

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

**DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO E ANÁLISE DE 5
MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM PERNAMBUCO**

Eryca Mirella Barbosa Borges Maciel

**RECIFE
2003**

ERYCA MIRELLA BARBOSA BORGES MACIEL

**DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO E ANÁLISE DE 5
MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Genética da Universidade Federal de
Pernambuco para obtenção do grau de Mestre em
Genética

Orientador: Prof. Dr. Luiz Maurício da Silva

**RECIFE
2003**

Aos meus pais, Marcos e Najla. Ao Marquinhos, meu irmão. A Glauce, minha avó.

AGRADECIMENTOS

A Deus, acima de qualquer coisa.

À minha família pelo apoio moral, espiritual e financeiro, sem os quais seria impossível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Maurício da Silva, por toda orientação recebida, as quais sem dúvida me fizeram crescer como pessoa e como profissional.

À Dra Rosilda dos Santos Silva, pelo carinho e dedicação durante todo esse tempo.

A Edileine Dellalibera, pela orientação da parte experimental do trabalho e pela amizade.

A todos os professores do Departamento de Genética pelos conhecimentos transmitidos e estímulo à vida científica a mim proporcionado.

Às minhas “eternas” amigas Ana Karolina e Michele Havro, pela amizade e incentivo em todos os momentos desta caminhada.

A todos do laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH), pela atenção que me foi dada durante este período de convivência.

Ao amigo Rodrigo Neskier, pelo carinho e ajuda nas horas que eu mais precisava.

A Maria da Glória, Adriana Vieira e Kazuo Kajihara, pela ajuda, convivência e amizade durante todos os momentos.

SUMÁRIO

1. RESUMO	6
2. INTRODUÇÃO	8
3. REVISÃO DA LITERATURA	11
3.1 Polimorfismo de DNA	12
3.2 Polimorfismo de STRs	12
3.3 Haplótipo.....	14
3.4 O cromossomo Y e Y-STRs para construção de haplótipos.....	15
3.5 O uso das variações de haplótipos do cromossomo Y	18
3.6 Análise forense utilizando haplótipos do cromossomo Y.....	19
3.7 Os marcadores genéticos do cromossomo Y	22
3.7.1 DYS19.....	22
3.7.2 DYS390.....	24
3.7.3 DYS391	26
3.7.4 DYS392.....	28
3.7.5 DYS393	30
3.8. Referências bibliográficas.....	32
4. ARTIGO.....	42
5. ABSTRACT.....	55

1. RESUMO

Um total de 240 indivíduos não relacionados da população do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil) foram estudados quanto ao polimorfismo dos locos de STRs (*Short Tandem Repeats*) ligadas ao cromossomo Y DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 para construção de haplótipos. O DNA foi amplificado com a utilização de *primers* específicos e os genótipos identificados através de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida desnaturante, seguida de coloração com nitrato de prata. Os alelos mais freqüentes foram DYS19*14 (0,629), DYS390*24 (0,513), DYS391*10 (0,575), DYS392*13 (0,413) e DYS393*13 (0,758). Foram observados 150 haplótipos diferentes, dos quais 110 apareceram apenas uma vez. O haplótipo mais comum (DYS19*14, DYS390*24, DYS391*10, DYS392*13, DYS393*13) teve freqüência de 9% na amostra. As diversidades alélicas variaram entre 0,401 para DYS393 e 0,696 para DYS392 e a capacidade de discriminação foi de 98%. Os resultados mostram que esses locos são adequados para análise forense e investigação de paternidade no Estado de Pernambuco.

2. INTRODUÇÃO

A caracterização genética das populações humanas conta atualmente com ferramentas poderosas, dentre as quais destacam-se marcadores genéticos constituídos por seqüências repetitivas em tandem de DNA. Estes marcadores são atualmente classificadas em 4 divisões principais: a) Seqüências Satélites Maiores, nas quais uma única família de seqüências repetitivas pode constituir vários percentuais do genoma total, e podem ocorrer em seqüência repetitiva individual tão grande quanto 5MB (Nelleman *et al.*, 1994); b) Minissatélites, também chamadas VNTRs (*Variable Number Tandem Repeats*), podem estar presentes em centenas ou milhares de locos por genoma (Nelleman *et al.*, 1994). Neste caso a seqüência repetitiva é longa o bastante (>10pb) sendo o loco específico repetido para dar blocos de tamanho entre (0,5 e 30Kb); c) Microssatélites, ou STRs (*Short Tandem Repeats*), abundantes em todo o genoma, são pequenas seqüências repetitivas em tandem, com até 6pb, agrupadas para dar seqüências curtas de até 350pb por loco (Armour *et al.*, 2000); d) e grupos haplotípicos, que são constituídos por STRs, formando um conjunto que é passado como uma unidade para a geração seguinte, tornando-se uma excelente ferramenta para estudos evolutivos e genéticos (Quintana-Murci *et al.*, 2001).

Os microssatélites são uma fonte profícua de marcadores genéticos para estudos evolutivos e antropológicos (Butler *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 1997; Drmic *et al.*, 1998), e para aplicação em testes de paternidade, diagnóstico médico, identificação de pessoas em ciências forense (Busque *et al.*, 1997), verificação do sucesso de transplantes de medula óssea (Lins *et al.*, 1996), predição de parentesco evolutivo entre populações e investigação do grau de diversidade genética das diferentes populações do mundo (Frégeau *et al.*, 1998). Este alto polimorfismo é predominantemente devido às mudanças no número de cópias da repetição principal. Estudos indicam que esta variação é causada principalmente por elevadas taxas de erros durante a replicação (Eisen, 2000). O alto grau de polimorfismo das STRs é a característica que as torna particularmente úteis em estudos genéticos das populações humanas atuais.

A estrutura étnica das populações do Nordeste brasileiro é essencialmente heterogênea. Brancos europeus, negros africanos e índios nativos contribuíram para

a formação das atuais populações nordestinas, sendo muito interessante e úteis os estudos genéticos que visem esclarecer a contribuição dos seus diferentes grupos ancestrais. Existem poucos trabalhos na literatura especializada sobre a estrutura genética de populações do Nordeste do Brasil baseados no polimorfismo de STRs e grupos haplotípicos. Portanto, será de grande valia o estudo sobre a população do Estado de Pernambuco. Neste contexto, realizamos o presente trabalho que teve como objetivos específicos:

1. Caracterizar a população do Estado de Pernambuco quanto ao polimorfismo das STRs DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393, constituindo haplótipos do cromossomo Y;
2. Comparar com outras populações do mundo quanto ao grau de variabilidade genética;
3. Fornecer dados para validação dos testes de investigação de paternidade e identificação de indivíduos realizados pelo Laboratório de Genética Molecular Humana (LGMH) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para a população do Nordeste Brasileiro.
4. Criação de um banco de dados do Nordeste Brasileiro com frequências haplotípicas das STRs ligadas ao cromossomo Y (Y-STR).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Polimorfismo de DNA

Uma definição mais acurada de polimorfismo afirma a necessidade de pelo menos dois alelos no loco e que o mais raro deles encontre-se na população com uma frequência que não possa ser explicada por mutação recorrente (Morton, 1967).

O termo polimorfismo genético é empregado para definir a existência de fenótipos distintos, determinados por dois ou mais alelos de um dado loco gênico, os quais são relativamente comuns numa determinada população (Harris, 1980).

A variação genética entre os indivíduos, analisada ao nível de DNA, tem sido amplamente utilizada no estudo da extensa diversidade genética de diferentes populações mundiais. Tanto o DNA mitocondrial quanto o DNA nuclear exibem uma grande variedade de polimorfismos os quais são utilizados para comparar variações genéticas entre as populações e discutir problemas evolutivos. Entre as variações de DNA nuclear estão as mutações de ponto detectadas através de digestão com enzimas de restrição ou por seqüenciamento, variações estruturais como grandes deleções, grupos haplotípicos e variações alélicas no número de segmentos repetitivos em tandem, de seqüências de DNA, os quais apresentam um grande número de alelos e alta heterogeneidade para cada loco (Zago *et al.*, 1996; Innis *et al.*, 1990).

3.2. Polimorfismo de STRs

Wyman e White (1980) relataram a descoberta de regiões hipervariáveis de DNA e posteriormente Nakamura (1987) introduziram o conceito de VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*). Estes segmentos são atualmente classificados em minissatélites e microssatélites, dependendo da extensão da unidade repetitiva. Os locos minissatélite ou VNTRs são compostos de 6-100pb

repetidas e os locos microssatélites ou STRs (*Short Tandem Repeats*) consistem de seqüências repetidas em tandem, tipicamente de 2-6pb de comprimento e estão dispersos por todo o genoma humano (Tautz 1993). A unidade repetitiva corresponde à seqüência, cujo número de nucleotídeos pode variar de acordo com a VNTR ou com a STR. Assim a VNTR ou a STR será considerada dimérica quando a unidade repetitiva possuir dois pares de bases(pb), trimérica quando possui três pb e assim por diante. O nome dos alelos das VNTRs e das STRs é dado pelo número de cópias da unidade repetitiva, o qual corresponde à identificação do alelo, ou seja, o alelo 5 tem cinco cópias da unidade repetitiva, o alelo 6 tem seis cópias e assim por diante.

Os locos STRs estão difundidos pelo genoma, ocorrendo com uma freqüência de um loco a cada 10Kb (Edwards *et al.* 1991), levando-nos a uma estimativa de cerca de 300 mil STRs em nosso genoma. Normalmente apresentam diversos alelos menores que 350pb de comprimento (Robertson *et al.*, 1995) e, ao contrário de outros tipos de polimorfismo de tamanho do fragmento, podem ser amplificados, com sucesso, a partir de DNA degradado e de baixo peso molecular (Lareu *et al.*, 1994). Sua análise tem sido muito utilizada para aplicações forenses e mapeamento genético (Gao *et al.*, 1999), reconstrução da filogenia humana (Bowcock *et al.*, 1994; Jorde *et al.*, 1995), estudos populacionais (Gusmão *et al.*, 1997; Iwasa *et al.*, 1997, Füredi *et al.*, 1997, Sebetan *et al.*, 1998), diagnóstico de doenças (Sheffield *et al.*, 1995; Vanagaite *et al.*, 1994; Rothschild *et al.*, 1993), entre outras.

De acordo com Edwards *et al.*, (1991), as STRs triméricas e tetraméricas do genoma humano são altamente variáveis, podendo ser amplificadas com maior fidelidade do que as repetições diméricas. A precisão, sensibilidade e a velocidade de detecção dos alelos de STRs através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são as características que levam à utilização destes locos em estudos forenses e populacionais. Uma outra característica importante das STRs é o fato de serem sistemas genéticos que segregam mendelianamente. Isto significa que, após a eletroforese realizada com os produtos da PCR, o genótipo de cada indivíduo pode ser determinado com exatidão, tornando possível a aplicação dos princípios da

genética de populações para análise das frequências alélicas das STRs e das frequências haplotípicas.

Através da utilização da PCR, as STRs podem ser co-amplificadas em grupos de três ou até mais que sete locos em um tubo de reação pelo desenvolvimento de sistemas de amplificação denominados multiplexes (Puers *et al.*, 1993), o que dá maior agilidade na detecção de alelos nos locos polimórficos. Os fragmentos amplificados podem ser separados por eletroforese em gel desnaturante de poliacrilamida, seguida por revelação com nitrato de prata, sendo a tipificação dos genótipos dada de maneira simples, pois os homocigotos apresentam uma banda e os heterocigotos apresentam duas.

Um grande número de micro e minissatélite têm sido detectados no genoma humano e novos locos hipervariáveis continuam a ser descritos (Wong *et al.*, 1986).

3.3 Haplótipo

O haplótipo é um grupo de alelos de locos estreitamente ligados, em geral herdados como uma unidade e raramente o processo de recombinação irá separar dois locos que se situam muito próximos entre si, no mesmo cromossomo, porque só um *crossing-over* situado exatamente no pequeno espaço entre eles resultará em alelos recombinantes (Quintana-Murci *et al.*, 2001). Desta forma, os conjuntos de alelos situados num dado segmento cromossômico tendem a ser transmitidos em bloco na genealogia. Este bloco de alelos é conhecido como haplótipo. Os haplótipos marcam segmentos cromossômicos reconhecíveis, que podem ser estudados através de genealogias segundo os princípios da genética de populações. Enquanto não-desfeitos por recombinação, os haplótipos podem ser tratados, para fins de mapeamento, como se fossem um só loco altamente polimórfico.

Como no cromossomo Y os locos de STRs não sofrem recombinação por estarem localizados numa área que não sofre *crossing-over*, os haplótipos de STRs ligados ao cromossomo Y são bastante utilizados em estudos populacionais, genética forense e investigação de paternidade (Nata *et al.*, 1999).

3.4. O cromossomo Y e Y-STRs para construção de haplótipos

O cromossomo Y humano representa apenas 2% do genoma humano e o seu comprimento é de aproximadamente 60Mb. Há duas regiões pseudoautossômicas (PAR1 e PAR2) localizadas nas porções distais do braço longo e do braço curto do cromossomo Y, respectivamente. Estas regiões são homólogas a seqüências do cromossomo X e são responsáveis pelo pareamento correto entre os dois cromossomos durante a meiose. A maior parte do cromossomo Y (95%) é constituída pela região não-recombinante (NRY), ou seja, que não sofre recombinação durante a meiose. O cromossomo Y tem uma importante função biológica com conseqüências diretas na determinação do sexo e na fertilidade masculina. Os diferentes genes e os fenótipos associados na região NRY e as duas regiões pseudoautossômicas estão na **Figura 1**. Na região NRY estão localizadas várias STRs que estão na **Figura 2** e são consideradas marcadores. Como estão localizadas numa região que não sofre recombinação, as variações destas STRs podem ser combinadas como um haplótipo, que é transmitido de pai para filho (Wolf *et al.* 1992). Dessa forma o alelo de cada marcador individual, assim como o haplótipo formado, se conservam tanto nos ascendentes como nos descendentes e na linha colateral dos indivíduos do sexo masculino. O cromossomo Y está sempre em estado haplóide e, portanto, é transmitido intacto através da linhagem paterna. Estas características fazem o estudo do polimorfismo do cromossomo Y muito útil em diferentes níveis, incluindo a dedução de histórias populacionais, aplicações forenses e análise de paternidade (Quintana-Murci *et al.*, 2001).

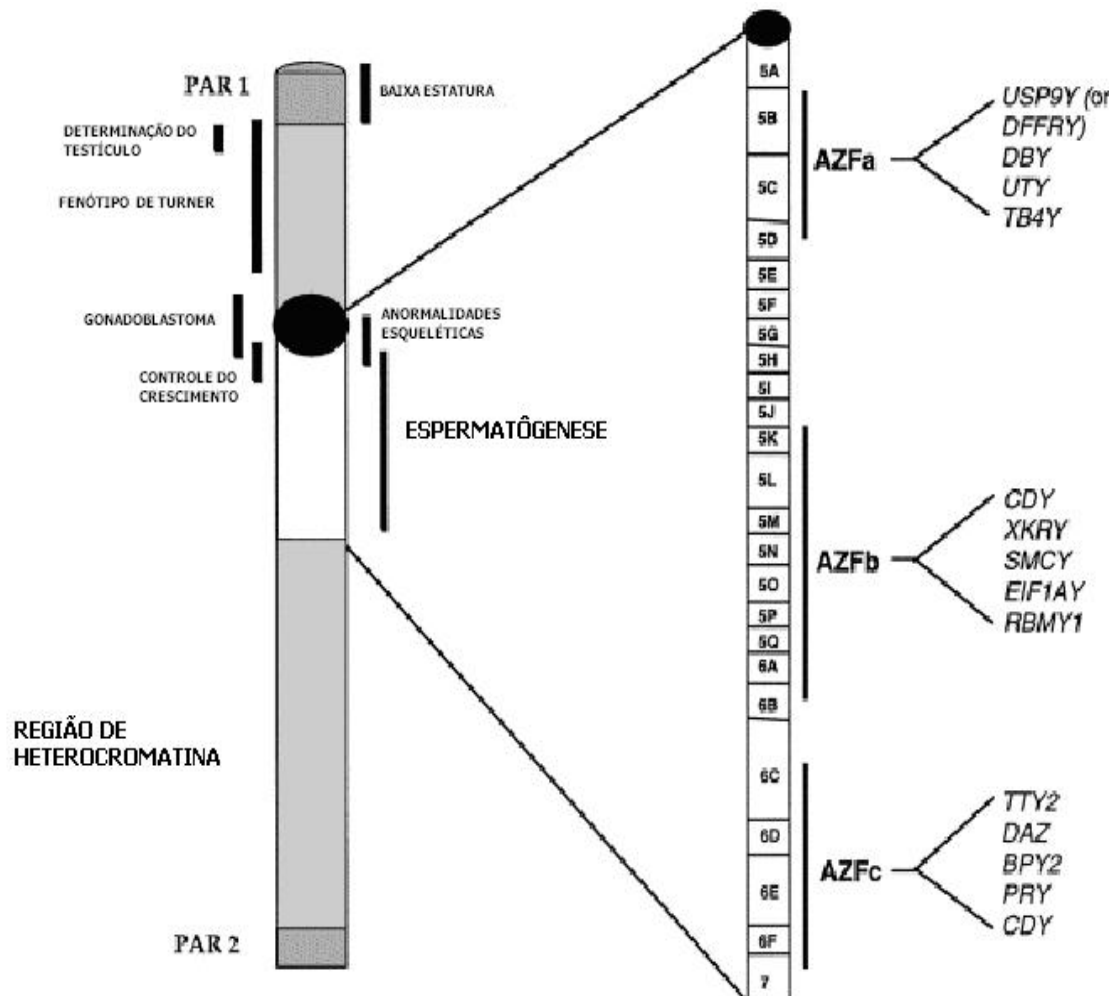


Figura 1. Representação esquemática do cromossomo Y humano. PAR1 e PAR2 e a região de heterocromatina estão indicadas, bem como as diferentes funções biológicas associadas a este cromossomo. O cromossomo Y é dividido em uma série de intervalos de deleções (AZFa, AZFb e AZFc) as quais estão indicadas. As três regiões AZF estão associadas com falhas na espermatogênese. As posições dos genes dentro de cada uma dessas regiões estão também indicadas (Quintana-Murci *et al.*, 2001).

O polimorfismo das STRs do cromossomo Y dos indivíduos é cada vez mais utilizado para estudar a evolução genética do sexo masculino (Kayser *et al.*, 1997, de Knijff *et al.*, 1997, Rolf *et al.*, 1998, Rossi *et al.*, 1999), bem como para aplicações forenses (Jobling *et al.*, 1997). Desde o primeiro Workshop realizado em 1996 sobre marcadores do cromossomo Y em Berlim, vários dados de tipagens destes marcadores em populações de todo o mundo têm sido relatados (Nata *et al.*,

1999). Contudo, a aplicação forense destes marcadores ligados ao cromossomo Y requer conhecimento das frequências haplotípicas de cada população estudada.

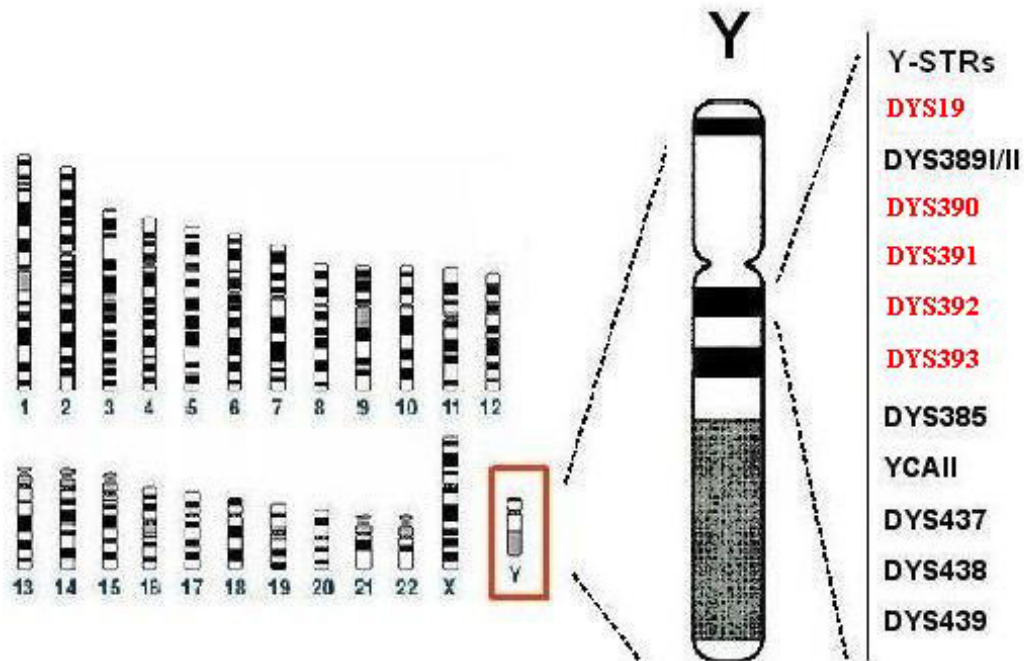


Figura 2. O cromossomo Y e as Y-STRs. Em vermelho as STRs utilizadas nesse estudo para construção de haplótipos (<http://ystr.charite.de>).

A primeira STR do cromossomo Y (Y-STR) descrita foi Y27H39 conhecida no presente como DYS19 segundo Roewer e Epplen (1992). Logo depois, várias Y-STRs (DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393) foram descritas. A aplicabilidade destes marcadores foi demonstrada em diversos casos forenses, tais como: testes de paternidade com determinadas particularidades, por exemplo, casos em que o suposto pai é falecido, com possibilidade de estudo do DNA dos supostos filhos do sexo masculino (Roewer *et al.*, 1992), identificação humana em desastres com grande número de vítimas (Corach *et al.*, 1995 e Corach *et al.*, 1997) e identificação humana em um crime (Honda *et al.*, 1999).

Embora 25 STRs ligadas ao cromossomo Y já tenham sido descritas (Jobling *et al.*, 1997) um conjunto básico de 8 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393 e DYS385), chamado haplótipo mínimo, e

um conjunto constituído de 9 locos (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385 e YCA), chamado haplótipo estendido, foram minuciosamente investigados e disponibilizados num banco de dados *on-line* (<http://ystr.charite.de>) com referências e frequências sobre os haplótipos.

A padronização de protocolos tem sido atingida pela intensa colaboração entre vários laboratórios (Kayser *et al.*, 1997). Diferentes técnicas foram empregadas para tipagem destes haplótipos, incluindo incorporação radioativa, coloração com nitrato de prata e detecção com fluorescência em seqüenciadores automáticos. Diferentes sistemas de multiplexe foram desenvolvidos (Corach *et al.*, 1995) e alguns deles empregados com êxito em casos forenses (Gusmão *et al.*, 1997 e Prinz *et al.*, 2000). A aplicabilidade e eficácia de sistemas de multiplexes de Y-STRs na rotina forense foram comprovadas (Corach *et al.*, 2001). Entretanto, no presente nenhum kit está disponível, limitando uma extensa rotina forense.

Tanto o cromossomo Y quanto o DNA mitocondrial mostram uma herança uniparental. Estes são particularmente úteis para traçar a ancestralidade da linhagem paterna e materna na população humana, e podem ser utilizados para dar informações do padrão específico das migrações ocorridas no passado e sobre a origem e a diversidade de populações específicas. Os haplótipos baseados no polimorfismo destes marcadores são facilmente construídos por causa da ausência de recombinação nesta região genômica.

Estes marcadores do cromossomo Y são utilizados principalmente por causa de duas características, um alto nível de polimorfismo na população e baixa incidência de mutações recorrentes (taxa de mutação 5.4×10^{-9} - 1.9×10^{-9} por sítio por ano), segundo Semino *et al.*, (2000).

3.5 O uso das variações de haplótipos do cromossomo Y

A região NRY do cromossomo Y não sofre recombinação e fornece muitas vantagens, por exemplo, para construção de haplótipos individuais, para uma dedução simples da ancestralidade paterna e para fácil estimação de eventos de

ramificação em árvores de filogenética. Os marcadores polimórficos ligados ao cromossomo Y estão sendo utilizados em estudos populacionais e forenses através do polimorfismo de substituições base-específica, eventos de inserções/deleções, microssatélites e minissatélites (Jobling e Tyler-Smith, 1995, Santos *et al.*, 1996, de Knijff *et al.*, 1997, Underhill *et al.*, 1997, Jobling *et al.*, 1998, Thomas *et al.*, 1999 e Bao *et al.*, 2000). As variações de substituições e o polimorfismo de deleções/inserções certamente representam evento molecular único na evolução humana. Contudo, em alguns casos elas podem ser encontradas em pequenos grupos, ou em um único indivíduo, e podem definir filogeneticamente haplogrupos com uma certa distribuição mundial ou, em alguns casos, agrupamentos regionalizados. Os microssatélites (STRs) definem haplótipos dentro de haplogrupos, e permitem a separação de populações humanas por serem avaliadas mais precisamente. Do mesmo modo o tempo de união de haplogrupos, bem definidos, podem ser estimados. Em paralelo, estas aplicações no esclarecimento do processo de migração e o processo de evolução da espécie humana são ilustrados por um grande número de estudos feitos nesses últimos cinco anos (Quintana-Murci *et al.*, 2001). Desse modo, o potencial do cromossomo Y tanto para identificar quanto para discriminar o DNA de um indivíduo através de haplótipos foi comprovado e está sendo utilizado extensivamente na prática forense (Roewer *et al.*, 1996, de Knijff *et al.*, 1997, Kayser *et al.*, 1997, Jobling *et al.*, 1997).

3.6 Análise forense utilizando haplótipos do cromossomo Y

A análise dos haplótipos do cromossomo Y pode ser extensivamente utilizada em aplicações forenses, assim como na identificação de DNA masculino em casos de estupro e teste de paternidade, especialmente em casos deficientes, nos quais o pai alegado é falecido (Kayser *et al.*, 1997 e Jobling *et al.*, 1997). Os

marcadores de STRs apresentam um alto de nível de polimorfismo e conseqüentemente, oferecem um significativo grau de discriminação entre os indivíduos. Por exemplo, um estudo feito na população da Alemanha usando 9 locos ligados ao cromossomo Y demonstrou uma capacidade de discriminação de 100% entre os haplótipos do cromossomo Y (Kayser *et al.*, 1997 e Roewer *et al.*, 1996). Contudo, este pode não ser o caso em outras populações com diferentes antecedentes genéticos e diferentes histórias populacionais. O polimorfismo destes microssatélites pode ser usado com muita especificidade para traçar a genealogia paterna e, por exemplo, em casos de investigação de paternidade deficiente com ausência do pai alegado, que pode ser resolvido pela análise de alguns familiares da parte questionada. Contudo, a subestrutura da população pode causar problemas significantes para este tipo de análise. Por exemplo, processo de migração específica de homens, o efeito do fundador e a deriva genética podem induzir a super-representação de um determinado haplótipo específico em uma dada população. Outra importante aplicação genealógica do cromossomo Y é a associação entre sobrenomes ou grupos fechados e haplótipos do cromossomo Y. O haplótipo mais freqüente entre os judeus característico do Cohanim (Thomas *et al.*, 1998), e o haplótipo associado com o sobrenome Inglês “Sykes” segundo Sykes e Irven (2000) são dois exemplos do potencial impacto social destes estudos na identificação de amostras de DNA utilizando-se marcadores do cromossomo Y.

A análise de 5 marcadores ligados ao cromossomo Y (Y-STRs) através de sistemas combinados, gerando um triplex (DYS19, DYS390 e DYS391) e um duplex (DYS392 e DYS393), podem ser amplificados com as mesmas condições que aquelas requeridas pelos multiplexes formados com STRs de autossomos. A **Figura 3** mostra um eletroferograma dos amplificados de uma mistura de um triplex e de um duplex, mostrando que os alelos podem ser visualizados e tipados com toda clareza, e que todos os alelos são identificados, reduzindo com isso possíveis erros e tempo para análise de uma rotina forense (Corach *et al.*, 2001).

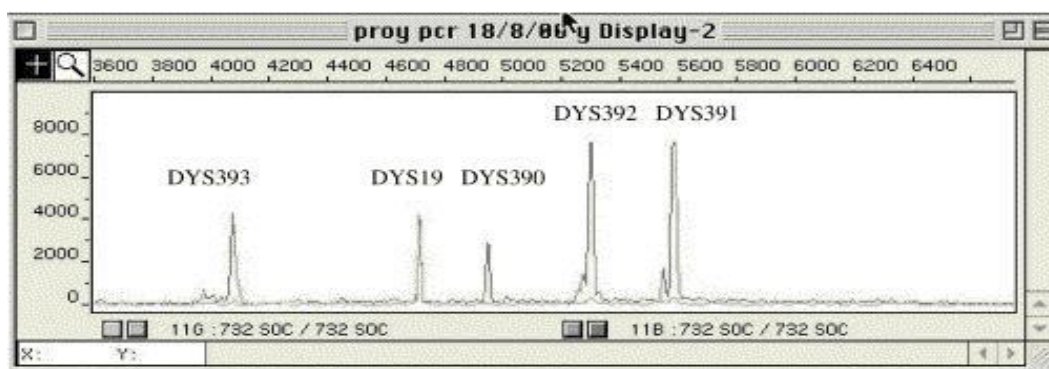


Figura 3. Eletroferograma de uma co-aplicação de um duplex e um triplex de Y-STRs amplificadas mostrando a percepção das 5 STRs quando são amplificadas juntas numa mesma reação de PCR (Corach *et al.*, 2001).

De uma amostra de 360 indivíduos da Argentina, 152 (42%) diferentes haplótipos foram encontrados, 92 (25%) haplótipos foram únicos nessa população. O haplótipo DYS19* (14), DYS390* (24), DYS391* (11), DYS392* (13) e DYS393* (13), identificado na literatura como (14-24-11-13-13) foi o mais freqüente (0,140) e o haplótipo (14-24-10-13-13) foi o segundo mais freqüente (0,052) segundo Corach *et al.*, (2001). Esses haplótipos também são encontrados em populações européias com freqüências (0,078 e 0,041) respectivamente, quando comparados com o banco de dados europeu YHRD (*Y-STR Haplotype Reference Database*) disponível no site <http://ystr.charite.de>. Esses dados com 5 Y-STRs combinadas em sistemas multiplexe são de grande importância e eficácia, quando aplicados numa rotina forense como em casos de estupro, de identificação de corpos e de investigação de homicídio (Corach *et al.*, 1998).

Dessa maneira, quanto maior o número de Y-STRs, menor será a freqüência haplotípica e conseqüentemente maior o poder de discriminação.

3.7 Os marcadores genéticos do cromossomo Y

3.7.1 DYS19

A STR DYS19, também denominada DY-27H39, está localizada no cromossomo Y, na região constituída por DNA repetitivo (DNA satélite), com unidade de repetição [GATA] $_n$ segundo (Roewer e Epplen (1992). As seqüências do par de *primer* já descrito estão na **Tabela 1** e os alelos com seus respectivos comprimentos (pb) estão na **Tabela 2**.

Tabela 1. Seqüência do par de *primer* para a amplificação do loco DYS19.

Amplímero	Referência	Seqüência do <i>primer</i> para PCR
Set 1	Gene Bank Acesso X77751	5'- CTACTGAGTTTCTGTTATAGT - 3' 5'- ATGGCATGTAGTGAGGACA- 3'

Tabela 2. Alelos do loco DYS19 e seus respectivos comprimentos.

Alelo*	Comprimento (pb)*
10	174 pb
11	178 pb
12	182 pb
13	186 pb
14	190 pb
15	194 pb
16	198 pb
17	202 pb
18	206 pb
19	210 pb

* de Knijff *et al.*, 1997

Diferentes populações mundiais foram estudadas quanto ao polimorfismo do loco DYS19 e várias delas estão referenciadas na **Tabela 3**. Santos *et al.*, (1996) analisaram populações brasileiras e verificaram que o alelo 14 foi o mais freqüente, apresentando freqüência de 0,540. Observaram também que as populações

brasileiras estudadas não diferiam significativamente de várias populações européias, mas diferenças significantes foram observadas quando as populações européias foram comparadas com populações não-européias, como, por exemplo, populações africanas e populações asiáticas. Como pode ser verificado na **Tabela 3** o alelo 14 é o mais freqüente nas populações do Continente Europeu, com freqüências variando de 0,516 a 0,800. No entanto, para populações africanas e asiáticas (Sudeste e Nordeste) o alelo 15 é o mais freqüente com freqüência variando entre 0,409 e 0,472. Os alelos 15 e 13 são os mais freqüentes na maior parte das populações indígenas americanas, sugerindo que o alelo 15 pode ser utilizado como marcador de populações não-caucasóides.

Tabela 3. Freqüências alélicas do loco DYS19 em diferentes populações.

POPULAÇÃO	ALELO MAIS FREQUENTE	ALELO MENOS FREQUENTE	FONTE
EUROPA			
Andaluzia	14 (0,571)	16 (0,089)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Aragon	14 (0,600)	12 e 17 (0,013)	Palacio <i>et al.</i> , 1999
Catalunha	14 (0,800)	13 (0,040)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Galícia	14 (0,623)	17 (0,010)	Pestoni <i>et al.</i> , 1999
Espanhóis (Bascos)	14 (0,759)	17 (0,034)	Gonzalez-Neira <i>e al.</i> , 2000
Espanhóis (Autóctones Bascos)	14 (0,900)	17 (0,070)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	14 (0,789)	17 (0,038)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Valência	14 (0,614)	12 (0,007)	Aler <i>et al.</i> , 2000
Valência	14 (0,516)	13 (0,065)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Açores (Portugal)	14 (0,540)	12, 16 e 17 (0,016)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (área Central)	14 (0,580)	17 (0,012)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Norte)	14 (0,691)	16 (0,054)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Europa (em geral)	14 (0,499)	12 (0,002)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRÍNDIOS			
Ameríndios (Suriname)	15 (0,500)	12 (0,020) 17(0,040)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios (USA)	13 (0,950)	14 (0,050)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Mapuches (Argentina)	15 (0,380)	14 (0,180)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Tehuelches (Argentina)	14 e 15 (0,420)	13 (0,160)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Wichis (Argentina)	13 (1,000)	--	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Yanomami (Venezuela)	13 (0,810)	14 (0,180)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios (em geral)	13 (0,375)	12 (0,009)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRICA			
Brasil	14 (0,540)	17 (0,010)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Buenos Aires (Argentina)	14 (0,560)	16 (0,030)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Colômbia (População Negra)	15 (0,325)	13 (0,073)	Yunis <i>et al.</i> , 2000
ÁFRICA			
Africanos (em geral)	15 (0,409)	13 (0,034)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
ÁSIA			
Asiáticos (Sudeste)	15 (0,472)	13 (0,015)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
Asiáticos (Nordeste)	15 (0,455)	14 (0,062) 13(0,073)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
OCEANIA			
Austrália	15 (0,541)	17 e 18 (0,007)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997

3.7.2 DYS390

A STR DYS390 está localizada na região constituída por DNA repetitivo (DNA satélite), cuja seqüência repetitiva é:

- [TCTG]_n [TCTA]_m [TCTG]_p [TCTA]_q

As seqüências do par de *primer* já descrito estão na **Tabela 4** e os alelos com seus respectivos comprimentos (pb) estão na **Tabela 5**.

Tabela 4. Seqüência do par de *primer* para a amplificação do loco DYS390.

Amplímero	Referência	Seqüência do <i>primer</i> para PCR
Set 1	Gene Bank Acesso G09611	5'- TATATTTTACACATTTTGGGCC-3' 5'- TGACAGTAAATGAACACATTGC- 3'

Tabela 5. Alelos do loco DYS390 e seus respectivos comprimentos.

Alelos*	Comprimento (pb)*
18	191 pb
19	195 pb
20	199 pb
21	203 pb
22	207 pb
23	211 pb
24	215 pb
25	219 pb
26	223 pb
27	227 pb

* de Knijff *et al.*, 1997

Diferentes populações mundiais foram estudadas quanto ao polimorfismo do loco DYS390 e algumas delas estão relacionadas na **Tabela 6**. Como pode ser observado, nesta tabela, na maior parte das populações o alelo mais freqüente foi o 24 com freqüência média igual a 0,600. No entanto, em populações de negros africanos e de americanos (Colômbia) o alelo mais freqüente foi o 21 com freqüência média de 0,497, o que indicaria uma possível diferença marcante entre as populações. Já nas populações asiáticas ocorreu uma diferença marcante entre o Sudeste e o Nordeste. Nos asiáticos do Sudeste o alelo mais freqüente foi o 23

(0,470) e nos do nordeste o alelo mais freqüente foi o 25 (0,333) como descrito por de Knijff *et al.*, 1997.

Tabela 6. Freqüências alélicas do loco DYS390 em diferentes populações.

POPULAÇÕES	ALELO MAIS FREQUENTE	ALELO MENOS FREQUENTE	FONTE
EUROPA			
Andaluzia	24 (0,464)	22 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Catalunha	24 (0,690)	22 e 25 (0,069)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Galícia	24 (0,534)	21 (0,025)	Pestoni <i>et al.</i> , 1999
Espanhóis (Bascos)	24 (0,621)	23 (0,172)	Gonzalez-Neira <i>e al.</i> , 2000
Espanhóis (Autóctones Bascos)	24 (0,730)	25 (0,100)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	24 (0,773)	25 (0,057)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Valência	24 (0,500)	21 e 26 (0,007)	Aler <i>et al.</i> , 2000
Valência	24 (0,419)	22 (0,065)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Açores (Portugal)	24 (0,492)	21 (0,016)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (área Central)	24 (0,512)	27 (0,006)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Norte)	24 (0,691)	21 e 26 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Europa (em geral)	24 (0,377)	27 (0,003)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMERÍNDIOS			
Ameríndios (Suriname)	23 (0,300)	24 (0,130)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios Mapuches (Argentina)	24 (0,630)	23 (0,370)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Tehuelches (Argentina)	24 (0,580)	21 (0,170)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Wichis (Argentina)	24 (0,830)	23 (0,170)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Yanomami (Venezuela)	22 (0,850)	23 e 24 (0,080)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios (em geral)	24 (0,298)	23 (0,267) 25 (0,079)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRICA			
Buenos Aires (Argentina)	24 (0,540)	21 (0,020)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Colômbia (população Negra)	21 (0,463)	19 e 20 (0,002)	Yunis <i>et al.</i> , 2000
ÁFRICA			
Africanos (em geral)	21 (0,531)	20 (0,007)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
ÁSIA			
Asiáticos (Sudeste)	23 (0,470)	21 (0,062)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
Asiáticos (Nordeste)	25 (0,333)	27 (0,005)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
OCEANIA			
Austrália	24 (0,464)	21 (0,007)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997

3.7.3. DYS391

A STR DYS391 está localizada na região constituída por DNA repetitivo (DNA satélite), cuja seqüência repetitiva é (TCTA)_n. As seqüências do par de *primer* já descrito estão na **Tabela 7** e os alelos com seus respectivos comprimentos (pb) estão na **Tabela 8**.

Tabela 7. Seqüência do par de *primer* para a amplificação do loco DYS391.

Amplímero	Referência	Seqüência do <i>primer</i> para PCR
Set 1	Gene Bank Acesso G09613	5'- CTATTCATTCAATCATACACCCA-3' 5'- GATTCTTTGTGGTGGGTCTG- 3'

Tabela 8. Alelos do loco DYS391 e seus respectivos comprimentos.

Alelos*	Comprimento (pb)*
8	275 pb
9	279 pb
10	283 pb
11	287 pb
12	291 pb
13	295 pb

* de Knijff *et al.*, 1997

Diferentes populações mundiais foram estudadas quanto ao polimorfismo do loco DYS391 e algumas delas estão descritas na **Tabela 9**. Como pode ser concluído observando-se esta tabela, a maior parte das populações européias apresenta uma distribuição bimodal com dois alelos mais freqüentes o 10 e o 11 e em algumas populações a diferença de freqüência entre esses dois alelos é quase insignificante como, por exemplo, nas populações da Espanha (Valência) e de Portugal (Açores) onde os alelos 10 e 11 apresentam as seguintes freqüências 0,471 e 0,457 e 0,460 e 0,413 respectivamente.

Já entre os Ameríndios esta diferença é marcante. Em ameríndios da Argentina (Tehuelches) o alelo 11 foi o mais freqüente (0,670) e nos ameríndios da Venezuela (Yanomami) o alelo 10 foi mais freqüente (0,920).

Entre as populações africanas e asiáticas não ocorreu uma distribuição bimodal como na população européia e o alelo 10 foi o mais freqüente com 0,452

nas populações africanas, 0,696 nos asiáticos do sudeste e 0,675 nos asiáticos do nordeste.

Tabela 9. Frequências alélicas do loco DYS391 em diferentes populações.

POPULAÇÕES	ALELO MAIS FREQUENTE	ALELO MENOS FREQUENTE	FONTE
EUROPA			
Andaluzia	10 (0,554)	12 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Catalunha	11 (0,567)	9 (0,033)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Galícia	11 (0,491)	9 (0,132)	Pestoni <i>et al.</i> , 1999
Espanhóis (Bascos)	11 (0,552)	12 (0,069)	Gonzalez-Neira <i>e al.</i> , 2000
Espanhóis (Autóctones Bascos)	11 (0,600)	9 e 12 (0,030)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	11 (0,530)	9 e 12 (0,039)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Valência	10 (0,471) e 11 (0,457)	12 (0,014)	Aler <i>et al.</i> , 2000
Valência	10 e 11 (0,452)	9 (0,097)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Açores (Portugal)	10 (0,460) e 11 (0,413)	12 (0,032)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Área Norte)	10 (0,494) e 11 (0,407)	12 (0,019)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Norte)	10 (0,527) e 11 (0,412)	13 (0,007)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Europa (em geral)	10 (0,552) e 11 (0,403)	12 (0,020)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMERÍNDIOS			
Ameríndios (Suriname)	10 (0,680)	12 (0,020)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios Mapuches (Argentina)	10 (0,440)	12 (0,060)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Tehuelches (Argentina)	11 (0,670)	9 (0,080)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Wichis (Argentina)	10 (1,000)	--	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Yanomami (Venezuela)	10 (0,920)	11 (0,080)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios (em geral)	10 (0,643)	12 (0,020)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRICA			
Buenos Aires	10 (0,550)	12 (0,020)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Colômbia (população Negra)	10 (0,683)	8 e 12 (0,008)	Yunis <i>et al.</i> , 2000
ÁFRICA			
Africanos (em geral)	10 (0,452)	8 e 12 (0,032)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
ÁSIA			
Asiáticos (Sudeste)	10 (0,696)	12 (0,018)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
Asiáticos (Nordeste)	10 (0,675)	9 (0,150)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
OCEANIA			
Austrália	10 (0,825)	9 (0,047)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997

3.7.4 DYS392

A STR DYS392 está localizada na região constituída por DNA repetitivo (DNA satélite), cuja seqüência repetitiva é (TAT)_n. As seqüências do par de *primer* já descrito estão na **Tabela 10** e os alelos com seus respectivos comprimentos (pb) estão na **Tabela 11**.

Tabela 10. Seqüência do par de *primer* para a amplificação do loco DYS392.

Amplímero	Referência	Seqüência do <i>primer</i> para PCR
Set 1	Gene Bank Acesso G09867	5'- TCATTAATCTAGCTTTTAAAAACAA-3' 5'- AGACCCAGTTGATGCAATGT- 3'

Tabela 11. Alelos do loco DYS392 e seus respectivos comprimentos.

Alelos*	Comprimento (pb)*
7	236 pb
10	245 pb
11	248 pb
12	251 pb
13	254 pb
14	257 pb
15	260 pb
16	263 pb

* de Knijff *et al.*, 1997

Diferentes populações mundiais foram estudadas quanto ao polimorfismo do loco DYS392 e algumas delas estão na **tabela 12**. Como pode ser observado, nesta tabela, na maior parte das populações estudadas, o alelo mais freqüente foi o 13 com freqüência média igual a 0,600. No entanto, em populações européias tanto o alelo 13 quanto o alelo 11 apresentaram uma freqüência relativamente elevada. Na população da Andaluzia houve uma distribuição bimodal entre o alelo 13 (0,446) e alelo 11 (0,446), já na população da Catalunha (Espanha), o alelo 11 foi o mais freqüente (0,563), e no país Basco (Espanha), o alelo 13 foi o mais freqüente com freqüência média de 0,824.

Entre os ameríndios americanos dos Estados Unidos o alelo 14 foi o mais freqüente com freqüência média de 0,615. Em populações africanas e asiáticas do nordeste o alelo 11 foi o mais freqüente (0,819 e 0,725, respectivamente).

Tabela 12. Freqüências alélicas do loco DYS392 em diferentes populações.

POPULAÇÕES	ALELO MAIS FREQUENTE	ALELO MENOS FREQUENTE	FONTE
EUROPA			
Andaluzia	11 e 13 (0,446)	12 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Catalunha	11 (0,563)	12 e 14 (0,031)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Galícia	13 (0,553)	14 (0,021)	Pestoni <i>et al.</i> , 1999
Espanhóis (Bascos)	13 (0,793)	14 (0,034)	Gonzalez-Neira <i>e al.</i> , 2000
Espanhóis (Autóctones Bascos)	13 (0,930)	11 (0,07)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	13 (0,750)	11 (0,250)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Valência	13 (0,585)	10 (0,007)	Aler <i>et al.</i> , 2000
Valência	13 (0,581)	15 (0,032)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Açores (Portugal)	13 (0,540)	12 (0,048) e 14 (0,032)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (área Central)	13 (0,451)	15 (0,006)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Norte)	13 (0,600)	12 e 14 (0,055)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
AMERÍNDIOS			
Ameríndios (Suriname)	11 (0,630)	12 (0,020) e 14 (0,040)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios Mapuches (Argentina)	14 (0,560)	11 (0,060)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Tehuelches (Argentina)	14 (0,420)	15 (0,080)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Wichis (Argentina)	14 (0,660)	11 e 15 (0,170)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Yanomami (Venezuela)	14 (0,820)	15 (0,180)	Santos <i>et al.</i> , 1996
AMÉRICA			
Buenos Aires (Argentina)	13 (0,450)	12 e 14 (0,03) 10(0,05)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Colômbia (população Negra)	11 (0,731)	15 (0,008)	Yunis <i>et al.</i> , 2000
ÁFRICA			
Africanos (em geral)	11 (0,819)	10 e 13 (0,066)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
ÁSIA			
Asiáticos (Sudeste)	13 (0,380)	16 (0,017)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
Asiáticos (Nordeste)	11 (0,725)	12 e 16 (0,025)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
OCEANIA			
Austrália	13 (0,512)	15 (0,047)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997

3.7.5 DYS393

A STR DYS393 está localizada na região constituída por DNA repetitivo (DNA satélite), cuja seqüência repetitiva é (AGAT)_n. As seqüências do par de *primer* já descrito estão na **Tabela 13** e os alelos com seus respectivos comprimentos (pb) estão na **Tabela 14**.

Tabela 13. Seqüência do par de *primer* para a amplificação do loco DYS393

Amplímero	Referência	Seqüência do <i>primer</i> para PCR
Set 1	Gene Bank Acesso G09601	5'- GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC-3' 5'- AACTCAAGTCCAAAAAATGAGG- 3'

Tabela 14. Alelos do loco DYS393 e seus respectivos comprimentos.

Alelos [*]	Comprimento (pb) [*]
11	115 pb
12	119 pb
13	123 pb
14	127 pb
15	131 pb

* de Knijff *et al.*, 1997

Diferentes populações mundiais foram estudadas quanto ao polimorfismo do loco DYS393 e algumas delas estão descritas na **Tabela 15**. Como pode ser observado, nesta tabela, a maior parte das populações apresenta o alelo 13 como o mais freqüente para o loco DYS393. É interessante notar que em populações do Nordeste da Ásia o alelo 13 também foi o mais freqüente (0,625), em contraste com a região Sudeste onde o alelo mais freqüente foi o 12 com freqüência (0,464).

Tabela 15. Frequências alélicas do loco DYS393 em diferentes populações.

POPULAÇÕES	ALELO MAIS FREQUENTE	ALELO MENOS FREQUENTE	FONTE
EUROPA			
Andaluzia	13 (0,696)	11 e 15 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Aragon	10 (0,847)	12 (0,017)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Catalunha	13 (0,812)	12 (0,063)	Pestoni <i>et al.</i> , 1999
Galícia	13 (0,732)	11 (0,008)	Gonzalez-Neira <i>e al.</i> , 2000
Espanhóis (Bascos)	13 (0,690)	14 (0,069)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	13 (0,834)	12 (0,071)	Perez-Lezaun <i>et al.</i> , 1997
Espanhóis (Autóctones Bascos)	13 (0,830)	14 (0,070)	Aler <i>et al.</i> , 2000
Valência	13 (0,750)	15 (0,007)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Valência	13 (0,742)	14 (0,065)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Açores (Portugal)	13 (0,746)	15 (0,016)	Carvalho <i>et al.</i> , 2000
Portugal (área Central)	13 (0,679)	15 (0,006)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Portugal (Norte)	13 (0,782)	15 (0,018)	Gonzalez-Neira <i>et al.</i> , 2000
Europa (em geral)	13 (0,701)	15 (0,003)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRINDIOS			
Ameríndios (Suriname)	13 (0,460)	15 (0,040)	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios Mapuches (Argentina)	13 (0,870)	14 (0,130)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Tehuelches (Argentina)	13 (0,750)	12 (0,080)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Wichis (Argentina)	13 (1,000)	--	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Ameríndios Yanomami (Venezuela)	13 (1,000)	--	Santos <i>et al.</i> , 1996
Ameríndios (em geral)	13 (0,567)	15 (0,003)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
AMÉRICA			
Buenos Aires (Argentina)	13 (0,660)	9 e 15 (0,020)	Kayser <i>et al.</i> , 1997
Colômbia (população Negra)	13 (0,479)	11 (0,008)	Yunis <i>et al.</i> , 2000
ÁFRICA			
Africanos (em geral)	13 (0,419)	12 (0,065)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
ÁSIA			
Asiáticos (Sudeste)	12 (0,464)	11 (0,018)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
Asiáticos (Nordeste)	13 (0,625)	14 (0,150)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997
OCEANIA			
Austrália	13 (0,779)	12 (0,012)	de Knijff <i>et al.</i> , 1997

3.8 Referências Bibliográficas

- Aler, M., Gonzalez, A., Brion, M., Gisbert, M.** (2000). Y-chromosome STRhaplotypes in an Spanish population sample. *Progress in forensic Genetics*, 8: 305-308.
- Amour, J. A. L., Alegre, S. A., Milles, S. Willians, L. J., badge, R. M.** (2000). Minisatellites and mutation process in tandemly repetitive DNA. In: Goldstein, D. B. and Schlötterer, C. *Microsatellites Evolution and Applications*. Oxford University Press. 352p., New York.
- Bao, W., Zhu, S., Pandya, A., Zerjal, T., Xu, J., Shu, Q., Du, R., Yang, H., Tyler-Smith, C.** (2000). MSY2: a slowly evolving minisatellite on the human Y chromosome which provides a useful polymorphic marker in Chinese populations. *Gene*, 244, pp. 29-33.
- Bowcock, A. M., Ruiz-Linares, A, Tomfohrde, J.** (1994). High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368, 455-457.
- Busque, L., Desmarais, D., Provost, S., Schumm, J. W., Zhong, Y., Chakraborty, R.** (1997). Analysis of allele distribution for six short tandem repeat loci in the French Canadian Population of Québec. *J. Forensic Sci.*, 42 (6), 1147-1153.
- Butler, J. M., McCord, B. R., Jung, J. M., Lee, J. A., Budowle, B., Allen, R. O.** (1995). Application of dual internal standards for precise sizing of polymerase chain reation productions using capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 16, 974-980.

- Carvalho, M., Anjos, M J., Andrade, L., Coxinho, C., Corte-Real, F., Gamero, J. J., Vieira, D. N., Vide, M. C. (2000).** Y-chromosome polymorphisms: a comparison between Azores and Continental Portuguese sample. *Progress in Forensic Genetics* 8: 302-304.
- Corach, D., Sala, G., Penacino, G., Sotelo, A. (1995).** Mass disasters: rapid molecular screening of human remains by means of STRs typing. *Electrophoresis*, 169, pp. 1617-1663.
- Corach, D., Sala, A., Penacino, G., Iannucci, N., Bernardi, P., Doretti, M., Fondebrider, L., Ginarte, A., Inchaurregui, A., Somigliana, C., Turner, S., Hagelberg, E. (1997).** Additional approaches to DNA typing of skeletal remains: the search for “missing” persons killed during the last dictatorship in Argentina. *Electrophoresis*; 18(9): 1608-12.
- Corach, D., Penacino, G., Sala, A., Iannucci, N., Martinez, M., Villafaña, A., Kayser, M., Rower, L. (1998).** Validations Studies of Y-specific STRs: forensic casework evaluation, in: Olaisen, B., Brinkmann, B., Lincoln (Eds.), *Progress in Forensic Genetics*, Vol. 7, Elsevier, Amsterdam, pp. 418-420.
- Corach, D., Filgueira-Risso, L., Marino, M., Penacino, G., Sala, A. (2001).** Routine Y-STR typing in forensic casework. *Forensic Sci. Int.*, 15, 131-135.
- de Knijff, P., Kayser, M., Caglià, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, g., Heidorn, F., Herrmann, S., Herzog, B., Hidding, M., Honda, K., Jobling, M., Krawezak, M., Leim, K., Meuser, S., Meyer, E., Oesterreich, W., Pandya, A., Parson, W., Penacino, G., Perez-Lezaun, A., Piccinini, A., Prinz, M., Schmitt, C., Schneider, P. Szibor, R., Teifel-Greding, J., Weichhold, G., Roewer, L. (1997).** Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med.* 110: 134-140.

- Drmic, I., Schanfiel, M. S., Andjelinovic, S., Galavotti, R., Gojanovic, M. D., Trabetti, E., Marasovic, D., Primorac, D., Pignatti, P. F. (1998).** Allele frequencies of six highly polymorphic DNA loci in the Croatian population. *Hum. Biology*, 70; 949-957.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H. A., Caskey, C. T. (1991).** DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.*, 49:746-756.
- Eisen, J. A., (2000).** Mechanistic basis for microsatellites instability. In: Goldstein, D. B. and Schlötterer, C. *Microsatellites Evolution and Applications. Oxford University Press*, páginas, Oxford.
- Frégeau, C. J., Tan-Siew, W. F., Yap, K. H., Carmody, G. R., Crow, S. T., Founey, R. M. (1998).** Population genetic characteristic of the STR loci D21S11 and Fga in eight diverse human populations. *Human Biology*, 70(5), 813-844.
- Füredi, S., Angyal, M., Cozma, Z. (1997).** Semiautomatic DNA profiling in a Hungarian Romany population using the STR loci HumVWA31, HumTH01, HumTPOX, and HumCSF1PO. *Int. J. Leg. Med*, 110, 184-187.
- Gao, Q., Pang, H., Yeung, E. S. (1999).** Simultaneous genetic typing from multiple short tandem repeat loci using a 96-capillary array electrophoresis system. *Electrophoresis*, 20, 1518-1526.
- Gonzalez-Neira, A., Gusmao, L., Brion, M., Lareu, M. V., Amorim, A., Carracedo, A. (2000).** Distribution of Y-chromosome STR defined haplotypes em Iberia. *Forensic Sci. Int.* 110: 117-126.

- Gusmão, L., Prata, M. J., Amorim, A.** (1997). Characterization of four short tandem repeat loci (TH01, VWA31/A, CD4 and TP53) in northern Portugal. *Hum. Biol.*, 69, 31-40.
- Harris, H.** (1980). *Human Biochemical Genetics*. North-Holland, Amsterdam.
- Honda, K., Roewer, L., de Knijff, P.** (1999). Male DNA typing from 25-year-old vaginal swabs using Y chromosomal STR polymorphisms in retrieval request case. *J. Forensic Sci.* 44, pp.868-872.
- Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J., White, T. J.** (1990). A guide to methods and applications. *PCR protocols*, Academic press, San Diego. New York.
- Iwasa, M., Wiegand, P., Rand, S.** (1997). Genetic variation at five STR loci in subpopulations living in Turkey. *Int. J. Leg. Med.*, 110, 170-172.
- Jobling, M. A., Tyler-Smith, C.** (1995). Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trend genet*, 11, pp. 449-456.
- Jobling, M. A., Pandya, A., Tyler-Smith, C.** (1997). The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *Int J Legal Med* 110: 118-124.
- Jobling, M. A., Bouzekri, N., Taylor, P. G.** (1998). Hypervariable digital DNA codes for human paternal lineages: MVR-PCR at the Y-specific minisatellite. *Hum Mol. Genet.* 7, pp. 643-653
- Jorde, L. B., Bamshad, M. J., Watkins, W. S.** (1995). Origins and affinities of modern humans: A comparison of mitochondrial and nuclear genetic data. *Am. J. Hum. Genet.*, 57, 523-538.

Kayser, M., Caglià, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, G., Heidorne, F., Herrmann, S., Herzog, B., Hidding, M., Honda, K., Joblin, M., Krawezak, M., Lein, K., Meuser, S., Meyer, E., Oesterreich, W., Pandya, A., Parson, W., Penacino, G., Perez-Lezaun, A., Piccinini, A., Prinz, M., Schmitt, C., Schneider, P. M., Szibor, R., Teifel-Greding, J., Weichhold, G., Knijff, P., Roewer, L. (1997). Evolution of Y-chromosomal STRs a multicenter study. *Int J Legal Med*, 110: 125-133.

Lareu, M. V., Phillips, C. P., Carrasedo, A., Lincoln, P. J., Court, D. S., Thomson, J. A. (1994). Investigation of the STR locus HUMTH01 using PCR and two eletrophoresis formats: UK and Galician Caucasian population surveys and usefulness in paternity investigations. *Forensic Sci. Int.*, 66, 41-52.

Lins, A. M., Sprecher, C. J., Puers, C., Schumm, W. (1996). Multiplex sets for the amplication of polymorphic short tandem repeat loci – silver stain and fluorescence detection. *BioTechniques*, 20, 882-889.

Mattinovic, I., Barac, L., Furac, I., Janicijevic, B., Kubat, M., Pericic, M., Vidovic, B., Rudan, P. (1999). STR Polymorphisms in the Population of the Island of Hvar. *Human Biology*, 71, 341-352.

Morton, N., E. (1967). Genetic studies of Northeastern Brazil: Summary and conclusions. *Ciên. Cult.*, 19: 14-30.

Nakamura, Y., Leppert, M., O'Connell, P., Woff, R., Holm, T., Culver, M., Maritin, C., FuJimoto, E., Holff, M., Kumlin, E., White, R. (1987). *Science*, 235, 1616-1622.

- Nata, M., Brinkmann, B., Rolf, B.** (1999). Y-Chromosomal STR haplotypes in a population from north west Germany. *Int. J. Legal. Med.* 112: 406-408.
- Nelleman, J. L., Moller, A., Morling, N.** (1994). PCR Typing of DNA fragments of the short tandem repeat (STR) system HUMTHO1 in Danes and Greenland Eskimos. *Forensic Sci. Int.*, 68, 45-51.
- Palacio, A. M., Agudiez, R., Madero, P., Rivera, M. J., Tamparillas, M.** (1999). Estudio de las frecuencias alélicas de DYS19, DYS389I, II y DYS393 em la población aragonesa, efectuado em diferentes muestras biológicas y posterior comparativo con varias métodos extracción de ADN. *Jornadas de Genética Forense. Reunión Del GEP-ISFH, Bilbao*, pp. 215-217.
- Perez-Lezaun, A., Calafell, F., Seielstad, M., Mateu, E., Comas, D., Bosch, E., Bertranpetit, J.** (1997). Allele frequency for 20 microsatellites in a world-wide population survey. *Hum Hered.*, 47, 189-196.
- Pestoni, C., Brion, M. J., Cal, M. L., Gonzalez, A., Gusmao, L., Lareu, M. V., Carracedo, A.** (1999). Polimorfismos de cromosoma Y em la población de Galicia (Noroeste de España). *Jornadas de genética Forense. Reunión Del GEP-ISFH, Bilbao*, pp. 220-222.
- Prinz, M., Ishii, A., Sansone, M., Baum, H. J., Schaler, R. C.** (2000). Y chromosome specific STR testing and the US legal system, in: Sensabaugh, G., Lincoln, P. J., Olaisen, B. (Eds), *Progress in Forensic genetics*, Vol. 8, Elsevier, Amsterdam, pp. 591-594.
- Puers, C., Lins, A. M., Sprecher, C. J., Brinkmann, B. and Schumm, J. W.** (1993). Analysis of polymorphic short tandem repeat loci using well-

characterized allelic ladders. *Proceedings from the 4th International Symposium on Human Identification*. pp. 161-172.

Quintana-Murci, L., Krausz, C., Mcelreavel, K. (2001). The human Y chromosome: Junction, evolution and desiasse. *Forensic Sci. Int.*, 15, 169-181.

Robertson, J. B., Sgueglia, J. B. Badger, C. A., Juston, A. C., Ballantyne, J. (1995). Forensic application of a rapid, sensitive and precise multiplex analyses of the four short tandem repeat loci HUMWF31/A, HUMTH01, HUMF13A1 and HUMFES/FPS. *Eletrphoresis*, 16, 1568-1576.

Roewer, L., Epplen, J. T. (1992). Rapid and sensitive typing of forensic stains by PCR amplification of polymorphic simple repeat sequences in case work. *Forensic Sci Int.*, 53: 163-171.

Roewer, L., Kayser, m., Dieltjes, P., Nagy, M., Bakker, E., Krawczak, M., de Knijff, P. (1996). Analysis of molecular variance (AMOVA) of Y-chromosome-specific microsatellite in two closely related human populations. *Hum. Mol. Genet.* 5, pp. 1029-1033.

Rolf, B., Meyer, E., Brinkmann, B., de Knijff, P. (1998). Polymorphism at the tetranucleotide repeat locus DYS389 in 10 populations reveals strong geographic clustering. *Eur J Hum Genet* 6: 583-588.

Rossi, E., Rolf, B., Schurenkamp, M., Brinkmann, B. (1999). Y-chromosome STR haplotypes in an Italian population sample. *Int. J. Legal Med.*, 112(1), 78-81.

Rothschild, C. B., Akots, G., Hayworth, R. (1993). A genetic map of chromosome 20p12-q13.1: Multiplex highly polymorphic microsatellite and

RFLP markers linked to the maturity-onset diabetes of the Young (MODY) locus. *Am. J. Hum. Genet.*, 52, 110-123.

Santos, F. R., gerelsaikhan, T., Munkhtuja, B., Oyunsuren, T., Epplen, J. T., Pena, D. J. (1996). Geographic differences in the allele frequencies of the human Y-linked tetranucleotide polymorphism DYS19. *Hum Genet.* 97: 309-313.

Sebetan, I. H., Hajar, H. A., Isobe, F. (1998). Frequency distribution of D1S80 (MCT118) locus polymorphisms in a Qatari population. *Hum. Biol.*, 70,129-135.

Semino, O., Passarino, G., Oefner, P. J., Lin, A. A., Arbuzova, S., beckman, L. E., Benedictis, G. D., Francalacci, P., Kouvatsi, A., Limborska, S., Marcikiae, M., Mika, A., Mika, B., Primorac, D., Santachiara-Benerecetti, A. S., Cavalli-Sforza, L. L., Underhill, P. A. (2000). The Genetic Legacy of Paleolithic Homo sapiens in Extant Europeans: A Y Chromosome Perspective. *Science* 290: 1155-1159.

Sheffield, V. C., Weber, J. L., Buetow, K. H. (1995). A collection of tri- and tetranucleotide repeat markers used to generate high quality, high resolution human genome-wide linkage maps. *Hum. Molec. Genet.*, 4, 1837-1844.

Sykes, B., Irvén, C. (2000). Surnames and the Y chromosome. *Am. J. Hum. Genet.* 66, pp. 1417-1419.

Takahashi, M., Kato, Y., Mukoyama, H., kanaya, H., Kamiyama, S. (1997). Evaluation of five polymorphic microsatellite markers for typing DNA from decomposed human tissues – Correlation between the size of the alleles and that of the template DNA. *Forensic Sci. Int.*, 90, 1-9.

- Tautz, D.** (1993). Notes on the definition and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences. In *DNA fingerprinting: State of the science*, S. D. J. Pena, R. Chakraborty, J. T. Eppelen *et al.*, eds. Basel, Switzerland: Birkhäuser Verlag; 21-28.
- Thomas, M. G., Skorecki, K., Ben-Ami, H., Parfitt, T., Bradman, N., Golstein, D. B.** (1998). Origin of old testaments priests. *Nature* 394, pp. 138-140.
- Thomas, M. G., Bradman, N., Flinn, H. M.** (1999). High throughput analysis of 10 microsatellite and 11 diallelic polymorphisms on the human Y-Chromosome. *Hum. Genet.* 105, pp.577-581.
- Underhill, P.A., Jin, L., Lin, A. A., Mehdi, S. Q., Jenkins, T., Vollrath, D., Davis, R. W., Cavalla-Sforza, L. L., Oefner, P. J.** (1997). Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Res.* 7, pp. 996-1005.
- Vanagaite, L., Svitsky, K., Rotman, G.** (1994). Physical localization of microsatellite markers at the ataxia-telangiectasia locus at 11q22-q23. *Genomics*, 22, 231-233.
- Wolf, U., Schempp, W., Scherer, G.** (1992). Molecular biology of the human Y chromosome. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.*, 121: 147-213.
- Wong, A., Wilson, V., Jeffreys, A. J., Thein, S. L.** (1986). *Nucleic Acids*, 14, 4605-4615.
- Wyman, A., White, R.** (1980). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 6754-6758
- Yunis, J. J., Yunis, E. J.** (2000). Frecuencias alélicas y haplotípicas para 6 STR de cromosoma Y (DYS19, DYS389-I, DYS390, DYS91, DYS392 y

DYS393) en una muestra de población de raza negra de Colômbia. *V Jornadas de genética Forense*, madeira (Portugal), 31 Mayo-4 Junio 2000.

Zago, M. A., Silva Jr., W. A., Tavella, M. H., Santos, S. E., Guerreiro, J. F., Figueiredo, M. S. (1996). Interpopulacional and intrapopulacional genetic diversity of amerindians as revealed by six very variable number of tandem repeats. *Hum. Hered.*, 46(5), 274-289.

4. ARTIGO

DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO E ANÁLISE 5 MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM PERNAMBUCO

Manuscrito a ser submetido à
revista Forensic Science
International para publicação

DETERMINAÇÃO DO POLIMORFISMO E ANÁLISE 5 MARCADORES DO CROMOSSOMO Y EM PERNAMBUCO

Eryca Maciel, MSc, Edileine Dellalibera, MSc, Marcela Souza, Maria da Glória Raposo, Rosilda dos Santos Silva, PhD Luiz Maurício-da-Silva, PhD.

Departamento de Genética, CCB
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

Informações adicionais
E-mail: mauricio@ufpe.br

Endereço para correspondência:

Departamento de Genética
Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária,
CEP: 50732-970, Recife-PE, Brasil
Fone/Fax: 3271-8512

RESUMO

Um total de 240 indivíduos não relacionados da população do Estado de Pernambuco (Nordeste do Brasil) foram estudados quanto ao polimorfismo dos locos de STRs (*Short tandem Repeats*) ligadas ao cromossomo Y DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 para construção de haplótipos. O DNA foi amplificado com a utilização de *primers* específicos e os genótipos identificados através de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida desnaturante, seguida de coloração com nitrato de prata. Os alelos mais freqüentes foram DYS19*14 (0,629), DYS390*24 (0,513), DYS391*10 (0,575), DYS392*13 (0,413) e DYS393*13 (0,758). Foram observados 150 haplótipos diferentes, dos quais 110 apareceram apenas uma vez. O haplótipo mais comum (DYS19*14, DYS390*24, DYS391*10, DYS392*13, DYS393*13) teve freqüência de 9% na amostra. As diversidades alélicas foram entre 0,401 para DYS393 e 0,696 para DYS392 e a capacidade de discriminação foi de 98%. Os resultados mostram que esses locos são adequados para análise forense e investigação de paternidade no Estado de Pernambuco.

PALAVRAS-CHAVE: Polimorfismo, Y-STRs, haplótipos e análise forense.

INTRODUÇÃO

A variação genética entre os indivíduos, analisada ao nível de DNA, tem sido amplamente utilizada no estudo da extensa diversidade genética de diferentes populações mundiais. Tanto o DNA mitocondrial quanto o nuclear exibem uma grande variedade de polimorfismos, os quais são utilizados para comparar variações genéticas entre as populações e discutir problemas evolutivos. Entre as variações de DNA nuclear estão as variações alélicas no número de segmentos repetitivos em tandem e os grupos haplotípicos [1]. Atualmente o polimorfismo de STRs tem sido muito utilizado para identificação de seres humanos em ciência forense [2-4] e também para inferir sobre a história evolutiva [5], estudos populacionais [5, 6], mapeamento do genoma humano [3, 7], diagnóstico de doenças e teste de paternidade [4, 7].

Neste estudo utilizamos os sistemas polimórficos DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393, localizados no cromossomo Y de herança paterna onde, com exceção da região pseudo-autossômica, não há recombinação gênica [8]. As variações destas STRs podem ser combinadas como um haplótipo, que é transmitido de pai para filho. Nota-se que o alelo de cada marcador individual, assim como o haplótipo formado, se conserva tanto nos ascendentes como nos descendentes assim como na linha colateral dos indivíduos do sexo masculino.

Os polimorfismos das STRs, da região não-recombinante do cromossomo Y, são cada vez mais utilizados para estudar a evolução genética do sexo masculino, bem como para aplicações forenses [9-12]. Contudo, a aplicação forense destes marcadores ligados ao cromossomo Y requer conhecimento das frequências alélicas e haplotípicas de cada população [13].

MATERIAL E MÉTODOS

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS: Foram coletadas amostras de sangue venoso, utilizando ACD (ácido cítrico 0,038M; citrato de sódio tribásico 0,075M; dextrose 0,133M) como anticoagulante, de 240 indivíduos do sexo masculino, não aparentados, da população do Estado Pernambuco (Brasil). O DNA foi extraído pelo método rápido *Mini Salting Out* e digestão com proteinase K [14].

TIPAGEM DAS STRs: As STRs foram coamplificadas usando-se a seguinte mistura: 2,5µl de tampão 10X de PCR (KCl 500mM, Tris-HCl 200mM), 2,5µl de MgCl₂ 50mM, 0,62µl de cada dNTP 10mM, 2µl de cada *primer* 25pmol/µl, 0,2µl de taq DNA polimerase 5u/µl, 3µl de DNA genômico 100ng/µl e H₂O qsp 25µl, para o triplex (DYS19, DYS392 e DYS393) e o duplex (DYS390 e DYS393). A PCR foi realizada em um termociclador Perkin-Elmer 2400, nas seguintes condições: 94°C por 2 minutos na desnaturação inicial; 30 ciclos: 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos no pareamento, 72°C por 30 segundos e 72°C por 7 minutos (extensão final).

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese vertical em gel de poliacrilamida desnaturante (5%, uréia 7M) com aplicação de 2000V durante 2 horas, no seqüenciador *Hoefler SQ3 sequencer*. Após a corrida eletroforética o gel foi corado por impregnação de nitrato de prata. A identificação dos alelos foi feita utilizando um controle positivo K562 fornecido pela Promega Corporation, Madison, WI aplicado na mesma corrida eletroforética e por comparação com um marcador de peso molecular.

ANÁLISE ESTATÍSTICA: A determinação dos genótipos foi feita por contagem direta dos alelos para determinar as frequências alélicas e haplotípicas e com isso calculada a diversidade alélica e a capacidade de discriminação [15].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho com dados populacionais e frequências haplotípicas sobre STRs com os locos DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 de uma grande amostra do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Foram observados 6, 8, 5, 4, 4 alelos, respectivamente para os 5 locos, não tendo sido encontrado novos alelos em relação a literatura.

Frequências alélicas

Para todos os locos estudados do cromossomo Y os alelos mais frequentes conferem com os dados obtidos em outras populações brasileiras [16] e com aquelas encontradas em populações caucasianas européias [10]. As frequências alélicas são mostradas na **Tabela 1**.

Frequências haplotípicas

As frequências haplotípicas destas 5 STRs foram determinadas a partir de uma amostra de 240 indivíduos do Estado de Pernambuco. Entre os 240 indivíduos analisados, 150 haplótipos diferentes foram observados e 110 haplótipos apareceram apenas uma vez. O haplótipo mais comum (DYS19*14, DYS390*24, DYS391*10, DYS392*13, DYS393*13) foi compartilhado por 9% da amostra com uma frequência (0,092), sendo ele também um dos mais frequentes entre os europeus. A capacidade de discriminação foi estimada em 0,98. A **Tabela 2** mostra uma comparação entre a população do Estado de Pernambuco e o maior banco de dados com as frequências referidas sobre haplótipos do cromossomo Y, no banco de dados *Y-STR haplotypes reference database* (YHRD) (<http://ystr.charite.de>) [17] e a **Tabela 3** mostra uma comparação da capacidade de discriminação do haplótipo com 5 STRs do cromossomo Y aqui analisados e outras STRs localizadas em autossomos na população do Estado de Pernambuco [18], demonstrando uma grande eficácia na utilização das frequências haplotípicas em aplicações forenses.

Os estudos demonstraram que a população pernambucana é geneticamente similar às populações européias e está geneticamente mais distante das populações asiáticas. Este resultado pode ser explicado pela história da colonização ocorrida nesta região do Brasil, período em que numerosos grupos de europeus (principalmente portugueses, espanhóis e holandeses) aqui se instalaram e viveram por um longo período de tempo, mantendo o contingente negro e o índio sob forte segregação. Embora a população do Estado de Pernambuco seja resultante da miscigenação entre brancos europeus, negros africanos e índios americanos, parece estar mais próxima geneticamente dos caucasianos europeus.

Os dados obtidos já fazem parte do banco de dados sobre polimorfismo de DNA da população estudada, para que possa ser utilizado em testes de paternidade, genética forense e estudos evolutivos. Com isso desenvolvemos um software (HAPLONE) com todos os dados sobre haplótipos do cromossomo Y que está a disposição em <http://www.nlink.com.br/mauricio/ystr-ne>.

BIBLIOGRAFIA

- [1] **Zago, M. A., Silva Jr., W. A., Tavella, M. H., Santos, S. E., Guerreiro, J. F., Figueiredo, M. S.** (1996). Interpopulational and intrapopulational genetic diversity of amerindians as revealed by six variable number of tandem repeats. *Hum. Hered.*, 46(5), 274-289.
- [2] **Lee, J. C., Chen, C., Tsai, L., Linacre, A., Chang, J.** (1997). The screening of 13 short tandem repeat loci in the Chinese population. *Forensic Sci. Int.*, 87, 137-144.
- [3] **Ricciardone, M. D., Lins, A. M., Schumm, J. W., Holland, M. M.** (1997). Multiplex systems for the amplification of short tandem repeat loci: evaluation of laser fluorescence detection. *BioTechniques*, 23, 742-747.
- [4] **Micka, K. A., Sprecher, C. J., Lins, A. M., Comey, C. T., Koons, B. W., Crouse, C., Endean, D., Pirelli, K., Lee, S. B., Duda, N., Ma, M., Shumm, J. W.** (1996). Validation of multiplex polymorphic STR amplification sets developed for personal identification applications. *J. Forensic Sci.*, 41, 582-590.
- [5] **Perez-Lezaun, A., Calafell, F., Seielstad, M., Mateu, E., Comas, D., Bosch, E., Bertranpetit, J.** (1997). Allele frequency for 20 microsatellite in a worldwide population survey. *Hum Hered.*, 47, 189-196.
- [6] **Pinheiro, F., Pontes, L., Gené, M., Huguet, E., Costa, J. P. da, Moreno, P.** (1997). Population study of the HUMTH01, HUMVWA31A, HUMF13A1 and HumFES/FPS STR polymorphisms in the north of Portugal. *J. Forensic Sci.*, 41(1), 121-4.
- [7] **Nelleman, J. L., Moller, A., Morling, N.** (1994). PCR Typing of DNA

fragments of the short tandem repeat (STR) system HUMTHO1 in Danes and Greenland Eskimos. *Forensic Sci. Int.*, 68, 45-51.

- [8] **Wolf, U., Schempp, W., Scherer, G.** (1992). Molecular biology of the human Y chromosome. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 121: 147-213.
- [9] **Kayser, M., Caglià, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, g., Heidorn, F., Herrmann, S., Herzog, B., Hidding, M., Honda, K., Jobling, M., Krawezak, M., Leim, K., Meuser, S., Meyer, E., Oesterreich, W., Pandya, A., Parson, W., Penacino, G., Perez-Lezaun, A., Piccinini, A., Prinz, M., Schmitt, C., Schneider, P. M., Szibor, R., Teifel-Greding, J., Weichhold, G., de Knijff, P., Roewer, L.** (1997). Evaluation of Y-chromosomal STRs a multicenter study. *Int J Legal Med*, 110: 125-133.
- [10] **de Knijff, P., Kayser, M., Caglià, A., Corach, D., Fretwell, N., Gehrig, C., Graziosi, g., Heidorn, F., Herrmann, S., Herzog, B., Hidding, M., Honda, K., Jobling, M., Krawezak, M., Leim, K., Meuser, S., Meyer, E., Oesterreich, W., Pandya, A., Parson, W., Penacino, G., Perez-Lezaun, A., Piccinini, A., Prinz, M., Schmitt, C., Schneider, P. Szibor, R., Teifel-Greding, J., Weichhold, G., Roewer, L.** (1997). Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int J Legal Med*. 110: 134-140.
- [11] **Rolf, B., Meyer, E., Brinkmann, B., De Knijff, P.** (1998). Polymorphism at the tetranucleotide repeat locus DYS389 in 10 populations reveals strong geographic clustering. *Eur J Hum Genet* 6: 583-588.
- [12] **Rossi, E., Rolf, B., Schurenkamp, M., Brinkmann, B.** (1999). Y-chromosome STR haplotypes in an Italian population sample. *Int. J. Legal Med.*, 112(1), 78-81.
- [13] **Nata, M., Brinkmann, B., Rolf, B.** (1999). Y-Chromosomal STR haplotypes

in a population from north west Germany. *Int. J. Legal. Med.*, 112: 406-408.

- [14] **Miller, S. A., Dykes, D. D., Olesky, H. F.** (1988). A simple salting-out procedure for extract DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, 16: 1255.
- [15] **Nei, M.** (1987). Molecular evolutionary genetics. *Columbia University Press, New York.*
- [16] **Santos, F. R., gerelsaikhan, T., Munkhtuja, B., Oyunsuren, T., Epplen, J. T., Pena, D. J.** (1996). Geographic differences in the allele frequencies of the human Y-linked tetranucleotide polymorphism DYS19. *Hum Genet.* 97: 309-313.
- [17] **Roewer, L., Krawezak, M., Willuweit, S., Nagy, M., Alves, C., Amorim, A., Anslinger, K., Augustin, C., Betz, A., Bosch, E., Cagliá, A., Carracedo, A., Corach, D., Dekairelle, A., Dobosz, T., Dupup, M. B., Füredi, S., Gehrig, C., Gusmao, L., Henke, J., Henke, L., Hidding, M., Hohoff, C., Hoste, B., Jobling, M.A., Kärigel, H. J., de Knijff, P., Lessig, R., Leibherr, E., Lorente, M., Martinez-Jarreta, B., Nievas, P., Nowak, M., Parson, W., Pascali, V.L., Penacino, G., Ploski, R., Rolf, B., Sala, A., Schumidt, U., SchmittC., Schneider, P. M., Szibor, R., Teifel-Greding, J., Kayser, M.** (2001). Online reference database of European Y-chromosome short repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci. Int.*, 15, 106-113.
- [18] **Havro, M., Souza, M., Dellalibera, E., Macêdo, A. K. V., Maciel, E. M. B. B., Silva, R. S., Maurício-da-Silva, L.** (2003). Estrutura genética da população pernambucana, Nordeste do Brasil baseada em 6 locos de STRs e validação dos sistemas componentes do CODIS. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas, UFPE.

Tabela 1. Frequências alélicas das STRs DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 na população do Estado de Pernambuco.

Alelo	DYS19 (n=24)	DYS390 (n=240)	DYS391 (n=240)	DYS392 (n=240)	DYS393 (n=240)
8	-	-	0,004	-	-
9	-	-	0,058	-	-
10	-	-	0,575	-	-
11	-	-	0,350	0,304	-
12	-	-	0,013	0,167	0,096
13	0,121	-	-	0,413	0,758
14	0,629	-	-	0,117	0,117
15	0,188	-	-	-	0,029
16	0,054	-	-	-	-
17	0,004	-	-	-	-
18	0,004	-	-	-	-
19	-	0,004	-	-	-
20	-	0,004	-	-	-
21	-	0,071	-	-	-
22	-	0,133	-	-	-
23	-	0,167	-	-	-
24	-	0,513	-	-	-
25	-	0,096	-	-	-
26	-	0,013	-	-	-
Diversidade	0,551	0,677	0,543	0,696	0,401

Tabela 2. Haplótipos mais frequentes na população do Estado de Pernambuco dos seguintes marcadores (**DYS19-DYS390-DYS391-DYS392-DYS393**), respectivamente, comparados com referências do *Y-STR Haplotype reference database* (YHRD).

Haplótipos	(n)	frequências	YHRD*
(14-24-10-13-13)	22	0,092	0,041
(14-24-11-13-13)	20	0,083	0,078
(14-24-10-11-13)	9	0,038	0,020
(14-24-10-12-13)	6	0,025	0,018

* <http://ystr.charite.de>

Tabela 3. Comparação da capacidade de discriminação entre Y-haplótipos e algumas STRs localizadas em autossomos na população do Estado de Pernambuco.

Y- Haplótipos e STRs autossômicas	Capacidade de discriminação (%)
DYS19, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393	98.00
FGA	97.10
D18S51	96.80
DYS19, DYS390, DYS391, DYS392	96.18
D21S11	95.30
D8S1179	94.40
DYS19, DYS390, DYS391	93.99
D7S820	93.00
VWA	93.20
THO1	93.30
D16S539	92.70
D13S317	91.60
CSF1PO	88.60
D3S1358	88.20
DYS19, DYS390	87.25
TPOX	85.10

5. ABSTRACT

We present a Y-chromosome short tandem repeat (STR)-haplotype database consisting of the loci DYS19, DYS390, DYS391, DYS392 and DYS393. Short tandem repeat (STR) polymorphism from male specific part of the Y-chromosome are increasingly being used for the study of male specific lineage evolution as well as for forensic applications. The most frequent alleles were DYS19* 14 (0,629), DYS390* 24 (0,513), DYS391* 10 (0,543), DYS392* 13 (0,413) e DYS393* 13 (0,758). 150 haplotypes were observed in 240 unrelated people from the state of Pernambuco, 110 haplotypes were unique. The most common haplotype was shared by 9% of the sample. The allelic diversities were between 0,401 for DYS393 and 0,696 for DYS392 and the power of discrimination is 98%. The results show that these loci are suitable for forensic analysis and paternity investigation and for historical purpose in the population from the state of Pernambuco and Northeast of Brazil.