campoosorio

RESUMO

Em muitos casos forenses a amostra de DNA encontra-se degradada ou contaminada por agentes interferentes, dificultando sua amplificação. Neste sentido, foram desenvolvidos ensaios com miniSTRs, pares de oligonucleotídeos iniciadores localizados o mais próximo possível da região polimórfica repetitiva de interesse, diminuindo assim o tamanho do produto a ser amplificado. Para sua utilização na rotina forense são essenciais as etapas de validação e padronização dos protocolos bem como levantamento das frequências alélicas na população de origem das amostras. Visando a construção de bancos de dados comparativos, o presente trabalho propôs a implementação dos marcadores miniSTRs D10S1248, D14S1434 e D22S1045 na rotina de identificação forense do Estado de Santa Catarina. Uma amostra de 181 catarinenses, sem relação de parentesco entre si, doadores voluntários, foram genotipados para os locos D10S1248, D14S1434 e D22S1045 (*miniplex* Non-CODIS 01). Foram identificados dez alelos para o loco D14S1434, nove para D22S1045 e oito para D10S1248. O alelo mais frequente de todos os locos estudados foi o D22S1045*16, com uma frequência de 0,392 para a população total de Santa Catarina. Os alelos menos frequentes foram o D22S1045*10, D22S1045*12 e D10S1248*11, com uma frequência de 0,003 cada. As frequências alélicas obtidas foram comparadas às existentes em outras populações brasileiras e mundiais, sendo encontrada uma importante semelhança genética entre habitantes da região Sul do Brasil, e destes com populações europeias. Os três locos mostraram heterozigosidades maiores do que 0,7. Não foram detectados desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg para nenhum dos marcadores. Os valores de F_{ST} e AMOVA indicam pouca ou nenhuma diferenciação genética (F_{ST} 0 – 0,05) entre as mesorregiões de Santa Catarina e entre as populações catarinense, gaúcha e paranaense. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram a eficácia do *miniplex* NC01 para a identificação humana.

Palavras-chave: D10S1248, D14S1434, D22S1045, Genética Forense.

ABSTRACT

In many forensic cases, DNA samples are highly degraded or contaminated by PCR interfering agents, making the amplification process very difficult. Trying to minimize these problems, studies with miniSTRs were developed, in which primers are moved as close as possible to the STR repeat region, thereby reducing the size of the product to be amplified. An essential step to begin utilizing these markers in forensic casework routine is to validate and standardize protocols and it is also necessary to establish allelic frequencies of the population of interest, so that a comparative database can be created. In this study, the objective is to implement the miniSTR markers D10S1248, D14S1434 and D22S1045 in the forensic routine of Santa Catarina state. A sample of 181 donors from Santa Catarina, unrelated to each other, were genotyped for the locos D10S1248, D14S1434 and D22S1045 (NC01 miniplex). The number of alleles per loco was ten for D14S1434, nine for D22S1045 and eight for D10S1248. The most frequent allele for all locos was D22S1045*16, with a frequency of 0,392, for the total population of Santa Catarina. The less frequent alleles were D22S1045*10, D22S1045*12 and D10S1248*11, with a frequency of 0,003 each. The obtained allele frequencies were compared to those existing in other Brazilian and Mundial populations, resulting in a significant genetic similarity between Brazilians from the South region and between these populations with Europeans. The three locos showed heterozygosity greater than 0,588. No significant deviations were detected for the Hardy-Weinberg equilibrium for all locos. The values of F_{ST} and AMOVA suggest little or no genetic differentiation (F_{ST} from 0 to 0,05) between Santa Catarina regions and between the whole Santa Catarina population and other Brazilian populations (Paraná and Rio Grande do Sul). The results of this study confirm the efficacy of miniplex NC01 for human identification.

Keywords: D10S1248, D14S1434, D22S1045, Forensic Genetics.

Lista de Tabelas

TABELA 1: Informações dos três miniSTRs estudados (COBLE e BUTLER, 2005 adaptado).....	19
TABELA 2: <i>Primers</i> miniSTRs utilizados neste estudo (COBLE e BUTLER, 2005 adaptado).....	20
TABELA 3: Lista de artigos utilizados para comparação, com seus respectivos autores, região e número de amostras (n).	24
TABELA 4: Frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul). Os valores maiores estão destacados em negrito.....	30
TABELA 5: Frequências alélicas do loco D14S1434 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul). Os valores maiores estão destacados em negrito.....	33
TABELA 6: Frequências alélicas do loco D22S1045 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul). Os valores maiores e menores estão destacados em negrito.....	36
TABELA 7: Resultados obtidos para o cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg, na população de Santa Catarina em relação à distribuição genotípica para os locos D10S1248, D14S1434 e D22S1045.	38
TABELA 8: Parâmetros forenses investigados na população de Santa Catarina.....	40
TABELA 9: Comparação dos parâmetros forenses investigados nas populações de Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Sudeste do Brasil e Rio de Janeiro.....	41
TABELA 10: Valores de F_{ST} para as mesorregiões do Estado de Santa Catarina.....	42
TABELA 11: Valores de F_{ST} para as populações de Santa Catarina (SC - Presente estudo), Paraná (PR- MALAGHINI et al., 2009) e Rio Grande do Sul (RS - RAIMANN et al., 2012).....	43

Lista de Figuras

- FIGURA 1: Regiões minissatélites e microssatélites do DNA (KOBACHUK, 2012).....4**
- FIGURA 2: Curva de decaimento dos picos de amplificação em função do tamanho de bases, em DNA degradado (TVEDEBRINK et al., 2012 adaptado).....10**
- FIGURA 3: Diferença na amplificação de STRs convencionais e miniSTRs, demonstrando a ligação mais próxima dos *primers* miniSTRs à sequência repetitiva de interesse (STRbase, 2003).11**
- FIGURA 4: Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. Destaque: em sentido horário a partir da Capital de Santa Catarina (CSC), seguem as mesorregiões SSC - Sul de Santa Catarina, PSC - Planalto de Santa Catarina, OSC - Oeste de Santa Catarina, NSC - Norte de Santa Catarina e VSC - Vale de Santa Catarina.16**
- FIGURA 5: Localização dos marcadores D10S1248, D14S1434 e D22S1045 em representação esquemática nos cromossomos humanos 10, 14 e 22, respectivamente (PACHECO, 2010 adaptado).20**
- FIGURA 6: Eletroferograma do marcador D10S1248, demonstrando os picos de amplificação de fragmentos de tamanho aproximado de 99 e 103 pb, representando respectivamente os alelos 13 e 14.22**
- FIGURA 7: Distribuição das frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).31**
- FIGURA 8: Distribuição das frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).34**
- FIGURA 9: Distribuição das frequências alélicas do loco D22S1045 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).36**

Lista de Abreviaturas e Siglas

μL	Microlitro
AMOVA	Análise de Variância Molecular
BLU	Blumenau
CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
CHA	Chapecó
CSC	Capital de Santa Catarina
CRI	Criciúma
CODIS	<i>Combined DNA Index System</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDNAP	European DNA Profiling Group
EDTA	Ácido Tetracético Etilenodiamino
ENFSI	European Network of Forensic Science Institutes
FBI	<i>Federal Bureau of Investigation</i>
G	Força centrífuga medida em unidades de gravidade
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
HCL	Ácido Clorídrico
Indels	Inserções/Deleções
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGP-SC	Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina
IP	Índice de Paternidade
IPC	Índice de Paternidade Acumulado
IPT	Índice de Paternidade Típico
JBA	Joaçaba
JNV	Joinville
KCl	Cloreto de Potássio
LGS	Lages
LAPOGE	Laboratório de Polimorfismos Genéticos
LR	<i>Likelihood Ratio</i> (Razão de Verossimilhança)
MgCl₂	Cloreto de Magnésio
Min	Mínuto
mL	Mililitros
mM	Milimolar
mtDNA	DNA mitocondrial
n	Número de repetições
ng	Nanograma
NaCl	Cloreto de sódio
NC	Non-CODIS
ng	Nanogramas
NSC	Norte de Santa Catarina
OSC	Oeste de Santa Catarina
pb	Pares de base
pg	Picogramas

PC	Probabilidade de Coincidência
PC”1”	Probabilidade de Coincidência expressa em 1 em...
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PD	Poder de Discriminação
PE	Poder de Exclusão
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIC	Conteúdo de Informação do Polimorfismo
PR	Paraná
PSC	Planalto de Santa Catarina
RFLP	Polimorfismos de tamanho de fragmentos de restrição
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
SSC	Sul de Santa Catarina
SSPDC/SC	Secretaria de Segurança Pública e Defesa do Cidadão de Santa Catarina
STR	Repetição Curta em <i>Tandem</i> ou Microsatélite
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	Solução Tampão de Tris/EDTA
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VNTR	Repetição em Tandem de Número Variável
VSC	Vale de Santa Catarina

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
1.1) IDENTIFICAÇÃO HUMANA.....	1
1.2) MARCADORES GENÉTICOS	2
1.2.1) STRs.....	5
1.2.2) UTILIZAÇÃO DE STRs NA GENÉTICA FORENSE	6
1.2.3) O ADVENTO DOS MINISTRs	8
1.3) ESTATÍSTICA FORENSE E FREQUÊNCIAS ALÉLICAS	12
OBJETIVOS	15
2.1) OBJETIVO GERAL.....	15
2.2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1) AMOSTRA ESTUDADA	16
3.2) COLETA DAS AMOSTRAS	17
3.3) EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA.....	18
3.4) AMPLIFICAÇÃO DO DNA	19
3.5) ANÁLISE DOS FRAGMENTOS	21
3.6) ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	23
3.6.1) DETERMINAÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS	23
3.6.2) ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	24
3.6.3) HETEROZIGOSE OBSERVADA.....	25
3.6.4) HETEROZIGOSE ESPERADA OU DIVERSIDADE GÊNICA	25
3.6.5) ESTATÍSTICA F_{ST} DE WRIGHT.....	26
3.6.6) ANÁLISE DE VARIÂNCIA MOLECULAR (AMOVA)	26
3.6.7) CONTEÚDO DE INFORMAÇÃO DO POLIMORFISMO (PIC)	26
3.6.8) PROBABILIDADE DE COINCIDÊNCIA (PC) ...	27

3.6.9)	PODER DE EXCLUSÃO (PE)	27
3.6.10)	PODER DE DISCRIMINAÇÃO (PD)	28
3.6.11)	ÍNDICE DE PATERNIDADE TÍPICO (IPT)	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....		29
4.1)	ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA	29
4.1.1)	ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D10S1248	30
4.1.2)	ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D14S1434	32
4.1.3)	ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D22S1045	35
4.2)	ANÁLISE DA HETEROZIGOSE E DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG	37
4.3)	PARÂMETROS FORENSES	39
4.4)	DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA	42
4.4.1)	MESORREGIÕES DE SANTA CATARINA	42
4.4.2)	SANTA CATARINA, PARANÁ E RIO GRANDE DO SUL	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....		45
REFERÊNCIAS		46
APÊNDICES		55
ANEXOS		61

INTRODUÇÃO

1.1) IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Desenvolver métodos incontestáveis para a identificação individual sempre foi necessidade e meta das sociedades humanas, desde as mais antigas (JOBIM et al., 2005; THOMPSON e BLACK, 2007). A importância da identificação humana engloba as esferas civil e criminal, seja durante a vida dos indivíduos, em casos de identificação de criminosos e investigação de paternidade, seja após sua morte, na identificação de desaparecidos ou vítimas de acidentes em massa ou desastres naturais.

Em seu artigo nº 2, o Código Civil brasileiro (BRASIL, 2002) afirma “A personalidade civil começa do nascimento com vida...” e no artigo nº 6 registra “A existência da pessoa natural termina com a morte...”. Sendo assim, a identificação é necessária para a caracterização do início e do fim da personalidade civil. A morte necessita ser confirmada para extinção do poder familiar, do vínculo conjugal, dos contratos personalíssimos e do usufruto, além de sua confirmação ser necessária para o início do processo de sucessão (JOBIM et al., 2005).

No campo do Direito Penal, a identificação de vítimas é etapa fundamental nas investigações de crimes contra a vida (homicídios, suicídios). É virtualmente impossível desenvolver uma investigação satisfatória a partir de um caso de cadáver não identificado, pois não há como prosseguir a investigação com entrevistas a amigos, parentes e colegas da vítima. Assim, o caso permanece aberto até a identificação do cadáver (THOMPSON e BLACK, 2007).

Historicamente, várias foram as técnicas usadas para caracterizar e identificar pessoas, cada uma com vantagens e limitações próprias. A princípio o método mais comum de identificação humana constava do reconhecimento facial e de outras características pessoais como marcas, cicatrizes e tatuagens, além de medidas antropométricas. Porém, essas técnicas de identificação, assim como a tipagem sanguínea (sistema ABO, Rh), são consideradas inconclusivas (ESPÍNDULA, 2009).

A necessidade de uma maior precisão de identificação levou à busca por novos métodos identificadores. Segundo Del-Campo (2006), um bom método de identificação deve atender a quatro requisitos básicos:

1) Unicidade: os elementos selecionados para a identificação devem permitir a distinção precisa e clara entre o identificado e os demais;

2) Imutabilidade: as características analisadas não devem sofrer alteração com o passar do tempo;

3) Classificabilidade: deve permitir a comparação entre os dados, de forma precisa e sistemática, de modo a indicar rapidamente o indivíduo na população.

4) Praticabilidade: permitir, àqueles responsáveis por colher os dados de identificação, uma coleta segura e rápida, que não cause constrangimento ao identificado, com bom grau de confiança e que possa ser facilmente incorporada em uma rotina de trabalho.

A datiloscopia e a análise de marcadores de DNA, métodos de identificação bastante utilizados atualmente, satisfazem tais exigências (JOBIM et al., 2005). No entanto, assim como em comparações odontológicas (TERADA et al., 2011), esses dois métodos necessitam de registros prévios destas características, de modo a servir de referência para comparação. Além disso, algumas situações inviabilizam o estudo das impressões digitais e de outros caracteres de estudo antropológico, como em casos envolvendo corpos esqueletizados ou carbonizados (SANCHEZ e ROBLEDO, 2008). Por fim, a confiabilidade de métodos tradicionais de identificação humana, baseados em análises de marcas (impressões digitais e palmares, pegadas, mordidas), vem sendo questionada por cientistas forenses devido à descoberta de convicções errôneas (SACKS e KOEHLER, 2005). Nas últimas duas décadas, centenas de condenados por crimes graves foram absolvidos devido à análise de DNA de evidências que não haviam sido testadas na época de seus julgamentos (SCHECK et al., 2000; INNOCENCE PROJECT, 2011).

1.2) MARCADORES GENÉTICOS

Segundo adaptação de *The American Heritage Dictionary* (2007), marcador genético é um gene ou segmento de DNA associado com uma característica particular (sequências de DNA, proteínas, características visíveis), usado para identificar indivíduos e células. O primeiro marcador genético utilizado em identificação humana foi o sistema ABO, descoberto em 1900 e primeiramente utilizado para fins de identificação em 1910, ficando conhecido como herança mendeliana do grupo sanguíneo. Esse método foi utilizado por vários anos na

identificação de pessoas, especialmente em investigações de paternidade (SILVER, 1989).

Em 1958, demonstrou-se a ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos localizados na superfície dos leucócitos. Esse sistema é denominado complexo HLA (do inglês *Human Leucocyte Antigen* – Antígeno Leucocitário Humano) e é codificado por um conjunto gênico localizado no braço curto do cromossomo seis. Essas proteínas leucocitárias apresentam um grande poder de discriminação individual, em comparação com os métodos até então utilizados (SHANKARKUMAR, 2004). Utilizado em conjunto com outros marcadores proteicos, o sistema HLA fornece uma capacidade de exclusão de 95% dos supostos pais em investigações de paternidade (WALKER et al., 1987). No entanto, tal percentagem ainda não é adequada para esse e outros fins de identificação humana.

Somado ao poder discriminatório reduzido, as proteínas utilizadas como marcadores genéticos frequentemente se encontram em níveis insuficientes para tipagem na maioria dos tecidos humanos, além de serem relativamente instáveis em amostras biológicas expostas ao ambiente. A metodologia baseada no estudo destes marcadores foi então substituída pela análise da estrutura do DNA, que apresenta uma maior variação genética, está presente em todas as células nucleadas e é mais estável em amostras forenses (BUDOWLE e VAN DAAL, 2008).

Os primeiros testes de DNA com finalidade de identificação humana foram desenvolvidos pelo Dr. Jeffreys e colaboradores (1985b), através do estudo de regiões do DNA que continham seqüências de aproximadamente 8 a 80 nucleotídeos repetidas consecutivamente, cujo número de repetições podia diferir de pessoa para pessoa. Essas variações, ou polimorfismos, nas seqüências de DNA ficaram conhecidas como VNTR (do inglês *Variable Number Tandem Repeats* – repetições consecutivas de número variável) (Figura 1). Devido ao seu grande poder de individualização, derivado de uma grande variabilidade populacional, os VNTR passam a ser utilizados em estudos forenses, inicialmente na Inglaterra, em uma investigação de vínculos familiares em um caso de imigração (JEFFREYS et al., 1985a) e, logo em seguida, uma identificação em um caso de estupro seguido de morte (GILL et al., 1985).

A técnica de RFLP (do inglês *Restriction Fragment Length Polymorphism* – polimorfismo de comprimento do fragmento de restrição), usada pelo Dr. Jeffreys em seus estudos, baseia-se na utilização de enzimas de restrição que cortam o DNA em regiões

específicas, circundando os VNTRs. Jeffreys nomeou sua técnica de identificação como “impressões digitais” de DNA. Essa metodologia, apesar de ter sido muito utilizada no passado, é trabalhosa e demorada, além de não ser muito eficiente em amostras degradadas e em misturas de perfis de DNA. Por estas razões, a técnica de RFLP foi gradualmente substituída nos laboratórios forenses por metodologias baseadas no estudo de novos marcadores genéticos através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polimerase Chain Reaction*) (BUTLER, 2005).

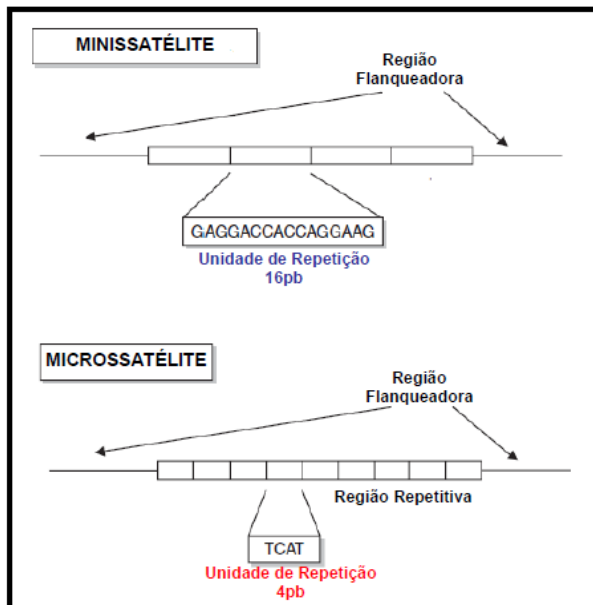


FIGURA 1: Regiões minissatélites e microssatélites do DNA (KOBACHUK, 2012).

Dentre estes novos marcadores, estão os marcadores uniparentais do cromossomo Y e do DNA mitocondrial, os polimorfismos de nucleotídeo único ou SNPs (do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*), as pequenas inserções e deleções bialélicas conhecidas como *InDels*, e um tipo de VNTR cuja unidade de repetição é curta, o chamado microssatélite ou STR (do inglês *Short Tandem Repeats* – Repetições Consecutivas Curtas).

1.2.1) STRs

STRs consistem em uma única sequência de DNA (motivo), de até seis bases de comprimento, repetida consecutivamente (em tandem) (Figura 1). Estes marcadores estão dispersos pelo genoma de todos os organismos, tanto em regiões codificadoras como não-codificadoras, sendo encontrados em uma frequência relativamente alta (GOLDSTEIN e SCHLOTTERER, 1999). Segundo Lander et al. (2001), os STRs representam 3% do genoma humano.

As taxas de mutação dos STRs são elevadas quando comparadas às de mutações pontuais, que são da ordem de 10^{-9} a 10^{-10} . Em humanos, estima-se que ocorram de 10^{-5} a 10^{-3} eventos mutacionais geradores de STRs por loco por geração (BRINKMAN et al., 1998; YAN et al., 2006). Acredita-se que essas mutações sejam decorrentes do “escorregamento” da DNA polimerase durante a replicação de DNA. Essa falha da enzima acontece quando uma das fitas de DNA forma uma alça, originando um pareamento irregular das regiões de STRs, e acarretando a perda ou ganho de uma ou mais unidades de repetição (CHAMBERS e MacAVOY, 2000).

Os STRs são classificados de acordo com o número de nucleotídeos que forma o motivo (dinucleotídeos, trinucleotídeos, tetranucleotídeos, etc). No genoma humano, os STRs penta e hexanucleotídicos são os menos frequentes, portanto sua utilização na análise forense é rara. Os sistemas de STRs mais utilizados na genética humana forense são aqueles com sequências repetitivas de quatro nucleotídeos. A razão está na maior frequência de formação de *stutters* em análises de microssatélites di ou tri nucleotídicos. Os *stutters* são artefatos da técnica de PCR, consistindo em produtos de amplificação com uma unidade de repetição a mais ou a menos que o alelo original. Estes artefatos são causados pelo “escorregamento” da DNA polimerase durante a etapa de replicação do DNA na PCR (BUTLER, 2005).

De acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Genética Forense (ISFG), a denominação dos alelos dos STRs deve ser feita de acordo com o número de unidades de repetição. Se houver seis repetições em um loco, este é chamado de alelo 6, se em seu cromossomo homólogo houver 9 repetições para o mesmo loco, este é chamado de alelo 9. Pode também haver alelos com algum tipo de variação em sua sequência, comparada com a dos alelos comumente observados. Esses alelos distintos são então denominados alelos

microvariantes. É o caso dos alelos com uma unidade de repetição incompleta, que são então designados pelo número de unidades de repetição completas e pelo número de pares de bases da unidade de repetição incompleta, separados por um ponto (BUTLER, 2005). Por exemplo, o alelo microvariante 11.3 do loco D2S441 apresenta 11 repetições completas mais três pares de bases de uma repetição incompleta.

Quanto à nomenclatura dos locos STR, seu padrão segue a seguinte ordem: O nome do marcador inicia-se pela letra “D”, significando DNA, segue-se então um número que representa o cromossomo onde o marcador está localizado, seguido pela letra “S”, indicando que se trata de uma sequência de cópia única e, finalmente, o valor numérico da ordem de descoberta e caracterização no referido cromossomo (BUTTLER, 2005). Por exemplo: o loco D10S1248 indica o 1248º polimorfismo caracterizado na fita de DNA do cromossomo 10,

1.2.2) UTILIZAÇÃO DE STRs NA GENÉTICA FORENSE

Os STRs apresentam diversas características vantajosas para a identificação forense, tais como: altos níveis de heterozigosidade, herança codominante (em cromossomos autossômicos e no X), ampla distribuição nos genomas, neutralidade seletiva, relativa facilidade e acurácia na genotipagem (GOLDSTEIN e SCHLOTTERER, 1999). Devido à sua detecção pela técnica da PCR, amostras contendo menos de 100pg de DNA podem ser genotipadas com sucesso (KIMPTON et al., 1994) e, tendo em vista que grande parte das amostras forenses encontram-se em estado de degradação de DNA, esta é uma grande vantagem do uso dos STRs em investigações criminais.

Os STRs de maior valor para a identificação forense são aqueles que apresentam alto poder de discriminação (maior que 90%), frequência de heterozigotos maior que 70%, localização em distintos cromossomos para evitar a ligação entre os marcadores, menor tamanho (90 a 500 pb) e baixa frequência de mutações (BUCKLETON et al., 2005; BUTLER, 2005). Os STRs que apresentam estas características são utilizados na rotina dos laboratórios de genética forense de acordo com o tipo de material a ser analisado (SSPDC/SC, 2006):

1) Identificação de cadáver: Análises realizadas em amostras cadavéricas, como músculos, vísceras, ossos, dentes e outras fontes

celulares, com o objetivo de determinar sua identidade em comparação à amostras-referência de supostos familiares.

2)Análise de verossimilhança: Exames realizados com objetivo de determinar a origem de certa amostra biológica, geralmente coletada em local de crime, relacionando-a a um suspeito ou vítima ou ambos.

3)Investigação de crimes sexuais: Análises realizadas em amostras coletadas de indivíduos abusados sexualmente. Visam determinar a origem de determinada amostra biológica, composta por mistura de DNA de mais de um indivíduo, sendo a vítima um dos contribuintes.

4)Investigação de paternidade criminal: Casos onde se busca evidenciar o vínculo genético de um filho(a) e seu suposto pai, considerando que a maternidade não é questionada. Na rotina forense a determinação da paternidade serve, geralmente, para comprovação de crime previamente perpetrado, como estupro e abuso de menores ou de incapazes.

A técnica de análise de DNA envolve os seguintes procedimentos: coleta e preservação da amostra, extração e quantificação de DNA, amplificação de múltiplos locos STR através da técnica de PCR, separação dos fragmentos amplificados por eletroforese capilar, genotipagem, interpretação do perfil genético obtido e análises estatísticas comparativas (BUTLER, 2007).

O mencionado sistema de amplificação simultânea de vários locos numa única reação (PCR *multiplex*) facilitou muito o estudo de STRs. Esse sistema *multiplex* gera análises com alto poder de discriminação entre indivíduos, em um período de tempo relativamente curto, sem consumir grande quantidades de reagentes e do próprio DNA extraído. Para tanto, essa metodologia requer que a temperatura de anelamento dos *primers* para os diversos locos seja semelhante e que os tamanhos dos fragmentos amplificados sejam distintos quando forem marcados com o mesmo fluorocromo, ou seja, não podem se sobrepor (BUTLER, 2007).

Nos últimos anos foram criados *kits* comerciais que disponibilizam reagentes próprios para a amplificação *multiplex* de um conjunto específico de STRs altamente polimórficos. Os marcadores mais utilizados mundialmente são 13 STRs autossômicos integrados ao sistema CODIS (*Combined DNA Index System*), implementado em 1997 pelo *Federal Bureau of Investigation* (FBI) para a criação de um banco nacional de perfis genéticos (BUTLER, 2006).

Grande parte dos laboratórios forenses no mundo utiliza-se de *kits* comerciais que permitem o estudo dos STRs indicados pelo CODIS, simplificando assim a obtenção e o intercâmbio de dados genéticos entre laboratórios forenses e também possibilitando uma maior uniformidade na inserção de perfis genéticos em bancos de dados específicos de cada país (BUTLER, 2007).

A preferência na utilização estes *kits* comerciais, em detrimento da menos custosa produção “*in house*” dos reagentes, deve-se ao fato dos *kits* apresentarem uma maior confiabilidade com relação ao controle de qualidade, uma maior facilidade em sua execução e a inclusão, em suas composições, de escalas alélicas dos alelos mais representativos em cada loco (BUTLER, 2007).

No entanto, para que esses *kits* apresentem um bom desempenho, que resulte na obtenção de perfil alélico completo para os STRs analisados, são necessárias amostras de DNA não degradado e praticamente livre de contaminantes ou impurezas que possam causar inibição da enzima DNA polimerase utilizada na técnica de PCR (BUTLER et al., 2003).

1.2.3 O ADVENTO DOS MINISTRIS

Amostras forenses normalmente estão sujeitas a condições ambientais prejudiciais, incluindo variações de iluminação, temperatura e umidade, contato com substâncias químicas corrosivas, ataques enzimáticos, contaminação e consequente degradação por microorganismos. Esses fatores determinam alterações na estrutura original da molécula de DNA levando à degradação da mesma (BENDER et al., 2004).

O processo de degradação do DNA resulta em perda permanente da informação da sequência de nucleotídeos. Essa perda geralmente se dá por processos de dano hidrolítico ou oxidativo. A hidrólise ocasiona a deaminação das bases nitrogenadas e a depurinação e depirimidinação, causando desestabilização e quebras na molécula de DNA. Já a oxidação modifica as bases ou distorce a hélice do DNA. Estes e outros danos degenerativos se acumulam continuamente na molécula de DNA (O’ROURKE et al., 2000), afetando o sucesso da genotipagem (BENDER et al., 2004; UTSUNO e MINAGUCHI, 2004).

As modificações e fragmentações no DNA, juntamente com a falta de enzimas específicas de reparo de DNA em células *post mortem*, podem resultar na produção de artefatos na análise dos STRs, ou até

mesmo completa perda do fragmento (BENDER et al., 2004). Ocasionalmente, assim, a obtenção de perfis genéticos parciais, ou mesmo sua não-obtenção, dificultando sobremaneira os processos de identificação humana por análise de DNA.

Uma questão fundamental no uso do DNA como evidência forense é a validação científica dos métodos de análise. Ou seja, é preciso ter garantias científicas de que os exames podem inequivocamente identificar inclusões e exclusões de identidade. Inicialmente, a credibilidade das análises deve partir da natureza das amostras biológicas utilizadas. A amplificação pela PCR pode produzir falhas quando a qualidade da amostra de DNA está comprometida. Amostras degradadas, como as provenientes de exumações (HOLLAND et al., 1993; IRWIN et al., 2007), de vítimas de acidentes aéreos (OLAISEN et al., 1997; GOODWIN et al., 1999; HSU et al., 1999), incêndios (WHITAKER et al., 1995; HERAS et al., 1999) e outros desastres em massa (GRAHAM, 2006) passam por três fenômenos consecutivos enquanto a degeneração ocorre: instabilidade ou desequilíbrio alélico, *dropout* alélico e ausência de amplificação (UTSUNO e MINAGUCHI, 2004).

Instabilidade ou desequilíbrio alélico é geralmente o primeiro sinal da progressão de degradação no DNA. Quando este fenômeno ocorre, é normalmente observado que o sinal de amplificação do alelo maior é mais fraco que o do alelo menor (UTSUNO e MINAGUCHI, 2004), isso sugere uma amplificação preferencial dos locos menores. Bender et al. (2004) demonstram que locos maiores de 250bp falham em sua amplificação a partir de amostras de DNA degradadas. Tendo em conta que *kits* STRs convencionais amplificam alguns locos de 300 a 500bp, é compreensível a má qualidade dos resultados obtidos a partir de amostras degradadas.

O fenômeno do desequilíbrio alélico resulta em eletroferogramas típicos, com uma curva decrescente, no qual o pico em altura é inversamente proporcional ao tamanho dos fragmentos amplificados (Figura 2). Nesse caso, os fragmentos maiores frequentemente apresentam sensibilidade menor e caem abaixo do limite de detecção. Outro fenômeno frequentemente observado é o de *dropout* alélico, no qual não ocorre a detecção de um dos alelos de um indivíduo heterozigoto, tendo como uma de suas causas a degradação da amostra de DNA. Esses fenômenos resultam em um perfil genético parcial (ISMAIL, 2009).

Devido a esta limitação dos *kits* STRs comerciais no estudo de amostras degradadas, a análise das regiões hipervariáveis do DNA mitocondrial (mtDNA) vem preenchendo este espaço. O uso do mtDNA para genotipagem de amostras degradadas apresenta numerosas vantagens sobre a análise do DNA nuclear: ocorre em diversas cópias por célula, aumentando assim o sucesso da amplificação por PCR; as regiões utilizadas para identificação são pequenas em tamanho (~610bp), tornando-as facilmente amplificáveis e o mtDNA não sofre recombinação (FORSTER et al., 2002).

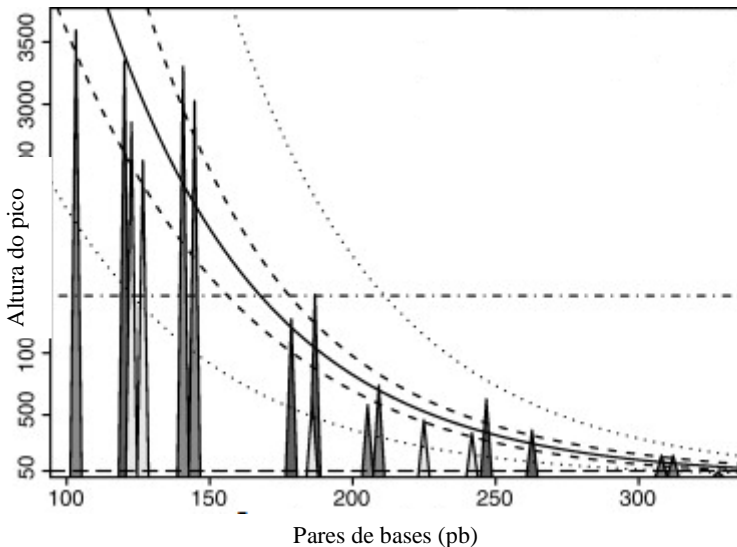


FIGURA 2: Curva de decaimento dos picos de amplificação em função do tamanho de bases, em DNA degradado (TVEDEBRINK et al., 2012 adaptado).

Porém, a análise do mtDNA tem algumas limitações quanto ao seu poder de identificação, pois obedece uma herança materno-haplóide (COBLE e BUTLER, 2005), de modo que somente discrimina linhagens maternas, não indivíduos. Além disso, diferentes tipos de mtDNA podem estar presentes em um mesmo indivíduo, em um fenômeno chamado heteroplasmia (BUDOWLE et al., 2003).

Por essa razão, a utilização de técnicas mais sensíveis em que se estudam STRs de tamanho reduzido, os miniSTRs, tem sido estimuladas. Os miniSTRs referem-se aos mesmos polimorfismos dos

STRs convencionais, diferindo apenas nas técnicas de amplificação, desenvolvidas para originarem fragmentos de DNA menores após a reação de PCR (Figura 3). Isto ocorre devido a deslocamentos na região de ligação dos *primers* para o local mais próximo possível da região polimórfica repetitiva, gerando assim produtos de PCR menores, com resultados mais consistentes nos casos em que se analisam amostras de DNA altamente degradadas (BUTLER et al., 2003). Além do seu uso em amostras degradadas, os mini-STRs podem ser utilizados em testes rotineiros de paternidade cível e criminal, nos quais marcadores adicionais são requeridos para aumentar o poder de exclusão (GOODWIN et al., 2004), ou em complexos casos de paternidade (por exemplo - incesto) (COBLE e BUTLER, 2005).

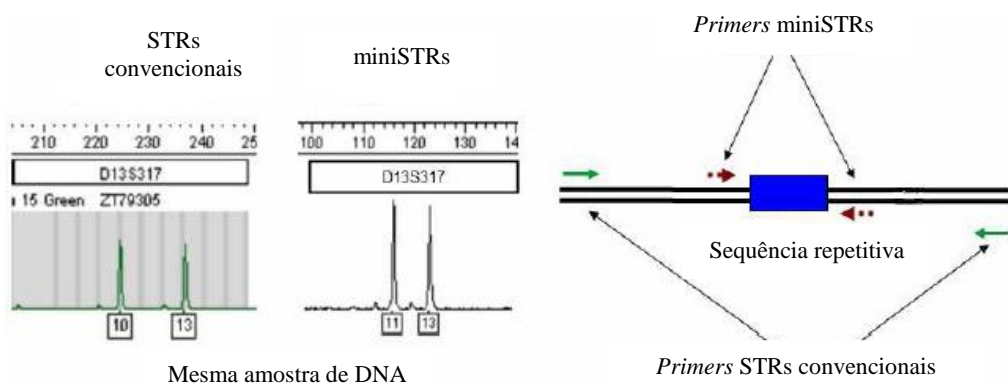


FIGURA 3: Diferença na amplificação de STRs convencionais e miniSTRs, demonstrando a ligação mais próxima dos *primers* miniSTRs à sequência repetitiva de interesse (STRbase, 2003).

Uma vantagem adicional destes miniSTRs é a manutenção da compatibilidade com bancos de dados produzidos a partir de *kits multiplex* comerciais de STRs comumente usados dentro da comunidade forense. Sendo assim, a comparação entre perfis obtidos pela análise de mini-STRs e bancos de dados de STRs comuns pode ser realizada. Butler e colaboradores (2003) publicaram um conjunto de *primers* miniSTRs CODIS que permite a redução máxima no tamanho para todos os 13 locos STR CODIS.

Como mencionado, a maior vantagem no uso de miniSTRs CODIS é a manutenção da compatibilidade dos bancos de dados. No

entanto, alguns locos CODIS não podem ser transformados em fragmentos de amplificação menores. As regiões flanqueadoras de alguns destes marcadores contêm nucleotídeos polimórficos, repetições parciais, alongamentos de repetições mononucleotídicas ou inserções/deleções que podem prevenir o anelamento estável dos *primers* (BUTLER et al., 2003). Sendo assim, nem todos os *primers* foram desenvolvidos para anelar apenas alguns nucleotídeos da sequência repetitiva.

Por estas razões, Coble e Butler (2005) desenvolveram novos miniSTRs, chamados Non-CODIS, que podem auxiliar na análise de DNA degradado. Estes locos não têm intenção de substituir os existentes marcadores CODIS, mas sim complementá-los em casos onde locos adicionais são necessários para aumento da inferência estatística. Portanto, estes marcadores não apresentam desequilíbrio de ligação em relação aos locos estabelecidos pelo CODIS. O processo de seleção destes novos marcadores resultou, inicialmente, em dois conjuntos (*miniplex*) de três locos cada: o *miniplex* NC (Non-CODIS) 01 contendo os marcadores D10S1248, D14S1434 e D22S1045, e o *miniplex* NC02, constituído por D1S1677, D2S441 e D4S2364. O *miniplex* NC01 teve um desempenho satisfatório no estudo EDNAP/ENFSI sobre análise de DNA degradado (DIXON et al., 2006) e têm sido recomendado para inclusão na nova geração de STRs *multiplex* na Europa (GILL et al., 2006).

Mais tarde, em 2006, Hill e colaboradores adicionaram mais locos aos seis existentes, somando um total de 26 marcadores miniSTRs autossômicos Non-CODIS. Esses marcadores são amplificados por PCR em fragmentos pequenos, de 50 a 150 pares de bases (pb).

1.3) ESTATÍSTICA FORENSE E FREQUÊNCIAS ALÉLICAS

A maioria das análises de DNA com cunho forense apresenta dois objetivos: estabelecer se duas (ou mais) amostras pertencem a uma mesma pessoa ou verificar a existência de vínculos genéticos entre as amostras, na tentativa de identificar indivíduos através de tais vínculos, ou mesmo averiguar o próprio vínculo, como nos casos de testes de paternidade (SSPDC/SC, 2006; PACHECO, 2010).

No entanto, o fato de duas amostras apresentarem o mesmo perfil para um grupo de marcadores genéticos específicos não significa, obrigatoriamente, que elas apresentam a mesma origem. Ou, no caso de

exames de paternidade, um suposto pai não necessariamente é o pai biológico de uma criança apenas devido ao fato de os dois compartilharem certos alelos. Neste sentido, os perfis genéticos obtidos necessitam ser interpretados através da estatística forense, que irá expressar numericamente a significância do evento em questão, por exemplo: quão significativa é o fato de um suspeito apresentar o mesmo perfil genético de uma amostra de crime (PARADELA et al., 2007).

Em casos de verossimilhança, é feita a comparação de perfis genéticos entre uma amostra de origem desconhecida (evidência criminal) e uma conhecida (referência do suspeito). Assim, se os perfis de DNA combinaram, ou seja, se houver uma identidade de perfis, pode-se especular que o suspeito seja a fonte do DNA da amostra criminal, mas ainda existe a possibilidade de que outra pessoa tenha sido a fonte. Assim, é necessário o cálculo da probabilidade de que outra pessoa, que não o suspeito, escolhida aleatoriamente da população, compartilhe o perfil genético com o suspeito. Para avaliar a probabilidade de que a amostra de crime não pertença ao suspeito, deve-se calcular a frequência do perfil na população de interesse. Essa frequência é chamada de probabilidade de combinação aleatória e quanto menor for, maior será a probabilidade de que as duas amostras provêm da mesma pessoa, ou seja, o suspeito. Essa probabilidade recíproca da probabilidade de combinação aleatória é chamada de razão de verossimilhança (LR – *Likelihood Ratio*) (BONACCORSO, 2005; BUCKLETON, 2005).

O cálculo desta razão baseia-se na premissa de que, se a população estiver em equilíbrio de Hardy-Weinberg, a proporção de indivíduos homocigotos para um dado alelo será o quadrado da frequência deste alelo (p^2) e a proporção de indivíduos heterocigotos será o produto das duas frequências multiplicado por dois ($2pq$). Considerando-se a ocorrência do Equilíbrio de Ligação para os marcadores analisados (ou seja, presumindo-se que não exista correlação entre os genótipos em locos individuais), é possível calcular a frequência de um dado genótipo na população através da regra do produto, ou seja, a multiplicação das frequências dos genótipos de cada loco. Um valor de LR de 10,000 significa que é 10,000 vezes mais provável obter-se uma identidade de perfis se as amostras de DNA forem provenientes da mesma pessoa do que se elas se originarem de dois indivíduos diferentes aleatoriamente escolhidos da população (LINCOLN e THOMPSON, 1998; BUCKLETON et al., 2005; PACHECO, 2010).

Para efetuar os cálculos de vínculos genéticos, seja para a identificação de cadáveres através de seus familiares, seja para testes de paternidade (ou outros parentescos), também são utilizados testes estatísticos a partir dos dados de frequências alélicas populacionais. Sempre que houver a inclusão do vínculo (ou seja: sempre que os perfis genéticos apresentem nível adequado de semelhança), é necessário realizar cálculos estatísticos para determinar a força da hipótese de parentesco. Para a realização destes cálculos no caso de investigação de paternidade, leva-se em conta que, em uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg, a probabilidade de um homem qualquer transmitir um alelo específico para uma criança é igual à frequência deste alelo na população (LINCOLN e THOMPSON, 1998; BONACCORSO, 2005; BUCKLETON et al., 2005).

Estes cálculos contam ainda com certo grau de subjetividade, pois se utilizam de uma probabilidade *a priori* (que por si só desconsidera os dados obtidos a partir das evidências genéticas), fornecendo resultados na forma de uma probabilidade *a posteriori*. Nos casos de vínculos genéticos são calculados índices de paternidade (IP), índice de paternidade cumulativo (IPC) e a probabilidade de paternidade (PP) ou outros parentescos (BUCKLETON et al., 2005; PACHECO, 2010).

A LR também pode ser utilizada em casos em que se observa a presença de misturas de perfis genéticos (por exemplo: mistura de material vaginal de uma vítima de estupro e material seminal do criminoso). Este tipo de avaliação de perfis genéticos é mais complexo, pois precisa estimar a proporção de contribuição individual para a mistura (WEIR et al., 1997; BUCKLETON et al., 2005).

Percebe-se que todas as análises estatísticas forenses demonstradas necessitam das frequências alélicas dos marcadores genéticos na população analisada. Assim, realizam-se estudos populacionais que disponibilizem essas frequências na forma de bancos de dados de frequências alélicas, que poderão ser prontamente utilizados no momento da realização dos cálculos (LINCOLN e THOMPSON, 1998; BONACCORSO, 2005).

OBJETIVOS

2.1) OBJETIVO GERAL

Caracterizar a variabilidade genética da população do Estado de Santa Catarina através da análise de três locos autossômicos miniSTRs (D10S1248, D14S1434 e D22S1045), conhecidos como sistema NC01 (Non-Codis 01). Avaliar estruturação da população catarinense quanto aos locos analisados, de modo que os mesmos possam ser eficientemente utilizados no Estado como marcadores em Genética Forense.

2.2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.5.1) Determinar as frequências alélicas dos miniSTRs D10S1248, D14S1434 e D22S1045, em amostras provenientes das mesorregiões catarinenses Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul, e no Estado de Santa Catarina como um todo.

1.5.2) Comparar as frequências entre as mesorregiões, de modo a verificar o grau de estratificação populacional com base nestes marcadores.

1.5.3) Estabelecer comparações entre as frequências dos miniSTRs na população de Santa Catarina e as frequências de demais populações mundiais.

1.5.4) Verificar a eficácia de discriminação individual proporcionada por estes marcadores, segundo parâmetros estatísticos de interesse forense.

MATERIAL E MÉTODOS

3.1) AMOSTRA ESTUDADA

A amostra populacional utilizada neste estudo é composta de 181 indivíduos, doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC), que consentiram voluntariamente em participar da pesquisa. Esses voluntários não apresentam parentesco entre si e são nativos e moradores das seis mesorregiões de Santa Catarina, classificadas conforme IBGE (1990): Grande Florianópolis (CSC), Norte Catarinense (NSC), Oeste Catarinense (OSC), Serrana (PSC), Sul Catarinense (SSC), Vale do Itajaí (VSC) (Figura 4).

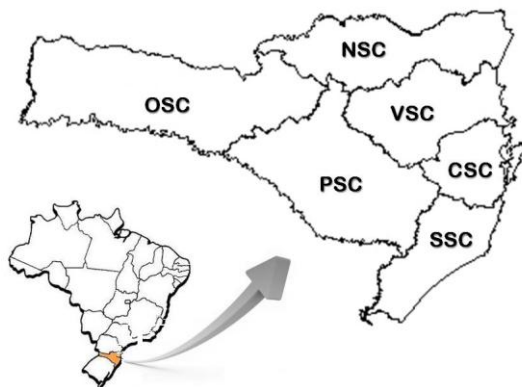


FIGURA 4: Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. Destaque: em sentido horário a partir da Capital de Santa Catarina (CSC), seguem as mesorregiões SSC - Sul de Santa Catarina, PSC - Planalto de Santa Catarina, OSC - Oeste de Santa Catarina, NSC - Norte de Santa Catarina e VSC - Vale de Santa Catarina.

A amostra foi dividida entre material biológico, obtido através de coleta de sangue periférico, e dados epidemiológicos, obtidos através do preenchimento de um formulário (ANEXO 1) de dados pessoais. As coletas ocorreram somente após assinatura, por cada voluntário, de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – ANEXO 2).

3.2) COLETA DAS AMOSTRAS

Foram coletados dados epidemiológicos e amostras de sangue de 31 indivíduos da mesorregião Serrana, representada pelo posto de coleta do HEMOSC unidade de Lages (LGS), e 30 indivíduos de cada uma das demais regiões de Santa Catarina, representadas pelos postos de coleta unidade de Chapecó (CHA) e Joaçaba (JBA) para a região Oeste, unidade de Joinville (JNV) para o Norte, unidade de Blumenau (BLU) para o Vale do Itajaí, unidade de Florianópolis para a região da Grande Florianópolis, unidade de Criciúma (CRI) para o Sul catarinense. O número total de amostras utilizadas no presente estudo foi de 181.

As coletas foram realizadas pelos funcionários de cada unidade do HEMOSC citada, com a retirada de 10ml de sangue periférico dos doadores. Após a coleta do sangue em tubos estéreis contendo EDTA, estes foram devidamente identificados e transportados para o Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE) do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde foram rotulados e mantidos a 4°C até o momento da separação do material biológico. A amostra biológica populacional utilizada neste trabalho foi então integrada ao Banco de DNA do LAPOGE onde permanecerá sob responsabilidade da Dra. Ilíada Rainha de Souza, coordenadora do laboratório.

O preenchimento dos formulários de dados epidemiológicos deu-se no momento da coleta de sangue. As informações obtidas foram compiladas de forma a manter o anonimato e aos voluntários foi comunicado que os resultados da pesquisa são restringidos ao escopo populacional, não tratando-se de características patológicas. Os resultados obtidos não foram divulgados diretamente ao doador, porém se algum participante desejar informar-se tem o direito de solicitar os resultados, como previsto no projeto.

Este trabalho faz parte de um projeto maior, em vigência, intitulado “Estrutura genética e origem da população do Estado de Santa Catarina”, submetido e aprovado pelo: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o parecer nº 1077/11. Os dados de submissão do projeto ao CEP são apresentados no ANEXO 3.

3.3) EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA

As amostras de sangue periférico foram centrifugadas para a separação dos componentes sanguíneos, e a camada de leucócitos foi retirada. Esses leucócitos foram utilizados para a extração de DNA genômico.

Reagentes e Soluções

- 1) Solução de Lise I (Tris-HCl 0,01M; Sacarose 0,32M; MgCl₂ 0,0025M; Triton X 100 – 1%)
- 2) Solução de Lise II (Tris-HCl 0,01M; KCl 0,05M; MgCl₂ 0,0025M; IGEPAL – 1%; TWEEN 20 – 1%)
- 3) SDS (10%)
- 4) Solução de Perclorato de Sódio (5,0M)
- 5) Solução Saturada de NaCl (6,0M)
- 6) TE (Tris-HCl 1M; EDTA 0,5M)

Procedimento

A extração de DNA foi realizada através de um método de *Salting Out* modificado, baseado em Miller et al. (1988). Para cada amostra, foram colocados 100µL da camada de leucócitos em microtubos de polipropileno de 1,5mL (tipo *ependorf*), utilizando-se uma micropipeta e ponteiras estéreis. Em seguida, adicionou-se 1,0mL Solução de Lise I em cada um desses microtubos. As amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 13400G durante 4 min. O sobrenadante foi descartado e, este procedimento foi repetido (de 3 a 4 vezes) até que os glóbulos vermelhos fossem removidos e o precipitado apresentasse cor branca, indicando, somente, a presença dos glóbulos brancos. Posteriormente, foi acrescentado ao precipitado de leucócitos 300µL de Solução de Lise II, 10µL de SDS 10% e 75µL de Perclorato de Sódio 5M. As amostras foram agitadas em um agitador de tubos, do tipo *vórtex*, e a cada tubo foi acrescentado 130µL de NaCl 6M e, a seguir, as amostras foram centrifugadas a 13400G por 5 min. Novos microtubos de 1,5mL foram identificados e, para esses, foram transferidos os sobrenadantes resultantes da centrifugação. Ao sobrenadante foram adicionados 300µL de Álcool Isopropílico e as amostras foram, novamente, centrifugadas a 13400G por 15 min. O sobrenadante foi descartado e ao precipitado foi acrescentado 300µL de Etanol 70%. As amostras foram centrifugadas a 13400G por 5 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi seco, a temperatura

ambiente, de um dia para outro. Quando os precipitados já estavam secos, foi adicionado a cada tubo 100 μL de TE. As amostras foram colocadas no banho-maria a 56°C, por 30 min e, posteriormente, armazenadas a -20°C.

Alíquotas das amostras extraídas foram submetidas à quantificação pela leitura da densidade óptica do DNA, através do espectrofotômetro da *Pharmacia Biotech*, modelo Ultrospec 3000, e foram feitas soluções de uso na concentração de 10 ng/ μL .

3.4) AMPLIFICAÇÃO DO DNA

Alíquotas das amostras de DNA extraídas e quantificadas foram submetidas ao processo de amplificação através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (SAIKI et al., 1988). Utilizando sequências de *primers* (oligonucleotídeos iniciadores que se anelam poucos nucleotídeos de distância da sequência repetitiva de interesse) e condições de termociclagem segundo Coble e Butler (2005), foram amplificados simultaneamente um conjunto de três miniSTRs autossômicos, correspondente ao sistema *triplex* NC01: D10S1248, D14S1434 e D22S1045 (Tabela 1, Figura 5). Os *primers* utilizados, e respectivas marcações com fluorocromos, estão descritos na Tabela 2.

TABELA 1: Informações dos três miniSTRs estudados (COBLE e BUTLER, 2005 adaptado).

Loco	Localização Cromossômica	Sequência Motivo	Amplitude do tamanho do <i>amplicon</i> STR comum (pb)	Amplitude do tamanho do <i>amplicon</i> miniSTRs (pb)
D10S1248	10q26.3	(GGAA) _n	231–271	83–123
D14S1434	14q32.13	(GATA) _n (GACA) _n	222–250	70–98
D22S1045	22q12.3	(TAA) _n	132–165	76–109

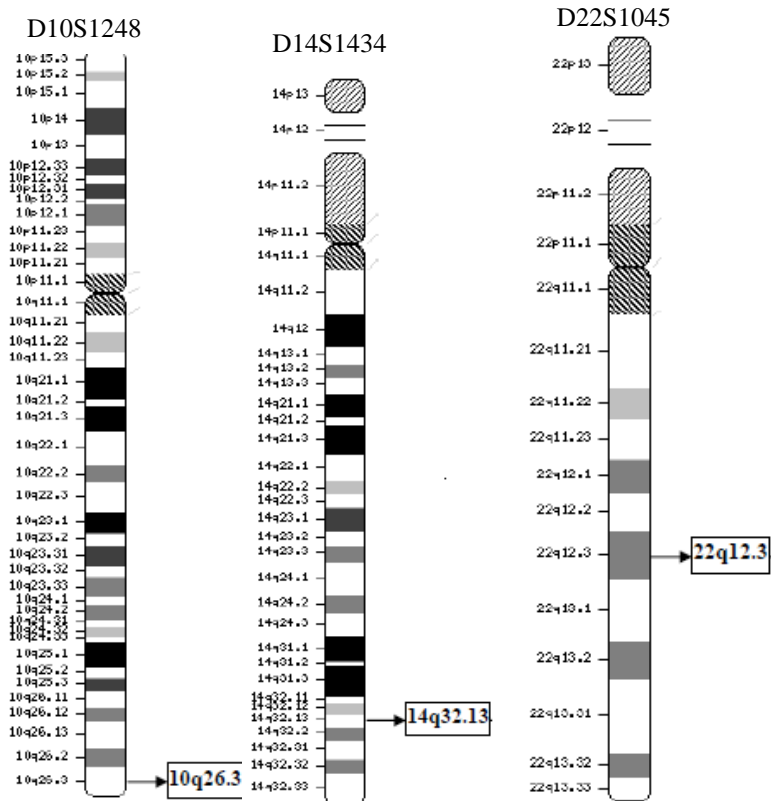


FIGURA 5: Localização dos marcadores D10S1248, D14S1434 e D22S1045 em representação esquemática nos cromossomos humanos 10, 14 e 22, respectivamente (PACHECO, 2010 adaptado).

TABELA 2: *Primers* miniSTRs utilizados neste estudo (COBLE e BUTLER, 2005 adaptado).

LOCO	Seqüência do <i>Primer</i> (5'-3')
D10S1248	for [FAM]-TTAATGAATTGAACAAATGAGTGAG rev GCAACTCTGGTTGTATTGTCTTCAT
D14S1434	for [VIC]-TGTAATAACTCTACGACTGTCTGTCTG rev GAATAGGAGGTGGATGGATGG
D22S1045	for [NED]-ATTTTCCCCGATGATAGTAGTCT rev GCGAATGTATGATTGGCAATATTTTT

Reação em Cadeia da Polimerase

Reagentes e Soluções

- 1) Água.
- 2) *2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix* (QIAGEN).
- 3) *Mix Triplex de Primers NC01*: 13 μ L de *Primers Reverse e Forward D10S1248* 5 μ M, 13 μ L de *Primers Reverse e Forward D14S1434* 5 μ M, 8 μ L de *Primers Reverse e Forward D22S1045* 5 μ M.
- 4) *Taq DNA polymerase Gold* (5U/ μ L, Applied Biosystems).

Procedimento

O processo de amplificação foi realizado em reações de PCR com volume total de 10 μ L, contendo 5 μ L de *2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix*, 2 μ L de *Mix Triplex de Primers NC01*, 0,2 μ L de *Taq DNA polymerase Gold* e 1 μ L de DNA (em torno de 1-2ng). Essas amostras foram colocadas no termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) e submetidas a uma desnaturação inicial a 95°C por 10 min e, em seguida, a 30 ciclos de: 94°C por 1 min, 55°C por 1 min e 72°C por 1 min; e um passo de extensão final a 60°C por 45 min.

Na PCR se utilizou um controle negativo, que apresentava todos os reagentes, exceto o DNA genômico, tendo por objetivo detectar possíveis contaminações por DNA exógeno. Utilizou-se também um controle positivo de DNA de linhagem celular humana feminina *AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Control DNA 9947A* (Applied Biosystems) na concentração de 1ng/ μ L.

3.5) ANÁLISE DOS FRAGMENTOS

Reagentes e Soluções

- 1) Hi-Di Formamida (Applied Biosystems).
- 2) *GeneScan TM – LIZ 500 TM Size Standard* (Applied Biosystems).

Procedimento

Após amplificação, 1 μ L de produto de PCR foi adicionado a 8,7 μ L de Hi-Di Formamida e 0,3 μ L de padrão interno *GeneScan TM – LIZ 500 TM Size Standard*. Os fragmentos amplificados foram então separados em eletroforese capilar durante 15 min para cada 4 amostras (4 capilares) em uma corrente de 15kV (120-160mA) a 60°C e

simultaneamente detectados por fluorescência laser-induzida no analisador genético ABI 3130 (ABIPRISM - Applied Biosystems), utilizando o *software Run 3130 Data Collection* v. 3.0 (Applied Biosystems).

Foi então utilizado o programa *GeneMapper ID* v. 3.2 (Applied Biosystems) que determina o tamanho dos picos em pares de base (Figura 6), através da comparação com um padrão de tamanho (GeneScan TM – LIZ 500TM Size Standard). A atribuição alélica foi feita manualmente, recorrendo inicialmente a um “*ladder* teórico” construído como a seguir se descreve: Foram amplificadas e analisadas, seguindo os procedimentos anteriormente descritos, diversas réplicas de DNA padrão *AmpF ℓ STR \circledR Control DNA 9947A* (Applied Biosystems), cujo perfil genético era conhecido, pois havia sido descrito por Hill et al., 2007. Calculou-se a média dos tamanhos dos fragmentos obtidos para cada marcador (em pares de bases – pb) e fez-se corresponder esse tamanho ao respectivo alelo do DNA padrão. Em seguida, adicionaram-se e subtraíram-se sucessivamente 4pb ao valor médio dos resultados de D10S1248 e D14S1434 – uma vez que esses locos apresentam unidades de repetição tetranucleotídicas – e 3pb ao valor médio de D22S1045 – pois a região repetitiva deste marcador é trinucleotídica – para se obterem os valores relativos aos alelos superiores e inferiores, respectivamente.

Uma vez completa a análise, o programa *GeneMapper* apresenta os resultados incluindo os valores de qualidade, e armazena os resultados no seu banco de dados.

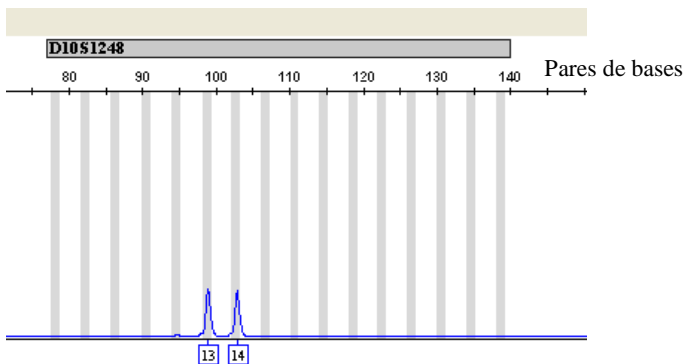


FIGURA 6: Eleetroferograma do marcador D10S1248, demonstrando os picos de amplificação de fragmentos de tamanho aproximado de 99 e 103 pb, representando respectivamente os alelos 13 e 14.

3.6) ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para os três miniSTRs estudados, com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER et al., 2010), foram determinadas as frequências alélicas, avaliada a aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg e determinada a Heterozigose esperada e observada. Os valores de F_{st} e as estimativas de variância molecular (AMOVA) também foram obtidos com o mesmo programa. Parâmetros estatísticos de interesse forense, como Poder de Discriminação (PD), Probabilidade de Correspondência (PC), Conteúdo de Informação do Polimorfismo (PIC), Poder de Exclusão (PE) e Índice de Paternidade Típico (IPT), foram calculados com o programa POWERSTATS 12 – Promega (TEREBA, 1999). Os resultados obtidos por essas análises foram comparados com os obtidos em outras populações disponíveis na literatura. Os artigos utilizados para comparação estão discriminados na Tabela 3.

3.6.1) DETERMINAÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS

Os locos autossômicos do tipo miniSTRs apresentam alelos codominantes, o que permite inferir os genótipos a partir dos respectivos fenótipos. As frequências alélicas (x_i) e genotípicas (X_{ii}) de cada loco foram estimadas por contagem direta, segundo as equações:

$$x_i = \frac{2n_{ii} + \sum n_{ij}}{2n} \quad \text{e} \quad X_{ii} = \frac{n_{ii}}{n}$$

onde:

x_i é a frequência do alelo “i”

X_{ii} é a frequência do genótipo “ii”

n_{ii} e n_{ij} correspondem ao número de homozigotos e heterozigotos observados para o alelo i, respectivamente;

n corresponde ao número de indivíduos analisados.

TABELA 3: Lista de artigos utilizados para comparação, com seus respectivos autores, região e número de amostras (n).

Região	Autor
Mulatos do Brasil – Rio de Janeiro	ARANDA et al., 2011(n=102)
Paraná	MALAGHINI et al., 2009 (n=155)
Rio Grande do Sul	RAIMANN et al., 2012 (n=630)
Sudeste do Brasil	DOS SANTOS et al., 2011(n=500)
Alemanha	HERZOG et al., 2007 (n=133); SEIDER et al., 2010 (n=404)
Itália	CORTELLINI et al., 2010 (n=210); MASSETTI et al., 2009 (n=200); TURRINA et al., 2007 (n=198); PREVIDERE et al., 2012 (n=960)
Polônia	PARYS-PROSZEK et al., 2010 (n=154)
Hungria	MOLNAR et al., 2010 (n=254)
Estados Unidos	COBLE e BUTLER., 2005 (n=474)
Argentina	VULLO et al., 2010 (n=506)
Japão	ASAMURA et al., 2005 (n=142)
Coréia	CHUNG et al., 2007 (n=300)
Portugal	LAGOA et al., 2008 (n=228)
Singapura	YONG et al., 2007 (n=545)
África do Sul	ISMAIL, 2009 (n=268)

3.6.2) ADERÊNCIA AO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Segundo o teorema de Hardy-Weinberg, as frequências genotípicas esperadas no equilíbrio podem ser estimadas a partir da expansão do seguinte binômio:

$$(x_i + x_j)^2 = x_i^2 + 2x_i x_j + x_j^2$$

Onde:

x_i^2 é a frequência esperada dos homozigotos do alelo i;

$2 x_i x_j$ é a frequência esperada do heterozigoto ij;

$2x_j^2$ é a frequência esperada dos homozigotos para o alelo j.

A aderência das frequências genóticas observadas às proporções teóricas de Hardy-Weinberg foi verificada através do teste exato de probabilidade (GUO e THOMPSON, 1992).

3.6.3) HETEROZIGOSE OBSERVADA

Heterozigose observada trata-se da proporção de indivíduos heterozigotos na população em estudo. Uma alta heterozigose significa que existe uma maior diversidade alélica e, conseqüentemente, uma menor probabilidade de combinação aleatória (BUTLER, 2005).

Esse índice é dado por:

h = número de indivíduos heterozigotos/ número de indivíduos analisados

3.6.4) HETEROZIGOSE ESPERADA OU DIVERSIDADE GÊNICA

Heterozigose esperada ou diversidade gênica é a probabilidade de que dois alelos escolhidos aleatoriamente na população sejam diferentes (BUTLER, 2005). É estimada segundo Nei (1987), através da seguinte fórmula de determinação da heterozigose esperada (H) e seu desvio padrão (DP):

$$H = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 \right)$$

$$DP = \left\{ \frac{2}{n(n-1)} \left\{ 2(n-2) \left[\sum p_i^3 - \left(\sum p_i^2 \right)^2 \right] + \sum p_i^2 - \left(\sum p_i^2 \right)^2 \right\} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Onde:

p_i é a frequência do haplótipo i ;

n é o número de cromossomos na amostra;

k é o número de haplótipos.

3.6.5) ESTATÍSTICA F_{ST} DE WRIGHT

A estatística F de Wright inclui o F_{st} , um índice de fixação que avalia a redução da heterozigose resultante da subdivisão populacional, comparando os níveis menos inclusivos com os mais inclusivos da hierarquia populacional. É utilizada para examinar o nível total de divergência genética entre subpopulações (HARTL e CLARK, 2010). Wright (1978) sugeriu as seguintes orientações qualitativas para a interpretação de F_{st} :

- Amplitude de 0 a 0,05: pequena diferenciação genética.
- Amplitude de 0,05 a 0,15: moderada diferenciação genética.
- Amplitude de 0,15 a 0,25: grande diferenciação genética.

3.6.6) ANÁLISE DE VARIÂNCIA MOLECULAR (AMOVA)

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) é um método que estima diferenciação populacional diretamente a partir dos dados moleculares e testa hipóteses sobre essa diferenciação. A AMOVA permite análises hierárquicas de três componentes da variância genética, ou seja, aquelas devidas às diferenças genéticas dentro das populações, entre populações dentro dos grupos e entre grupos.

3.6.7) CONTEÚDO DE INFORMAÇÃO DO POLIMORFISMO (PIC)

Conteúdo de Informação do Polimorfismo (PIC) é a probabilidade de que um descendente de um indivíduo paternal apresentando um alelo raro em um loco poderá permitir a dedução do genótipo paternal naquele loco. Quando o valor é superior a 0,5 significa que o marcador é bastante informativo. Se os valores encontrarem-se entre 0,25 e 0,5, o marcador é considerado razoavelmente informativo e valores menores que 0,25 correspondem a marcadores poucos informativos (BOTSTEIN et al., 1980). Esse índice é dado por:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) + \sum_{i=1}^n p_i^4$$

Onde:

p_i é a frequência de cada alelo;

n é o número de alelos.

3.6.8) PROBABILIDADE DE COINCIDÊNCIA (PC)

A Probabilidade de Coincidência (PC) indica quão comum ou rara é a probabilidade de uma combinação aleatória em um perfil genotípico. É obtida através da frequência genotípica de um loco ou através do produto das frequências de todos os locos genotipados (BUTLER, 2005). É uma estimativa do número de indivíduos que devem ser estudados para que se encontre o mesmo padrão de DNA, em indivíduos selecionados ao acaso (MORETI, 2009). Esse índice é dado por:

$$PC = \sum_{k=1}^m p^2 k$$

Onde:

P_k é a frequência de cada genótipo;

n é o número de genótipos.

3.6.9) PODER DE EXCLUSÃO (PE)

Poder de Exclusão (PE) é a probabilidade, em média, de um indivíduo selecionado aleatoriamente ser excluído da paternidade em um caso típico de um par mãe-criança (CHAKRABORTY e STIVERS, 1996). Quando vários marcadores são analisados, a probabilidade de um indivíduo falsamente acusado ser excluído é maior, sendo este índice denominado Poder de Exclusão Acumulado. PE é dado por:

$$PE = h^2 (1 - 2hH^2)$$

Onde:

h é a heterozigose para o loco;

H é a homozigose para o loco.

3.6.10) PODER DE DISCRIMINAÇÃO (PD)

Poder de Discriminação é a probabilidade de que dois indivíduos de uma mesma população, amostrados aleatoriamente, tenham genótipos diferentes. Indica a capacidade do loco para fazer a discriminação entre indivíduos (FISHER, 1951). Esse índice é dado por:

$$PD = 1 - PC$$

Onde:

PC é a probabilidade de coincidência para um loco.

3.6.11) ÍNDICE DE PATERNIDADE TÍPICO (IPT)

O Índice de Paternidade Típico indica quantas vezes é mais provável que o indivíduo testado seja o pai biológico, ao invés de um indivíduo selecionado ao acaso (HUSTON, 1998). Esse índice é dado por:

$$IPT = \frac{H + h}{2H}$$

onde:

h=heterozigose para o loco;

H= homozigose para o loco.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1) ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA

Todos os resultados obtidos nesse trabalho encontram-se no Apêndice 1. Os valores das frequências alélicas obtidos no Estado de Santa Catarina, bem como em suas mesorregiões, para os locos D10S1248, D14S1434 e D22S1045 encontram-se discriminados nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente. As Figuras 7, 8 e 9 ilustram a distribuição das frequências alélicas para os marcadores D10S1248, D14S1434 e D22S1045, respectivamente.

O levantamento da distribuição alélica revelou que, para a população de Santa Catarina como um todo, o loco com menor número de alelos foi o D10S1248, com oito alelos. Os locos D14S1434 e D22S1045 apresentaram, respectivamente, dez e nove alelos. Somam-se, então, 27 alelos para esse *miniplex* de três miniSTRs.

Em relação aos alelos reportados por Raimann et al. (2012) para a população do Rio Grande do Sul em seu estudo com 438 indivíduos, alguns alelos não foram encontrados em Santa Catarina: *D10S1248*10*, *D10S1248*18*, *D14S1434*9* e *D14S1434*18*. Porém, outros foram relatados para Santa Catarina e não para o Rio Grande do Sul: *D10S1248*9*, *D14S1434*19* e *D14S1434*20*. Já o estudo de Malaghini et al. (2009) com 155 indivíduos do Paraná demonstrou a ausência de diversos alelos quando comparados aos resultados da população de Santa Catarina: *D10S1248*9*, *D10S1248*11*, *D14S1434*16*, *D14S1434*17*, *D14S1434*19* e *D14S1434*20*. Apenas o loco *D22S1045* teve todos os alelos compartilhados entre as três populações, demonstrando que, apesar da proximidade geográfica e similaridade na contribuição ancestral para a formação das três populações (ALVES-SILVA et al., 2000; MAAR et al., 2011), ainda há a necessidade de bancos de dados estaduais nas interpretações de análises de DNA.

4.1.1) ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D10S1248

Para o loco D10S1248, a população de Santa Catarina como um todo apresentou os alelos *11 e *14 como os menos e mais frequentes, respectivamente. As frequências alélicas totais variaram de 0,003 a 0,312. As mesorregiões Oeste, Planalto, Vale e Norte também apresentaram uma maior frequência do alelo *14. No entanto, as regiões Capital e Sul apresentaram o alelo *13 como o mais frequente, sendo a frequência deste alelo na região Sul, de valor 0,467, a maior entre todas as mesorregiões catarinenses, para todos os alelos dos três marcadores estudados. A Capital apresentou frequências distribuídas entre os alelos do loco D10S1248, com os alelos *13, *14, *15 e *16 apresentando frequências similares. O alelo *11 foi apresentado apenas pela Capital, com frequência de 0,017. A região Oeste foi a que apresentou menor diversidade alélica, não apresentando os alelos 9, 11 e 17. Tais diferenças entre as mesorregiões podem ser ocasionadas por uma variação na distribuição alélica regionalmente, mas é preciso levar em consideração o pequeno tamanho amostral de apenas 30 a 31 indivíduos para cada mesorregião.

TABELA 4: Frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul). Os valores maiores estão destacados em negrito.

D10S1248							
Alelo	SC Total (n=181)	Capital (CSC) (n= 30)	Oeste (OSC) (n=30)	Planalto (PSC) (n=31)	Vale (VSC) (n=30)	Norte (NSC) (n=30)	Sul (SSC) (n=30)
9	0,005	0,000	0,000	0,000	0,017	0,016	0,000
11	0,003	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
12	0,036	0,050	0,033	0,017	0,067	0,017	0,033
13	0,290	0,283	0,267	0,274	0,233	0,217	0,467
14	0,312	0,250	0,300	0,306	0,400	0,400	0,217
15	0,177	0,200	0,267	0,210	0,150	0,150	0,083
16	0,141	0,133	0,133	0,161	0,083	0,167	0,167
17	0,036	0,067	0,000	0,032	0,050	0,033	0,033

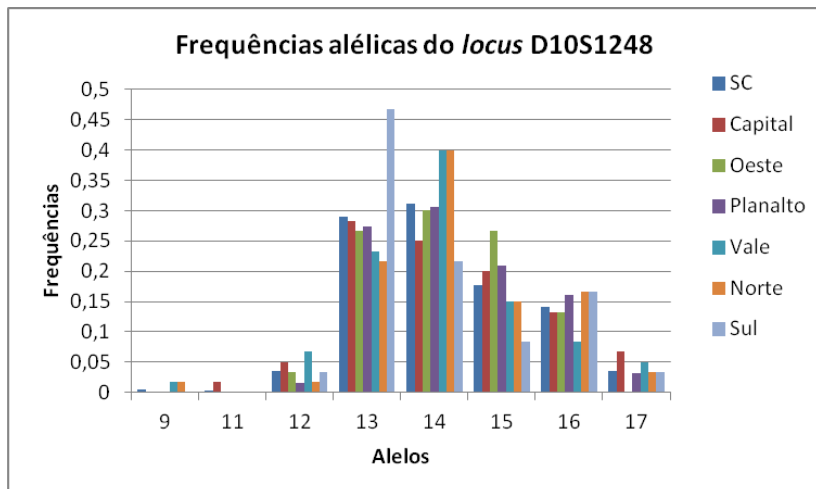


FIGURA 7: Distribuição das frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).

Comparando com outros estudos populacionais brasileiros (Apêndice 2), percebe-se que o alelo *14 também foi o mais frequente no Paraná – BR (0,332) (MALAGHINI et al., 2009), no Rio Grande do Sul (0,341) (RAIMANN et al., 2012) e no estudo envolvendo Mulatos do Rio de Janeiro (0,256) (ARANDA et al., 2011). Já no estudo de dos Santos e colaboradores (2011), com uma amostra da população da região Sudeste do Brasil, o alelo mais frequente foi o *13 (0,276). Apesar das frequências dos estudos catarinenses, paranaenses e gaúchos se aproximaram mais umas das outras, o que pode ser justificado por uma maior similaridade genética, observa-se também que a população mulata do Rio de Janeiro apresentou um padrão de distribuição alélica muito semelhante à de Santa Catarina, com os alelos *14, *13, *15 e *16 apresentando as maiores frequências, respectivamente. Esse resultado é esperado por dois motivos:

1) A composição étnica da população de Santa Catarina é considera tri-híbrida (europeus, ameríndios e africanos) (MOSIMANN, 2010), justificando a semelhança com os Mulatos do Rio de Janeiro. Ademais, esse estudo de Aranda et al. (2011) relatou, para os marcadores miniSTRs NC01, uma maior similaridade genética entre os Mulatos do Rio de Janeiro e populações europeias como as portuguesas e italianas, que historicamente contribuíram em grande percentagem

para a colonização de Santa Catarina e o restante da região Sul do Brasil (DORNELLES et al., 1999; ALVES-SILVA et al., 2000; MAAR et al., 2011).

2) Outras populações mundiais (Apêndice 2), de diferentes ancestralidades, também apresentam o alelo *D10S1248*14* como sendo o mais frequente (Apêndice 2): norte da Alemanha (0,327) (HERZOG et al., 2007), sul da Alemanha (0,356) (SEIDER et al., 2010), Portugal (0,314) (LAGOA et al., 2008), (Argentina (0,329) (VULLO et al., 2010), norte, centro e sul da Itália (0,328) (PREVIDERE et al., 2012), região italiana da Umbria (0,270) (MASSETTI et al., 2009), norte da Itália (0,3334) (CORTELLINI et al., 2010) Japão (0,296) (ASAMURA et al., 2005), caucasianos dos Estados Unidos (0,344) (COBLE e BUTLER, 2005), Chineses (0,359) e Malaio de Singapura (0,310) (YONG et al., 2007), Hungria (0,295) (MOLNAR et al., 2010), descendentes de germânicos da África do Sul (0,375), mestiços da África do Sul (0,309), descendentes de africanos na África do Sul (0,402) (ISMAIL, 2009), Polônia (0,380) (PARYS-PROSZEK et al., 2010).

Apesar da generalizada prevalência do alelo **14* entre as populações de diferentes ancestralidades, percebe-se que a frequência do alelo *D10S1248*14* entre as regiões do Sul do Brasil (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina) e as regiões européias (Alemanha, Itália, Portugal e Polônia) e de descendentes europeus (Argentina, descendentes de germânicos da África do Sul e caucasianos dos Estados Unidos) mostra-se bastante aproximada, o que poderia indicar similaridade genética devido à ancestralidade comum. A majoritária contribuição genética de origem européia na formação da população de Santa Catarina foi relatada por estudos de DNA mitocondrial (PALENCIA et al., 2010), marcadores do cromossomo Y (MUNIZ, 2003; MUNIZ, 2008; CAINÉ et al., 2010), locos autossômicos (MUNIZ, 2003), InDels (PENA et al., 2011), AIMs (MUNIZ, 2008) e outros marcadores genéticos (SOUZA, 2001).

4.1.2) ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D14S1434

Analisando o loco D14S1434, os alelos **20* e **17* foram os menos frequentes e o alelo **14* o mais frequente na população total de Santa Catarina e as frequências alélicas totais variaram de 0,005 a 0,345. As mesorregiões Capital, Oeste, Planalto e Sul também apresentaram

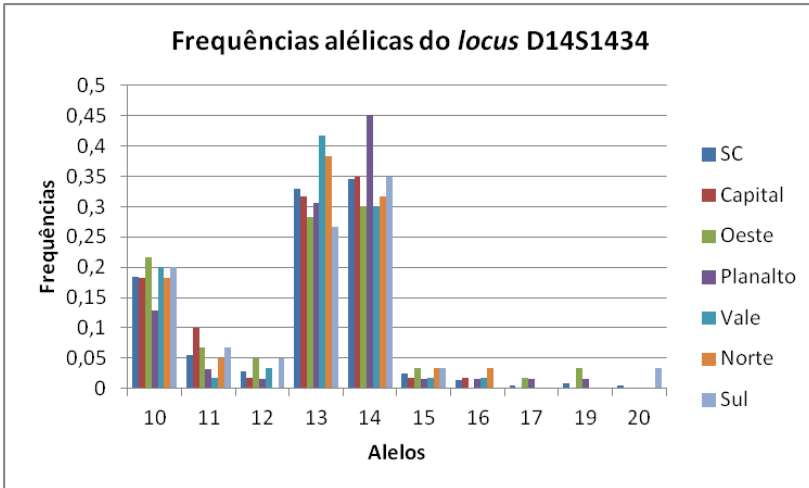


FIGURA 8: Distribuição das frequências alélicas do loco D10S1248 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).

Comparando com outros estudos populacionais brasileiros (Apêndice 2), percebe-se que o alelo *14 também foi o mais frequente no Paraná – BR (0,355) (MALAGHINI et al., 2009), na região Sudeste do Brasil (0,388) (dos SANTOS et al., 2011) e na população Mulata do Rio de Janeiro (0,422) (ARANDA et al., 2011). Já o estudo do Rio Grande do Sul apresentou como mais frequente o alelo *13 (0,366) (RAIMANN et al., 2012). No entanto, o padrão de distribuição das frequências alélicas foi muito parecido em todas as populações, com predominância dos alelos *13 e *14.

O alelo *D14S143**14 também foi o mais frequente em estudos na Coreia (0,377) (CHUNG et al., 2007), na Argentina (0,409) (VULLO et al., 2010), em Portugal (0,364) (LAGOA et al., 2008), nas regiões italianas da Umbria (0,383) e da Sardenha (0,458) (MASSETTI et al., 2009), descendentes de germânicos da África do Sul (0,375), mestiços da África do Sul (0,309), descendentes de africanos na África do Sul (0,402) (ISMAIL, 2009). Na Alemanha, assim como no Rio Grande do Sul, o alelo mais frequente foi o *13 (0,398) (HERZOG et al., 2007) (Apêndice 2).

O loco D14S143 mostrou-se menos uniforme em sua distribuição alélica, havendo prevalência dos alelos *13 e *14 nas populações brasileiras e europeias, e uma predominância dos alelos *17

e *18 nas seguintes populações: Caucasianos (0,3971), Afro-descendentes (0,362) e Hispânicos dos Estados Unidos (0,3857) (COBLE e BUTLER, 2005), Chineses (0,284), Malaios (0,286) e Indianos de Singapura (0,270) (YONG et al., 2007), Japão (0,366) (ASAMURA et al., 2005) (Apêndice 2).

4.1.3) ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO ALÉLICA DO LOCO D22S1045

Na população total de Santa Catarina, a maior frequência alélica observada foi a do alelo *D22S1045*16*, com o valor de 0,392. As frequências totais para este marcador variaram de 0,003 a 0,392, sendo os alelos *16 e *15 os mais frequentes em todas as mesorregiões. A soma das frequências destes dois alelos, juntamente com a do alelo *11, resultou em aproximadamente 90% da frequência total do loco D22S1045. As mesorregiões Capital, Planalto, Norte e Sul também apresentaram uma maior frequência do alelo *16, havendo, para a região Sul, a mesma frequência para este alelo e o alelo *15 (0,417). As regiões Vale e Oeste apresentaram o alelo *15 como o mais frequente.

Comparando com outros estudos populacionais brasileiros (Apêndice 2), percebe-se que o alelo *16 foi o mais frequente apenas na região Sudeste (0,351) (dos SANTOS et al., 2011). No Paraná (MALAGHINI et al., 2009) e no Rio Grande do Sul (RAIMANN et al., 2012), o alelo *15 foi o mais frequente, com frequências respectivas de 0,400 e 0,379. A população Mulata do Rio de Janeiro teve maior frequência do alelo *14 (0,389) (ARANDA et al., 2011), o que difere do presente estudo.

TABELA 6: Frequências alélicas do loco D22S1045 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul). Os valores maiores e menores estão destacados em negrito.

D22S1045							
Alelo	SC Total (n=181)	Capital (CSC) (n= 30)	Oeste (OSC) (n=30)	Planalto (PSC) (n=31)	Vale (VSC) (n=30)	Norte (NSC) (n=30)	Sul (SSC) (n=30)
10	0,003	0,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,000
11	0,134	0,150	0,100	0,114	0,216	0,150	0,067
12	0,003	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000
13	0,016	0,033	0,033	0,000	0,017	0,000	0,016
14	0,047	0,050	0,067	0,081	0,033	0,033	0,016
15	0,323	0,250	0,383	0,306	0,333	0,250	0,417
16	0,392	0,400	0,350	0,419	0,317	0,450	0,417
17	0,074	0,100	0,067	0,048	0,067	0,100	0,067
18	0,008	0,017	0,000	0,016	0,000	0,017	0,000

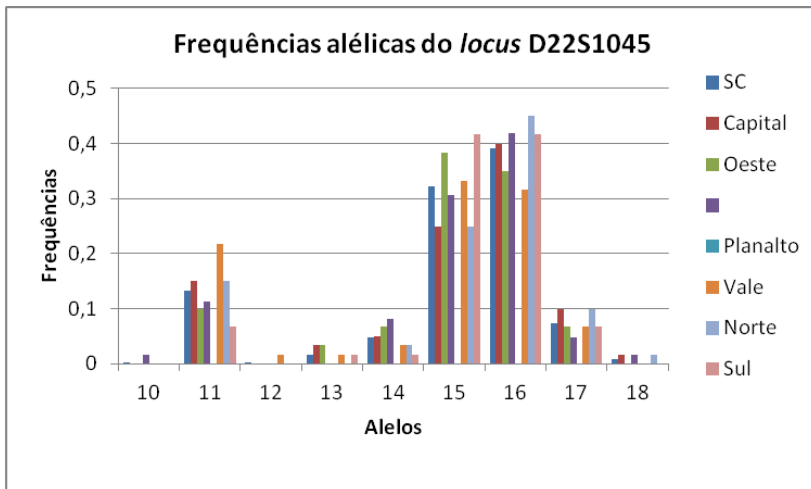


FIGURA 9: Distribuição das frequências alélicas do loco D22S1045 na amostra populacional total do Estado de Santa Catarina (SC total) e em suas mesorregiões (Capital, Oeste, Planalto, Vale, Norte e Sul).

Outras populações mundiais (Apêndice 2) também apresentam o alelo *D22S1045*16* como sendo o mais frequente (Apêndice 2): sul da Alemanha (0,353) (SEIDER et al., 2010), região italiana da Sardenha (0,313) (MASSETTI et al., 2009), descendentes de germânicos da África do Sul (0,348), Polônia (0,347) (PARYS-PROSZEK et al., 2010). Vale ressaltar que este alelo ser o mais frequente na Alemanha, na Itália, em descendentes de germânicos e na Polônia pode representar uma explicação plausível para a sua distribuição em Santa Catarina, uma vez que dados históricos reforçam a forte colonização que o Estado de Santa Catarina passou por conterrâneos desses países (MOSIMANN, 2010).

As demais populações estudadas (Apêndice 2) apresentaram prevalência do alelo **15* ou **13* ou **12*. O alelo **15* foi mais frequente no norte, centro e sul da Itália (0,384) (PREVIDERE et al., 2012), região italiana da Umbria (0,372) (MASSETTI et al., 2009), região de Veneto na Itália (0,396) (TURRINA et al., 2007), norte da Itália (0,388) (CORTELLINI et al., 2010), norte da Alemanha (0,403) (HERZOG et al., 2007), Portugal (0,386) (LAGOA et al., 2008), Argentina (0,433) (VULLO et al., 2010), Hungria (0,388) (MOLNAR et al., 2010), Coreia (0,307) (CHUNG et al., 2007), mestiços (0,304), asiáticos indianos (0,371) e descendentes de africanos na África do Sul (0,275) (ISMAIL, 2009) (Apêndice 2).

A frequência elevada do alelo **15* para as diversas populações da Itália pode ser correlacionada à prevalência deste alelo nas populações do sul do Brasil, incluindo as catarinenses Vale e Oeste, que foram colonizadas, respectivamente, por italianos e brasileiros descendentes de italianos (dos SANTOS, 2004).

4.2) ANÁLISE DA HETEROZIGOSE E DO EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Os pesquisadores Weinberg e Hardy perceberam que se não existissem fatores evolutivos atuando sobre uma população, as frequências alélicas permaneceriam inalteradas e as proporções genotípicas atingiriam um equilíbrio estável, mostrando a mesma relação constante entre si ao longo do tempo. Este é o princípio do equilíbrio de Hardy-Weinberg, que conjectura casamentos aleatórios em populações infinitas onde não existe migração ou mutações para a introdução de novos alelos, além da não existência de seleção natural

para o favorecimento de determinados genótipos (HARTL e CLARK, 2010).

Sendo assim, é perceptível que nenhuma população natural pode obedecer a todas essas premissas. No entanto, o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg fornece informações importantes, indicando excesso de homozigotos na amostra, auxiliando na detecção da presença de alelos nulos e testando a independência dos alelos nos locos estudados, servindo assim como garantia de qualidade para o banco de dados cujas frequências encontram-se em equilíbrio (BUTLER, 2005).

Uma forma de perceber se a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg é comparando a heterozigose observada e a esperada. A heterozigose esperada é equivalente à quantidade de heterozigotos esperada em uma população panmítica e fornece uma idéia do nível de variação genética em uma população (NEI, 1987).

Dessa forma, foram calculadas a heterozigose esperada e a observada e foi verificado se o banco de frequências alélicas da população total de Santa Catarina encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 7).

TABELA 7: Resultados obtidos para o cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg, na população de Santa Catarina em relação à distribuição genotípica para os locos D10S1248, D14S1434 e D22S1045.

Loco	Heterozigose Observada	Heterozigose Esperada	Valor <i>p</i>	Desvio Padrão
D10S1248	0,757	0,767	0,608	0,00034
D14S1434	0,768	0,736	0,177	0,00030
D22S1045	0,762	0,718	0,170	0,00029

O loco *D14S1434* apresentou a maior heterozigosidade observada (Ho: 0,768), seguido de perto pelos loco *D22S1045* (Ho: 0,762) e, finalmente, o loco D10S1248 (Ho: 0,757). Esse resultado é concordante com o que diz Butler (2005), uma vez que uma maior diversidade alélica existente significa um alto índice de heterozigose e que quanto mais altas são as frequências alélicas, menor é a taxa de heterozigose. O loco *D14S1434* apresentou o maior número de alelos (dez), seguido pelo loco *D22S1045* (nove) e, por último, o loco

D10S1248 (oito), o que condiz perfeitamente com os resultados da heterozigose.

Apesar de não existir nenhuma população que satisfaça as premissas do princípio de Hardy-Weinberg, para a população de Santa Catarina todos os locos apresentaram valores de p acima de 0,05, indicando que esta população encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Esse resultado pode ser explicado em parte pela própria natureza dos marcadores STRs: Eles não apresentam genótipos que tenham impacto no fenótipo do indivíduo, sendo assim, provavelmente não interferem na seleção sexual, nem sofrem pressão de seleção natural (BUCKLETON et al., 2005).

No entanto, este relaxamento na seleção natural permite aos STRs manterem um maior número de mutações, o que corresponde à quebra de uma das premissas do equilíbrio de Hardy-Weinberg. Contudo, as taxas de mutações para estes marcadores forenses permanecem relativamente baixas, menores que 0,2% por geração, e não tem efeito significativo nas frequências alélicas em meio ao “*pool*” gênico já estabelecido (GOODWIN et al., 2007).

Assim, o fator que mais contribui para a mudança nas frequências alélicas dos STRs, ao longo das gerações, em populações humanas, é a migração. Santa Catarina, em especial, tem sido um local de intensa imigração, desde a ocorrência da colonização européia e do tráfico negreiro. No entanto, ao ocorrer a mistura aleatória entre as populações ancestrais (ameríndias, europeias e africanas), a população hibridizada pode voltar ao equilíbrio de Hardy-Weinberg após uma geração (GOODWIN et al., 2007). Evidentemente que aspectos como língua, cultura e religião interferem nessa mistura, tornando o processo mais longo (GOODWIN et al., 2007). Assim, após a mistura étnica através de várias gerações, as frequências genotípicas destes marcadores STRs apresentaram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, mas sofrendo até hoje pequenas mudanças em suas frequências alélicas, uma vez que a migração é uma característica das populações humanas (MORETI, 2009).

4.3) PARÂMETROS FORENSES

Os valores dos Parâmetros Forenses calculados estão representados na Tabela 8.

TABELA 8: Parâmetros forenses investigados na população de Santa Catarina.

Parâmetros Forenses	D10S1248	D14S1434	D22S1045
PD	0,907	0,875	0,856
PIC	0,73	0,69	0,67
PC	0,093	0,125	0,144
PC¹	10,8	8,0	6,9
PE	0,522	0,541	0,531
IPT	2,06	2,15	2,10

Parâmetros forenses: **PD** = Poder de Discriminação, **PIC** = Conteúdo de Informação do Polimorfismo, **PC** = Probabilidade de Coincidência, **PC¹** = Probabilidade de Coincidência expressa em 1 em..., **PE** = Poder de Exclusão, **IPT** = Índice de Paternidade Típico).

Os resultados relativos aos cálculos de poder de discriminação (PD) demonstram que o loco com maior poder de discriminação é o D10S1228 (90,7%), seguido pelo D14S1434 (87,5%) e, por último, o D22S1045 (85,6%). O poder de discriminação é proporcional às frequências alélicas, sendo os locos com maior poder de discriminação aqueles que apresentam alelos com baixa frequência e conseqüentemente o loco D22S1045 que apresentou alelos com alta frequência (alelos 15 e 16), possui o menor valor de poder de discriminação. Este poder discriminatório aumenta quanto mais locos forem estudados.

Os cálculos dos parâmetros forenses revelaram que a probabilidade de coincidência (PC) foi de 1 em 10,8 para o loco D10S1228, 1 em 8,0 para D14S1434 e 1 em 6,9 para D22S1045.

Em relação ao conteúdo de informação do polimorfismo (PIC) todos os locos apresentaram valores significativos (maiores que 0,5), demonstrando-se bastantes informativos. O maior polimorfismo indicado pelo PIC foi observado para o loco D10S1045 (PIC = 0,73), seguido pelo loco D14S1434 (PIC = 0,69), com o loco menos polimórfico sendo o D22S1045, com um PIC de 0,67.

Os resultados dos cálculos dos parâmetros forenses em relação à paternidade indicam D14S1434 como o loco com maior poder de exclusão (PE) (0,541), seguido pelo loco D22S1045 (0,531) e pelo loco D10S1228 (0,522). Ou seja, para o loco D14S1434, por exemplo, há aproximadamente 46% de chance de um individuo falsamente acusado de paternidade ser incluído neste loco. Obviamente, este índice

torna-se muito mais exclusivo quanto mais locos são estudados. Quanto ao índice de paternidade típico (IPT), o loco D14S1434 apresentou o maior valor (2,15), seguido pelo loco D22S1045 (2,10) e, finalmente, o D10S1045 (2,06).

Estes resultados foram comparados com aqueles reportados para os Estados do Paraná (MALAGHINI et al., 2009), Rio Grande do Sul Sul (RAIMANN et al., 2012), população mulata do Rio de Janeiro (ARANDA et al., 2011) e Sudeste do Brasil (dos SANTOS et al., 2011) (Tabela 9).

TABELA 9: Comparação dos parâmetros forenses investigados nas populações de Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Sudeste do Brasil e Rio de Janeiro.

Marcador	PF	Santa Catarina ¹	Paraná ²	Rio Grande do Sul ³	Sudeste ⁴	Mulatos Rio de Janeiro ⁵
D10S1228	PD	0,907	0,899	0,893	0,968	0,903
	PIC	0,73	0,713	0,705	0,86	0,78
	PE	0,522	0,357	0,477	0,730	0,818
D14S1434	PD	0,875	0,852	0,870	0,853	0,880
	PIC	0,69	0,662	0,674	0,66	0,70
	PE	0,541	0,443	0,520	0,454	0,411
D22S1045	PD	0,856	0,844	0,883	0,899	0,866
	PIC	0,67	0,639	0,674	0,71	0,67
	PE	0,531	0,454	0,428	0,491	0,446

*PF – Parâmetros forenses: (**PD** = Poder de Discriminação, **PIC** = Conteúdo de Informação do Polimorfismo, **PE** = Poder de Exclusão)

1- Presente estudo, 2- MALAGHINI et al., 2009, 3- RAIMANN et al., 2012, 4- dos SANTOS et al., 2011, 5- ARANDA et al., 2011.

Os marcadores D10S1228, D14S1434 e D22S1045 apresentam valores de PD, PIC e PE acima dos valores destes índices na população do Paraná. Comparando com a população do Rio Grande do Sul, a maioria dos índices, para todos os marcadores estudados, apresentam valores menores que os da população de Santa Catarina, exceto o valor de PD para o loco D22S1045. Por outro lado, os valores de PD, PE e PIC para estes marcadores, na população do Sudeste do

Brasil, apresentaram-se mais elevados do que os obtidos por Santa Catarina, exceto o PD para o marcador D10S1228. O estudo com os mulatos do Rio de Janeiro também obteve a maioria dos seus índices maiores que os de Santa Catarina, exceto o PD do loco D10S1228, que se mostrou inferior, e o PIC do loco D14S1434, que foi o mesmo para ambas as populações.

4.4) DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA

4.4.1) MESORREGIÕES DE SANTA CATARINA

Os valores obtidos para o parâmetro F_{ST} (coeficiente de diferenciação genética entre subpopulações) na população de Santa Catarina estão demonstrados na Tabela 10,

TABELA 10: Valores de F_{ST} para as mesorregiões do Estado de Santa Catarina.

	Capital	Oeste	Planalto	Vale	Norte	Sul
Capital	-					
Oeste	0,0067	-				
Planalto	0,0008	0,0004	-			
Vale	0,0065	0,0011	0,0063	-		
Norte	0,0086	0,0045	0,0040	0,0038	-	
Sul	0,0048	0,0055	0,0220	0,0196	0,0072	-

Os resultados obtidos indicam pouca ou nenhuma diferenciação genética, uma vez que os valores de F_{ST} encontrados são muito baixos (0,0004 a 0,0220). As populações das regiões do Planalto e do Sul catarinenses são as mais diferenciadas entre si, obtendo o valor mais alto de F_{ST} (0,0220). Esses dados podem ser explicados pela diferença de contribuição ancestral na formação dessas populações (dos SANTOS, 2004), sendo o Planalto colonizado por brasileiros expedicionários provenientes de São Paulo e o Sul, por colonos italianos, principalmente. O Sul também mostrou diferenciação genética em relação ao Vale, apresentando F_{ST} de 0,0196.

O índice obtido pela Análise Molecular da Variância (AMOVA), uma medida das distâncias entre alelos, mostrou um F_{ST}

0,0017, indicando que não houve diferenciação populacional significativa.

Analisando os resultados obtidos, pode-se estimar que não houve tempo evolutivo suficiente para que as mesorregiões do Estado de Santa Catarina se tornem geneticamente diferentes. Todas as alterações genéticas estão atreladas ao tempo para se fixarem nas populações. Assim, é necessário certo tempo para que os locos sofram mutações e para que a frequência destas mutações aumente na população, de modo que estes locos se tornem polimórficos. Como a formação do Estado catarinense ocorreu aproximadamente no mesmo espaço de tempo, essa diferenciação genética ainda não se tornou evidente.

4.4.2) SANTA CATARINA, PARANÁ E RIO GRANDE DO SUL

Os valores obtidos para o parâmetro F_{ST} entre as populações de Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, estão demonstrados na Tabela 11.

TABELA 11: Valores de F_{ST} para as populações de Santa Catarina (SC - Presente estudo), Paraná (PR- MALAGHINI et al., 2009) e Rio Grande do Sul (RS - RAIMANN et al., 2012).

	SC	PR	RS
SC	-		
PR	0,00012	-	
RS	0,00129	0,00009	-

Os resultados obtidos indicam pouca ou nenhuma diferenciação genética, uma vez que os valores de F_{ST} encontrados são muito baixos (0,00009 a 0,00129), menores inclusive que as comparações entre as mesorregiões catarinenses. No entanto, essas diferenças entre as mesorregiões podem ser ocasionadas por um desvio devido ao pequeno tamanho amostral para cada mesorregião. Quanto à ausência de diferenciação genética significativa entre as populações de Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul, este fato pode ser explicado pela natureza dos marcadores STRs, cujas frequências geralmente não variam muito entre as populações (ROMUALDI et al., 2002; PIMENTA et al., 2006), ou pelo fato de que as três regiões do Sul do Brasil apresentam um histórico de colonização semelhante.

O índice obtido pela Análise Molecular da Variância (AMOVA) para as três populações mostrou um F_{ST} de 0,0064, indicando que não houve diferenciação populacional significativa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização crescente da análise de DNA na resolução de casos forenses vem acompanhada da necessidade de métodos eficazes, sensíveis e robustos de tipagem de DNA. Tendo em conta que uma das grandes causas de ausência de obtenção de perfil genético é a degradação das amostras utilizadas, a importância de estudos com miniSTRs torna-se evidente.

Os miniSTRs são uma opção viável ao uso de STRs convencionais quando se trata de amostras degradadas, pois apresentam uma amplificação eficaz a partir de pouca quantidade de DNA. No entanto, para sua implementação na rotina de identificação forense, é necessário o levantamento de suas frequências alélicas na população de interesse.

Para a população de Santa Catarina, o presente estudo determinou as frequências alélicas dos miniSTRs D10S1248, D14S1434 e D22S1045, obtendo resultados satisfatórios que demonstraram a eficácia do *miniplex* NC01 para a identificação forense no estado de Santa Catarina. Assim, o presente estudo atendeu positivamente aos interesses do Convênio de Cooperação entre o Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE-UFSC) e o Laboratório de Genética Forense do Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina (IGP-SC) no desenvolvimento de conhecimento e avanço das linhas de investigação da Genética Forense.

A grande quantidade e variedade de amostras criminais analisadas todos os dias em laboratórios forenses é por si só justificativa para pesquisas nesta área. O presente trabalho demonstra, então, a aplicabilidade e utilidade da transposição desse conhecimento acadêmico às outras esferas da nossa sociedade.

REFERÊNCIAS

- ALVES-SILVA, J.; DA SILVA SANTOS, M.; GUIMARÃES, P. E. et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages. **American Journal of Human Genetics**, v. 67, n. 2, p. 444-61, 2000.
- ARANDA, X. G.; LAGE, C. A. C.; PLANZ, J. V.; EISENBERG, A. J.; MOURANETO, R. S.; SILVA, R. Genetic composition of six miniSTR in a Brazilian Mulatto sample population. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 18, n. 4, p. 184-186, 2011.
- ASAMURA, H.; UCHIDA, R.; TAKAYANAGI, K.; OTA, M.; FUKUSHIMA, H. Allele frequencies of the six miniSTR locos in a population from Japan. **International Journal of Legal Medicine**, n. 120, p. 182-184, 2005.
- BONACCORSO, N. S. **Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes**. 2005. 156 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Forense) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**. v.32, p 314-331, 1980.
- BRASIL. **Novo Código Civil Brasileiro**. 2002. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2002/L10406.htm>. Acesso em: 07 novembro 2012.
- BRINKMANN, B.; KLINTSCHAR, M.; NEUHUBER, F.; HÜHNE, J.; ROLF, B. Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. **American Journal of Human Genetics**, v. 62, n. 6, 1408-1415, 1998.
- BUCKLETON, J.; TRIGGS, C. M.; WALSH, S. J. **Forensic DNA Evidence Interpretation**. New York: CRC Press, 552 p., 2005.
- BUDOWLE, B.; ALLARD, M. W.; WILSON, M. R.; CHAKRABORTY, R. Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 4, p. 119-41, 2003.
- BUDOWLE, B.; VAN DAAL, A. Forensic Relevant SNP classes. **BioTechniques**, v. 44, p. 603-610, 2008.
- BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing**. 2ª ed. New York: Elsevier Academic Press, 688 p., 2005.
- BUTLER, J. M. Genetics and genomics of core short tandem repeat locos used in human identity testing. **Journal of Forensic Sciences**, v. 51, n. 2, p. 253-65, 2006.

BUTLER, J. M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **BioTechniques**, v. 43, n. 4, 2007. Disponível em < <http://www.biotechniques.com>>. Acesso em: 10 novembro 2012.

BUTLER, J. M.; SHEN, Y.; McCORD, B. R. The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA. **Journal of Forensic Sciences**, v. 48, n. 5, p. 1054-1064, 2003.

CAINÉ, L. M.; DE PANCORBO, M. M.; PINHEIRO, F. Y-chromosomal STR haplotype diversity in males from Santa Catarina, Brazil. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 92-5, 2010,

CHAKRABORTY, R.; STIVERS, D. N. Paternity exclusion by DNA markers: effects of paternal mutations” **Journal of Forensic Sciences**, v. 41, p. 671-677, 1996.

CHAMBERS, G. K.; MACAVOY, E. S. Microsatellites: consensus and controversy. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 126, n. 4, p. 455-476, 2000,

CHUNG, U.; SHIN, K. J.; PARK, M. J.; KIM, N. Y.; YANG, W. I.; CHO, S. H.; LEE, H. Y. Population data of nine miniSTR locos in Koreans. **Forensic Science International**, n. 168, p. 51-53, 2007.

COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. Characterization of new miniSTR locos to aid analysis of degraded DNA. **Journal of Forensic Sciences**, v. 50, n. 1, p. 43-53, 2005.

CORTELLINI, V.; CERRI, N.; VERZELETTI, A. Population data on 5 non-CODIS STR locos (D10S1248, D22S1045, D2S441, D1S1656, D12S391) in a population sample from Brescia county (Northern Italy). **Forensic Science International: Genetics**, n. 5, p. 97-98, 2011.

DEL-CAMPO, E. R. A. **Medicina Legal**. 2ª ed. São Paulo: Saraiva, 328 p., 2006.

DIXON, L. A.; DOBBINS, A. E.; PULKER, H. K. et al. Analysis of artificially degraded DNA using STRs and SNPs--results of a collaborative European (EDNAP) exercise. **Forensic Science International**, v. 164, n. 1, p. 33-44, 2006.

DOS SANTOS, L. L.; DE ASSIS, J. B.; REIS, A. H. D. O.; SCLiar, M. DE O.; CARVALHO, M. R. S.; VAINTRAUB, M. T.; VAINTRAUB, P. Allele distribution of six STR/miniSTR locos (CD4, FABP2, D12S391, D14S1434, D22S1045 and D10S1248) for forensic

purposes in Southeastern Brazil. **Annals of Human Biology**, v. 38, n. 1, p. 110-3, 2011.

DOS SANTOS, S. C. **Nova história de Santa Catarina**. Florianópolis: Editora da UFSC, 118 p., 2004.

ESPÍNDULA, A.. **Perícia Criminal e Cível**. Uma visão completa para peritos e usuários da perícia. 3ª.ed. Campinas: Millennium, 2009. 446 p.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564-567, 2010,

FISHER Ronald Aylmer. Standard calculations for evaluating a blood group system. **Heredity**, v. 5, p. 95–102, 1951.

FORSTER, P.; CALÌ, F.; RÖHL, A. et al. Continental and subcontinental distributions of mtDNA control region types. **International Journal of Legal Medicine**, v. 116, n. 2, p. 99-108, 2002.

GILL, P.; FEREDAY, L.; MORLING, N.; SCHNEIDER, P. M. The evolution of DNA databases--recommendations for new European STR locos. **Forensic Science International**, v. 156, n. 2-3, p. 242-4, 2006.

GILL, P.; JEFFREYS, A. J.; WERRETT, D. J. Forensic Application of DNA Fingerprints. **Nature**, v. 318, p. 577-579, 1985.

GOLDSTEIN, D. B.; SCHLOTTERER, C. **Microsatellites**. Evolution and Applications. New York: Oxford University Press, 352 p., 1999.

GOODWIN, W.; BALLARD, D.; SIMPSON, K.; THACKER, C.; SYNDERCOMBE COURT, D.; GOW, J. Case study: paternity testing – when 21 locos are not enough. **International Congress Series**, v. 1261, p. 460-462, 2004.

GOODWIN, W.; LINACRE, A.; HADI, S. **An Introduction to Forensic Genetics**. Wiltshire: John Wiley & Sons Ltd, 151 p., 2007.

GRAHAM, E. A. M. Disaster victim identification. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, v. 2, n. 3, p. 203-207, 2006.

GUO, S. W.; THOMPSON, E. A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiples alleles. **Biometrics**, v. 48, n. 2, p. 361-372, 1992.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. Porto Alegre: ArtMed Editora, 660 p., 2010,

HERAS, S. M. de las; VALENZUELA, A.; VILLANUEVA, E.; MARQUES, T.; EXPOSITO, N.; BOHOYO, J. M. Methods for identification of 28 burn victims following a 1996 bus accident in Spain. **Journal of Forensic Sciences**, v. 44, n. 2, p. 428-431, 1999.

HERZOG, U.; AUGUSTIN, C.; PUSCHEL, K. Allele frequencies of six miniSTR markers in a population sample from Northern German and its application on forensic stain analysis. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 1, p. 331-333, 2008.

HUSTON, K. A. Statistical analysis of STR data. **Profiles in DNA**, v.103, p.14-15, 1998.

HILL, C. R.; COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. **Characterization of 26 New miniSTRLocos**. Nashville: **Promega Meeting**. 2006. Disponível em

<www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/pub_pres/Promega2006_Hill.pdf>.

Acesso em: 09 novembro 2012.

HUSTON, K. A. Statistical analysis of STR data. **Profiles in DNA**, v.103, p.14-15, 1998.

HOLLAND, M. M.; FISHER, D. L.; MITCHELL, L. G.; RODRIGUEZ, W. C.; CANIK, J. J.; MERRIL, C. R.; WEEDN, V. W. Mitochondrial DNA sequence analysis of human skeletal remains: identification of remains from the Vietnam War. **Journal of Forensic Sciences**, v. 38, n. 3, p. 542-553, 1993.

HSU, C. M.; HUANG, N. E.; TSAI, L. C.; Kao, L. G.; Chao, C. H.; Linacre, A.; Lee, J. C. Identification of victims of the 1998 Taoyuan Airbus crash accident using DNA analysis. **International Journal of Legal Medicine**, v. 113, n. 1, p. 43-6, 1999.

INNOCENCE PROJECT. **The Innocence Project Annual Report 2011**. 2011. Disponível em <<http://www.innocenceproject.org/>>. Acesso em: 07 novembro 2012.

IRWIN, J. A.; LENEY, M. D.; LOREILLE, O.; BARRITT, S. M.; CHRISTENSEN, A. F.; HOLLAND, T. D.; SMITH, B. C.; PARSONS, T. J. Application of low copy number STR typing to the identification of aged, degraded skeletal remains. **Journal of Forensic Sciences**, v. 52, n. 6, p. 1322-1327, 2007.

ISMAIL, A. Characterisation of eight Non-Codis MiniSTRs in four South African populations to aid the analysis of degraded DNA. 2009. 105 f. Tese (Magister Scientiae) – University of the Western Cape, Cape Town, 2009.

JEFFREYS, A. J.; BROOKFIELD, J. F. Y.; SEMEONOFF, R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. **Nature**, v. 317, p. 818-819, 1985a.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. **Nature**, v. 314, p. 67-73, 1985b.

JOBIM, L. F.; COSTA, L. R.; SILVA, M. da. **Identificação Humana**. Campinas: Millenium Editora, 302 p., 2005.

KIMPTON, C.; FISHER, D.; WATSON, S.; ADAMS, M.; URQUHART, A.; LYGO, J.; GILL, P. Evaluation of an automated DNA profiling system employing multiplex amplification of four tetrameric STR locos. **International Journal of Legal Medicine**, v. 106, n. 6, p. 302-11, 1994.

KOBACHUK, L. D. G. **Estudo de frequências alélicas de dez locos do cromossomo X na população do Estado do Paraná e sua contribuição na identificação humana**. 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2012.

LAGOA, A. M.; MARTINS, T. V.; CAINÉ, L. M.; PINHEIRO, M. F. Allele frequencies of six miniSTR locos in the population of Northern Portugal. **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, n. 4, p. 379-81, 2008.

LANDER, E. S.; LINTON, L. M.; BIRREN, B. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860-921, 2001.

LINCOLN, P. J.; THOMPSON, J. **Methods in Molecular Biology** – Forensic DNA Profiling Protocols. Totowa: Humana Press, 1998.

MAAR, A.; PERON, A.; NETTO, F. del P. **Santa Catarina**. Florianópolis: Editora Insular, 287 p., 2011.

MALAGHINI, M.; SCHNEIDER, V.; LEITE, F. Genetic analysis of 9 non-CODIS miniSTR locos in the Brazilian population of Parana. **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, n. 1, p. 359-360, 2009.

MASSETTI, S.; SEVERINI, S.; LANCIA, M.; COLETTI, A.; CARNEVALI, E.; BACCI, M.; ARMANDO, F.; D'ALOJA, E. Allele frequencies of six miniSTR locos (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) in two Italian populations. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, v. 2, n. 1, p. 367-368, 2009.

MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 3, p. 1215, 1988.

MOLNÁR, A.; ZALÁN, A.; PAMJAV, H. Allele distribution of the new European Standard Set (ESS) locos in the Hungarian population. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, p. 555-556, 2011.

MORETI, T. Identificação Humana: Uma proposta metodológica para obtenção de DNA de ossos e implementação de banco de dados de frequências alélicas de STRs autossômicos na população de Santa Catarina. 2009. 142 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2009.

MOSIMANN, J. C. **Catarinenses - Gênese e história**. Florianópolis: Editora Eletrônica, 2010, 616 p.

MUNIZ, Y. C. N. 2003. **Comunidades semi-isoladas fundadas por açorianos na ilha de Santa Catarina**. 2003. 116 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade do Estado de São Paulo, Ribeirão Preto. 2003.

MUNIZ, Y. C. N. 2008. **Marcadores genéticos de ancestralidade em comunidades fundadas por açorianos na Ilha de Santa Catarina**. 2008. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade do Estado de São Paulo, Ribeirão Preto. 2008.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics**. New York: Columbia University Press, 512 p., 1987.

OLAISEN, B.; STENERSEN, M.; MEVAG, B. Identification by DNA analysis of the victims of the August 1996 Spitsbergen civil aircraft disaster. **Nature Genetics**, v. 15, p. 402-405, 1997.

O'ROURKE, D. H.; HAYES, M. G.; CARLYLE, S. W. Ancient DNA studies in physical anthropology. **Annual Reviews Anthropology**, v. 29, p.217-242, 2000,

PACHECO, A. C. **Emprego de miniSTRs "non-CODIS" em amostras biológicas de DNA forense**. 2010, 43 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010,

PALENCIA, L.; VALVERDE, L.; ALVAREZ, A.; CAINÉ, L. M.; CARDOSO, S.; ALFONSO-SÁNCHEZ, M. A.; PINHEIRO, M. F.; DE PANCORBO, M. M. Mitochondrial DNA diversity in a population from Santa Catarina (Brazil): predominance of the European

input. **International Journal of Legal Medicine**, v. 124, n. 4, p. 331-6, 2010,

PARADELA, E. R.; FIGUEIREDO, A. L. dos S.; MELGAÇO, M. C. P. P. de S. Perícias em DNA: a coisa certa pode ser feita de forma errada? Um estudo de caso hipotético. **Âmbito Jurídico**, n. 45, 2007.

PARYS-PROSZEK, A.; KUPIEC, T.; WOLANSKA-NOWAK, P.; BRANICKI, W. Genetic variation of 15 autosomal STR locos in a population sample from Poland. **Legal Medicine**, n. 12, p. 246-248, 2010,

PENA, S. D. J.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One**, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.

PIMENTA, J. R.; ZUCCHERATO, L. W.; DEBES, A. A. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. **Human Heredity**, v. 62, n. 4, p. 190-5, 2006.

PREVIDERÈ, C.; GRIGNANI, P.; ALESSANDRINI, F. et al. The 2011 GeFI collaborative exercise. Concordance study, proficiency testing and Italian population data on the new ENFSI/EDNAP locos D1S1656, D2S441, D10S1248, D12S391, D22S1045. **Forensic Science International. Genetics**, p. 10-13, 2012.

RAIMANN, P. E.; DE OLIVEIRA, A. P. A.; RODENBUSCH, R. et al. Genetic data for D1S1677, D2S441, D4S2364, D10S1248, D14S1434 and D22S1045 miniSTR locos from the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Forensic Science International. Genetics**, v. 6, n. 1, p. e42-3, 2012.

ROMUALDI, C.; BALDING, D.; NASIDZE, I. S.; RISCH, G.; ROBICHAUX, M.; SHERRY, S. T.; STONEKING, M.; BATZER, M. A.; BARBUJANI, G. Patterns of human diversity, within and among continents, inferred from biallelic DNA polymorphisms. **Genome Research**, v. 12, n. 4, p. 602-12, 2002.

SACKS, M. J.; KOEHLER, J. J. The coming paradigm shift in forensic identification science. **Science**, v. 309, n. 5736, p. 892-895, 2005.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Polymerase chain reaction, de reação em cadeia da polimerase. primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v. 4839, n. 239, p. 487-491, 1988.

- SANCHEZ, J. A.; ROBLEDO, M. M. Cadaveres quemados. Estudio antropológico-forense. **Cuadernos de Medicina Forense**, v. 53-54, p. 269-276, 2008.
- SCHECK, B.; NEUFELD, P.; DWYER, J. **Actual Innocence**. New York: Signet, 320 p., 2000.
- SEIDER, T.; FIMMERS, R.; BETZ, P.; LENDERER, T. Allele frequencies of the five miniSTR locos D1S1656, D2S441, D10S1248, D12S391 and D22S1045 in a German population sample. **Forensic Science International: Genetics**, n. 4, p. 159-160, 2010.
- SHANKARKUMAR, U. The Human Leukocyte Antigen (HLA) System. **International Journal of Human Genetics**, v. 4, n. 2, p. 91-103, 2004.
- SILVER, H. Paternity Testing. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 27, n. 5, p.391-408, 1989.
- SOUZA, I. R. Estudo demográfico, antropológico e genético das populações da Costa da Lagoa e de São João do Rio Vermelho, na Ilha de Santa Catarina. 2001. 193 f. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2003.
- SSPDC/SC- Secretaria de Segurança Pública e Defesa do Cidadão de Santa Catarina. **PORTARIA Nº 504/GABS/SSP**. 2006. Disponível em < <http://www.igp.sc.gov.br>>. Acesso em: 09 novembro 2012.
- STRbase. **miniSTRs Homepage**. 2003. Disponível em <<http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR.htm>>. Acesso em: 19 novembro 2012.
- TERADA, A. S. S. D.; LEITE, N. L. P.; SILVEIRA, T. C. P.; SECCHIERI, J. M.; GUIMARÃES, M. A.; SILVA, R. H. A. da. Identificação humana em odontologia legal por meio de registro fotográfico de sorriso: relato de caso. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 40, n. 4, p. 199-202, 2011.
- TEREBA, A. Tools for Analysis of Population Statistics. **Profiles in DNA: Technical Tips**, vol. 2, n.3 p. 14-16, 1999.
- THE AMERICAN HERITAGE DICTIONARY. **The American Heritage Dictionary**. 2007. Disponível em < <http://www.ahdictionary.com/>>. Acesso em: 25 novembro 2012.
- THOMPSON, T.; BLACK, S. **Forensic Human Identification**. Boca Raton: CRC Press, 2007. 550 p.
- TURRINA, S.; ATZEI, R.; LEO, D. De. Population study of three miniSTR locos in Veneto (Italy). **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 1, p. 378-397, 2008.

TVEDEBRINK, T.; ERIKSEN, P. S.; MOGENSEN, H. S.; MORLING, N. Statistical model for degraded DNA samples and adjusted probabilities for allelic drop-out. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 1, p. 97-101, 2012.

VULLO, C.; BOROSKY, A.; ROMANINI, C.; CATELLI, L.; YAMAMOTO, T. Frequency data for 12 mini STR locos in Argentina. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 3, p. 79-81, 2010,

UTSUNO, H.; MINAGUCHI, K. Influence of template DNA degradation on the genotyping of SNPs and STR polymorphisms from forensic materials by PCR. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, v. 45, n. 1, p. 33-46, 2004.

WALKER, R. H.; MEYERS, M. A.; PHILLIPS, L. M. The probability of exclusion of the HLA-A,B system in North American whites and blacks in parentage tests. **Transfusion**, v. 27, n. 1, p. 75-79, 1987.

WEIR, B. S.; TRIGGS, C. M.; STARLING, L. et al. Interpreting DNA mixtures. **Journal of Forensic Sciences**, v. 42, n. 2, p. 213-22, 1997.

WHITAKER, J. P.; CLAYTON, T. M.; URQUHART, A. J.; MILLICAN, E. S.; DOWNES, T. J.; KIMPTON, C. P. Short tandem repeat typing of bodies from a massa disaster: high success rate and characteristic amplification patterns in highly degraded samples. **BioTechniques**, v. 18, n. 4, p. 670-677, 1995.

WRIGHT, S. *Evolution and Genetics of Populations: Variability within and among Natural Populations*. Chicago: University of Chicago Press, 465 pp, 1978.

YAN, J.; LIU, Y.; TANG, H.; ZHANG, Q.; HUO, Z.; HU, S.; YU, J. Mutations at 17 STR locos in Chinese population. **Forensic Science International**, v. 162, p. 53-54, 2006.

YONG, R. Y. Y.; GAN, L. S. H.; COBLE, M. D.; YAP, E. P. H. Allele frequencies of six miniSTR locos of three ethnic populations in Singapore. **Forensic science international**, v. 166, n. 2-3, p. 240-3, 2007.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Planilhas dos Resultados

Capital de Santa Catarina - CSC				Oeste de Santa Catarina - OSC			
Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045	Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045
CSC0001	13;14	12;14	14;16	OSC0001	12;12	10;10	16;17
CSC0002	12;13	13;14	11;17	OSC0002	13;16	13;19	16;17
CSC0003	12;14	14;14	11;15	OSC0003	15;15	10;13	15;16
CSC0004	15;16	10;13	13;15	OSC0004	15;16	10;13	15;15
CSC0005	16;17	11;11	15;15	OSC0005	14;15	13;15	13;15
CSC0006	13;17	14;14	16;16	OSC0006	13;14	10;14	14;15
CSC0007	13;15	13;13	13;17	OSC0007	13;16	12;13	14;15
CSC0008	15;16	13;14	14;15	OSC0008	13;16	10;14	11;15
CSC0009	12;15	13;14	16;17	OSC0009	13;13	12;13	14;15
CSC0010	13;14	13;15	11;11	OSC0010	13;13	14;17	15;16
CSC0011	16;16	14;14	15;16	OSC0011	14;14	10;14	15;16
CSC0012	14;14	13;14	15;18	OSC0012	13;15	13;14	16;17
CSC0013	13;15	13;14	16;16	OSC0013	14;16	13;14	15;16
CSC0014	14;15	13;13	16;17	OSC0014	13;14	13;13	16;16
CSC0015	14;16	10;13	16;16	OSC0015	13;15	13;14	15;16
CSC0016	13;14	11;13	14;16	OSC0016	14;15	11;13	15;16
CSC0017	13;15	10;14	11;16	OSC0017	14;15	11;13	11;15
CSC0018	13;13	10;13	16;16	OSC0018	13;14	13;14	15;16
CSC0019	13;13	11;16	15;16	OSC0019	14;15	11;13	11;16
CSC0020	13;15	11;13	15;16	OSC0020	14;15	10;14	11;15
CSC0021	13;14	11;14	11;15	OSC0021	13;15	10;13	15;16
CSC0022	14;14	10;10	11;16	OSC0022	14;15	14;14	13;15
CSC0023	13;14	10;10	15;16	OSC0023	14;15	14;14	11;15
CSC0024	14;16	10;13	11;15	OSC0024	14;15	10;14	15;16
CSC0025	15;17	13;14	16;17	OSC0025	13;14	10;11	14;16
CSC0026	14;15	13;14	15;16	OSC0026	15;16	14;19	15;16
CSC0027	11;13	14;14	16;16	OSC0027	13;14	12;14	16;17
CSC0028	13;15	10;14	15;17	OSC0028	13;16	14;15	15;16
CSC0029	14;16	10;14	11;16	OSC0029	14;15	13;14	16;16
CSC0030	15;17	13;14	15;16	OSC0030	14;16	10;10	11;15

Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045	Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045
PSC0001	13;16	10;14	11;16	VSC0001	13;14	13;14	15;16
PSC0002	13;16	10;13	14;16	VSC0002	13;14	14;14	11;16
PSC0003	14;14	10;13	14;15	VSC0003	9;13	13;15	15;16
PSC0004	15;16	10;14	16;16	VSC0004	14;14	11;14	11;15
PSC0005	13;14	13;14	14;15	VSC0005	14;15	13;13	13;15
PSC0006	14;15	10;14	16;16	VSC0006	12;15	10;10	11;17
PSC0007	13;15	13;14	15;17	VSC0007	14;17	10;13	16;16
PSC0008	13;14	10;14	11;16	VSC0008	16;17	13;14	15;16
PSC0009	14;14	14;19	15;16	VSC0009	14;16	10;13	12;16
PSC0010	13;15	14;14	15;16	VSC0010	14;14	13;13	15;15
PSC0011	14;16	13;14	11;15	VSC0011	13;15	13;16	14;16
PSC0012	13;16	13;14	14;15	VSC0012	13;16	13;14	11;15
PSC0013	13;16	13;14	14;15	VSC0013	14;14	14;14	11;16
PSC0014	14;14	14;14	11;16	VSC0014	15;15	10;13	14;17
PSC0015	13;16	12;13	16;16	VSC0015	14;14	13;13	15;15
PSC0016	14;17	13;14	15;16	VSC0016	13;14	10;14	15;16
PSC0017	13;13	13;14	10;11	VSC0017	12;13	10;14	15;16
PSC0018	14;14	14;14	15;16	VSC0018	14;14	10;13	11;16
PSC0019	14;16	13;16	17;18	VSC0019	15;15	12;14	15;16
PSC0020	14;16	11;13	15;16	VSC0020	14;14	13;14	11;11
PSC0021	14;15	10;14	11;15	VSC0021	12;13	13;14	11;15
PSC0022	12;15	13;14	11;16	VSC0022	13;16	14;14	11;11
PSC0023	14;15	14;17	15;16	VSC0023	14;14	13;13	16;17
PSC0024	15;15	13;14	16;16	VSC0024	12;13	10;10	15;16
PSC0025	13;13	14;14	15;16	VSC0025	13;15	14;14	15;16
PSC0026	13;14	13;13	15;16	VSC0026	13;15	13;14	15;16
PSC0027	14;16	11;14	15;16	VSC0027	16;17	10;13	15;17
PSC0028	13;15	13;15	15;15	VSC0028	13;14	10;13	11;16
PSC0029	13;15	13;14	16;17	VSC0029	13;14	12;13	15;15
PSC0030	13;17	10;14	15;16	VSC0030	14;14	13;13	15;16
PSC0031	15;15	13;14	16;16				

Norte de Santa Catarina - NSC				Sul de Santa Catarina - SSC			
Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045	Identificação	D10S1248	D14S1434	D22S1045
NSC0001	13;15	11;14	15;16	SSC0001	13;16	13;13	15;15
NSC0002	13;14	13;14	11;16	SSC0002	13;13	12;14	16;16
NSC0003	12;14	13;14	11;15	SSC0003	13;13	10;10	15;16
NSC0004	14;16	13;13	11;16	SSC0004	13;13	13;14	15;17
NSC0005	14;14	13;14	16;16	SSC0005	14;17	11;13	16;16
NSC0006	14;16	13;14	16;17	SSC0006	13;14	14;15	16;16
NSC0007	14;15	10;13	16;16	SSC0007	14;16	10;14	15;16
NSC0008	13;14	13;14	11;17	SSC0008	14;16	10;14	15;16
NSC0009	13;17	13;14	15;15	SSC0009	12;17	10;14	13;15
NSC0010	13;13	11;13	16;17	SSC0010	13;15	10;14	15;15
NSC0011	13;17	14;14	15;16	SSC0011	14;15	14;20	15;16
NSC0012	13;14	10;14	15;16	SSC0012	13;15	13;14	14;16
NSC0013	9;13	13;15	15;16	SSC0013	13;16	11;12	11;16
NSC0014	13;15	13;14	15;16	SSC0014	13;14	13;13	15;15
NSC0015	14;15	13;13	16;16	SSC0015	13;13	13;14	15;17
NSC0016	13;14	10;14	14;16	SSC0016	14;14	10;13	11;15
NSC0017	14;14	13;14	17;17	SSC0017	13;14	14;15	11;16
NSC0018	15;15	16;16	15;15	SSC0018	13;13	14;20	15;16
NSC0019	14;16	10;14	11;11	SSC0019	12;13	14;14	15;16
NSC0020	14;14	13;13	16;17	SSC0020	14;16	13;14	15;16
NSC0021	14;16	13;14	14;15	SSC0021	13;13	11;13	15;16
NSC0022	14;15	10;11	16;18	SSC0022	16;16	13;14	16;16
NSC0023	14;16	10;13	15;16	SSC0023	14;16	10;14	15;16
NSC0024	14;16	14;15	15;16	SSC0024	14;15	14;14	15;15
NSC0025	14;14	10;14	16;16	SSC0025	13;16	10;13	15;16
NSC0026	13;16	10;13	11;11	SSC0026	13;13	13;14	16;17
NSC0027	15;16	10;14	16;16	SSC0027	13;15	10;14	15;17
NSC0028	15;16	13;14	11;15	SSC0028	13;13	13;13	15;15
NSC0029	14;16	10;13	15;16	SSC0029	13;16	11;12	11;16
NSC0030	13;14	10;13	16;16	SSC0030	13;14	10;10	16;16

APÊNDICE 2: Comparações com outros trabalhos

D10S1248	Presente Estudo	Malaghini et al., 2009	Dos Santos et al., 2011	Raimann et al., 2012	Aranda et al., 2011	Herzog et al., 2007	Seider et al., 2010	Massetti et al., 2009	Massetti et al., 2009	Contrellini et al., 2011	Providere et al., 2012	Turrina et al., 2007	Lagoa et al., 2008	Molnar et al., 2010
Alelo	SC total	Brasil - PR	Brasil Sudeste	Brasil - RS	Brasil - Mulatos RJ	Norte da Alemanha	Alemanha	Sardenha - Itália	Umbria - Itália	Norte da Itália	Itália	Veneto - Itália	Portugal	Hungria
9	0.005						0.001		0.005		0.001			0.0079
10				0.0014	0.011				0.005		0.001	0.0025		
11	0.003		0.022	0.00457	0.033		0.007			0.0047	0.003	0.0126	0.0022	
12	0.036	0.03871	0.049	0.04909	0.111	0.023	0.031	0.012	0.015	0.0262	0.027	0.0354	0.0307	0.0236
13	0.290	0.28710	0.276	0.29680	0.244	0.316	0.261	0.327	0.270	0.2310	0.264	0.2980	0.2939	0.2264
14	0.312	0.33226	0.265	0.34132	0.256	0.327	0.356	0.304	0.270	0.3334	0.328	0.2778	0.3136	0.2953
15	0.177	0.20000	0.243	0.18836	0.178	0.180	0.194	0.214	0.230	0.2190	0.180	0.1843	0.2105	0.2362
16	0.141	0.10645	0.101	0.10502	0.133	0.117	0.113	0.131	0.138	0.1476	0.154	0.1439	0.1075	0.1693
17	0.036	0.03226	0.041	0.01256	0.033	0.034	0.030	0.012	0.061	0.0357	0.038	0.0429	0.0395	0.0374
18		0.00323	0.004	0.0014		0.001	0.002		0.005	0.0024	0.005	0.0025	0.0022	0.0039
19											0.001			
20														
N	181	155	500	630	102	133	404	100	100	210	960	198	228	254
D10S1248	Pangis-Proszek, 2010	Vullo et al., 2010	Coble e Butler, 2005	Coble e Butler, 2005	Coble e Butler, 2005	Asamura et al., 2005	Chung et al., 2007	Yong et al., 2007	Yong et al., 2007	Yong et al., 2007	Ismail, 2009	Ismail, 2009	Ismail, 2009	Ismail, 2009
Alelo	Polônia	Argentina	Caucasianos - EUA	Hispânicos - EUA	Africanos - EUA	Japão	Coreia	Chineses - Singapura	Malaios - Singapura	Indianos - Singapura	Germânicos - África do Sul	Africanos - África do Sul	Mestiços - África do Sul	Asiáticos - África do Sul
9														0.091
10		0.0010			0.0061	0.004		0.0027			0.175	0.186	0.278	0.129
11	0.003	0.0060			0.0031	0.004	0.005	0.0027			0.035		0.052	0.032
12	0.029	0.0360			0.0335		0.082			0.008	0.020	0.078	0.062	0.366
13	0.218	0.2220	0.0382	0.0607	0.1189	0.123	0.348	0.0784	0.0522	0.020	0.370	0.314	0.273	0.360
14	0.380	0.3290	0.3441	0.2643	0.2592	0.296	0.243	0.3595	0.3104	0.191	0.375	0.402	0.309	0.005
15	0.218	0.2340	0.2941	0.3179	0.2852	0.243	0.218	0.2243	0.2363	0.253	0.010	0.020	0.015	0.005
16	0.136	0.1250	0.1824	0.2357	0.2256	0.218	0.085	0.2324	0.2473	0.272	0.010		0.010	0.005
17	0.016	0.0370	0.1147	0.1036	0.0640	0.092	0.018	0.0838	0.1099	0.197	0.005			0.005
18		0.0090	0.0235	0.0143	0.0213	0.018		0.0162	0.0412	0.056				
19		0.0010			0.0031	0.004			0.0027	0.003				
20				0.0036										
N	154	506	170	140	164	142	300	185	182	178	103	60	105	100

DM51434	Prete da Eruda	Melaphini et al., 2009	Dar Sarkar et al., 2011	Raimann et al., 2012	Arantes et al., 2011	Horzq et al., 2007	Seider et al., 2010	Mazzei et al., 2009	Mazzei et al., 2009	Carrollini et al., 2011	Leques et al., 2008	Malme et al., 2010	
Alola	SO total	Brasil - PR	Brasil - Sudeste	Brasil - RS	Brasil - Mulsar RJ	Norte da Alemanha	Alemanha	Sardenha - Itália	Umbria - Itália	Norte da Itália	Portugal	Hungria	
9		0.00323	0.004	0.00228				0.006					
10	0.195	0.22903	0.198	0.17237	0.144	0.154		0.125	0.219		0.2192		
11	0.055	0.03226	0.037	0.04224	0.067	0.041		0.054	0.041		0.0307		
12	0.028	0.04516	0.034	0.02968	0.089	0.038	0.398	0.006	0.020	0.327	0.0219	0.3465	
13	0.329	0.32258	0.317	0.36644	0.233	0.398	0.383	0.333	0.333	0.383	0.3465	0.3640	
14	0.345	0.35484	0.388	0.32447	0.422	0.353	0.015	0.458	0.458	0.010	0.3640	0.0132	
15	0.025	0.01290	0.019	0.02055	0.044	0.015		0.018	0.018		0.0132	0.0044	
16	0.014		0.004	0.00342							0.0044		
17	0.005			0.02740									
17.2													
18				0.00114									
19	0.008												
20	0.005												
N	181	155	500	630	102	133	404	100	100	210	228	254	
Vulla et al., 2010	Vulla et al., 2010	Cable e Beiler, 2005	Cable e Beiler, 2005	Cable e Beiler, 2005	Memura et al., 2005	Chung et al., 2007	Yan et al., 2007	Yan et al., 2007	Yan et al., 2007	Imail, 2009	Imail, 2009	Imail, 2009	Imail, 2009
DM51434	Argentina	Caucasian - EUA	Hispânica - EUA	Africana - EUA	Japão	Caribe	Chinesa - Singapura	Malaia - Singapura	Indiana - Singapura	Germania - África do Sul	Africana - África do Sul	Morticia - África do Sul	Ardica - África do Sul
Alola	0.0010					0.002							0.091
9	0.1420					0.122				0.175	0.186	0.278	0.129
10	0.0350					0.168				0.035		0.052	0.032
11	0.0640					0.038				0.020	0.078	0.062	0.266
12	0.3270		0.0036	0.0061		0.267				0.370	0.214	0.273	0.260
13	0.4090	0.1471	0.1857	0.2561	0.2561	0.377	0.0730	0.0824	0.171	0.375	0.402	0.209	0.005
14	0.0190	0.0294	0.0357	0.0213	0.0213	0.027	0.1676	0.1154	0.118	0.010	0.020	0.015	0.005
15	0.0020	0.0177	0.0429	0.0945	0.0945		0.0243	0.0165	0.037	0.010		0.010	0.005
16		0.3971	0.3321	0.2317	0.2317		0.2838	0.2857	0.270	0.005			
17							0.0027						0.005
17.2		0.3912	0.3857	0.3628	0.3628		0.4189	0.4588	0.371				
18		0.0088	0.0143	0.0244	0.0244		0.0189	0.0330	0.022				
19		0.0088		0.0031	0.0031		0.0108	0.0082	0.008				
20									0.003				
N	506	170	140	164	142	300	185	182	178	103	60	105	100

D2251045	Prezents Envida	Indohimn et al., 2009	Das Sanez et al., 2011	Raimonet et al., 2012	Arondet et al., 2011	Horzant et al., 2007	Sideret et al., 2010	Mazottet et al., 2009	Mazottet et al., 2009	Guereffinet al., 2011	Predobret et al., 2012	Turinet et al., 2008	Lenet et al., 2009	Halleret et al., 2010
Alola	SO total													
8							0.002							
9														
10	0.003	0.00968	0.011	0.00688			0.002				0.001	0.0025	0.0022	
11	0.133	0.11290	0.112	0.10092	0.122	0.132	0.121	0.145	0.133	0.1234	0.111	0.1313	0.0987	0.1535
11.3														
12	0.003	0.00323	0.019	0.00688	0.022	0.019	0.019			0.0143	0.005	0.0202	0.0044	0.0157
13	0.016	0.00645	0.004	0.00459	0.044		0.007	0.006		0.0071	0.004	0.0177	0.0022	0.0039
14	0.047	0.02591	0.052	0.03999	0.289	0.025	0.040	0.042	0.056	0.0452	0.049	0.0379	0.0241	0.0492
15	0.323	0.40000	0.302	0.37959	0.322	0.403	0.340	0.313	0.372	0.2882	0.284	0.2965	0.2860	0.2878
16	0.392	0.25006	0.251	0.24060	0.100	0.298	0.352	0.313	0.337	0.2267	0.252	0.2904	0.2750	0.2051
17	0.074	0.08065	0.142	0.11468		0.093	0.092	0.157	0.092	0.1190	0.082	0.0823	0.1052	0.0650
18	0.008	0.00323		0.00688		0.016	0.015	0.024	0.010	0.0119	0.009	0.0126	0.0022	0.0157
19			0.004			0.004	0.001			0.0071	0.002	0.0020		0.0039
N	181	155	500	630	102	133	404	100	100	210	960	198	228	254
D2251045	Pezyz Parazek et al., 2010	Vallat et al., 2010	Collo-Bellet, 2005	Collo-Bellet, 2005	Collo-Bellet, 2005	Arumoret al., 2005	Chomet et al., 2007	Yonet et al., 2007	Yonet et al., 2007	Yonet et al., 2007	Yonet et al., 2007	Urnell, 2009	Urnell, 2009	Urnell, 2009
Alola	Falbia	Argentina	Caucasianar - EUA	Huzanicar - EUA	Africanar - EUA	Japan	Carbia	Chinezar - Singapura	Malaicar - Singapura	Indonar - Singapura	Germaniar - Africa da Sul	Africanar - Africa da Sul	Morticar - Africa da Sul	Aristicar - Africa da Sul
5					0.0061									
6														
7				0.0179	0.0457					0.006				
8			0.1441	0.0607	0.123	0.190		0.1784	0.1703	0.264				
9		0.0010	0.0177	0.0179	0.0579					0.003				
10		0.0070	0.0088	0.0107	0.0061				0.0055	0.003		0.059	0.054	0.005
11	0.140	0.0850	0.0500	0.0250	0.0610	0.021	0.182	0.0324	0.0522	0.093	0.146	0.275	0.167	0.323
11.3														
12	0.023	0.0110	0.3382	0.4526	0.2443	0.327	0.003	0.3054	0.3819	0.396	0.005	0.020	0.005	0.005
13		0.0060	0.2588	0.3107	0.2012	0.210	0.003	0.2297	0.1621	0.160	0.010	0.059	0.015	0.005
14	0.071	0.0340	0.0794	0.0964	0.2195	0.201	0.005	0.2324	0.2088	0.070	0.066	0.039	0.181	0.059
15	0.321	0.4230	0.0029	0.0071	0.0182	0.035	0.307	0.0189	0.0137	0.003	0.343	0.275	0.204	0.271
16	0.347	0.2430			0.0031	0.007	0.265	0.0027	0.0055	0.003	0.348	0.196	0.196	0.145
17	0.081	0.0740					0.208				0.071	0.059	0.078	0.065
18	0.006	0.0070					0.025				0.010	0.020		0.022
19	0.010						0.002							
N	154	506	170	140	164	142	300	185	102	178	103	60	105	100

ANEXOS**ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos Controles****UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
AOS CONTROLES**

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa referente ao projeto intitulado: **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina.**

Nós do grupo de pesquisa Genética Humana Aplicada, pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina, estamos desenvolvendo um projeto de pesquisa para avaliação da estrutura populacional do estado de Santa Catarina, por meio da utilização de marcadores moleculares, localizados no DNA, e que identificam polimorfismo (variabilidade) entre indivíduos.

Para isto pedimos sua colaboração. Deixamos claro que sua participação é voluntária, não interferindo no procedimento realizado pelo HEMOSC quanto a ser candidato a doador de medula. Você é livre para retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.

Caso você concorde em participar, você irá responder um questionário de duração aproximada de 5 minutos, para sabermos sobre a origem étnica de sua família. O procedimento de coleta biológica será por meio da retirada de sangue, o qual servirá para e obtenção de seu DNA.

A coleta de sangue é procedimento normal para o doador de medula. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações.

As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidos em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

A participação no projeto não acarretará custos e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional, ou seja, você não precisará pagar e nem receberá nada para fazer parte deste estudo.

Os resultados deste estudo irão, no futuro, proporcionar informações sobre a composição étnica da população do estado de Santa Catarina, compondo um banco de dados que será útil como informação epidemiológica ao estado de SC.

A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer, e esclarecer quaisquer dúvidas que porventura apareçam. Para isso você pode telefonar para o número **(48) 3721-9804** e conversar com a Dra. Ilíada Rainha de Souza, coordenadora do projeto ou com a doutoranda Sandra Regina Rachadel Torres, pesquisadora responsável pelo projeto.

Data ___/___/___

Assinatura da Coordenadora:

Assinatura da Pesquisadora responsável:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
AOS CONTROLES

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____
_____, fui informada (o) dos objetivos da pesquisa **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas a respeito.

Concordo que meus dados sejam utilizados na realização da mesma e autorizo a guarda de meu material biológico para o caso de futuras pesquisas, sendo eu contatado para fornecer nova autorização caso forem realizadas novas pesquisas não mencionadas neste projeto.

Florianópolis,

Assinatura: _____

RG: _____

ANEXO 2 – Questionário aos participantes**Universidade Federal de Santa Catarina****Centro de Ciências Biológicas****Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG****Laboratório de Polimorfismos Genéticos****PROJETO: Estrutura Genética e Origem da População do Estado
de Santa Catarina**

IDENTIFICAÇÃO:

COLETA: SANGUE

DATA: ___/___/___

ENTREVISTADOR _____

DADOS PESSOAIS:

NOME: _____

ENDEREÇO: _____

CIDADE: _____

TELEFONE RESIDENCIAL: _____

TELEFONE TRABALHO: _____

CELULAR: _____

E-MAIL: _____

CONTATO: e-mail telefone celular correio

IDADE: _____ GÊNERO: Feminino Masculino

DATA DE NASCIMENTO: _____

ESTADO CIVIL: _____

PROFISSÃO: _____ APOSENTADO: S N

ESCOLARIDADE:

ANALFABETO	1º GRAU INCOMPLETO
1º GRAU COMPLETO	2º GRAU INCOMPLETO
2º GRAU COMPLETO	SUPERIOR INCOMPLETO
SUPERIOR COMPLETO	PÓS-GRADUAÇÃO

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA:

MATERNA _____

PATERNA _____

AUTOIDENTIFICAÇÃO (IBGE)

BRANCO ÍNDIO PRETO PARDO AMARELO

COR DA PELE (anotado pelo entrevistador):

NEGRA MULATA AMARELA BRANCA

PESO: _____ ALTURA: _____

TIPO DE SANGUE: _____

OBSERVAÇÃO: _____

DADOS FAMILIARES:

NOME DO PAI: _____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DO PAI:

MATERNA _____ PATERNA _____

PROFISSÃO: _____

NOME DA MÃE: _____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DA MÃE:

MATERNA _____ PATERNA _____

PROFISSÃO: _____

POSSUI IRMÃOS: S N QUANTOS: F____ M____

OBS:(se necessário anotar no verso)

ANEXO 3 – Dados de submissão do projeto “Estrutura genética e origem da população do Estado de Santa Catarina” ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SUJEITOS NA PESQUISA			
Projeto de Pesquisa Estrutura genética e origem da população do estado de Santa Catarina			
Área de Conhecimento 2.00 - Ciências Biológicas - 2.02 - Genética			
Área(s) Temática(s) Especial(s) Genética Humana			
Unitermos Polimorfismos genéticos, DNA mitocondrial, marcadores de DNA, microsatélites			
Nº de Sujeitos no Centro 800		Total Brasil 800	Nº de Sujeitos Total 800
Placebo NÃO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Grupo Sem
Pesquisador Responsável Ilêida Rainha de Souza			
Área de Especialização GENÉTICA HUMANA E MÉDICA			
Endereço Rua Cap. Euclides Castro, 265, ap. 407			
Código Postal 88080-010		Telefone 0XX48-3721-9804 / 0XX-48-3244-5546	
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas correções exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: <u>27 / 03 / 2010</u>			
Instituição Onde Será Realizada a Pesquisa Nome Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC			
Unidade/Orgão BEG/CCB			
Endereço Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima			
Código Postal 88040-900		Telefone 48 3319206	
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas correções deste projeto, autorizo sua execução. Nome: <u>Luiziane M. Perazzo</u> Data: <u>28 / 03 / 2010</u>			
Vinculação Nome Fundação de Apoio ao Hemoc/Coepon			
Unidade/Orgão Laboratório de Imunogenética			
Endereço Rua Presidente Coutinho 160			
Código Postal 88015230		Telefone (48)3212-1300	
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas correções Nome: <u>RODOLFO JOÃO PARNOS</u> Data: <u>26 / 10 / 10</u>			

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias, e nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

[Voltar](#)

IMF