

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 26/05/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araraquara - Instituto de Química
Programa de Biotecnologia

FLÁVIA ALVES DE JESUS SILVA

**POLIMORFISMOS DE INSERÇÃO/DELEÇÃO NO CROMOSSOMO X:
ANÁLISE DE 32 MARCADORES NA POPULAÇÃO DA REGIÃO
SUDESTE DO BRASIL**

ARARAQUARA - SP

2020

FLÁVIA ALVES DE JESUS SILVA

**POLIMORFISMOS DE INSERÇÃO/DELEÇÃO NO CROMOSSOMO X:
ANÁLISE DE 32 MARCADORES NA POPULAÇÃO DA REGIÃO
SUDESTE DO BRASIL**

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

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

S586p Silva, Flávia Alves de Jesus
Polimorfismos de inserção/deleção no cromossomo X :
análise de 32 marcadores na população da região sudeste do
Brasil / Flávia Alves de Jesus Silva. – Araraquara : [s.n.], 2020
87 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Regina Maria Barretto Cicarelli

1. Análise de DNA. 2. Genética da população humana.
3. Polimorfismo (Genética). 4. Cromossomo X. 5. Marcadores
genéticos. I. Título.

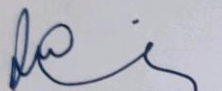
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Polimorfismos de inserção/deleção no cromossomo X: análise de 32 marcadores na população da região sudeste do Brasil"

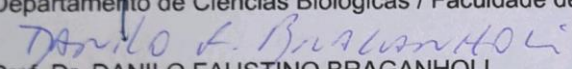
AUTORA: FLAVIA ALVES DE JESUS SILVA

ORIENTADORA: REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI

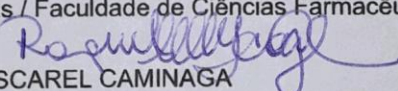
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:


Prof.^a Dr.^a REGINA MARIA BARRETTO CICARELLI

Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. DANILO FAUSTINO BRAGANHOLI

Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Prof.^a Dr.^a RAQUEL MANTUANELI SCAREL CAMINAGA

Departamento de Morfologia / Faculdade de Odontologia - UNESP - Araraquara

Prof.^a Dr.^a LEONOR GUSMÃO

Departamento de Biologia / Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ - Rio de Janeiro

Prof.^a Dr.^a GREICIANE GABURRO PANETO

Departamento de Zootecnia / Centro de Ciências Agrárias - UFES - Alegre

Araraquara, 26 de maio de 2020

DEDICATÓRIA

As minhas filhas, Camila e Helena, por suportar e compreender a minha ausência em diversos momentos, para que este trabalho pudesse ser realizado. Isto é por vocês meus amores!

Ao meu amado esposo e companheiro de todas as horas, Elias, que sempre me apoiou e incentivou a prosseguir, por maiores que fossem as dificuldades, fortalecendo-me a cada dia.

A todos vocês, que amo muito, a minha gratidão e o meu reconhecimento. Nos méritos desta conquista há muito de vocês!

AGRADECIMENTOS

*Agradeço primeiramente a **Deus** pelo dom da vida, por iluminar sempre o meu caminho, me proporcionando saúde e sabedoria para buscar sempre mais conhecimento.*

*Agradeço a toda minha família pelo tempo doado para a realização das pesquisas, pela imensa compreensão, em especial as minhas filhas, **Camila e Helena**, ao meu esposo **Elías**, sem o apoio de vocês nada disso seria possível.*

*Aos meus pais, **Conceição e Geraldo**, meu profundo apreço por todo o apoio durante toda a minha vida e, sobretudo, nos momentos mais difíceis dos últimos anos, suprimindo minhas ausências junto as minhas filhas e permitindo que eu me dedicasse à realização do meu trabalho.*

*Aos meus irmãos, **Fabício e Flaviane**, que sempre estiveram ao meu lado, me dando as maiores forças e os melhores conselhos, os quais sempre me mantiveram no caminho certo.*

A vocês a minha eterna gratidão.

*A minha Orientadora, **Profa. Dra Regina Cicarelli**, por dedicar seu tempo a me ensinar um pouco do muito que ela sabe. Serei sempre grata por sua confiança, compreensão e paciência. Tenho um imenso orgulho em ter você como minha orientadora. A você minha professora, meu muito obrigado.*

*A **Profa. Dra Leonor Gusmão**, por estar sempre disponível a nos atender, mesmo tendo inúmeros compromissos. Agradeço a enorme contribuição que fez a este trabalho, por disponibilizar as amostras do Rio de Janeiro e por todo ensinamento e atenção que dedicou a mim neste período, serei sempre eternamente grata.*

*A **Juliana Martinez**, amiga que me incentivou, aconselhou e ensinou desde o desenvolvimento teórico do projeto até a sua conclusão final, agradeço pelas numerosas sugestões e, antes de tudo, pela amizade, carinho e disponibilidade em ajudar.*

*A **Fernanda Polverari e Bianca Belon**, pelas conversas serias quando necessárias, pelos momentos de descontração, pelo apoio, ensinamentos, por tirar minhas dúvidas e me apontar soluções quando tudo parecia estar perdido. Agradeço também pela amizade sincera que dedicaram a mim.*

*A **Isabela Brunelli e Danilo Braganholi**, companheiros na viagem mais fantástica que já realizei, agradeço pelas conversas e por sempre se disponibilizarem a me ajudarem, mesmo com a correria do dia-a-dia.*

*A **Silvia Loiola**, por auxiliar na seleção das amostras da população do Rio de Janeiro. Muito obrigada por ceder este tempo a este trabalho.*

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos os colegas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara, pela gentileza, pela atenção, sempre disposta a ajudar.

A todas as funcionárias da Seção Técnica de Pós-Graduação do Instituto de Química da UNESP de Araraquara, em especial Wennia, Robson, Cíntia e Ana Paula, pelos serviços prestados e pela atenção.

A todas as pessoas que fizeram parte na construção deste trabalho sempre me apoiando.

A estes dedico este trabalho, sem a ajuda e compreensão de todos a realização deste sonho não seria possível.

Muito obrigada por tudo!

RESUMO

Na rotina forense, há casos em que a amostra biológica se encontra degradada ou com baixa concentração de DNA, o uso exclusivo dos marcadores STRs pode gerar um resultado estatístico inconclusivo, tornando fundamental a análise de marcadores adicionais para a resolução do caso. Utilizado como método complementar, os polimorfismos de inserção e deleção (InDels) têm mostrado grande potencial para superar as limitações dos marcadores tradicionais. Adicionalmente, estudos de genética forense tem sido cada vez mais explorados no âmbito do cromossomo X, especialmente nos casos em que a análise dos autossômicos não é suficiente. Nessa perspectiva, este trabalho avaliou a utilidade de um conjunto de 32 polimorfismos de inserção/deleção do cromossomo X em amostras da população da região sudeste do Brasil. Afim de avaliar a diversidade genética destas populações, foram analisados os perfis genotípicos de 627 indivíduos sem relação genética pelo cromossomo X, residentes nos estados de Minas Gerais (90 mulheres e 116 homens), Espírito Santo (201 homens) e Rio de Janeiro (220 homens). Os resultados indicam que o painel dos 32 X-InDels é bastante eficiente para a sua finalidade, sendo que praticamente todos os marcadores se mostraram altamente informativos para as populações estudadas. O teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg foi realizado nas amostras femininas de Minas Gerais e não foram verificados desvios significativos. Em todas populações analisadas o painel demonstrou alta eficiência forense, confirmado pelo alto poder de discriminação para Minas Gerais ($PD_F=0,999999999994$ e $PD_M=0,99999994$), Espírito Santo ($PD_F=0,999999999994$ e $PD_M=0,99999995$) e Rio de Janeiro ($PD_F=0,999999999997$ e $PD_M=0,99999997$), e pelo elevado poder de exclusão estimado em trios: pai/mãe/filha (Minas Gerais: 0,999996; Espírito Santo: 0,999996; Rio de Janeiro: 0,999997) e duos: pai/filha (Minas Gerais: 0,9994; Espírito Santo: 0,9995; Rio de Janeiro: 0,9996). No estudo comparativo com outras populações, a maior similaridade observada foi das 3 populações estudadas neste trabalho com as outras populações brasileiras, seguido pelas populações dos departamentos colombianos e Europa. Durante a análise foi observada, nas três populações estudadas, a presença de uma variante no MID1361. Na análise de ancestralidade para estas populações, foi identificada proporções ancestrais de europeus (MG= 39%, RJ= 35% e ES= 38%), africanos (MG= 36%, RJ= 38% e ES= 37%) e nativo-americanos (MG= 25%, RJ= 27% e ES= 25%). Os dados para os marcadores de inserção/deleção no cromossomo X disponíveis na literatura vêm sendo cada vez

mais explorados, mas o conhecimento sobre este assunto deve ser ampliado. Os valores de poder de discriminação e exclusão obtidos neste trabalho já demonstram seu potencial como método complementar para a análise de amostras forenses.

Palavras-chave: Identificação humana. Genética populacional. Polimorfismos de inserção/deleção. InDels. Cromossomo X. X-InDels. Minas Gerais. Rio de Janeiro. Espírito Santo. Brasil.

Abstract

In the forensic routine, there are cases in which the biological sample is degraded or with a low concentration of DNA, the exclusive use of STR markers can generate an inconclusive statistical result, making the analysis of additional markers essential for the resolution of the case. Used as a complementary method, the insertion and deletion polymorphisms (InDels) have shown great potential to overcome the limitations of traditional markers. Additionally, the X chromosome has been increasing significant importance in forensic genetics studies, especially in cases where the analysis of autosomal is not enough. In this perspective, this work evaluated the usefulness of a set of 32 polymorphisms of insertion/deletion of the X chromosome in samples from the population of the southeastern region of Brazil. In order to evaluate the genetic diversity of these populations, the genotypic profiles of 627 individuals without genetic relationship were analyzed by the X chromosome, living in the states of Minas Gerais (90 females and 116 males), Espírito Santo (201 males) and Rio de Janeiro (220 males). The results indicate that the 32 X-InDels panel is enough efficient for its purpose, with practically all the markers proving to be highly informative for the studied populations. The Hardy-Weinberg equilibrium test was performed on female samples from Minas Gerais and no significant deviations were found. In all analyzed populations, the panel demonstrated high forensic efficiency, confirmed by the high power of discrimination for Minas Gerais (PDF= 0.9999999999994 and PDM= 0.999999994), Espírito Santo (PDF=0.999999999994 and PDM= 0.99999995) and Rio de Janeiro (PDF= 0.999999999997 and PDM= 0.99999997), and the high exclusion power estimated in trios: father/mother/daughter (Minas Gerais: 0.999996; Espírito Santo: 0.999996; Rio de Janeiro: 0.999997) and duo: father/daughter (Minas Gerais: 0.9994; Espírito Santo: 0.9995; Rio de Janeiro: 0.9996). In the comparative study with other populations, the greatest similarity observed was between the 3 populations studied in this work, followed by the other Brazilian populations, from the Colombian departments and Europe. During the analysis, the presence of a variation in MID1361 was observed in the three populations studied. In the analysis of ancestry for these populations, ancestral proportions of Europeans were identified (MG = 39%, RJ = 35% and ES = 38%), Africans (MG = 36%, RJ = 38% and ES = 37%) and native-americans (MG = 25%, RJ = 27% and ES = 25%). The data for insertion / exclusion markers on the X chromosome are available in the has been increasingly explored literature, but the knowledge on this subject must

be expanded. The values of discriminating power and excluding them in this work already demonstrate its potential as a complementary method for analyzing forensics.

Keywords: Human identification. Population genetics. Insertion/deletion polymorphisms. InDels. X chromosome. X-InDels. Minas Gerais. Rio de Janeiro. Espírito Santo. Brazil

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Esquema representando a simulação do resultado de um sistema de STRs em eletroforese para investigação de paternidade comparando o número de repetições de um determinado loci pesquisado	24
Figura 2:O polimorfismo de nucleotídeo único	25
Figura 3: Eletroferograma de detecção de Inserção e Deleção	27
Figura 4: Ideograma do cromossomo X indicando a localização dos 32 marcadores X-InDel selecionados.....	43
Figura 5: Eletroferograma de uma amostra masculina amplificada com o multiplex 32 X-InDels.	49
Figura 6: Eletroferograma de uma amostra feminina amplificada com o multiplex 32 X-InDels.	50
Figura 7: Eletroferograma parcial de três amostras de Minas Gerais obtidas com o multiplex 32 X-InDels. Em destaque a variante alélica do alelo curto do marcador MID1361	51
Figura 8: Eletroferograma parcial de uma amostra do Espírito Santo obtida com o multiplex 32 X-InDels. Em destaque a variante alélica do alelo curto do marcador MID1361.	51
Figura 9: Eletroferograma parcial de uma amostra do Rio de Janeiro obtida com o multiplex 32 X-InDels. Em destaque a variante alélica do alelo curto do marcador MID1361.	52
Figura 10: Parâmetros estatísticos de interesse forense para os marcadores 32 X-InDels, para a população da Somália, Angola e Moçambique, Portugal e Macau.	66
Figura 11: Gráfico MDS bidimensional elaborado a partir da distância genética (F_{ST}) entre África, Europa, Leste Asiático, Nativo-americano (Pasto - Colômbia), diversas populações da Colômbia e Brasil (São Paulo, Mato Grosso, Brasília, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo).....	69

Figura 12: Representação esquemática para a população de Minas Gerais (MG), Rio de Janeiro (RJ) e Espírito Santo (ES) utilizando os marcadores 32 X-InDels obtidos através da análise do STRUCTURE baseado na contribuição da população africana (AFR), europeia (EUR) e nativo-americano (NAM) (K=3).....70

Figura 13: Proporção de ancestralidade identificada em marcadores X-InDels, mtDNA, Y-SNP e AIM-InDels nas populações de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo. .72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: InDels do cromossomo X e sequências iniciadoras de PCR usadas no multiplex	44
Tabela 2: Frequência alélica dos 32 marcadores X-InDels nas populações de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Número de cromossomos analisados: 296 (Minas Gerais) 201 (Espírito Santo) e 220 (Rio de Janeiro).	53
Tabela 3: Parâmetros estatísticos da diversidade gênica para os 32 marcadores X-InDels na população feminina de Minas Gerais. Tamanho da amostra: 90.	55
Tabela 4: Desequilíbrio de ligação dos pares de marcadores analisados na população masculina de Minas Gerais. Tamanho da amostra: 116	57
Tabela 5: Desequilíbrio de ligação dos pares de marcadores analisados na população do Rio de Janeiro. Tamanho da amostra: 220	58
Tabela 6: Desequilíbrio de ligação dos pares de marcadores analisados na população do Espírito Santo. Tamanho da amostra: 201	59
Tabela 7: Frequência haplotípica observada na população masculina de Minas Gerais para os marcadores em desequilíbrio de ligação. Tamanho da amostra: 116.....	60
Tabela 8: Frequência haplotípica observada na população masculina de Espírito Santo para os marcadores em desequilíbrio de ligação. Tamanho da amostra: 201.....	60
Tabela 9: Frequência haplotípica observada na população masculina de Rio de Janeiro para os marcadores em desequilíbrio de ligação. Tamanho da amostra: 220.....	61
Tabela 10: Parâmetros estatísticos de interesse forense para os marcadores 32 X-InDels na população de Minas Gerais. Número de cromossomos analisados: 296.	62
Tabela 11: Parâmetros estatísticos de interesse forense para os marcadores 32 X-InDels na população do Espírito Santo. Número de cromossomos analisados: 201	64
Tabela 12: Parâmetros estatísticos de interesse forense para os marcadores 32 X-InDels na população do Rio de Janeiro. Número de cromossomos analisados: 220	65

Tabela 13: Amostras usadas na comparação entre as populações, número de cromossomos analisados (N) e respectivas referências.....67

Tabela 14: Distância genética (F_{ST}) entre as populações (abaixo da diagonal) e o valor de p correspondente (acima da diagonal).....68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
dbSNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism database</i>
DG	Diversidade gênica
EUA	Estados Unidos da América
GHEP-ISFG	Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da Sociedade Internacional de Genética Forense
HID	<i>Human Identification</i>
InDel	Inserção/deleção
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i>
MID	<i>Marshfield identification</i>
MCMC	<i>Markov chain Monte Carlo</i>
MDS	<i>Multidimensional scaling</i>
MEC	Chance média de exclusão
MEC _T	Chance média de exclusão em trios envolvendo filha
MEC _D	Chance média de exclusão em duo pai/filha
MEC _{PGM}	Chance média de exclusão em casos deficientes envolvendo mãe, filha e avó paterna
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PD	Poder de discriminação
PD _F	Poder de discriminação em mulheres
PD _M	Poder de discriminação em homens
RFU	<i>Relative fluorescence unit</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STR	<i>Short Tandem Repeat</i>
UNESP	Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho
X-InDel	Inserção/deleção no cromossomo X
X-STR	<i>Short Tandem Repeat</i> no cromossomo X

LISTA DE SÍMBOLOS

~	Aproximadamente
%	Porcento
ng	Nanogramas
nº	Número
°C	Graus Célsius
®	Marca registrada
ml	Mililitros
µL	Microlitros
cm	Centímetros
mg	Miligramas
D'	Valor normalizado do desequilíbrio de ligação
<i>p</i> -LD	Valor de <i>p</i> do desequilíbrio de ligação
<i>p</i> -HWE	Valor de <i>p</i> do equilíbrio de Hardy-Weinberg
pb	Par de bases
kb	Kilobase
Mb	Megabase
q.s.p.	Quantidade suficiente para
rpm	Rotações por minuto
min	Minutos
seg	Segundos

Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	19
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1.	Marcadores biológicos para identificação humana.....	22
2.2.	Polimorfismos genéticos e análise do DNA	22
2.2.1.	Short Tandem Repeats (STRs)	23
2.2.2.	Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)	25
2.2.3.	Insertion/Deletion Polymorphisms (InDels)	26
2.3.	Cromossomo X	29
2.3.1.	Marcadores genéticos do cromossomo X.....	30
2.3.2.	Aplicação dos marcadores genéticos do cromossomo X	32
2.4.	Aspectos históricos do povoamento do Brasil.....	34
2.5.	Justificativa e hipótese do estudo.....	36
3.	OBJETIVOS	38
3.1.	Objetivo Geral	39
3.2.	Objetivos Específicos	39
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1.	Aspectos éticos da pesquisa.....	41
4.2.	Sujeitos da pesquisa	41
4.3.	Extração do DNA	41
4.4.	Amplificação do DNA e Genótipo dos X-InDels	42
4.5.	Análise dos resultados e dos parâmetros estatísticos.....	46
4.6.	Análise comparativa.....	46
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1.	Avaliação da metodologia.....	49
5.2.	Variante alélica identificada nas populações estudadas	50
5.3.	Variabilidade genética populacional.....	53
5.4.	Desequilíbrio de ligação entre os marcadores X-InDels	56
5.5.	Parâmetros estatísticos de eficiência forense	61
5.6.	Comparação genética entre as populações e análise de ancestralidade	66
6.	CONCLUSÕES	74
7.	REFERÊNCIAS	76
	ANEXO I.....	85

1. INTRODUÇÃO

Desde os anos 80, os avanços nas técnicas de análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) vêm se tornando uma poderosa aliada na identificação humana e para a investigação criminal proporcionando um significativo impacto no campo da ciência forense (ZIĘTKIEWICZ *et al*, 2012). O aprimoramento destas técnicas favoreceu o alto poder de discriminação de um indivíduo/vestígio biológico pelo DNA, o qual permite comparações genéticas entre indivíduos e/ou material biológico (THOMPSON; ZOPPIS; MCCORD, 2012)

O genoma humano possui mais 3 bilhões de pares de bases localizados em cada célula nucleada do corpo. O genoma, que se manteve bem conservado ao longo da evolução, é no mínimo 99,5% idêntico entre quaisquer seres humanos do planeta e esta pequena fração variável é o que nos torna único (LEVY *et al*, 2007) e são essas regiões variáveis que possibilitam que o DNA seja utilizado na identificação humana (BUTLER, 2007).

Para a identificação humana são considerados marcadores genéticos os polimorfismos herdáveis, que podem ser identificados em uma ou mais populações (DAVEY *et al*, 2011). Os marcadores nucleares autossômicos estão amplamente padronizados na prática forense, pois apresentam alto grau de diversidade e alta resolubilidade dos casos (ALVAREZ-CUBERO *et al*, 2012).

Entretanto, há circunstâncias em que o material biológico pode ser coletado de casos *post-mortem* oriundos de corpos exumados, putrefeitos e de vestígios. Nessas condições, o DNA disponível pode estar degradado e em baixa quantidade, dificultando a solução do caso com a análise apenas dos marcadores nucleares autossômicos. Nesse contexto, a análise de outros marcadores e em outras regiões polimórficas, como no cromossomo X, podem complementar a análise tradicional de forma eficaz (ALVAREZ-CUBERO *et al*, 2012).

6. CONCLUSÕES

Os dados para os marcadores de inserção/deleção no cromossomo X disponíveis na literatura ainda são pouco explorados e este conhecimento sobre o assunto deve ser ampliado. Os valores de poder de discriminação e exclusão obtidos neste trabalho já demonstram seu potencial como método complementar para a análise de amostras forenses. Com os resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que:

- Os 32 X-InDels mostraram-se polimórficos nas populações de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, demonstrando que estes marcadores genéticos são bastantes informativos para estas populações;
- Através da identificação de uma variante no MID1361, concluiu-se existir um alelo exclusivo para a população brasileira não sendo identificado em populações estrangeiras;
- Para todos os parâmetros de eficiência forenses, esse painel se mostrou altamente discriminativo nas três populações estudadas;
- Nas comparações de distância genética, se obteve valores significativos entre as populações estudadas e as estrangeiras com dados publicados na literatura. Concluindo que estas informações estão de acordo com a história do povoamento do Brasil;
- Com os dados de proporção ancestral, conclui-se que a ancestralidade identificada confirma a miscigenação destas populações.

7. REFERÊNCIAS

ALVAREZ-CUBERO, M.J. *et al.* Genetic identification of missing persons: DNA analysis of human remains and compromised samples. **Pathobiology**. v. 79. n. 5 p. 228–38. 2012.

ALVES-SILVA *et al.* 2000. The ancestry of Brazil-ian mtDNA lineages. **Am J Hum Genet** 67:444–461.

AMBROSIO *et al.* DNA 30-SNP data confirm high prevalence of African lineages in the population of Espírito Santo, Brazil Forensic Sci. Int.: Gene. Suppl. Ser., 5 (2015), pp. e346-e347 ANDREWS, C. The Hardy-Weinberg Principle. **Nature Education Knowledge**. v. 3. n. 10. p. 65. 2010.

BONFERRONI, C.E. **Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze**. v. 8. p. 3-62. 1936.

BRAGANHOLI, D. F. **Análise de polimorfismos INDELs na Identificação Humana**. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2016.

BUDOWLE, B.; van DAAL, A. Forensically relevant SNP classes. **Biotechniques**. V.44. p. 603-8. 2008.

BUENO, B. P. S. Dilatação dos confins: caminhos, vilas e cidades na formação da capitania de São Paulo (1532-1822), **Na. Mus. Paul.** V.17, São Paulo, 2009.

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

BUTLER, J.M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **Biotechniques**. v. 43. n. 4. p. ii-v. 2007.

BUTLER, J.M. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. 1 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.

CAPUTO, M. *et al.* Potential forensic use of a 33 X-Indel panel in the Argentinean population. **Int J Legal Med**. v. 131. n. 1. p. 107-12. 2017.

CARVALHO *et al.* Analysis of paternal lineages in Brazilian and African populations. **Genet. Mol. Biol.** 2010; 33: 422-427.

CARVALHO-SILVA D, Santos FR, Rocha J and Pena SDJ (2001) The phylogeography of Brazilian y-chromosome lineages. **Am J Hum Genet** 68:281-286.

CHARLESWORTH, B.; SNIEGOWSKI, P.; STEPHAN, W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. **Nature**. v. 371, P. 215-20, 1994.

CHOW, J.C *et al.* Silencing of the mammalian X chromosome. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**. v. 6, p. 69–92, 2005.

DAVEY, J.W. *et al.* Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. **Nat Rev Genet**. v. 12. n. 7. p. 499-510. 2011.

DESMARAIS, D. *et al.* Development of a highly polymorphic STR marker for identity testing purposes at the human androgen receptor gene (HUMARA). **J Forensic Sci**. v. 43. n.5. p. 1046–9. 1998.

DIXON, L.A. *et al.* Validation of a 21-locus autosomal SNP multiplex for forensic identification purposes. **Forensic Sci Int**. v. 154. n. 1. p. 62-77. 2005.

DONG, C. *et al.* Development of three X-linked tetrameric microsatellite markers for forensic purposes. **Mol Biol Rep**. 2014. In Press.

EDELMANN, J. *et al.* X-chromosomal 21-indel marker panel in German and Baltic populations. **Int J Legal Med**. v. 130. n. 2. p. 357-60. 2016.

EDWARDS, A. *et al.* Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. **Genomics**. v. 12. n. 2. p. 241-53. 1992.

ELLIS, N.; GOODFELLOW, P.N. The mammalian pseudoautosomal region. **Trends in Genetics**, v.5, p.406-410, 1989.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. v. 10. p. 564-7. 2010.

FERRAGUT, J.F. *et al.* Genetic portrait of Jewish populations based on three sets of Xchromosome markers: Indels, Alu insertions and STRs. **Forensic Sci Int Genet**. pii: S1872-4973. n. 17. p. 30196-5. 2017.

FIGUEIREDO, R.F. *et al.* Male-specific contributions to the Brazilian population of Espirito Santo. **Int. J. Legal Med**, v. 130, p. 679-681, 2016

FONDEVILA *et al.* Forensic Performance of Insertion-Deletion Marker Systems. **ISFG (2011)** p-24.

FRAIGE, K. **Avaliação de Novos Sistemas Eletroforéticos Miniaturizados para Testes de Paternidades**. Dissertação de Mestrado. São Carlos. 2007

FREITAS, N.S. *et al.* X-linked insertion/deletion polymorphisms: forensic applications of a 33-markers panel. **Int J Legal Med**. v. 124. n. 6. p. 589-93. 2010.

GOULART, M. A escravidão Africana no Brasil: das origens à extinção do tráfico. Editora Alfa-Omega. São Paulo-SP, 1975, 316 p.

GRIFFITHS, A.J.F.; WESSLER, S.R.; LEWONTIN, R.C.; CARROLL, S.B. Introdução à Genética. 9. ed. Rio de Janeiro, **Guanabara Koogan**, 2009.

GUSMÃO *et al.* A GEP-ISFG collaborative study on the optimization of an X-STR Decaplex: data on 15 Iberian and Latin American populations. **Int. J. Legal Med**. v. 123. p. 227-234. 2009.

HALLENBERG C, MORLING N. A report of the 1997, 1998 and 1999 Paternity Testing Workshops of the English Speaking Working Group of the International Society for Forensic Genetics. **Forensic Sci Int**. 2001; 116:23–33.

HEARNE, C.M.; TODD, J.A. Tetranucleotide repeat polymorphism at the HPRT locus. **Nucleic Acids Res**. v. 19. n. 19. p. 5450. 1991.

IBARRA, A. *et al.* Evaluating the X chromosome-specific diversity of Colombian populations using insertion/deletion polymorphisms. **PLoS One**. v. 9. n. 1. p. e87202. 2014.

Brasil: 500 anos de povoamento. Centro de Documentação e Disseminação de Informações. - Rio de Janeiro: **IBGE**, 2007. 232 p.

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

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

JOBLING, M. A., GILL, P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis **Nat. Rev. Genet.**, 5 (10) (2004), pp. 739-751

JORDE, L.B.; WATKINS, W.S.; BAMSHAD, M.J. Population genomics: a bridge from evolutionary history to genetic medicine. **Human Mol. Genetics**, v.10, n.20, p.2199-2207, 2001.

KRÜGER, J. *et al.* Zur Verwendung der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschaftsbegutachtung. **Dtsch Z Gerichtl Med**. v. 64. n. 2. p. 127–46. 1968.

LEVY et. al. The diploid genome sequence of an individual human. **PLoS Biol.** 2007;5: e254.

MANTA, F. *et al.* InDel markers: genetic diversity of 38 polymorphisms in Brazilian populations and application in a paternity investigation with post mortem material. **Forensic Sci Int Genet.** v. 6. n. 5. p. 658-61. 2012a.

MANTA et. al. Revisiting the genetic ancestry of brazilians using autosomal AIM-Indels **PLoS One**, 8 (2012), p. 2012b.

MARTINEZ, J. **Polimorfismos de inserção/deleção no cromossomo X: Análise de 32 marcadores na população do estado de São Paulo (BRASIL).** Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Júlio de Mesquita Filho. 2017.

MARTINEZ, J; POLVERARI F. S; SILVA, F. A. J; BRAGANHOLI, D. F; FERRAZ, J. A. M. F; GUSMÃO, L; CICARELLI, R. M. B. Genetic characterization of 32 X-InDels in a population sample from São Paulo State (Brazil). **Int J Legal Med** (2019). <https://doi.org/10.1007/s00414-018-01988-w>

MARTINS, J.A. **Estudo de polimorfismos do cromossomo X na população da região sudeste do Brasil.** Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. 2011.

MARTINS, J.A. *et al.* Brazilian genetic database of chromosome X. **Mol Biol Rep.** v. 41. n. 6. p. 4077-80. 2014.

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

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

MULLANEY, J. M.; MILLS, R. E.; PITTARD, W. S.; DEVINE, S. E. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. **Hum. Mol. Genet.** 19(2). P.131-136. 2010.

NARLOCH, L & TEIXEIRA, D. Guia politicamente incorreto da América Latina. São Paulo: Editora Leya, 2011. 336 p.

NLM. U.S. National Library of Medicine. X Chromosome. In: **Genetic home reference: Your guide to understanding genetic conditions** [Internet]. 2012.

MILLS, R.E. *et al.* An initial map of insertion and deletion (InDel) variation in the human genome. **Genome Res.** v. 16. n. 9. p. 1182-90. 2006.

NACHMAN, M. W.; CROWELL, S. L. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. **Genetics**, v. 156, p. 297-304, 2000.

NEI, M.; ROYCHOUDHURY, A.K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. **Genetics**. v. 76. p. 379–90. 1974.

NEVES, G.S. *et al.* Espírito Santo: nossa história nossa gente. Vitória: Grafer, 1997.

NUSSBAUM, R. L. Thompson & Thompson. **Genética Médica**. 7ªed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2008.

NUSSBAUM, R. L; MCINNES, R. R; WILLARD, H. F. Thompson & Thompson. **Genética Médica**. 8ªed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2016.

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.J.B.F. *et al.* Population genetic analysis of insertion–deletion polymorphisms in a Brazilian population using the Investigator DIPplex kit. **Forensic Sci Int: Genet**. v. 19, p. 10-14, 2015.

PANETO *et al.* A single multiplex PCR and SNaPshot minisequencing reaction of 42 SNPs to classify admixture populations into mitochondrial DNA haplogroups. *Mitochondrion* 11(2):296–302. 2011.

PEREIRA, R. *et al.* Genetic diversity of 10 X chromosome STRs in northern Portugal. **Int J Legal Med**. V. 121, p. 192-197. 2007.

PEREIRA, V. *et al.* Genetic characterization of Somali and Iraqi populations using a set of 33 X-chromosome Indels. **Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser**. v. 3. n. 1. p. e137–8. 2011.

PEREIRA, R. *et al.* A method for the analysis of 32 X chromosome insertion deletion polymorphisms in a single PCR. **Int J Legal Med**. v. 126. n. 1. p. 97-105. 2012.

PEREIRA, R. *et al.* A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. **Electrophoresis**. v. 30. n. 21. p. 3682-90. 2009.

PEREIRA, R. *et al.* A GHEP-ISFG collaborative study on the genetic variation of 38 autosomal indels for human identification in different continental populations. **Forensic Sci Int: Genet**. v.32, P. 18-25, 2018.

PIMENTA, J. R; PENA S. D. J. Efficient human paternity testing with a panel of 40 short insertion–deletion polymorphisms. *Genet Mol Res* 9(1):601–607. 2010.

PINHEIRO, Maria de Fátima. Genética e biologia forense, e criminalística. In: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. In: NOÇÕES GERAIS SOBRE OUTRAS CIÊNCIAS FORENSES MEDICINA LEGAL, 2004. 57p.

PINTO, N. *et al.* Assessing paternities with inconclusive STR results: The suitability of bi-allelic markers. **Forensic Sci Int Genet.** v. 7. n. 1. p. 16-21. 2013a.

PINTO, N. *et al.* Paternity exclusion power: comparative behaviour of autosomal and Xchromosomal markers in standard and deficient cases with inbreeding. **Forensic Sci Int Genet.** v. 7. n. 2. p. 290-5. 2013b.

PINTO, J.C. *et al.* Mirandese language and genetic differentiation in Iberia: a study using X chromosome markers. **Ann Hum Biol.** v. 42. n. 1. p. 20-5. 2015.

POLVERARI, F. S. **Caracterização genética da população do Estado do Mato Grosso e do Distrito Federal (Brasília) pela análise de 32 polimorfismos de inserção/deleção (InDels) no cromossomo X.** Tese (Doutorado em Biotecnologia). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2018.

PRITCHARD, JK; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics.** v. 155. p. 945–59. 2000.

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

ROSS, M.T. *et al.* The DNA sequence of the human X chromosome. **Nature.** v. 434. n. 7031. p. 325- 37. 2005.

SALZANO, F. M.; BORTOLINI M. C. The evolution and genetics of Latin American population. **Cambridge University Press**; Cambridge: 2002. p. 512.

SCHAFFNER, S.F. The X chromosome in population genetics. **Nat Rev Genet.** v. 5. n. 1. p. 43-51. 2004.

SCHNEIDER P. M. Beyond STRs: The Role of Diallelic Markers in Forensic Genetics. **Transfus Med Hemother**, v.39, p.176–180, 2012

SIMÃO *et al.* (2018). Defining mtDNA origins and population stratification in Rio de Janeiro. **Forensic Science International: Genetics**, 34, 97–104. doi:10.1016/j.fsigen.2018.02.003

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.

- SOBRINO, B.; BRION, M.; CARRACEDO, A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies **Forensic Sci. Int.**, 154 (2–3) (2005), pp. 181-194
- SUN, K. *et al.* Development of an 18 X-InDel multiplex PCR system. **Fa Yi Xue Za Zhi.** v. 30. n. 2. p. 101-9. 2014.
- SZIBOR, R. *et al.* Use of X-linked markers for forensic purposes. **Int J Legal Med.** v. 117. n. 2. p. 67-74. 2003.
- SZIBOR, R. X-chromosomal markers: past, present and future. **Forensic Sci Int Genet.** v. 1. n. 2. p. 93-9. 2007.
- TANDE, C.M. DNA Typing: A New Investigatory Tool. **Duke Law Journal**, v.1989, n. 2, p.474-494, 1989.
- THE 1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM. A global reference for human genetic variation. **Nature**, v. 526, p.68–74. 2015. <https://doi.org/10.1038/nature15393>
- THOMPSON, R.; ZOPPIS, S.; MCCORD, B. An overview of DNA typing methods for human identification: past, present, and future. **Methods Mol Biol.** v. 830. p. 3-16. 2012.
- TILLMAR, A. **Populations and Statistics in Forensic Genetics**. Tese (Doutorado). Faculty of Health Sciences da Linköping University. 2010.
- TILLMAR, A. *et al.* Using X-chromosomal markers in relationship testing: calculation of likelihood ratios taking both linkage and linkage disequilibrium into account. **Forensic Sci Int Genet.** v. 5. n. 5. p. 506-11. 2011.
- TILLMAR, A. *et al.* DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): Guidelines on the use of X-STRs in kinship analysis. **Forensic Sci Int Genet.** v. 29. p. 269-75. 2017.
- 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.** 2014.
- WALSH, PS. METZGER DA, HIGUCHI R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. **Biotechniques.** 1991.
- WANG, Z. *et al.* Population genetics of 30 insertion-deletion polymorphisms in two Chinese populations using Qiagen Investigator® DIPplex kit. **Forensic Sci Int Genet.** v. 11. 2014.
- WEBER, J.L. *et al.* Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. **Am J Hum Genet.** v. 71. n. 4. p. 854-62. 2002.

YUAN, L. *et al.* Population genetics analysis of 38 STR loci in the she population from Fujian province of China. **Legal Medicine**. 2014. In Press.

ZARRABEITIA MT, *et al.* Analysis of 10 X-linked tetranucleotide markers in mixed and isolated populations. **Forensic Sci Int Genet**. v.3. p. 63-66. 2009.

ZIĘTKIEWICZ, E. *et al.* Current genetic methodologies in the identification of disaster victims and in forensic analysis. **J Appl Genet**. v. 53. n. 1. p. 41-60. 2012.