

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 08/02/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**“JULIO DE MESQUITA FILHO”**

Campus de Araraquara - Instituto de Química

Programa de Biotecnologia

ISABELA BRUNELLI AMBROSIO

**AVALIAÇÃO DE LINHAGENS PATRILÍNEAS DE 23 Y-**

**STRs NAS POPULAÇÕES DOS ESTADOS DE SÃO**

**PAULO E RIO DE JANEIRO**

ARARAQUARA - SP

2019

ISABELA BRUNELLI AMBROSIO

**Avaliação de linhagens patrilíneas de 23 Y-STRs nas  
populações dos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro**

Tese apresentada ao Instituto de  
Química, Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Doutora em  
Biotecnologia.

Área de concentração: Biologia  
Molecular

**ORIENTADORA:** Profa. Dra. Regina Maria Barretto Cicarelli

ARARAQUARA  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA

A496a Ambrosio, Isabela Brunelli  
Avaliação de linhagens patrilineas de 23 Y-STRs nas  
populações dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro /  
Isabela Brunelli Ambrosio. – Araraquara : [s.n.], 2019  
175 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Química  
Orientador: Regina Maria Barretto Cicarelli

1. Cromossomo Y. 2. Polimorfismo (Genética). 3. DNA -  
Análise. 4. Genética da população humana. 5. Genética  
forense. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Avaliação de linhagens patrilineais de 23 Y-STR: as populações dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro"


AUTORA: ISABELA BRUNELLI AMBRÓSIO

ORIENTADORA: REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof.ª. Dr.ª. REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

  
Dr.ª. JOYCE APARECIDA MARTINS LOPES FERRAZ  
Departamento de Toxicologia / Superintendência da Polícia Técnico-Científica - São José do Rio Preto

  
Prof.ª. Dra. MARIA LEONOR RODRIGUES DE SOUZA BOTELHO DE GUSMÃO  
Departamento de Medicina Legal / Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ - Rio de Janeiro

  
Prof. Dr. DANILO FAUSTINO BRAGANHOLI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. MARCELO MALAGHINI  
Laboratório de Genética Molecular Forense / Instituto de Criminalística - LGMFIC - Curitiba - PR

Araraquara, 08 de agosto de 2019

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE:** "Avaliação de linhagens patrilineais de 23 Y-STR na população dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro"

**AUTORA: ISABELA BRUNELLI AMBRÓSIO**

**ORIENTADORA: REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:

Prof.ª. Dr.ª. REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Dr.ª. JOYCE APARECIDA MARTINS LOPES FERRAZ  
Departamento de Toxicologia / Superintendência da Polícia Técnico-Científica - São José do Rio Preto

Profa. Dra. MARIA LEONOR RODRIGUES DE SOUZA BOTELHO DE GUSMÃO  
Departamento de Medicina Legal / Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ - Rio de Janeiro

Prof. Dr. DANILO FAUSTINO BRAGANHOLI  
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. MARCELO MALAGHINI  
Laboratório de Genética Molecular Forense / Instituto de Criminalística - LGMF/IC - Curitiba - PR

Araraquara, 08 de agosto de 2019

# Dedicatória

“Aos meus pais, Antônio e Maria Inês, minhas maiores inspirações e os principais responsáveis por esta conquista.”

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Antônio e Maria Inês, que sempre apoiaram minhas escolhas, acreditando nos meus sonhos, fazendo o possível e o impossível para que eu pudesse realizá-los.

À minha irmã Fernanda e meu marido Davi que sempre estiveram ao meu lado, me dando as maiores forças e os melhores conselhos, os quais sempre me mantiveram no caminho certo.

Aos meus avós, família e amigos que de alguma forma sempre estiveram presentes dando força, acreditando e torcendo pelo meu sucesso tanto pessoal quanto profissional.

À Profa. Regina Maria Barretto Cicarelli, pelas orientações dadas, confiança em mim depositada e conhecimento, o que foi essencial durante esses anos e que contribuíram com minha formação acadêmica, profissional e pessoal. O meu muito obrigado por ter me recebido em seu laboratório e compartilhado seus conhecimentos.

À professora Dra. Leonor Gusmão, que mesmo com inúmeros compromissos profissionais sempre se mostrou solícita, preocupando-se apenas em transmitir seu tamanho conhecimento, nos inspirando a sermos melhores profissionais. Além de ter disponibilizado as amostras da população do Rio de Janeiro. A senhora foi essencial para a finalização deste trabalho, muito obrigada por tanto.

À Fernanda Polverari, a amiga que o trabalho me deu. Obrigada pela parceria, conversas, risos, pelo apoio e todo o conhecimento compartilhado, sem você essa caminhada não seria a mesma.



Ao Danilo, por todo apoio no decorrer deste projeto, seu conhecimento e experiência profissional foram essenciais.

À Nathália, por toda ajuda e colaboração para desenvolver deste trabalho, além da amizade.

À Bianca, pela grande colaboração na finalização deste trabalho, por ser a grande responsável por nos proporcionar momentos de tantas risadas, pela amizade e claro seus deliciosos cafés pelas manhãs.

À Flávia e Isadora, pessoas e profissionais incríveis. Obrigada pela amizade, pelos conhecimentos transmitidos, trocas de experiência e momentos de descontração. É sempre bom trabalhar com vocês.

Ao Instituto de Química e Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, pelo suporte dado, tanto pelo núcleo profissional quanto pela infraestrutura, sendo possível o desenvolvimento desse projeto.

Ao CNPQ pela bolsa de doutorado concedida.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo auxílio financeiro concedido durante o andamento deste projeto, sendo possível sua realização.

“É MUITO IMPORTANTE QUE O HOMEM TENHA IDEAIS.  
SEM ELES, NÃO SE VAI A PARTE ALGUMA. NO ENTANTO,  
É IRRELEVANTE ALCANÇÁ-LOS OU NÃO. É APENAS  
NECESSÁRIO MANTÊ-LOS VIVOS E PROCURAR ATINGI-  
LOS.”

DALAI – LAMA

## RESUMO

A análise dos polimorfismos do DNA é a melhor ferramenta encontrada para resolução de casos de identificação humana, sendo os marcadores STR (*Short Tandem Repeat*) localizados em regiões autossômicas os principais e mais utilizados para esta finalidade. Os marcadores genéticos presentes nos cromossomos sexuais (X e Y) e no DNA mitocondrial podem auxiliar as análises de forma eficiente. A análise de Y-STRs é uma ferramenta importante, sendo empregada em casos criminais, principalmente os que envolvem crimes sexuais, quando ocorre mistura das amostras do agressor com a da vítima. São também úteis na determinação da ancestralidade biogeográfica paterna, além de permitirem inferir relações de parentesco, principalmente em casos de reconstrução genética (com ausência do suposto pai) e, como uma alternativa confirmatória em casos de exclusão. Mutações espontâneas podem ocorrer em células germinativas paternas, podendo ser transmitidas para os filhos. Com isso, o estudo aprofundado das taxas de mutação para os Y-STRs é muito importante, quer do ponto de vista antropológico, pois permite efetuar a datação das linhagens do cromossomo Y, quer do ponto de vista forense para a interpretação correta dos resultados destes marcadores quando aplicados em processos de investigação de parentesco ou de criminalística biológica. Neste contexto, o uso de um banco de dados da população local pode ser essencial para o cálculo adequado do índice de parentesco e análises forenses. No presente trabalho, foram analisados 23 Y-STRs por meio do kit comercial PowerPlex®Y23 (Promega Corporation, USA) em 401 casos de investigação de paternidade, das populações dos estados de São Paulo e do Rio de Janeiro. Foram observadas 38 mutações em 9.897 transferências alélicas, obtendo-se uma taxa de mutação global de  $3,84 \times 10^{-3}$  (95% IC,  $2,72 \times 10^{-3}$  a  $5,27 \times 10^{-3}$ ). Em todos os casos foram observados ganho ou perda de apenas 1 unidade de repetição. Avaliou-se também as frequências alélicas e haplotípicas, bem como os parâmetros estatísticos forenses, para os 23 loci do cromossomo Y. A maior diversidade gênica foi observada no locus duplo DYS385 (0,9165) e no DYS481 (0,7940). A diversidade haplotípica se mostrou maior para a população de São Paulo (1,0000 +/- 0,0005) que para a do Rio de Janeiro (0,99995 +/- 0,0005), e este conjunto de marcadores se mostrou com alto

poder de discriminação para ambas as populações (São Paulo - 1,0000; Rio de Janeiro - 0,99502). No estudo comparativo entre as populações, ambas mostraram-se muito próximas geneticamente às populações europeias. A previsão dos haplogrupos confirmou os resultados obtidos entre as distâncias genéticas e a forte influência europeia na linhagem patrilínea de ambas as populações, quando comparada com as africanas e nativo-americanas.

**Palavras-chave:** Y-STR. Taxas de mutação. São Paulo. Rio de Janeiro. Identificação Humana.

## ABSTRACT

The DNA polymorphisms analysis is the best tool for solving cases of human identification, and STR (Short Tandem Repeat) markers in autosomal chromosomes are the most used for this purpose. Genetic markers present on the sex chromosomes (X and Y) and mitochondrial DNA can efficiently assist analyzes. Y-STR analysis is an important tool used in criminal cases, especially those involving sexual crimes, when a sample of offender occurs with the victim, paternal biogeographic ancestry, and kinship inference relations, especially cases with alleged father absence, and alternative cases of exclusion as a confirmatory. Spontaneous mutations can occur in the germ cells of parents and can be transmitted for descendants. Thus, in-depth Y-STRs mutation rates studies is important both from the anthropological point of view, since it allows dating the Y chromosome lineages, or in forensic point of view for results correct interpretation these markers when applied in kinship investigation processes or biological criminalistics. In addition, in order to determine the profile probability found to belong to the individual tested, it would be necessary to use a local population database to calculate paternity index and forensic analysis. In this study, we analyzed 401 cases related to paternity research with 23 Y-STRs panel, from São Paulo and Rio de Janeiro population. A total of 38 mutations were identified in 9,897 father-son allelic transfers, obtaining an overall mutation rate of  $3.84 \times 10^{-3}$  (95% CI,  $2.72 \times 10^{-3}$  to  $5.27 \times 10^{-3}$ ). In all cases there was only one locus mutated with gain/loss and one repeat was observed. We evaluated haplotype and allele frequencies, as well as statistical forensic parameters, for 23 Y-STR of PowerPlex®Y23 loci. The highest gene diversity was observed for double locus DYS385 (0.9165) and single locus DYS481 (0.7940). The haplotype diversity was higher for São Paulo population ( $1.0000 \pm 0.0005$ ) than for Rio de Janeiro ( $0.99995 \pm 0.0005$ ), and this set of markers showed a high power of discrimination in both populations (São Paulo - 1.0000; Rio de Janeiro - 0.99502). In the comparative study between populations, both were very genetically close to European populations. The haplogroup prediction confirmed the results obtained between genetic distances and the strong European influence on the patrilineal lineage of both populations, when compared with to Africans and Native Americans.

**Keywords:** Y-STR. Mutation Rates. São Paulo. Rio de Janeiro. Human Identification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Tipos de polimorfismos que são utilizados na HID.....	24
Figura 2.	Representação esquemática dos cromossomos sexuais X e Y.....	28
Figura 3.	Esquema representativo da estrutura do cromossomo Y e a localização dos Y-STRs utilizados na HID.....	31
Figura 4.	Distribuição dos 23 Y-STRs presentes no kit comercial Powerplex®Y 23.....	32
Figura 5.	Eletoferograma do perfil alélico do DNA comercial obtido com o Powerplex®Y 23, seguindo protocolo estabelecido no laboratório.....	57
Figura 6.	Eletoferograma do perfil alélico do DNA comercial 2800 obtido com o Powerplex®Y 23 seguindo protocolo adaptado.....	58
Figura 7.	Correlação entre o comprimento dos alelos presentes na população estudada para o Powerplex®Y 23 e as mutações observadas.....	65
Figura 8.	Eletoferogramas parciais de perfis alélicos de três amostras obtidos com o Powerplex®Y 23 da triplicação no locus DYS19.....	68
Figura 9.	Eletoferogramas parciais de perfis alélicos de duas amostras obtidos com o Powerplex®Y 23 do alelo nulo encontrado no locus DYS576.....	69
Figura 10.	Valores das diversidades gênicas entre os 23 Y-STRs obtidas com o Powerplex®Y 23 nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro.....	73
Figura 11.	Média de coincidência entre os haplótipos da população de São Paulo quando confrontados com dados do YHRD para diferentes conjuntos de marcadores Y-STR (Powerplex®Y 23, YFiler®, PowerPlex® Y System e Haplótipo mínimo).....	77
Figura 12.	Média de coincidência entre os haplótipos da população do Rio de Janeiro quando confrontados com dados do YHRD para diferentes conjuntos de marcadores Y-STR (Powerplex®Y 23, YFiler®, PowerPlex® Y System e Haplótipo.....	78
Figura 13.	Gráfico MDS bidimensional elaborado a partir das distâncias genéticas ( <i>Fst</i> ) entre as populações estudadas (São Paulo e Rio de Janeiro) com populações de outras regiões brasileiras e provenientes de outros países.....	83
Figura 14.	Classificação das amostras de São Paulo segundo a ancestralidade dos haplogrupos.....	88
Figura 15.	Classificação das amostras do Rio de Janeiro segundo a ancestralidade dos haplogrupos.....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Descrição dos casos com relações de parentesco confirmadas utilizados nas análises de mutações da população do Estado de São Paulo.....	45
Tabela 2.	Descrição dos casos com relações de parentesco confirmadas utilizados nas análises de mutações da população do estado do Rio de Janeiro.....	45
Tabela 3.	Comparação da utilização dos reagentes na reação de PCR seguindo recomendações do fabricante e protocolo adaptado.....	47
Tabela 4.	Marcadores Y-STR analisados com o kit Powerplex®Y 23 e sequência repetitiva do polimorfismo.....	48
Tabela 5.	Informação relativa ao número de transferências alélicas analisadas por marcador referente a cada população estudada.....	50
Tabela 6.	Amostras utilizadas para comparação entre as populações, número de haplótipos analisados (N), origem ancestral da população e respectivas referências.....	53
Tabela 7.	Número de mutações observadas para as populações de São Paulo e Rio de Janeiro separadamente.....	59
Tabela 8.	Dados relativos às mutações observadas nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro, respectivos intervalos de confiança (95%), dados disponíveis no YHRD e valores obtidos neste trabalho combinados com os disponíveis no YHRD, referentes a cada marcador Y-STR analisado.....	60
Tabela 9.	Dados de todas as mutações observadas nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro.	62
Tabela 10.	Tipos de mutação observadas nos alelos presentes na população estudada para o Powerplex®Y 23.....	63
Tabela 11.	Frequências relativas das mutações, alelos, e tipos de mutações observadas nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro.....	64
Tabela 12.	Número (N) de variantes alélicas observadas nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro referente aos 23 Y-STRs analisados.....	66
Tabela 13.	Frequências alélicas, número de alelos e diversidade gênica (DG) dos 23 marcadores Y-STR obtidos com o Powerplex®Y 23 nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro.....	71
Tabela 14.	Diversidade haplotípica e capacidade de discriminação das populações estudadas e em conjunto com populações de outras regiões do Brasil.....	75
Tabela 15.	Coincidência entre os perfis haplotípicos dentre as populações estudadas...	76
Tabela 16.	Capacidade de discriminação de diferentes conjuntos de Y-STR da	79



	população estudada em comparação com dados da literatura.....	
Tabela 17.	Distâncias genéticas ( <i>Fst</i> ) entre as populações de São Paulo 1 e Rio de Janeiro 1 deste trabalho com a população de São Paulo 2 e Rio de Janeiro 2.....	80
Tabela 18.	Distâncias genéticas ( <i>Fst</i> ) entre populações (abaixo da diagonal) e valor de $\rho$ correspondente (acima da diagonal).....	81
Tabela 19.	Frequência dos haplogrupos na população de São Paulo (N=200) baseada nos resultados obtidos pelo Nevgen.....	86
Tabela 20.	Frequência dos haplogrupos na população do Rio de Janeiro (N=201) baseada nos resultados obtidos pelo Nevgen.....	87

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AS-STR	<i>Short Tandem Repeat of autossomic chromosomes</i>
BNPG	Banco Nacional de Perfis Genéticos
CD	Capacidade de discriminação
DG	Diversidade gênica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
mtDNA	DNA mitocondrial
nDNA	DNA nuclear
EUA	Estados Unidos da América
HID	<i>Human IDentification</i>
HLA	<i>Histocompatibility leucocyte antigen</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
InDel	Inserção/Deleção
IP	Índice de Paternidade
ISFG	<i>Internacional Society for Forensic Genetics</i>
Kb	kilo pares de bases (1.000pb)
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i>
Locus	Região genômica na qual se localizam os alelos
Mb	Mega pares de base (1.000.000pb)
MDS	Multidimensional scaling
MSY	<i>Male-specific region of the Y chromosome</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
pb	Par de bases
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PAR	<i>Pseudoautosomal region</i>
PPY	PowerPlex® Y

PPY23	Powerplex®Y 23
SWGDM	<i>Scientific Working Group on DNA Analysis Methods</i>
q.s.p.	Quantidade suficiente para
RFU	Relative fluorescence unit
RM	<i>Rapidly Mutating</i>
rpm	Rotações por minuto
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STR	Short Tandem Repeat
UERJ	Universidade Estadual do Rio de Janeiro
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho
VNTR	<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>
X-STR	<i>Short Tandem Repeat of X chromosome</i>
YHRD	<i>Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database</i>
Yfiler	<i>AmpFLSTR® Yfiler® PCR Amplification Kit</i>
Y-SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphism of Y chromosome</i>
Y-STR	<i>Short Tandem Repeat of Y chromosome</i>

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>19</b>
<b>2. Revisão da Literatura.....</b>	<b>21</b>
2.1 - Marcadores genéticos na Identificação Humana.....	22
2.1.1 - <i>Short Tandem Repeats</i> (STR).....	24
2.1.2 - <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> (SNPs).....	25
2.1.3 - <i>Insertion/Deletion Polymorphisms</i> (InDel).....	26
2.2 - Cromossomo Y.....	27
2.2.1 – Aplicação dos marcadores genéticos do cromossomo Y.....	29
2.2.2 - Utilização de marcadores Y-STR.....	30
2.2.3 - Mutação no cromossomo Y.....	34
2.3 - Bases de dados.....	35
2.4 - Aspectos históricos do povoamento do Brasil.....	36
2.5 – Justificativa.....	38
<b>3. Objetivo.....</b>	<b>40</b>
3.1 - Objetivos específicos.....	41
<b>4. Materiais e Métodos.....</b>	<b>43</b>
4.1 - Aspectos éticos.....	44
4.2 – Casuística.....	44
4.3 - Coletas das amostras biológicas e extração do DNA.....	46
4.4 - Análises dos 23Y-STR.....	46
4.4.1 - Reação de PCR.....	46
4.4.2 - Análise dos produtos amplificados.....	49
4.5 - Análises estatísticas.....	49
4.5.1 - Avaliação de mutações.....	49
4.5.2 - Diversidade genética e de relevância forense.....	51
<b>5. Resultados e Discussão.....</b>	<b>55</b>
5.1 - Padronização da utilização do Kit Powerplex®Y 23.....	56
5.2 - Análises de mutações.....	59
5.3 - Variantes Alélicas.....	66

5.4 - Análises haplotípicas.....	74
5.5 - Comparações genéticas entre as populações.....	79
5.6 - Ancestralidades dos haplogrupos.....	85
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>90</b>
<b>7. Referências.....</b>	<b>93</b>
<b>Anexo I.....</b>	<b>103</b>

# 1. INTRODUÇÃO

A identificação humana (*Human IDentification* – HID) é o processo científico pelo qual se determina a identidade de uma pessoa, por meio do estabelecimento de um conjunto de caracteres que a individualize, fazendo-a igual apenas a si mesma (FRANÇA, 2011). A Genética Forense é um ramo dedicado à identificação de indivíduos ou amostras biológicas, por meio da análise de DNA (ácido desoxirribonucleico), para fins jurídicos, tanto no âmbito do Direito civil quanto no criminal. Para esses fins, são realizados exames periciais em amostras com origem conhecida, que consistem na determinação de um perfil genético, contribuindo para o esclarecimento de relações biológicas de parentesco, identificação de desconhecidos, ou para identificação dos contribuintes de amostras biológicas, relacionadas a processos de natureza criminal, confrontando-as com o suspeito. Desde a sua primeira utilização em um caso de imigração no Reino Unido (JEFFREYS *et al.*, 1985b), as tecnologias de identificação por perfis genéticos têm sofrido grande avanço. Atualmente constitui uma ferramenta indispensável na investigação criminal, sendo aceita rotineiramente em processos judiciais em todo o mundo.

Na espécie humana, a composição genética de cada indivíduo resulta da contribuição de 50% do genoma materno e 50% do paterno. Na composição do genoma apenas 0,1% pode variar, sendo o restante exatamente igual entre todos os indivíduos (KARKI *et al.*, 2005). Nessas regiões variáveis do DNA, denominadas polimórficas, estão presentes sequências nucleotídicas utilizadas pela Genética Forense como marcadores moleculares (BUTLER, 2005; HOLMES; RUSSELL; WALLEY, 2003).

## **6. CONCLUSÕES**



- Este estudo analisou taxas de mutação de 23 Y-STR nas populações de São Paulo e Rio de Janeiro, e comparou-as com dados disponíveis no YHRD, confirmando que essas taxas variam entre os marcadores, sendo necessária a aplicação de taxas de mutação precisas referentes a cada marcador nos cálculos estatísticos. Para isso, há a necessidade de estudos com quantidades volumosas de amostras, o que ainda carece na literatura para alguns marcadores que são utilizados na rotina forense;

- Os dados obtidos neste estudo ajudarão a compreender melhor as ocorrências de mutação nos marcadores Y-STR por meio das características observadas;

- As características das mutações observadas neste trabalho se mostraram semelhantes àquelas de estudos realizados com Y-STRs, confirmando que alelos de maiores comprimentos tendem a sofrer mais mutação que alelos curtos;

- O painel de marcadores utilizado neste estudo mostrou conter alto valor mutacional, podendo haver uma ou mais não coincidências ao avaliar relações de parentesco, e por isso ao utilizá-lo na rotina forense é necessário levar em consideração as frequências alélicas, taxas de mutação, e o grau de parentesco;

- Foram estabelecidas as frequências alélicas e haplotípicas para os 23 marcadores Y-STRs na população brasileira dos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro, e a utilização deste painel parece ser uma ferramenta muito interessante para aplicação na rotina de casos forenses da população brasileira, pois esse sistema se mostrou altamente discriminativo nas populações estudadas;

- Por meio da verificação das distâncias genéticas entre as populações, podemos notar a semelhança genética entre algumas populações brasileiras que apresentam característica de miscigenação nas linhagens patrilineas. Esse fato permite unirmos dados dessas populações disponíveis em bancos de dados para fins de comparação genética com populações estrangeiras, aumentando o número amostral e com isso obter valores cada vez mais precisos;

- A partir da previsão dos haplogrupos, os resultados confirmaram os dados disponíveis na literatura, comprovando a forte influência do cromossomo Y de europeus nas populações estudadas.

## 7. REFERÊNCIAS

ANTÃO-SOUZA, S. *et al.* Mutation rates and segregation data on 16 Y-STRs: An update to previous GHEP-ISFG studies. **Forensic Science International: Genetic. Suppl. Series**, v. 6, p. e601-e601, 2017.

ATHEY, T. W. Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using an Allele-Frequency Approach. **J Genet Geneal**, v.. 1, p. 1-7, 2005.

ATHEY, T.W. Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using a Bayesian-Allele Frequency Approach. **J Genet Geneal**, v. 2, p. 34-39, 2006.

BALLANTYNE, K.N. *et al.* Mutability of Y-Chromosomal Microsatellites: Rates, Characteristics, Molecular Bases, and Forensic Implications. **Am J Hum Genet**, v. 87, p. 341-353, 2010.

BALLANTYNE, K.N. *et al.* A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. **Forensic Sci. Int.: Genet.**, v.6, p. 208-218, 2012.

BARCELOS, R.S.S. *et al.* Male contribution in the constitution of the Brazilian Centro-Oeste population estimated by Y-chromosome binary markers. **Int Congr Ser.**, v.1288, p. 228–230, 2006.

BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações. 2ª. ed. Ribeirao Preto: Sociedade Brasileira de Genetica, 1996.

BERNARDO, S. *et al.* MtDNA ancestry of Rio de Janeiro population, Brazil. **Mol.Biol. Rep.**, v. 41, p. 1945-1950, 2014.

BODNER M. *et al.* Recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG) on quality control of autosomal Short Tandem Repeat allele frequency databasing (STRidER). **Forensic Sci. Int. Genet**, v. 24, p. 97-102, 2016.

BOSCH, E. *et al.* Variation in Short Tandem Repeats Is Deeply Structured by Genetic Background on the Human Y Chromosome. **Am. J. Hum. Genet**, v. 65, p. 1623-1838, 1999.

BRINKMANN, B. *et al.* Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat. **Am J Hum Genet**, v. 62, p. 1408-1415, 1998.

BRAGANHOLI, D.F. **Análise de polimorfismos INDELS na Identificação Humana.** Tese (Doutorado). Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, 2016.

BRENNER, C.H. Understanding Y haplotype matching probability. **Forensic Sci Int. Genet.**, v. 8, p. 233-243, 2013.

BRIÓN, M. *et al.* Introduction of an single nucleotide polymorphism-based “Major Y-chromosome haplogroup typing kit” suitable for predicting the geographical origin of male lineages. **Electrophoresis**, v.26, p.4411-4420, 2005.

BUENO, B.P.S. Dilatação dos confins: caminhos, vilas e cidades na formação da Capitania de São Paulo (1532-1822). **An. Mus. Paul**, v. 17, p. 251-94, 2009.

BUTLER, J.M. Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers. 2ª ed. Nova Iorque: Elsevier Academic Press. 2005. 688p.

BUTLER, J.M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **Bio Techniques**, v. 43, p. II-V, 2007.

BUTLER, J.M. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. 1ª ed. Nova Iorque: Elsevier Academic Press. 2011. 704p

CALABREZ, M.C.T. **Influência do calor na análise de DNA extraído de sangue e tecidos humanos: importância para a identificação de corpos carbonizados.** 1999. 92f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1999.

CARRACEDO, A, SÁNCHEZ-DIZ, P. Forensic genetics: from classical serological genetic markers to DNA polymorphisms analysed by microarray technology Em: Handbook of analytical separations, 1ª ed. Amsterdã: Elsevier, Amsterdam. 2000. Vol. 2

CLIFFORD, R. *et al.* Expression-based genetic physical maps of single nucleotide polymorphisms identified by the cancer genome anatomy project. **Genome Research**, v. 10, p. 1259-1265, 2000.

CHUNG, Y.K.; FUNG, W.K. Identifying contributors of two-person DNA mixtures by familial database search. **Int J Legal Med.**, v. 127, p. 25-33, 2013.

CORACH, D.; PENACINO, G.; SALA, A. Marcadores del cromosoma Y en la identificación de rastros de interés forense y en el rastreo de línea paterna em la prueba del ADN en medicina Forense. Barcelona: Masson S.A. 1999. Cap 6.

CORACH, D. *et al.* Inferring Continental Ancestry of Argentineans from Autosomal, Y-Chromosomal and Mitochondrial DNA. **Ann. Hum. Genet.**, v. 74: p. 65-76, 2010.

DA FRÉ N.N. *et al.* Genetic data and de novo mutation rates in father-son pairs of 23 Y-STR loci in Southern Brazil population. **Int. J. Legal Med.**, v. 129: p. 1221-1223, 2015.

DALTON G.C. **Análise de diferenciação intra-populacional em amostras de diferentes estratos sócio-econômicos do Distrito Federal.** Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade de Brasília, 2010.

DAWSON, E. *et al.* A SNP resource for human chromosome 22: extracting dense clusters of SNPs from the genomic sequence. **Genome Research**, v. 11, p. 170-178, 2001.

DE ANDRADE, E.S. *et al.* Mutation rate at 14 STR loci in the population from Pernambuco, Northeast Brazil. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 3, p. 141-143, 2009.

DE AZEVEDO D.A. *et al.* Analysis of Y chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern Brazil. **Forensic Sci Int Genet Suppl Ser**, v. 2, p. 421-422, 2009.

DECKER, A.E. *et al.* Analysis of mutations in father-son pairs with 17 Y-STR loci. **Forensic Sci Int. Genet.**, v. 2, p. e31-e35, 2008.

EXCOFFIER, L. Arlequin 3.5 An integrated software package for population Genetics Data analysis, user manual. <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>, 2005.

FAN, H.; CHU, J.Y. A brief review of short tandem repeat mutation. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, v. 5, p. 7-14, 2007.

FERREIRA, S. T. G. *et al.* Routine analysis of sexual assault cases in Brasília, Brazil, using 23 Y chromosomal markers. **Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.**, v. 5, p. e619-e621, 2015.

FIGUEIREDO, R.F. *et al.* Male-specific contributions to the Brazilian population of Espirito Santo. **Int. J. Legal Med**, v. 3, p. 679-681, 2015.

FRANÇA, G.V. *Medicina Legal*. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 2011. p.32-63. Cap 3.

FRANCEZ P.A.C. *et al.* Haplotype diversity of 17 Y-STR loci in an admixed population from the Brazilian Amazon. **Genet. Mol. Biol**, v. 35, p. 45-52, 2012.

GJERTSON, D.W. *et al.* ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. **Forensic Sci Int Genet.**, v. 1, p.223-231, 2007.

GODINHO, N.M.O. *et al.* Regional patterns of genetic admixture in South America. **Forensic Sci. Int.**, v. 1, p. 329-330, 2008.

GÓES, A.C.S. *et al.* Population and mutation analysis of 17 Y-STR loci from Rio de Janeiro (Brazil). **Int. J. Legal Med.**, v. 119, p. 70-76, 2005.

GUSMÃO L. *et al.* Grouping of Y-STR haplotypes discloses European geographic clines. **Forensic. Sci. Int.**, v. 134, p. 172-179, 2003.

GUSMÃO, L. *et al.* Mutation rates at Y chromosome specific microsatellites. **Human Mutat.**, v. 26, p. 529-528, 2005.

GUSMÃO, L.; ALVEZ, C. Marcadores dos cromossomas sexuais. Relevância na identificação Genética. Em Pinheiro, M.F.T. Genética Forense Perspectivas da identificação Genética. 1ª Ed. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa, 2010.

GUSMÃO L.; BRIÓN M.; GONZÁLEZ-NEIRA, A. The human Y-chromosome. Male Specific polymorphism and forensic genetics. M.J. Bogus (Ed) Forensic Science handbook of analytical separations. 2000. V. 2.

HOLMES, C.L., RUSSELL, J.A., WALLEY, K.R. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. **Chest**, v. 124, p. 1103-15. 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico de 2010. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

IBGE. Brasil 500 anos de povoamento. Rio de Janeiro: IBGE, 2000.

JAKOBSSON, M. *et al.* Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. **Nature**, v. 451, p. 998-1003, 2008.

JARRETA, M.B.M. La prueba del ADN en medicina Forense. Barcelona: Masson S.A. 1999.

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

JEFFREYS, A.J.; BROOKFIELD, J.F.Y.; SEMEONOFF, R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprintings. **Nature**, v.317, p. 818-819, 1986b.

JOBLING, M. A., GILL, P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, p. 739-751, 2004.

JORDE, L.B.; WATKINS, W.S.; BAMSHAD, M.J. Population genomics: a bridge from evolutionary history to genetic medicine. **Human Mol. Genetics**, v.10, p.2199-2207, 2001.

KARKI, R. *et al.* Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. **BMC Med Genomics**. v. 8. p. 37, 2015.

KAYSER, M. *et al.* Characteristics and Frequency of Germline Mutations at Microsatellite Loci from the Human Y Chromosome, as Revealed by Direct Observation in Father/Son Pairs. **Am. J. of Hum. Genet.**, v. 66, p. 1580-1588, 2000.

KAYSER, M. *et al.* A comprehensive survey of human Y-chromosomal microsatellites. **Am. J. Hum. Genet.** **74**, 1183–1197, 2004.

KAYSER, M.; de KNIJFF, P. Improving human forensics through advances in genetics genomics and molecular biology. **Nat Rev Genet.**, v. 12, p. 179-192, 2011.

KAYSER, M. Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. **Hum Genet**, v. 136, p. 621-635, 2017.

KAYSHYAP, V.K. *et al.* DNA profiling technologies in forensic analysis. **International Journal of Human Genetics**, v.4, p. 11-30, 2004.

KRAWCZAK, M. Forensic evaluation of Y-STR haplotype matches: a comment. **Forensic Sci Int**, v. 118, p. 114-115, 2001.

LIN, S.W.; LI, C.; IP, S.C.Y. A selection guide for the new generation 6-dye DNA profiling systems. **Forensic Sci. Int. Genetic**, v. 30, p.34-42, 2017.

MARTÍNEZ, H. *et al.* Admixture Estimates for Caracas, Venezuela, Based on Autosomal, Y-Chromosome, and mtDNA Markers. **Human Biol.**, v.79, n.2, p.201-213, 2007.

MARTINEZ, J. *et al.* Mutation rates for 20 STR loci in a population from São Paulo state, Southeast, Brazil. **Ann. Hum. Biol.**, v. 44, p. 659-662, 2017.

MILLS, R. E. *et al.* An initial map of insertion and deletion (InDel) variation in the human genome. **Genome Res.** v. 16, p. 1182-90, 2006.

MONTEIRO, J.M. *Negros da terra: índios e bandeirantes nas origens de São Paulo.* 2ª reimpressão. São Paulo: Companhia das Letras. 1994. 300p.

MONTEIRO, E. H. G. **Desenvolvimento e aplicação de polimorfismos de inserção/deleção do cromossomo X em genética forense.** 2007. 162 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, 2007.

MOTA, C.G. São Paulo: exercício de memória. **Estud. Av.**, v. 17, n. 48, p. 241-63. 2003.

MOURA, R.R. *et al.* Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. **Am. J. Hum. Biol.**, v. 27, p. 670-680, 2015.

MULERO, J.J. *et al.* Development and validation of the AmpFISTR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 51, p. 64-75, 2006.



MULLIS, K.B., FALOONA, F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods Enzymol**, 155:335-350, 1987.

NEI, M. Analysis of Gene Diversity in subdivides populations. **Procedures Natural Academy Sciences**, v. 70, p. 3321-3323, 1973

NIEDERSTÄTTER, H. *et al.* Separate analysis of DYS385a and b vesus conventional DYS385 typing: is there forensic relevance?. **Int. J. Legal. Med.**, v. 119, p. 1-9, 2004.

NUÑEZ, C. *et al.* Highly discriminatory capacity of the PowerPlex1 Y23 System for the study of isolated populations. **Forensic Sci. Int.: Genet**, v. 17, p.104-107, 2015.

OH, N.W. *et al.* Haplotype and mutation analysis for newly suggested Y-STRs in Korean father–son pairs. **Forensic Sci Int: Genet**, v. 15, p. 64-68, 2015.

OLIVEIRA, A.M. *et al.* Male lineage strata of Brazilian population disclosed by the simultaneous analysis of STRs and SNPs. **Forensic Sci Int: Genet** v. 13, p. 264–268, 2014.

PALHA, T. *et al.* Disclosing the Genetic Structure of Brazil through Analysis of Male Lineages with Highly Discriminating Haplotypes. **Plos One**, v. 7, p. 1-8, 2012.

PARRA, F.C. *et al.* Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc. Natl. Acad. Sci, USA**, v. 100, p. 177-182, 2003.

PASCALLI, VL; DOBOSZ, M.; BRINKIMANN. Coordinating Y- chromosomal STR research of the Courts. **Int. J. Legal Med**, v. 112, p.1, 1999.

PENA, S.D.J. *et al.* Retrato Molecular do Brasil. **Ciência Hoje**, v. 159, p. 16-25, 2000.

PENA, S.D. *et al.* DNA tests probe the genomic ancestry of Brazilians. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.42, p.870-876, 2009.

PEREIRA, R.; GUSMÃO, L. Capillary electrophoresis of 38 noncoding biallelic mini-Indels for degraded samples and as complementary tool in paternity testing. **Methods Mol. Biol.**, v. 830. p. 141- 57, 2012.

PINHEIRO, M.F. *et al.* Allele frequencies of sixteen STRs in the populations of nothern Portugal. **Forensic Sci. Int.**, v. 148, p. 221-223, 2005.

PINTO, N.; GUSMÃO, L.; AMORIM, A. Mutation and mutation rates at Y chromosome specific Short Tandem Repeat Polymorphisms (STRs): A reappraisal. **Forensic Sci. Int.: Genet.**, v. 9, p. 20-24, 2014

PONTES, M.L. *et al.* Allele frequencies and population data for 17 Y-STR loci (AmpF $\mathcal{L}$ STR $\mathcal{R}$  Y-filer $\mathcal{T}$ M) in a Northern Portuguese population sample. **Forensic Sci Int**, v. 1, p. 61-67, 2007.

PURPS, J. *et al.* A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. **Forensic Sci Int.**, v. 12, p. 12-23, 2014.

QUINTANA-MURCI, L.; KRAUSZ, C.; MC ELREAVY, K. The human Y chromosome: function, evolution and disease. **Forensic Sci. Int.**, v. 118, p. 169-181, 2001.

RESQUE, R. *et al.* Male Lineages in Brazil: Intercontinental Admixture and Stratification of the European Background. **Plos One**, v. 11, p. 1-17, 2016.

RIBEIRO, D. O povo brasileiro: A formação e o sentido do Brasil. São Paulo: Cia das Letras. 1995. 480p.

RIBEIRO, J. *et al.* Analysis of 23 Y-STRs in a population sample from eastern Paraguay. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v.37, p. e20-e22, 2018.

ROEWER, L. *et al.* Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. **Human Genetics**, v.89, p. 389-394, 1993.

ROEWER, L. *et al.* Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. **Forensic Sci Int**, v. 118, p. 106-113, 2001.

ROEWER, L. DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. **Investigative Genetics**, v. 4, p. 1-10, 2013.

ROEWER, L. WILLUWEIT, S. Y-Chromosomale STR-Analyse in der forensischen Praxis. **Rechtsmedizin**, v. 28, p. 149-64, 2018.

SAFERSTEIN, R. Criminalistics: An introduction to Forensic Science. 9<sup>a</sup> ed. New Jersey: Prentice Hall, 2006. 1043p.

SAIKI, R. K. *et al.* Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. **Science**, v.239, p. 487-491, 1988.

SANCHES, N. M. *et al.* Mitochondrial DNA control region diversity in a population from Espirito Santo State, Brazil. **Molecular Biology Reports**, v. 41, p. 6645-6648, 2014.

SILVA, B.M. *et al.* Allele frequencies of fifteen STR loci in a population from Central Brazil. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 4, p. 151-152, 2010.

SINGER-SAM, J.; TANGUAY, R.; RIGGS, A.D. Use of Chelex to improve the PCR signal from a small number of cells. **Amplifications**, v. 3, p. 11, 1989

STANGE, V.S. *et al.* Stratification among Europeans descent and admixed Brazilian populations of Espírito Santo for 27 Y-STRs. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 41, p. e20-e22, 2019.

SKALETSKY, H. *et al.* The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. **Nature**, v. 423, p. 825–37, 2003.

SOBRINO, B.; BRION, M.; CARRACEDO, A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. **Forensic Sci. Int.**, v. 154, p. 181-194, 2005.

TAKEZAKI, N., NEI, M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. **Genetics**, v. 144, p. 389-99, 1996.

TARAZONA-SANTOS, E. *et al.* Genetic Differentiation in South Amerindians Is Related to Environmental and Cultural Diversity: Evidence from the Y Chromosome. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 68, p. 1485-1496, 2001.

THOMSEN, A.R. *et al.* A report of the 2002-2008 paternity testing workshops of the English speaking working group of the International Society for Forensic Genetics. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 3, p. 214- 21, 2009.

TORRES, S.R.R. *et al.* Population genetic data and forensic parameters of 30 autosomal InDel markers in Santa Catarina State population, Southern Brazil. **Mol Biol Rep.**, v. 41, p. 5429-5433, 2014.

TOSCANINI, U. *et al.* The geographic mosaic of Ecuadorian Y-chromosome ancestry. **Forensic Sci. Int. Genet.**, v. 33, p. 59-65, 2018.

TURRINA, S. *et al.* Haplotype data and mutation rates for the 23 Y-STR loci of PowerPlex®Y 23 System in a Northeast Italian population sample. **Int. J. Legal Med.**, v. 129, p. 725-728, 2015.

UNDERHILL, P.A.; KIVISILD, T. Use of Y Chromosome and Mitochondrial DNA Population Structure in Tracing Human Migrations. **Annu. Rev. Genet.**, v.41, p.539-564, 2007.

VELDMAN, A. **Evidential strength of Y-STR haplotype matches in forensic DNA casework.** Tese (mestrado em Matemática Forense), Netherlands, Universiteit Leiden, Leiden. 44pp, 2007.

VIEIRA-SILVA, C. *et al.* Y-STR mutational rates determination in South Portugal Caucasian population. **Forensic Sci. Int.: Genet. Suppl. Series**, v. 2, p. 60-61, 2009.

VIEIRA, T.C. *et al.* Y-STR haplotype diversity and population data for Central Brazil: implications for environmental forensics and paternity testing. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, p. 3404-3410, 2014.

WATKINS, W.S. *et al.* Genetic variation in South Indian castes: evidence from Y-chromosome, mitochondrial and autosomal polymorphisms. **BMC Genet.**, v. 9, p. 86, 2008.

WEBER, J.L. *et al.* Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 71, p. 854-62, 2002.

WEEDEN, V. W.; SWARNEN, S. L. Exames forenses de identificação por análises do DNA. Em: HENRY, J. B. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 19. ed. São Paulo: Manole, 1998. Cap. 63, p. 1427-1438.

WEI, W. *et al.* A comparison of Y-chromosomal lineage dating using either resequencing or Y-SNP plus Y-SNP genotyping. **Forensic Sci. Int.: Genetics**, v. 7, p. 568-572, 2013.

XUE, Y. *et al.* Human Y Chromosome Base-Substitution Mutation Rate Measured by Direct Sequencing in a Deep-Rooting Pedigree. **Current Biology**, v. 19, p. 1453-1457, 2009.

YANG, N. *et al.* Examination of ancestry and ethnic affiliation using highly informative diallelic DNA markers: application to diverse and admixed populations and implications for clinical epidemiology and forensic medicine. **Human Genetics**, v. 118, p. 382-392, 2005.

ZEGURA, S.L. *et al.* High resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. **Mol. Biol. Evol.**, v.21, p.164-175, 2004.

ZIDKOVA, A. *et al.* Application of the new insertion– deletion polymorphism kit for forensic identification and parentage testing on the Czech population. **Int J Legal Med**, v. 127, p. 7-10, 2011.