

TEMAS DE BIOLOGIA

PROPOSTAS PARA DESENVOLVER EM SALA DE AULA
NÚMERO 1 JULHO DE 1995 EDITORA MODERNA

IDENTIFICANDO PESSOAS PELO DNA: UMA SIMULAÇÃO

J. M. Amabis* e G. R. Martho

Em maio de 1995, nos Estados Unidos, os promotores do julgamento de O. J. Simpson, ex-astro do futebol americano acusado de assassinar a esposa, pediram à bioquímica Robin Cotton que desse aos jurados uma aula sobre DNA, o material hereditário dos seres vivos. A análise do sangue encontrado no local do crime havia revelado a presença de DNA supostamente pertencente a Simpson.

O exemplo acima ilustra como conhecimentos antes restritos aos especialistas tornam-se hoje acessíveis ao grande público. As pessoas querem saber o que é DNA e por que ele é comparável a uma impressão digital que identifica seu portador.

Desenvolver e aproveitar temas como esse pode tornar mais interessante e produtivo o trabalho do professor em sala de aula. Neste número apresentamos uma proposta de atividade cujo principal objetivo é levar os estudantes a compreender a importância prática da Engenharia Genética na identificação de pessoas.

As técnicas da Engenharia Genética permitem identificar pessoas pela análise de suas moléculas de DNA (ácido desoxirribonucléico), a substância que constitui os genes. Com exceção dos gêmeos univitelinos, cada pessoa possui um conjunto de genes, e portanto de moléculas de DNA, único e particular.

O processo mais simples para caracterizar um DNA consiste em cortar as moléculas dessa substância com o auxílio de "tesouras moleculares", as chamadas **enzimas de restrição**, analisando em seguida o tamanho dos fragmentos que se formaram. Uma enzima de restrição corta a molécula de DNA em pontos específicos, somente onde ocorre determinada seqüência de bases nitrogenadas. Como cada pessoa tem seqüências típicas de bases nitrogenadas, o número e os tamanhos dos fragmentos obtidos pelo corte enzimático acaba por caracterizar seu DNA.

O tamanho dos "fragmentos de restrição", como são chamados os fragmentos obtidos após o corte enzimático, é determinado através da técnica de **eletroforese**. A mistura de fragmentos de DNA é aplicada em uma camada de gelatina (gel) e submetida a um campo elétrico. Nessas condições, os fragmentos se movem a velocidades inversamente proporcionais ao seu tamanho, isto é, os fragmentos menores deslocam-se mais rapidamente que os maiores.

Quando o campo elétrico é desligado, fragmentos de mesmo tamanho estacionam juntos em determinada posição do gel, formando uma faixa. O padrão de faixas que surge é característico para cada pessoa, e corresponde à sua "impressão digital" genética.

1ª identificação foi na Inglaterra

O primeiro caso de identificação criminal através de exames de DNA ocorreu em 1985, na Inglaterra. Em um pequeno condado, rodeado de montanhas e com uma única estrada de acesso, uma mulher foi estuprada e assassinada.

"Lá havia um geneticista, Alec Jeffreys, que colheu o esperma encontrado na vítima e fez o exame de DNA. Mais tarde houve outro crime similar. Novamente Jeffreys analisou o sêmen encontrado na vítima. Era do mesmo homem que cometera o primeiro crime", conta José Maria Marlet, professor de medicina legal da USP.

As autoridades locais forjaram uma campanha de doação de sangue cuja finalidade era identificar o agressor. Todos os habitantes foram doar sangue, mas nenhum deles possuía DNA igual ao do estuprador.

"A polícia prosseguiu com as investigações e descobriu que havia um viajante no condado. Quando o sujeito voltou, foi convidado a doar sangue. Feito o teste de DNA no sangue colhido, Jeffreys concluiu que o código genético do viajante era o mesmo do estuprador", conta Marlet.

Fonte: Folha de São Paulo 28/05/95

Neste número sugerimos a simulação de experimentos nos quais amostras de DNA de diferentes pessoas são tratadas com uma enzima de restrição hipotética, que corta as moléculas onde houver dois pares de bases C-G/C-G em seqüência.

O preenchimento dos gráficos, onde os fragmentos do DNA cortado são dispostos por ordem de tamanho, simula a separação eletroforética.

Apresentamos, ainda, um processo simples e prático para extrair DNA de uma amostra, no caso, de células de cebola.

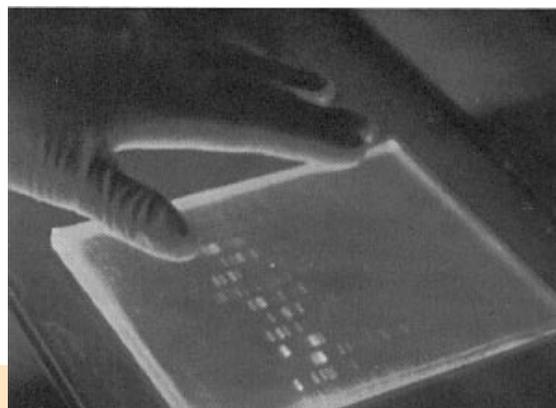


Foto de um gel de eletroforese iluminado com luz ultravioleta. Sob essa luz, o DNA previamente tratado fluoresce, revelando um padrão de faixas típico do DNA analisado.

*Professor do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo

SUGESTÕES E PRÉ-REQUISITOS

Na página à direita apresentamos um modelo para a folha de atividades dirigida ao estudante. Nela se encontram todas as informações objetivas para resolver às duas questões formuladas: "Quem é o criminoso? Quem é o pai da criança?". As respostas a essas questões encontram-se no verso da folha de atividades.

Sugerimos que o professor oriente verbalmente o estudante sobre a diferença de procedimentos entre a detecção do criminoso e a do pai da criança. No primeiro caso basta encontrar, entre os suspeitos, um padrão eletroforético idêntico ao da amostra de pele sob as unhas da vítima. Já no segundo caso é preciso, inicialmente, identificar na criança as faixas eletroforéticas correspondentes à mãe, para em seguida procurar, nos pretendentes a pai, aquele que possui as faixas que faltam. Essas faixas devem estar necessariamente presentes no pai, uma vez que a criança recebe um cromossomo materno e um homólogo paterno.

No quadro abaixo fornecemos informações práticas para executar, na própria sala de aula, um experimento simples de extração de DNA. Apesar de simplificados, os procedimentos são muito parecidos aos utilizados nos laboratórios

bioquímicos, e permitem ao estudante visualizar, ainda que macroscopicamente, o aspecto do material hereditário.

O tema será mais bem aproveitado se o estudante já dominar os conceitos básicos relativos às estruturas do DNA e dos cromossomos. Em nossas obras de Biologia esses assuntos podem ser encontrados nos seguintes volumes:

AMABIS, J. M. & MARTHO, G. R. *Fundamentos da Biologia moderna*, São Paulo, Ed. Moderna, 1997:

- Estrutura dos ácidos nucleicos (págs. 102-103);
- Genes: estrutura química e duplicação (págs. 152-153);
- Engenharia genética (págs. 540-545).

— *Biologia das células* (vol. 1), São Paulo, Ed. Moderna, 1994:

- A estrutura dos cromossomos (págs. 178-180);
- Cromossomos e genes (págs. 182-185);
- A estrutura do gene (págs. 311-313).

— *Biologia das populações* (vol. 3), São Paulo, Ed. Moderna, 1995:

- A base celular da hereditariedade (págs. 7-9).

EXTRAINDO DNA EM SALA DE AULA

MATERIAL

- ✓ uma cebola grande (± 200 g)
- ✓ faca de cozinha
- ✓ dois copos tipo americano
- ✓ banho-maria ($\pm 60^{\circ}\text{C}$)
- ✓ água filtrada
- ✓ sal de cozinha
- ✓ detergente para louças
- ✓ álcool etílico 95% gelado (a cerca de -10°C)
- ✓ bastão fino de vidro ou madeira
- ✓ coador de café, de papel
- ✓ gelo moído

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

A extração de DNA de células eucariontes consta fundamentalmente de três etapas: a) ruptura das células para liberação dos núcleos; b) desmembramento dos cromossomos em seus componentes básicos, DNA e proteínas; c) separação do DNA dos demais componentes celulares.

O bulbo de cebola foi usado por apresentar células grandes, que se rompem facilmente quando a cebola é picada.

O detergente desintegra os núcleos e os cromossomos das células da cebola, liberando o DNA. Um dos componentes do detergente, o dodecil (ou lauril) sulfato de sódio, desnatura as proteínas, separando-as do DNA cromossômico.

O álcool gelado, em ambiente salino, faz com que as moléculas de DNA se aglutinem, formando uma massa filamentosa e esbranquiçada.

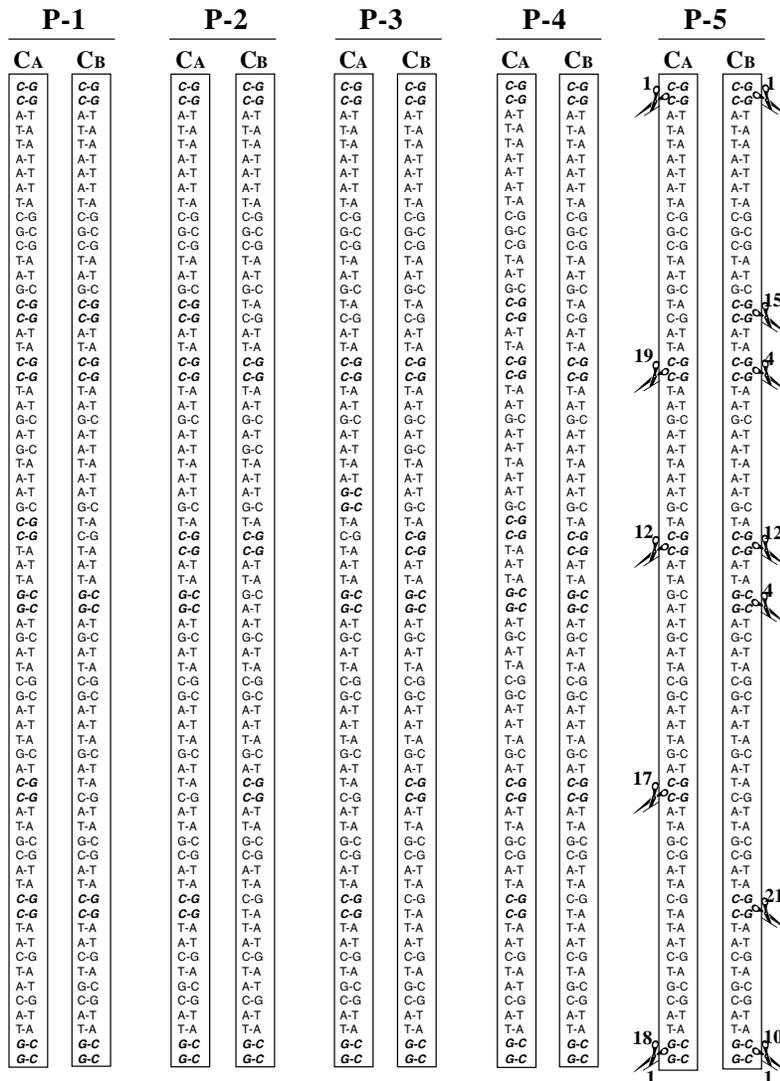
PROCEDIMENTOS

1. Pique a cebola em pedaços de 0,5 cm.
2. Coloque quatro colheres de sopa de detergente e uma colher de chá de sal em meio copo d'água, mexendo bem até dissolver completamente.
3. Coloque a cebola picada no copo com a solução de detergente e sal, e leve ao banho-maria por cerca de 15 minutos.
4. Retire a mistura do banho-maria e resfrie-a rapidamente, colocando o copo no gelo durante cerca de 5 minutos.
5. Coe a mistura no coador de café, recolhendo o filtrado em um copo limpo.
6. Adicione ao filtrado cerca de meio copo de álcool gelado, deixando-o escorrer vagarosamente pela borda. Formam-se duas fases, a superior, alcoólica, e a inferior, aquosa.
7. Mergulhe o bastão no copo e, com movimentos circulares, misture as fases. Formam-se fios esbranquiçados, que são aglomerados de moléculas de DNA.

Técnica modificada de J. Schollar e D. Madden —
Centro de Educação Biotecnológica da Universidade de Reading — Inglaterra

ATIVIDADE: IDENTIFICANDO PESSOAS PELO DNA

Nome: _____ Série: _____



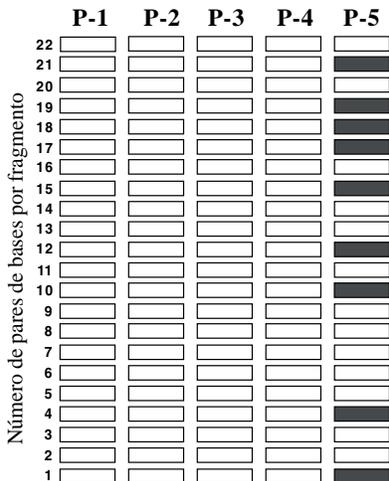
Nesta atividade você aplicará os princípios da identificação de pessoas pelo DNA na solução de duas questões judiciais. Em uma delas identificará um criminoso entre três suspeitos, e em outra descobrirá quem é o pai de uma criança.

Ao lado estão representados segmentos de DNA de cinco pessoas (P-1 a P-5). Cada uma tem dois segmentos, correspondentes a um par de cromossomos homólogos (CA e CB). As seqüências de bases dos homólogos podem ser ligeiramente diferentes em função da diferença entre os genes alelos.

O primeiro passo para a análise do DNA é cortá-lo com uma enzima de restrição hipotética que, neste exemplo, reconhece a seqüência de dois pares de bases **C-G** adjacentes (dois **C** em uma cadeia e dois **G** na outra). Para facilitar, essas "seqüências de corte" estão destacadas no DNA. Localize, nos dois segmentos de DNA de cada pessoa, todas as seqüências de corte. Marque-as à lápis com um traço horizontal, de modo a separar um par **C-G** do par **C-G** adjacente.

O passo seguinte é organizar os fragmentos obtidos por ordem de tamanho. Para isso, conte o número de pares de bases de cada fragmento e complete o preenchimento do gráfico localizado na parte inferior esquerda da figura. Cada coluna do gráfico simula o padrão eletroforético de uma pessoa, onde os fragmentos de DNA se distribuem em faixas por ordem de tamanho. A título de exemplo, a coluna correspondente ao padrão da pessoa P-5 já está preenchida.

A seguir, responda às questões abaixo.

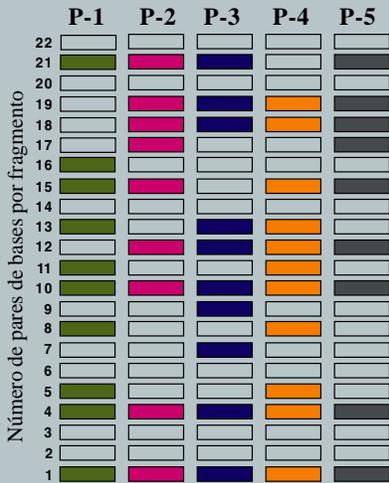


Quem é o criminoso?

Restos de pele encontrados sob as unhas de uma pessoa assassinada foram submetidos ao teste de DNA, revelando o padrão eletroforético P-5. Três pessoas, P-1, P-2 e P-3, suspeitas do crime, também foram submetidas ao teste de DNA. Qual delas é a provável culpada?

Quem é o pai da criança?

Dois homens, P-1 e P-2, disputam a paternidade de uma criança, P-4, filha da mulher P-3. Com base no teste de DNA dos quatro implicados, quem é o provável pai da criança?



RESPOSTAS

Quem é o criminoso?

P-2. O padrão eletroforético do DNA deste suspeito é idêntico ao da amostra de pele encontrada sob as unhas da vítima (P-5).

Quem é o pai da criança?

P-1. A criança P-4 pode ter recebido da mãe (P-3) DNA relativo às faixas de números 1, 4, 10, 12, 13, 18 e 19. As faixas 5, 8, 11 e 15 de P-4 provêm necessariamente do pai. P-2, o outro postulante, não apresenta as faixas 5, 8 e 11.

A identificação positiva do DNA de um suspeito pela técnica mostrada na atividade, particularmente se forem utilizados diferentes tipos de enzimas de restrição, atinge a mais de 99% de acerto. Há uma probabilidade ínfima de duas pessoas não-gêmeas idênticas apresentarem o mesmo padrão eletroforético do DNA.