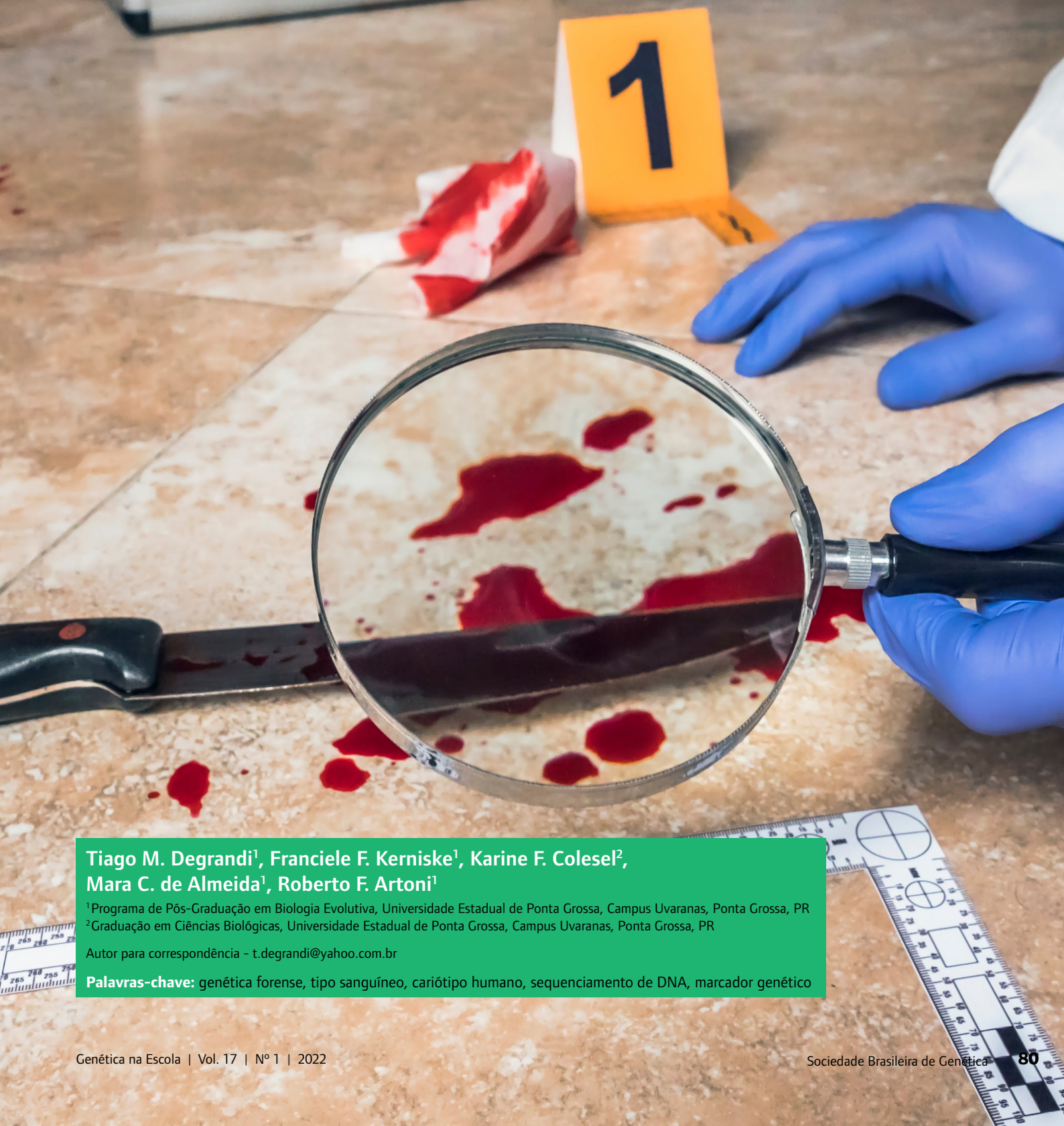


Jogo CSI, simulando a análise de um crime para ensinar genética



Tiago M. Degrandi¹, Franciele F. Kerniske¹, Karine F. Coesel²,
Mara C. de Almeida¹, Roberto F. Artoni¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Evolutiva, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus Uvaranas, Ponta Grossa, PR

²Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Campus Uvaranas, Ponta Grossa, PR

Autor para correspondência - t.degrandi@yahoo.com.br

Palavras-chave: genética forense, tipo sanguíneo, cariótipo humano, sequenciamento de DNA, marcador genético

O jogo CSI inclui um conjunto de análises da genética e biologia molecular, aplicadas no contexto da investigação de um crime. Os alunos assumem a posição de investigadores e devem analisar um conjunto de pistas para indicar um suspeito. O jogo favorece o desenvolvimento de trabalhos em equipe, a troca de conhecimentos e a criatividade. Com aplicação deste jogo, o professor pode abordar integradamente diferentes temas como tipo sanguíneo, cariótipo humano, composição e sequenciamento do DNA, tornando o processo de ensino mais dinâmico e estimulante. A aplicação deste jogo pode ser realizada com estudantes de ensino médio e de graduação.

Apresentação do jogo

A genética forense compreende um conjunto de técnicas da genética e da biologia molecular que auxiliam a justiça durante a investigação de crimes. Pensando nisso, elaboramos um jogo que recebeu o título CSI, sigla do inglês *Crime Scene Investigation*. É importante destacar, que o objetivo deste jogo não é discutir a viabilidade e quais técnicas e/ou marcadores moleculares são utilizados na genética forense. O objetivo é utilizar o contexto da investigação de um crime para abordar de forma integrada temas como cromossomos, cariótipo, sistema do tipo sanguíneo ABO, padrão de herança mendeliana, composição e sequenciamento do DNA. Estes temas estão inseridos na forma de testes que foram realizados com as amostras biológicas coletadas na cena do crime, e devem ser analisados para encontrar o culpado. Com a aplicação do jogo é possível estimular a curiosidade, a criatividade, o raciocínio e também o desenvolvimento de trabalhos em equipe.

Como aplicar a atividade

Procedimentos para o professor

A classe pode ser dividida em grupos de 4 a 6 estudantes. O professor deve providenciar com antecedência a impressão ou cópia

do item *Procedimento para os estudantes* e de todas as figuras que serão analisadas pelos estudantes, em número suficiente para todos os grupos. Adicionalmente, será necessário materiais como régua, caneta, tesoura, cola branca e fita adesiva.

Uma compilação do conteúdo teórico e princípios das técnicas e análises que são utilizados no jogo CSI é apresentado na sessão *Suporte Teórico* deste artigo e poderá ser disponibilizado aos estudantes para consulta. As respostas para as questões levantadas e os resultados dos testes encontram-se no item *Respostas* sendo este de uso exclusivo do professor.

Para introduzir o problema a ser solucionado durante o jogo CSI, faça uma breve apresentação explicando que o delegado da cidade recebeu uma carta de uma mãe, na qual são relatados os episódios envolvidos no desaparecimento de sua filha. Ressalte que o fato ocorreu há mais de 30 anos e que a investigação foi encerrada sem que houvesse a indicação de um culpado. Deve ainda, explicar que conseguiu acesso a todo material relacionado à investigação na época e que novas análises como o sequenciamento do DNA foram realizadas na atualidade, porém, ainda necessitam de interpretação. Todo este material será fornecido com exclusividade aos alunos para que o analisem e apresentem os resultados, podendo assim identificar evidências de um culpado e embasar um pedido de reabertura da investigação.

Após a introdução do jogo, forneça a *Carta* (Figura 1), o *Boletim de ocorrência* (Figura 2), a *Figura dos personagens* (Figura 3) e o item *Procedimento* aos alunos. Os *Testes* devem ser fornecidos seguindo a sequência dos mesmos à medida que tenham sido concluídos corretamente pelo grupo. Além disso, durante o jogo existem duas pausas para que os alunos realizem apostas para culpados. A primeira delas ocorre após os alunos identificarem os suspeitos e analisarem os álibis apresentados no *Boletim de ocorrência*. A segunda é realizada após a finalização do teste n.º 7, o

professor pode utilizar este espaço para criar interações entre os grupos.

Ao final do jogo, cada grupo deve apresentar a história como um todo, explicando como os testes realizados foram eliminando cada um dos suspeitos até chegar na identificação do culpado. O professor deve solicitar que cada grupo escreva uma matéria para o jornal local, relatando as novas evidências do *Caso Suzy* que permitiram a solução do caso. Esta tarefa pode ser entregue na semana seguinte.



Procedimentos para os estudantes

Vocês irão atuar como peritos forenses no caso de desaparecimento da Suzy Anjos Demétrio. O objetivo é tentar identificar um culpado através das análises de todo material envolvido na investigação e de testes realizados com as amostras coletadas na cena do crime. Para isto, siga os procedimentos descritos a seguir:

1. Analise a Carta da senhora Lavínia Anjos Demétrio (**Figura 1**) e o boletim de ocorrência (**Figura 2**). Identifique todos os personagens envolvidos e liste quem foram as pessoas consideradas suspeitas pelo desaparecimento da Suzy.
2. Analise o perfil dos suspeitos (**Figura 3**) e seus respectivos álibis apresentados em seus depoimentos contido no boletim de ocorrências (**Figura 2**). Discuta com os colegas do grupo para realizar uma primeira aposta do culpado. Apresente os argumentos sobre o motivo da escolha e ao final, sinalize o nome do suspeito escolhido pelo grupo na figura 3.
3. Analisar a cena do crime e as amostras coletadas no local (**Figura 3**). Conforme descrito no Boletim de ocorrência, foram coletadas três amostras de sangue, uma no chão do banheiro e as outras na ponta e no cabo da faca. Listar que análises podem ser realizadas utilizando as amostras de sangue para atribuir a um dos suspeitos a cena do crime.
4. O próximo passo da investigação é analisar e anotar os resultados dos testes realizados com as amostras coletadas na cena do crime e também as amostras dos envolvidos.
 - a. **Teste n.º 1** - Teste para tipo sanguíneo das amostras coletadas no local do crime (**Figura 4**). Utilize o material de suporte teórico para interpretar o teste e responda: Todas as amostras pertencem a uma única pessoa?
 - b. **Teste n.º 2** - Cariótipo das amostras n.º 1 e n.º 3 (**Figuras 5 e 6**, respectivamente). Iniciar pela contagem e determinação do número diploide de cromossomos ($2n$). Em seguida recortar os cromossomos e montar o cariótipo, siga as instruções apresentadas no suporte teórico no item cariótipo humano. Observe que a amostra n.º 2 não fará mais parte dos testes seguintes, pois supostamente pertence à mesma pessoa. O cariótipo pode servir para distinguir o sexo de uma amostra? Por quê? Para a amostra pertencer a um homem, quais cromossomos ela deve apresentar? Para a amostra pertencer a uma mulher, quais cromossomos ela deve apresentar?
 - c. **Teste n.º 3** - Teste para determinação do sexo das amostras n.º 1 e n.º 3 (**Figura 7**). Para complementar a identificação do sexo das amostras realizadas por meio do cariótipo, também foi realizada a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), para amplificar os genes *SRY* e *AMEL*, que são facilmente analisados por eletroforese em gel de Agarose (**Figura 7**). O gene *SRY* está presente apenas no cromossomo Y, enquanto o gene da *AMEL* é localizado tanto no cromossomo X, quanto no cromossomo Y. O resultado deste teste confirmou o resultado encontrado no teste do cariótipo?
 - d. **Teste n.º 4** - Análise do tipo sanguíneo na família Demétrio (**Figura 8**). O sangue da amostra n.º 1 pode pertencer a Suzy? Para responder esta questão, analise o tipo sanguíneo dos familiares da Suzy (Mãe, Pai, Irmão) considerando o sistema ABO e Rh (**Figura 8**). A análise deve começar pelos pais, Lavínia Anjos Demétrio e Olavo Demétrio, e comparar com o irmão Xavier e a amostra n.º 1, que supostamente pode pertencer a Suzy. Quais tipos sanguíneos poderiam ser esperados nos filhos biológicos do casal Lavínia e Olavo? A amostra n.º 1 pode pertencer a Suzy? O tipo sanguíneo de Xavier é compatível com o esperado para filhos do casal?
 - e. **Teste n.º 5** - Análise do padrão de herança esperado do tipo sanguíneo do casal Lavínia e Olavo (**Figura 9**): Considerando os tipos sanguíneos da senhora Lavínia e do senhor Olavo encontrados no teste anterior, realize o cruzamento e observe quais tipos sanguíneos são esperados nos filhos. Considere o genótipo ii para o sangue do tipo O e os genótipos $I^A I^A$ e $I^A i$ para o tipo A (**Figura 9**). Comparem os resultados esperados no cruzamento, com os resultados encontrados no teste do tipo sanguíneo da família Demétrio. O irmão Xavier é filho biológico do casal? Um teste de paternidade pode confirmar este resultado?

- f. Teste n.º 6** - Teste de paternidade da família Demétrio (**Figura 10**): Os testes de paternidade são realizados utilizando o padrão de amplificação do DNA de marcadores STR que consistem em sequências curtas de DNA repetitivo que variam em tamanho devido ao número de repetições. Neste teste em particular, foram então utilizadas as amostras de DNA da Lavínia (mãe), do Olavo (pai), do Xavier (irmão), e da amostra n.º 1 considerando o padrão de seis marcadores STR. Para realizar a interpretação deste teste, utilizem a régua para comparar cada uma das bandas amplificadas entre os pais, o Xavier e a amostra n.º 1 (**Figura 10**). Deve-se observar o número de bandas compatíveis entre os pais e os filhos. Marque com um X as bandas compatíveis. A amostra n.º 1 pertence a Suzy? O teste de paternidade confirma a suspeita de que Xavier não é filho biológico do casal?
- g. Teste n.º 7** - Teste do tipo sanguíneo dos suspeitos (**Figura 11**): Partindo para a análises dos suspeitos identificados, também foi realizado o teste do tipo sanguíneo buscando identificar se um deles pode ser compatível com a amostra n.º 3, que foi coletada no cabo da faca. Determine o tipo sanguíneo de cada um dos suspeitos e elimine os suspeitos cujo tipo sanguíneo não seja compatível com a amostra n.º 3.
- h.** Pausa para uma nova rodada de aposta para culpado: Após alguns dos suspeitos terem sido eliminados pelo teste do tipo sanguíneo e diante deste novo cenário onde restaram Xavier Demétrio, David Petrel e Lucian Ramires como suspeitos, realize uma nova discussão e aposta para o culpado. Caso tenham apostado em Xavier, David e Lucian e não queiram trocar, continue para o teste n.º 8.
- i. Teste n.º 8** - Teste de comparação do perfil genético entre a amostra 3 e os suspeitos Xavier Demétrio, David Petrel e Lucian Ramires, baseado em 6 marcadores STR (**Figura 12**). O resultado deste teste é primeiramente analisado na técnica de eletroforese, semelhante ao teste de paternidade que foi realizado anteriormente. Realize a análise comparativa entre as bandas do DNA da amostra de n.º 3 e os suspeitos. Marque as bandas compatíveis, no caso de todas as bandas serem compatíveis o resultado será inconclusivo e deve-se proceder para o teste de sequenciamento do DNA. Algum dos suspeitos pode ser eliminado com este teste?
- j. Teste n.º 9** - Sequenciamento do DNA de seis marcadores STR para a amostra n.º 3 (**Figura 13**), para David Petrel (**Figura 14**) e Lucian Ramires (**Figura 15**). Considerando o resultado do teste anterior, os suspeitos David e Lucian não puderam ser excluídos, pois todas as bandas (alelos) presentes nos respectivos perfis coincidem com as bandas no perfil da amostra n.º 3. Portanto, neste caso é indicado o sequenciamento do DNA. Os seis marcadores STR amplificados foram sequenciados, no entanto, para fins didáticos e para não tornar a atividade muito extensa, aqui é apresentada uma análise parcial da sequência de cada marcador STR. Nas **Figuras 13, 14 e 15**, cada marcador pode conter até 15 bases do DNA, e o polimorfismo do tamanho é representado na variação do número de bases que cada marcador pode conter. Para obter a sequência completa do DNA, você deve analisar cada locus, realizando a leitura das colunas da esquerda para direita. O espaço indicado ao lado deve ser utilizado para escrever a sequência no sentido 5'-3'. Após a montagem, realize a comparação das sequências do DNA dos suspeitos David Petrel e Lucian Ramires com a amostra n.º 3 e elimine o suspeito que não possui as sequências compatíveis. Foi possível encontrar o culpado?
- k. Teste n.º 10** - Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG) (**Tabela 1**): A última opção desta investigação é tentar encontrar se a sequência do DNA da amostra n.º 3 possui compatibilidade com algum criminoso registrado no BNPG. O BNPG, inclui o registro do sequenciamento do DNA de criminosos presos no Brasil, que foram condenados por outros crimes. Sendo assim, para tentar encontrar o suspeito do desaparecimento da Suzy, utilize a sequência do DNA da amostra n.º 3 e faça uma busca por similaridade no Banco Nacional de perfis genéticos (BNPG) (**Tabela 1**). Utilize a ferramenta localizar do leitor de PDF para encontrar cada uma das sequências da amostra n.º 3 no banco de dados, registre os nomes dos criminosos que forem compatíveis com a sequência. O culpado deve apresentar todos os marcadores STR compatíveis com a amostra n.º 3. Foi possível encontrar o culpado?

Olá, senhor Delegado

Me chamo Lavinia Conjes Demétrio, tenho 80 anos e sou viúva. O meu marido, Olavo Demétrio, faleceu no começo deste ano. O motivo pelo qual escrevo esta carta, é para pedir ajuda com um assunto que assombra minha família há anos.

No verão do ano de 1984, eu e meu esposo fomos acampar com nossos filhos, Xavier Conjes Demétrio e Suzy Conjes Demétrio, no "Acampamento Recanto das Craucárias", localizada no interior da cidade. Várias famílias e amigos faziam o mesmo com seus filhos, e para nós, era um momento que dedicávamos aos nossos filhos, aos amigos, descansar e ter um contato mais íntimo com a natureza. Nós sempre valorizávamos esses momentos juntos, Suzy e Xavier eram muito amados e minha família era realmente feliz. Mas tudo mudaria naquele ano, pois algo terrível aconteceria conosco.

No dia 8 de dezembro (sábado), os jovens que estavam no acampamento pediram para realizar uma fogueira durante a noite no meio da floresta, para se divertirem sem a presença dos pais. Eu, como mãe, não gostei muito da ideia no início, porque minha filha Suzy era uma menina muito ingênua e ficaria com meninas mais velhas. Porém, como ela insistiu muito, dizendo que sua amiga Lorayne estaria lá e seu irmão Xavier também iria, acabei deixando. Mas orientei para ele cuidar bem da irmã. Nós, os pais, ficamos no acampamento, fizemos um churrasco, e assim que jantamos fomos para as cabanas dormir. Por volta das dez horas da noite, meu marido já havia dormido, mas eu não conseguia dormir por não me sentir bem, afinal estava preocupada e fiquei esperando meus filhos voltarem. Mais tarde, fiquei sabendo que lá na fogueira minha filha não estava muito confortável com algumas atitudes de Xavier, pois ele estava alterado, consumindo bebidas alcoólicas, e por algum motivo aconteceu um desentendimento entre eles. Então, Suzy resolveu voltar para o acampamento, mas sua amiga Lorayne, pensando em não deixar a amiga sozinha no caminho, foi atrás. Já era quase meia-noite quando escutei as vozes deles voltando da fogueira.

Quando Xavier chegou, logo perguntei onde estava sua irmã. Com espanto, ele respondeu: ela não está aqui? Ela saiu antes, disse que viria para o acampamento. Foi neste momento que percebemos o desaparecimento da Suzy. Imediatamente acordei o Olavo e fomos até as cabanas dos outros pais. Perguntei a eles se tinham visto minha filha, mas ninguém viu nada. Então, resolvemos procurá-la na floresta, visto que ela poderia estar perdida. Refizemos o caminho até a fogueira e todos chamavam por seu nome no interior da floresta. Já havia passado uma hora que estávamos procurando minha filha, então decidi voltar ao acampamento e telefonar para a polícia.

Quando a polícia chegou ao local, pediu que todas as pessoas se reunissem no acampamento. Os policiais colheram algumas informações sobre o que havia acontecido e também uma foto dela para assim iniciar as buscas. Naquele momento percebi que o caseiro do acampamento, senhor David Petrel, não estava presente, e então, acompanhada de um policial, fomos até a sua residência. Quando chegamos lá, bati na porta e notei que o acordamos. Assim que abriu, perguntei se ele havia visto Suzy, mas infelizmente ele disse que nem sabia que ela

havia desaparecido. O policial notou um corte na mão dele e assim o questionou, mas o Dr. David explicou-lhes que machucara a mão cortando lenha, e que tomou um remédio para dor e acabou dormindo.

Enquanto isso, outros policiais continuaram as buscas pela minha filha. Já passava das duas horas da madrugada quando um policial chegou dizendo que encontrou muito sangue pelo chão do banheiro coletivo do acampamento, e também uma faca. Foi nessa hora que eu percebi que havia perdido minha filha para sempre, e desespero me veio à tona e comecei a chorar, os policiais tentaram me acalmar, mas quem consegue ficar calma quando um filho desaparece?

Os policiais voltaram a reunir todos ali para informar que o caso passou de um desaparecimento para uma suspeita de um homicídio. Depoimentos dos jovens que estavam na fogueira começaram a ser tomados, pois eles foram os últimos a ver minha filha. Entre eles, estavam: meu filho Xavier; a melhor amiga, Lorayne River; um "ex mameradinho" da Duzy, Thomatan Bizel; o amigo de meu filho, Michael Robertsen; e um menino que eles conheceram aquele ano no acampamento, chamado Lucian Ramirez.

Passamos por um período de investigação bastante doloroso, além de lidar com a perda da minha filha, nesse filhote era tido como um dos suspeitos. Diversas análises foram feitas na época, mas a polícia nunca conseguiu indicar um culpado. A investigação levou anos, até que foi encerrada sem um desfecho. Eu e o meu marido tentamos várias vezes, com o auxílio de nesse advogado, intervir para reabertura do caso, no entanto, nunca tivemos sucesso. Minha família nunca mais foi a mesma. Meu marido teve depressão após o ocorrido e não se perdeu. Meu filho Xavier não mora mais comigo, nunca se casou e raramente nos vemos ao longo dos anos. A Duzy nunca foi encontrada e nenhuma justiça foi feita. Sei que nada trará minha filha de volta, mas ainda espero que a justiça possa encontrar o responsável por seu desaparecimento, e que a justiça seja feita.

Por isso senhor Delegado, gostaria de pedir sua ajuda para analisar novamente o caso da minha filha e talvez encontrar alguma nova pista para solicitar a reabertura do caso.

Conte com sua ajuda.

Muito obrigada por sua atenção!

Lavínia Anjos Demétrio

Figura 1.

Carta da senhora Lavínia Anjos Demétrio.

Secretaria de Segurança Pública
Polícia do Estado
Delegacia de Polícia

Boletim de ocorrência: 0354/1984 Registrado em: 09/12/1984 09:00 Hrs

Dados Gerais	Vítima:
Natureza da Ocorrência: Desaparecimento	Nome: Suzy Anjos Demétrio
Data do fato: 08/12/1984 (Sábado)	Data de Nascimento: 23/06/1968
Hora do fato: 00:00	Idade: 16 anos
Local do fato: Acampamento Recanto das Araucárias	Estado Civil: Solteira
Bairro: Zona rural	Altura: 175
Autor: Lavinia Anjos Demétrio	Peso: 58 kg
Data de Nascimento: 20/10/1940	Pai: Olavo Demétrio
Idade: 44 anos	Mãe: Lavinia Anjos Demétrio
Estado Civil: Casada	

Histórico

No dia 9 de dezembro de 1984 a 1:07 horas, a equipe de policiais compareceu ao acampamento Recanto das Araucárias atendendo o chamado da senhora Lavinia Anjos Demétrio para averiguar o desaparecimento de sua filha, Suzy Anjos Demétrio. Ao chegar no local, a equipe imediatamente reuniu as pessoas que se encontravam no acampamento e iniciaram as buscas. Por volta das 2:00 da madrugada, um dos policiais encontrou no banheiro do acampamento quantidade significativa de sangue compatível com possível vítima fatal. Também foi encontrada uma faca no chão, a qual se considera a provável arma do crime. Inicialmente este atendimento foi considerado como um caso de desaparecimento, no entanto, há evidências de um homicídio. Os peritos isolaram o banheiro e coletaram três amostras de sangue, sendo uma amostra de sangue do chão do banheiro (nº. 1), uma amostra da ponta da faca (nº. 2), e uma amostra bastante peculiar localizada no cabo da faca (nº. 3). Todas elas foram enviadas para perícia. A partir disso, o nome e depoimento das pessoas que se encontravam no local foram colhidos. Primeiramente, foram ouvidos os jovens que participavam da fogueira, qualificados como os últimos a terem visto a Suzi, sendo eles: Xavier Anjos Demétrio de 19 anos, Lorayne River de 17 anos, Jhonatan Bixel de 18 anos, Michael Robertsen de 20 anos e Lucian Ramires de 23 anos. A mãe da vítima, Sra. Lavinia, relatou que só notou o desaparecimento da filha somente quando o irmão da vítima (Xavier) retornou da floresta, por volta da meia-noite. Em seu depoimento, Xavier disse que Lorayne foi a última pessoa a ver a irmã, por volta das 22 horas da noite. A senhorita Lorayne, relatou aos policiais que após a briga na floresta, Suzy resolveu retornar ao acampamento, e que foi atrás da amiga, mas não a encontrou. Informou ainda que isso ocorreu por volta das 22:40 horas. Questionada ainda sobre com quem seria a briga, Lorayne apontou os nomes de Jhonatan Bixel e Michael Robertsen, sem saber indicar o motivo. Ao serem ouvidos Jhonatan Bixel e Michael Robertsen não informaram o motivo da briga e demonstraram um comportamento suspeito. Lucian Ramires foi questionado do motivo da briga, disse que não a presenciou porque não estava na fogueira no momento, que havia ido ao banheiro por volta das 22 horas. Os policiais, também relataram uma atitude suspeita do caseiro do acampamento, senhor David Petrel (35 anos), quando procurado disse não ter visto o movimento das pessoas que procuraram pela vítima e que o mesmo apresentava um corte na mão, causado por um acidente ao cortar lenha. Após várias incongruências entre os fatos relatos, a polícia intimou os mencionados acima, a comparecerem na delegacia para depor e fornecer amostras de sangue para comparações com a cena do crime.

Registra-se o fato para que sejam tomadas as providências e início de investigação.

Delegado












Figura 2.
Boletim de ocorrência.



Figura 3.

Imagens representativas dos personagens e das amostras de sangue coletadas no local.

Teste nº 1:**Tipagem sanguínea das amostras coletadas no local do crime**

	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Referência
Amostra nº 1				 Reagente  Não Reagente
Amostra nº 2				
Amostra nº 3				

Resultado:**Figura 4.**

Teste para tipo sanguíneo das amostras coletadas no local do crime.



Teste nº 2: Amostra nº 1

Resultado:

<p>A _____</p> <p style="text-align: center;">1 2 3</p>	<p>B _____</p> <p style="text-align: center;">4 5</p>
<p>C _____</p> <p style="text-align: center;">6 7 8 9 10 11 12</p>	
<p>D _____</p> <p style="text-align: center;">13 14 15</p>	<p>E _____</p> <p style="text-align: center;">16 17 18</p>
<p>F _____</p> <p style="text-align: center;">19 20</p>	<p>G _____</p> <p style="text-align: center;">21 22</p>
<p>_____</p> <p style="text-align: center;">XX ou XY</p>	

Figura 5.
Teste do cariótipo da amostra n.º 1.



Teste nº 2: Amostra nº 3

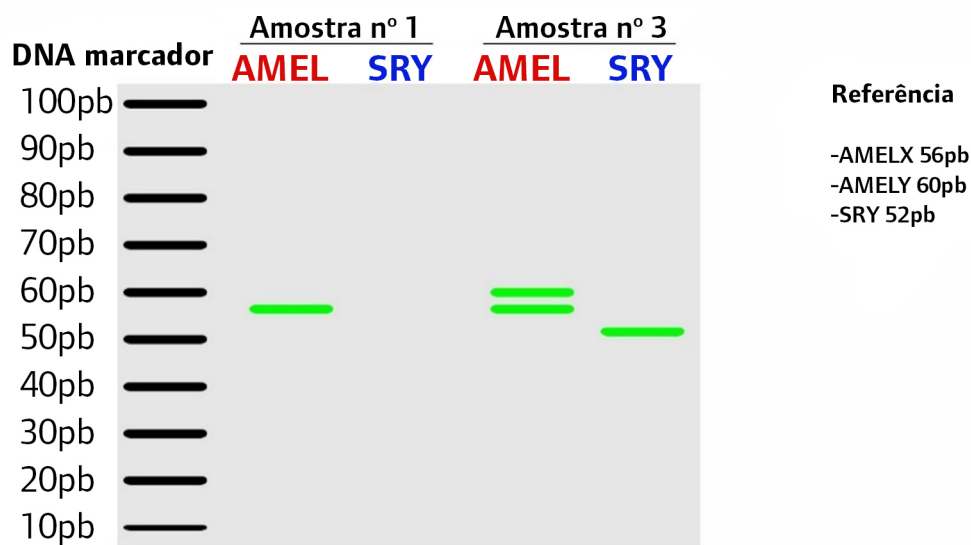
Resultado:

A _____	_____	_____	B _____	_____		
1	2	3	4	5		
C _____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
6	7	8	9	10	11	12
D _____	_____	_____	E _____	_____	_____	
13	14	15	16	17	18	
F _____	_____	G _____	_____	_____	_____	
19	20	21	22	XX ou XY		

Figura 6.
Teste do cariótipo da amostra n.º 3.

Teste nº 3:

Teste para determinação do sexo

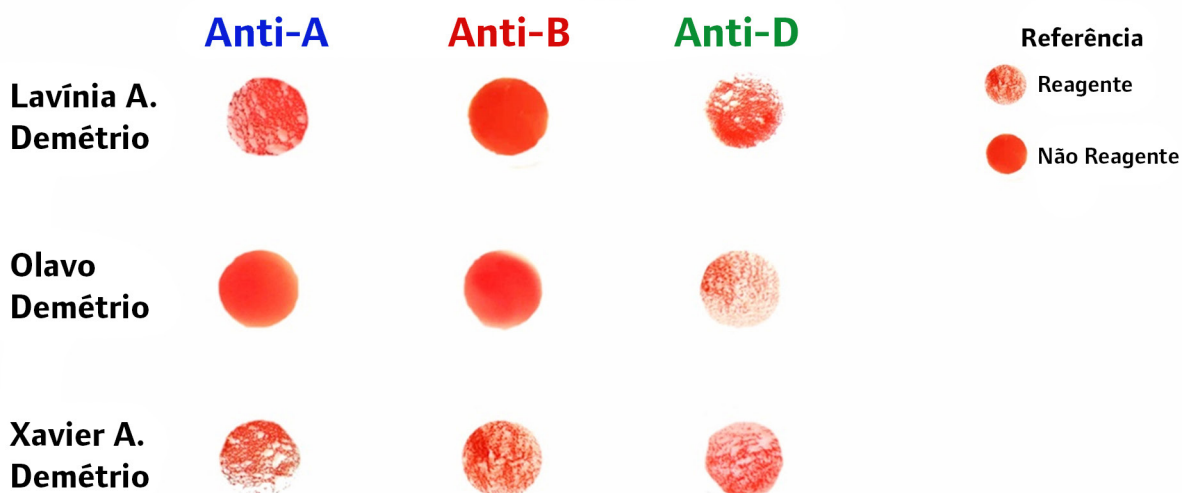


Resultado:

Figura 7.
Teste para determinação do sexo das amostras n.º 1 e n.º 3.

Teste nº 4:

Análise do tipo sanguíneo na família Demétrio

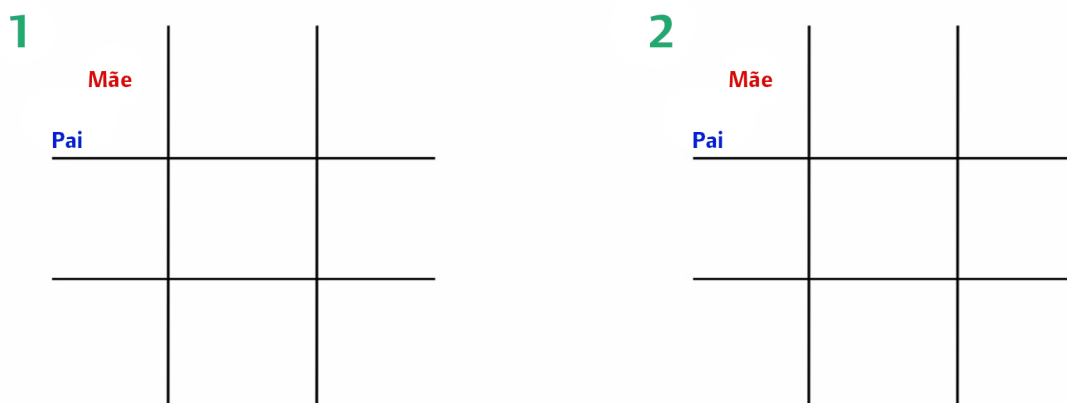


Resultado:

Figura 8.
Teste para tipo sanguíneo na família Demétrio.

Teste nº 5:

Análise do padrão de herança do tipo sanguíneo



Referência: Sangue tipo (A) = I^AI^A ou I^Ai
 tipo (O) = ii

Resultado:

Figura 9.

Teste para padrão de herança esperado para o tipo sanguíneo.

Teste nº 6:

Teste de paternidade família Demétrio



Referência

= Quando os fragmentos de DNA possuem tamanhos diferentes

= Quando os fragmentos de DNA têm o mesmo tamanho

Resultado:

Figura 10.

Teste de paternidade família Demétrio.

Teste nº 7:

Teste do tipo sanguíneo dos suspeitos

	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Resultado:
Jhonatan Bizel				
Lorayne River				
David Petrel				
Michael Robertsen				
Lucian Ramires				

Referência

Reagente Não Reagente

Figura 11.

Teste do tipo sanguíneo dos suspeitos.

Teste nº 8:

Teste de comparação do perfil genético baseado em seis marcadores STR

DNA marcador	Amostra nº 3	Xavier Demétrio	David Petrel	Lucian Ramires
300pb	STR6	STR6	STR6	STR6
250pb	STR5	STR5	STR5	STR5
200pb	STR4	STR4	STR4	STR4
150pb	STR3	STR3	STR3	STR3
100pb	STR2	STR2	STR2	STR2
50pb	STR1	STR1	STR1	STR1

Referência

= Quando os fragmentos de DNA possuem tamanhos diferentes

= Quando os fragmentos de DNA têm o mesmo tamanho

Resultado:

Figura 12.

Teste de comparação do perfil genético entre a amostra n.º 3 e os suspeitos Xavier Demétrio, David Petrel e Lucian Ramires, baseado em 6 marcadores STR.

Teste nº 9: Sequenciamento do DNA

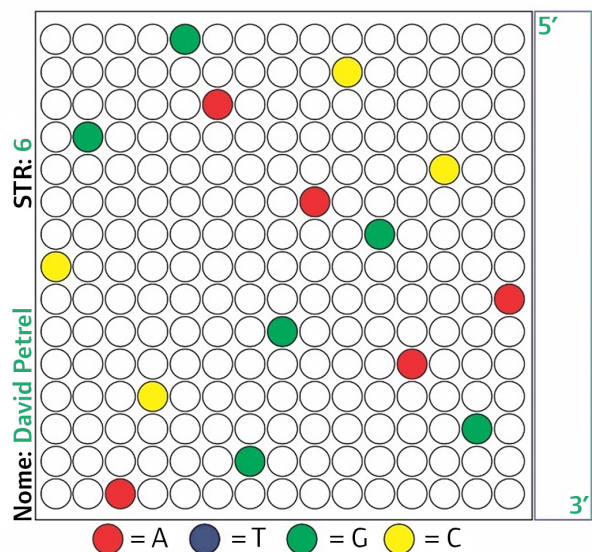
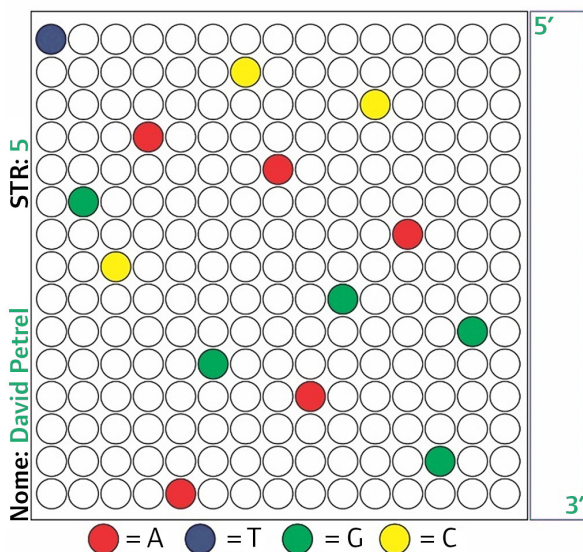
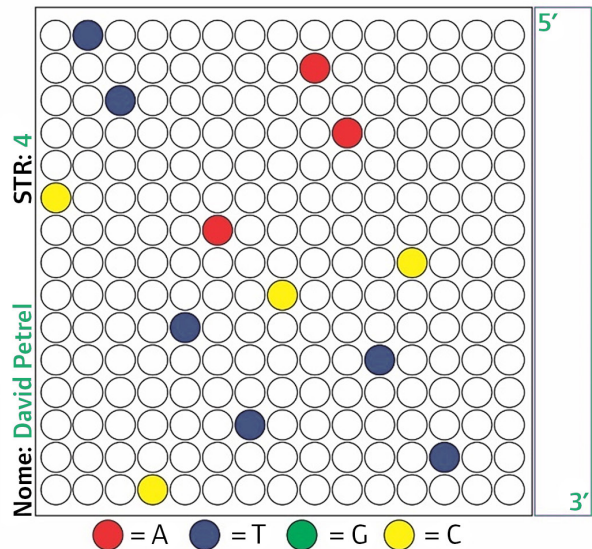
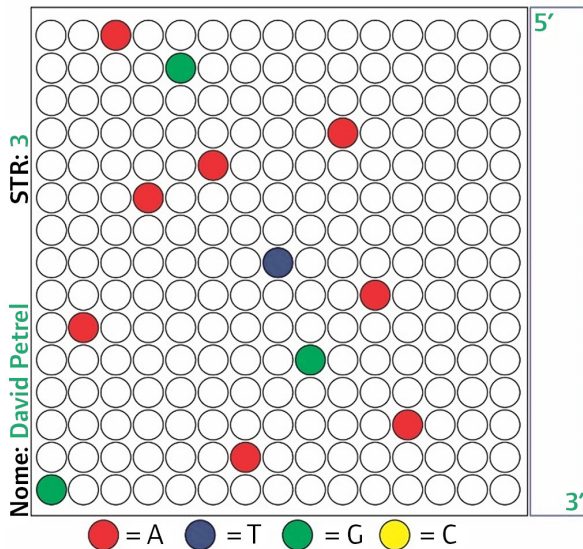
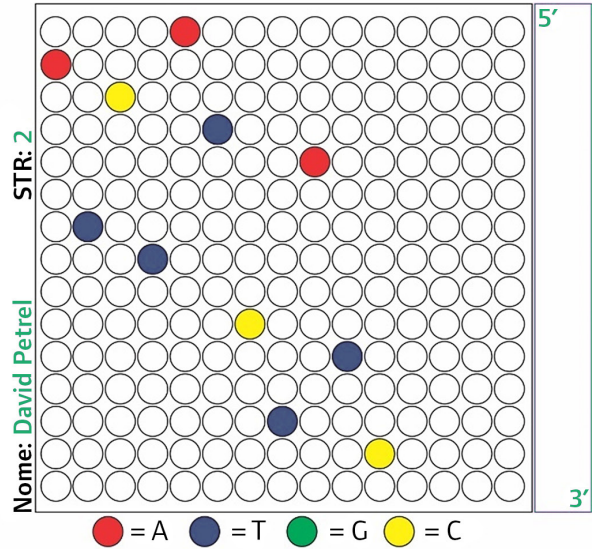
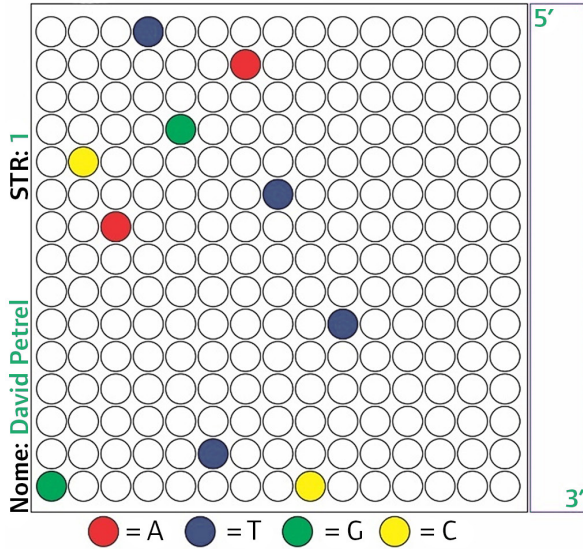


Figura 14. Sequenciamento do DNA de seis marcadores STR para David Petrel.

Teste nº 10:

Banco nacional de perfis genéticos do jogo CSI

Tabela 1.

Banco nacional de perfis genéticos do jogo CSI.

NOME	STR 1	STR 2	STR 3	STR 4	STR 5	STR 6
Isabelle Silva	CCATGTATCTGCA	ATCTATCT	GAAGAAAGAAAA	ACTATCTATCTATC	TGCATGCATGCATGC	CGACGACGA
Simon Lewis	GCATGTATCTCCA	ATCTATCTAA	AAAGAAAGAAAAGA	TCTCTATCTATCTAT	TGCATGCA	ACGACGACGTCTGA
Richard Ramires	GCATGTATCT	ATCTATCTATC	AAAGAAAGAAAA	TCTATCTATCTAT	TGCATGCATGCATG	CGACGACGACGTCTGA
Clary Souza	GCATGTATCTGC	CTATCTATC	AAAGAAAGAAAAGAA	TCTTCTATCTAT	TGCATGCAT	CGAGACGACGTCTGA
Dorian Yates	CCATGTATCTG	ATCTATGTATC	AAAGAAAGAAAAG	TCTATCTATCTATCA	TGCTTGATGCATG	CGACGACGACGT
Marco Rossi	GGATGTATCTGCA	ATCTATCTATCTCT	AAAGAAAGAAAA	TCTATCTATTCTAT	TGCATGCATGCA	CGACGACGACGTCAA
Adiones Asher	GCATGTATCTT	ATCTATCATC	AAAGAAAGAAAAG	CTATCTATCTAT	CGCATGCATGCATG	GGACGACGACGTCTGA
Jace Wayland	GCATGTATCTG	CTATCTATCT	GAAGAAAGAAAA	ACTATCTATCTAT	TGCATGCATGCT	CGACGACGACGTCTGA
Rowan Willians	GCATGTATCTA	ATCTTCTATC	AAAGAGAGAAAA	TCTATATCTATCTAT	TGCATGCTTGATG	CGACGACGAAGTCTGA
Jonatan Bianchi	GCATGTATCTGA	ATCTATCTAC	GAAGAAAGAAAA	TCTATCTCTATCTAT	TGCATGCATGCATG	CGACCACGACGTCTGA
Alec Miller	GCATGTATCTTAT	TATCTATC	AGAGAAAGAAAA	TCTATCTATTCTAT	TGCATCCATGCATG	CGACGACGA
Adolfo Lima	CCATCACGTATCT	ATCTATCTATCAT	AGAGAAAGAAAA	TCTATCTATCTATCTA	TGCATGCA	AGACGACGACGTCTGA
Carla Barboza	CCAATGTATCT	ATTATCTATCATCA	AAAGAAAGAAAA	TCTATCTATCTAT	TGCA	CGACGACGACCGA
Francisco Costa	TATGTATCT	ATCTATCTATCTAT	AAAGAAAGAAAA	TATCTATCTATTT	TGCATGCATGCATGA	CGACGACGACGTCTG
Thiago Blythe	GCATGTATCTG	ATCTATCTATC	AAAGAAGAAAA	TCTATCTAATCTAT	CATGCATGCATG	CGACGACGACGT
Vayola Gomes	GCATGTATCT	AACTATCTATC	AAAGAAGAAAA	TCTATTTATCTAT	TGCATGCATCCATG	GGACGACGACGTCTG
Sofia Barros	GCATGGGTATCT	ATCTATATCTATC	AAACAAAGAAAA	TGTATCTATCTAT	TGCATGCATGCATGT	CGACGATCTGA
Anne Shirley	GCATGTAGCATCT	ATCTATCTATCATCT	AAAGAAA	TCTATCTATC	TTCATGCATGCATG	CCGACGACGTCTGA
Luke Fernandes	GCATGTATCT	ATCTATCTATC	AAAGAAAGAAAAGAA	TCTCTATCTCT	CATGCATGCATG	CGACGACGACG
Julian Rocha	GCAGCTTGTATCT	ATCTATCATCTATC	AAAGATAGAAAA	TCTATATATCTA	TGCATGCATGCATGC	ACGACGACGTCTGA
Lilian Sam	GGCACATGTATCT	ATCTATCTATCTA	AAAGAGAAAA	TATCTATCTA	TGCAGCATGCATG	CGACGACGACGT
Kevyn Sampaio	GCATGTAGCAT	AACTATCTATC	AAAGAAA	TCTATC	TGCATGCATGCATGT	GACGACGTCTGA
Roberta Hall	GCAATGTATCT	ATCTATCTAATCT	AAAGATAGAAAA	TCTATGTATCTAT	TGCATGCTGCATG	AAACGACGACGTCTGA
Minerva Silva	TATGCAATGTATCT	TATCTATCATC	AAAGAAAGAAAAC	TCTATCTATCTATCTA	TGCATGCAATGCATG	CGACGA
Daymon Petit	GCAGCATGTATCT	ATCTATCTATATCT	AAAGAAAGAAAA	ATCTATCTATCTAT	TATGCATGCATG	CGACGACGTCTGA
Bárbara Weber	GCATGTATCTGCA	ATCTAT	GAAGAAAGAAAAGA	TCTATCTATCTATA	TGCATGCATTGCATG	CCACGACGACGTCTGA
Evan Watanabe	GCATGTATCTGCA	ATCTATTTATC	AAAGAAAGAAAAAAA	TCTATCTATCTATCTA	TGCATGCATGCATGG	CGACGACGGCTCTGA
Giulian Smirnov	GCATGGCATATCT	ATGTATCTATC	GAAGAAAA	CTATCTATCTAT	TGCATGCATGCATT	CGACGACGAC
Helena Petrova	GCATGTATCTGCA	ATCTATCTTC	AGAAAGAAAA	TCTATCTATCTATAT	TGCATGCATGCATGC	GACGACGTCTGA
Lorenzo Turner	GCATGTATCTGCA	ATCTATCTATCATCT	AAAGAAAGAAAAGGG	TCTATCTATCTATT	TGCATGCA	CGACGACG

Suporte teórico

Tipagem sanguínea

A tipagem sanguínea é o processo de coleta e análise do sangue de um indivíduo objetivando determinar a qual grupo sanguíneo ele pertence.

Sistema ABO

No sistema ABO existem quatro tipos sanguíneos, A, B, AB e O, os quais são definidos e caracterizados pela presença ou ausência de antígenos e anticorpos nas hemácias. Um indivíduo com tipo sanguíneo A, apresenta antígeno A na superfície de suas hemácias e anticorpo anti-B no plasma sanguíneo. O tipo sanguíneo B apresenta antígeno B na superfície das hemácias e anticorpo anti-A no plasma. Como o sistema ABO apresenta codominância entre A e B, o indivíduo com o tipo sanguíneo AB apresenta tanto o antígeno A quanto o B e não possui anticorpos em seu plasma, diferentemente das pessoas que possuem sangue tipo O, que se caracteriza pela presença de anticorpos anti-A e anti-B, e não apresentam antígenos. Para realizar a tipagem sanguínea são utilizados kits com anticorpos anti-A e anti-B e uma pequena amostra de sangue do indivíduo. Ao misturar o sangue aos anticorpos é possível detectar o resultado visualmente quanto a formação ou não de coágulos na amostra. Se não houver coágulos na amostra, não há antígenos presentes e o sangue em exame é do grupo O. Caso ocorra coágulos no soro anti-A e anti-B então os antígenos A e B estão presentes e o sangue é do tipo AB. Se houver coágulos na amostra com soro anti-A, o antígeno A está presente e o sangue é pertencente ao grupo A. Se houver coagulação somente com o soro anti-B, o antígeno B está presente e o sangue é do tipo B.

Fator RH

O fator Rh mantém a mesma lógica do sistema ABO. O antígeno Rh, também chamado de anti-D, pode ou não estar presente nas membranas das hemácias. Quando presente, é classificado como Rh positivo e Rh negativo quando não possuem anticorpos contra o antígeno Rh.

Cariótipo humano

O cariótipo é o conjunto completo de cromossomos encontrados no núcleo de uma célula. Através da análise do cariótipo é possível conhecer o número e a morfologia dos cromossomos. Didaticamente, a organização dos cromossomos para montagem do cariótipo, segue critérios, como organizá-los em ordem decrescente do tamanho e em grupos, de acordo com a morfologia cromossômica, definida de acordo com a posição do centrômero.

Para realizar o estudo do cariótipo, é realizado o cultivo de linfócitos a partir de uma amostra de sangue para obtenção dos cromossomos mitóticos. Nesta etapa, as células são estimuladas a dividir-se (mitose) e, ao final do processo, são bloqueadas na fase de metáfase, com a aplicação de drogas específicas. Após a obtenção destes cromossomos, estas células são coradas e observadas em microscópio óptico e uma fotomicrografia é capturada para realizar a montagem do cariótipo.

Um cariótipo humano típico apresenta 46 cromossomos (23 pares), no qual 22 pares são cromossomos autossomos e um par de cromossomos sexuais. No cariótipo feminino é encontrado um par de cromossomos X (46, XX), enquanto no masculino é encontrado um cromossomo X e um Y (46, XY).

Para montar o cariótipo humano segue-se um padrão de organização dos cromossomos em grupos, conforme a figura 16.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A reação em cadeia da Polimerase (PCR) visa reproduzir em laboratório a replicação do DNA, processo que ocorre naturalmente no núcleo das células. Através da PCR, é possível produzir inúmeras cópias de sequências específicas do DNA, utilizando iniciadores, ou “primers” (DNA fita simples) que determinam o começo e o fim da região do DNA que será copiado.

A PCR é composta por alguns reagentes que compõem um mix da reação: a enzima DNA polimerase (Taq-polimerase), as qua-

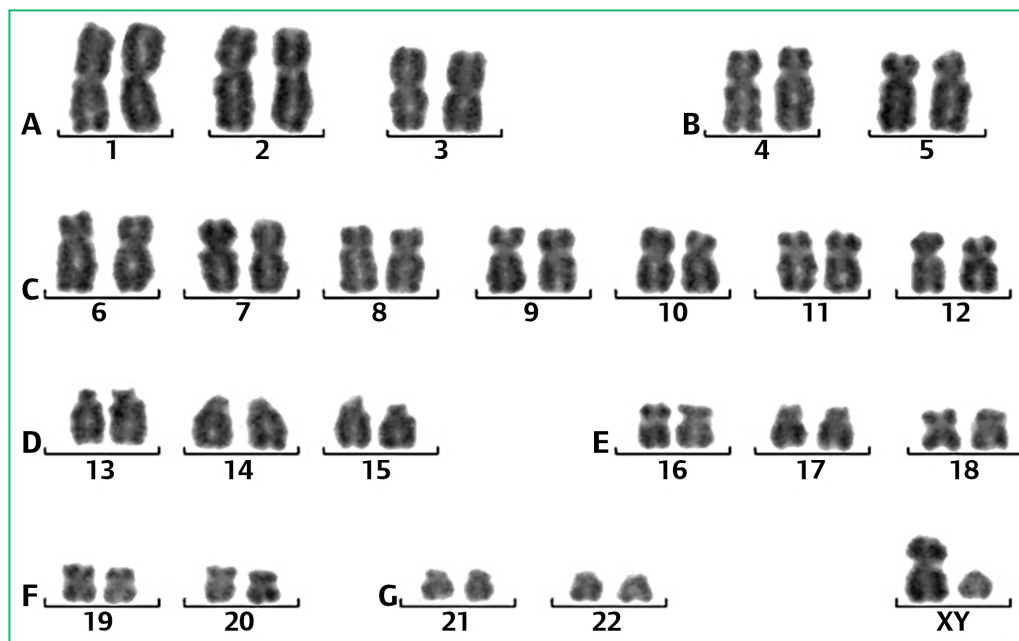


Figura 16.
Cariótipo masculino, com
 $2n = 46$ cromossomos.

tro bases nitrogenadas (Adenina, Guanina, Citosina e Timina), os iniciadores, tampões e o DNA molde que será copiado. O mix de reagentes é colocado no Termociclador, que irá repetir vários ciclos alternados de temperatura que são divididos em três fases: desnaturação, quando as pontes de hidrogênio que ligam a dupla fita do DNA são rompidas; hibridização, quando os iniciadores fazem ligação no local complementar do DNA; Extensão, que consiste na etapa de cópia do DNA que é realizado pela Taq polimerase adicionando os nucleotídeos por homologia à fita-molde. Após estes vários ciclos, milhares de cópias do DNA são produzidas e o DNA pode ser então analisado por diferentes técnicas, incluindo a eletroforese em gel.

Eletroforese

A eletroforese é uma técnica de separação de moléculas que leva em conta o peso molecular da amostra, durante a aplicação de uma diferença de potencial. Sabe-se que o DNA possui carga negativa e, portanto, na eletroforese ele migrará em direção ao polo positivo do sistema. Ao migrar através do gel, as moléculas de DNA serão separadas de acordo com o seu tamanho, sendo que as

de menor massa migrarão mais rapidamente. As bandas de diferentes tamanhos podem ser classificadas usando um DNA marcador, com tamanho conhecido que é comparado com cada uma das bandas da amostra.

Teste de Paternidade

Para realizar um teste de paternidade é preciso coletar o material genético dos envolvidos (normalmente sangue ou saliva) e realizar a extração do DNA. O DNA extraído é submetido à técnica de PCR para análise de 13-16 marcadores STR que serão analisados por eletroforese que produzirá um perfil de DNA de cada envolvido.

A análise consiste em comparar o perfil do DNA da mãe, do (a) filho (a) e do suposto pai, nos casos mais comuns. Na comparação dos perfis, espera-se que o filho apresente metade dos alelos herdados da mãe e metade do pai biológico. Caso não haja compatibilidade entre os alelos do filho e do suposto pai, esse último é excluído de ser o pai.

Sequenciamento do DNA

O sequenciamento de DNA é o processo realizado para determinar a sequência exata de nucleotídeos em uma molécula de DNA.

Respostas

1. Suzy (garota desaparecida); Lavínia (mãe), Olavo (Pai). Suspeitos: Xavier (irmão), Lorayne (amiga), Jhonatan (ex-namorado), David (caseiro), Michael (amigo do irmão) e Lucian.
2. Cada grupo deve apostar em um dos suspeitos Xavier (irmão), Lorayne (amiga), Jhonatan (ex namorado), David (caseiro), Michael (amigo do irmão) e Lucian.
3. Espera-se que o grupo aponte ao menos alguns destes testes: Tipo sanguíneo, Teste de Cariótipo, Teste de sexagem, Teste de Paternidade, Teste de DNA.

4.

Teste n.º 1

Amostra n.º 1: A+

Amostra n.º 2: A+

Amostra n.º 3: AB+

Todas as amostras pertencem a uma única pessoa? Não. As amostras n.º 1 e 2 apresentaram mesmo tipo sanguíneo, sendo a de n.º 3 diferente.

Observação: Visto que as amostras n.º 1 e n.º 2 possuem o mesmo tipo sanguíneo, desconsidere a amostra n.º 2 nos testes seguintes.

Teste n.º 2

Amostra n.º 1: Mulher, 46,XX.

Amostra n.º 3: Homem, 46,XY.

O cariótipo pode servir para distinguir o sexo de uma amostra? Por quê? Sim, pois no cariótipo é possível identificar os cromossomos sexuais XX e XY. Para amostra pertencer a um homem, quais cromossomos ela deve apresentar? Cromossomos XY

Para amostra pertencer a uma mulher, quais cromossomos ela deve apresentar? Cromossomos XX

Teste n.º 3

O resultado deste teste confirmou o resultado encontrado no teste do cariótipo? Sim. A amostra n.º 1 foi positivo para AMEL e negativo para SRY, portanto,

pertence a uma mulher, confirmando resultado encontrado no cariótipo. A amostra n.º 3 foi positivo para AMEL e positivo para SRY, portanto, pertence a um homem, confirmando resultado encontrado no cariótipo.

Teste n.º 4

Lavínia A. Demétrio: A+

Olavo Demétrio: O+

Xavier A. Demétrio: AB+

Observação: É levantada a suspeita de que Xavier não é filho biológico de Olavo.

Quais tipos sanguíneos poderiam ser esperados nos filhos biológicos do casal Lavínia e Olavo? Tipos A e O.

A amostra n.º 1 pode pertencer a Suzy? Pode, pois no teste n.º 1 foi identificado que a amostra n.º 1 pertence ao tipo A. No entanto, é necessário realizar um teste de paternidade para confirmar o resultado.

O tipo sanguíneo de Xavier é compatível com o esperado para filhos do casal? Não. Os resultados deste teste levantam a suspeita de que Xavier não é filho biológico do casal.

Teste n.º 5

Cruzamento 1: $I^A I^A \times ii = 100\%$ dos genótipos serão $I^A i$, portanto o tipo sanguíneo será do tipo A.

Cruzamento 2: $I^A i \times ii = 50\%$ dos genótipos serão $I^A i$ e 50% tipo ii , portanto são esperados tipo sanguíneo A e O, respectivamente.

O irmão Xavier é filho biológico do casal? Não. Pois de acordo com o cruzamento, espera-se que os filhos tenham sangue do tipo A ou O.

Um teste de paternidade pode confirmar este resultado? Sim. O Teste de paternidade é o mais indicado para confirmar este resultado.

Teste n.º 6

A amostra n.º 1 pertence a Suzy? A amostra n.º 1 possui 50% das bandas compatíveis com a Lavínia e 50% compatível com Olavo. Portanto, é confirmado que a amostra n.º 1 pertence a Suzy, e a mesma é filha biológica do casal Olavo e Lavínia.

O teste de paternidade confirma a suspeita de que Xavier não é filho biológico do casal? Sim, Xavier possui 50% das bandas compatíveis com Lavínia e nenhuma das bandas foi compatível com o Olavo. Portanto, é confirmado que Xavier não é filho biológico de Olavo.

Teste n.º 7

Determine o tipo sanguíneo de cada um dos suspeitos e elimine os suspeitos cujo tipo sanguíneo não seja compatível com a amostra n.º 3. Jhonatan Bizel: B+; Lorraine River: O+; David Petrel: AB+; Michael Robertsen: O-; Lucian Ramires: AB+. Os suspeitos Jhonatan Bizel, Lorraine River e Michael Robertsen, foram descartados pois não possuem sangue compatível com a amostra n.º 3 que pode pertencer ao culpado.

O grupo deve apostar entre os três suspeitos restantes Xavier Demétrio, David Petrel e Lucian Ramires

Teste n.º 8

Algum dos suspeitos pode ser eliminado com este teste? Sim, Xavier Demétrio apresentou apenas duas bandas de DNA compatíveis com a amostra n.º 3, as outras nove bandas foram incompatíveis, portanto, foi eliminado como suspeito. Enquanto, David Petrel e Lucian Ramires, apresentam todas as bandas compatíveis com a amostra n.º 3 e não podem ser excluídos. Portanto, é necessário realizar o sequenciamento do DNA.

Teste n.º 9

Amostra n.º 3:

STR 1 (GCATGTATCT),
STR 2 (ATCTATCTATC),
STR 3 (AAAGAAAGAAAA),
STR 4 (TCTATCTATCTAT),
STR 5 (TGCATGCATGCATG),
STR 6 (CGACGACGACGTCGA).

David Petrel:

STR 1 (GCATGTATCT),
STR 2 (ATCTATCTATC),
STR 3 (GAAAGAATGAAA),
STR 4 (CTTCTATCAATCT),
STR 5 (TGCAAGCAAGCAGG),
STR 6 (CGACGAGGACGACGA).

Lucian Ramires:

STR 1 (GCATGTATCT),
STR 2 (ATCTATCTATC),
STR 3 (AAAGAAAGAAAA),
STR 4 (TCTATCTATCTAT),
STR 5 (TGGATGCATCCAGG),
STR 6 (TGACGACGACGACGA).

Foi possível encontrar o culpado? Não, David apresentou compatibilidade com a amostra n.º 3 apenas nos marcadores STR 1 e STR 2. Lucian apresentou compatibilidade nos STR 1, STR 2 e STR3, o restante não foi compatível. Portanto, ambos foram eliminados como suspeitos.

Teste n.º 10

STR 1: Compatível com:

Richard Ramires, Vayola Gomes e Luke Fernandes;

STR 2: Compatível com:

Richard Ramires, Thiago Blythe e Luke Fernandes;

STR 3: Compatível com:

Richard Ramires, Francisco Costa e Daymon Petit;

STR 4: Compatível com:

Richard Ramires e Carla Barboza;

STR 5: Compatível com:

Richard Ramires e Jonatan Bianchi;

STR 6: Compatível com:

Richard Ramires e Jace Wayland;

Foi possível encontrar o culpado? Sim, o culpado foi Richard Ramires pois possui 100% de compatibilidade de todos os marcadores

STR 1 (GCATGTATCT),
STR 2 (ATCTATCTATC),
STR 3 (AAAGAAAGAAAA),
STR 4 (TCTATCTATCTAT),
STR 5 (TGCATGCATGCATG),
STR 6 (CGACGACGACGTCGA),

com a amostra n.º 3. Embora não tenha sido considerado como suspeito durante a investigação, a análise do DNA foi conclusiva colocando-o na cena do crime. A análise também sugere algum parentesco de Richard Ramires com o Lucian Ramires, pois, além de compartilharem o sobrenome, existe compatibilidade do DNA em quatro dos seis marcadores STR avaliados.