

## Como se Analisa o DNA

Paulo Cesar Naoum

Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto - SP

[www.ciencianews.com.br](http://www.ciencianews.com.br)

Setembro de 2009

Os capítulos anteriores mostraram alguns fatos que justificam o interesse em se conhecer um pouco mais sobre a molécula da vida. Para que se possa entender, mesmo que superficialmente, como se analisa o DNA, é necessário que se faça um breve resumo do que foi apresentado até o momento.

Células e cromossomos – nosso corpo é composto por aproximadamente cem trilhões de células. Com exceção dos glóbulos vermelhos e plaquetas, todas as células têm núcleos e dentro de cada núcleo há 46 cromossomos, 23 herdados do pai e 23 herdados da mãe. É por essa razão que se refere que cada célula tem 23 pares de cromossomos.

Cromossomos e genes – cada cromossomo é formado por uma extensa molécula de DNA cuja estrutura é ordenada por quatro componentes químicos diferentes entre si (Adenina, Guanina, Citosina e Timina ou A, G, C,T), que se repetem por quase três bilhões de vezes variando suas sequências, por exemplo: AGGCTACT... nos 23 pares de cromossomos. Apenas 3% dessa sequência evoluíram para produzir proteínas, enzimas e hormônios, e essas pequenas porções de sequências úteis são denominadas por genes. O restante, 97% das moléculas de DNA do nosso organismo, não tem função de genes, servem como se fossem “esqueletos” dos cromossomos. É provável que, caso a evolução da espécie humana se perpetue por

milhões de anos adiante, algumas partes desses “esqueletos de DNA” se tornem genes num futuro quase inimaginável.

Especificidades dos genes – todas as células do nosso corpo têm os mesmos cromossomos e os mesmos genes, porém nas células do fígado, por exemplo, funcionam ativamente os genes que produzem proteínas e enzimas para o fígado, enquanto que, no rim, somente funcionam os genes que produzem proteínas e hormônios renais, e assim por diante.

Análise do DNA de cada gene – é possível analisar a composição do DNA de cada gene, em qualquer célula do nosso corpo e essa composição será sempre igual, quer seja proveniente das células do fígado, do rim, do bulbo capilar, da polpa dentária, etc. Entretanto, pela facilidade de obtenção de células e conseqüentemente de DNA, o sangue se constitui na melhor amostra para análise. Do sangue se separam os glóbulos brancos ou leucócitos e deles se extrai o DNA.

Genes, genomas e genômica – o conhecimento da composição química do DNA de todos os genes humanos recebeu o nome de genoma humano, e o uso da informática específica para sequenciar o DNA de todos os genes foi denominado por genômica. Várias espécies animais, vegetais e microorganismos também já tiveram seus genomas determinados.

Até o presente sabe-se que o genoma humano é muito similar aos genomas do chimpanzé, do gorila e do camundongo e apresenta algumas similaridades com o genoma da mosca da fruta (*Drosófila melanogaster*), de alguns vermes e até de bactérias. Pode parecer inacreditável, mas o genoma humano contém, pelo menos, duzentos genes derivados das bactérias e essa pode ser a explicação pela qual as enzimas extraídas de algumas bactérias sejam úteis para analisar o nosso DNA.

Outra informação importante é a de que, dentro dos nossos genes, há algumas regiões em que os DNAs não produzem proteínas, enzimas ou hormônios. São justamente essas regiões que

possibilitam a realização de análises de DNA para identificações de paternidade, cadáver, crimes, pessoas desaparecidas, doenças e estudos antropológicos, entre outros.

Para finalizar essa informação técnica, é importante destacar que, quando se refere ao já famoso “exame de DNA”, subentende-se na maioria das vezes que o DNA é obtido das células do sangue, de líquidos corporais (ex.: sêmen, líquido, saliva) e de tecidos celulares. Por outro lado, quando se analisam ossos ou dentes, em que não há células ou tecidos vivos, o DNA é extraído das mitocôndrias, que são estruturas orgânicas importantes das nossas células. Assim, mesmo quando as células morrem, o DNA mitocondrial resiste por muito tempo, em parte pela sua estrutura, que é em forma de círculo e em parte pela própria mitocôndria, que é extremamente duradoura após a morte celular. Embora a quantidade de DNA mitocondrial seja sempre reduzida, há técnicas laboratoriais que o copiam milhares de vezes até torná-los possível de ser analisado. O DNA das mitocôndrias tem uma característica importante pois contém apenas os genes maternos e, por essa razão, hoje se sabe com fundamentos científicos que os seres humanos modernos surgiram na África. A nossa origem com base em pesquisas realizadas com DNA mitocondrial foi demonstrada em estudo feito por biólogos e antropólogos suecos no final de 2000, cujos resultados foram publicados na famosa revista científica britânica “Nature”. Esses pesquisadores analisaram o DNA das mitocôndrias de 53 pessoas e concluíram que toda a espécie de *Homo sapiens* emergiu da África nos últimos 100 mil anos. Além disso, os resultados desse trabalho mostraram que quase sete bilhões de pessoas que habitam o nosso planeta, descendem de uma linhagem reprodutora de não mais de 10 mil mulheres. Quando em 2001 o Projeto do Genoma Humano publicou suas análises na revista Nature sobre a espécie humana, ficou comprovado que os atuais europeus, e talvez pessoas de outros

lugares do mundo, descendem de algumas centenas de africanos que deixaram sua terra natal apenas há 25 mil anos.

Todas essas informações técnicas e antropológicas são necessárias para entendermos, com uma base biológica suficiente, o tema desse capítulo: como se analisa o DNA.



A vida no sertão do estado de Alagoas é de muito sofrimento, uma situação natural para o sertanejo desde o seu nascimento. Sem perspectivas de uma qualidade melhor de vida, a maior parte do povo sertanejo se resigna com o que o destino lhes reservou. Mas mesmo nessas regiões de pobreza e fome, as drogas têm livre acesso e extasiam muitos jovens.

Talisson, o filho mais novo de dona Maria do Socorro, se envolveu com alguns amigos de infância que agora, no início da fase adulta, passaram a traficar drogas para as elites do sertão. Inexperiente, Talisson se viciou, consumiu e não pagou por duas vezes consecutivas. Foi o suficiente para desaparecer repentinamente, sem deixar nenhum vestígio. Uma semana depois, a agonia de dona Maria era imaginar que seu filho de 16 anos havia sido executado. Desespero de mãe é não ter certeza de que seu filho esteja vivo ou morto. Um sofrimento que a fez envelhecer rapidamente a cada dia. Dona Maria buscou auxílio na polícia da cidade próxima ao vilarejo onde morava, mas o escrivão da delegacia aconselhou-a fazer o boletim de ocorrência do desaparecimento do filho, que já durava mais de um mês. Pode ter utilidade mais para frente, disse o escrivão.

Ao retornar ao vilarejo procurou os amigos de Talisson, mas nenhum deles colaborou para amenizar a angústia da mãe do colega desaparecido. Alguns até pediram para que ela esquecesse o desaparecimento, pois Talisson poderia ter ido para a capital, diziam. Dona Maria se consumia cada vez mais na sua aflição.

Passados quase sete meses do desaparecimento de Talisson, correu a notícia de que um cadáver sem cabeça havia aparecido no fundo de um açude, pois o mesmo secou ao longo da estiagem daquele ano. Diziam ainda que junto ao pé do cadáver havia uma pedra pesada e um emaranhado de cordão de náilon, indicando que o indivíduo foi morto e jogado no meio do açude, na certeza de que o corpo não voltasse à tona da pequena lagoa. A pobre mulher, ao saber da novidade, falou para si mesma – É o meu filho! Seu coração disparou e procurou saber onde ficava o açude. Era longe do vilarejo, cerca de 30 quilômetros para dentro do sertão. Não teve dúvidas, naquela mesma tarde conseguiu alguém que levasse até a porteira da fazenda onde estava o açude. Buscou informações com um trabalhador da fazenda e soube que a polícia havia recolhido os restos mortais para a perícia e depois seria enterrado como indigente. Dona Maria contou seu drama para o trabalhador que comovido, confidenciou que naquela manhã o cachorro vira-lata da fazenda ficou desassossegado ao passar pelo açude seco. Descobriu-se que o vira-lata havia farejado a cabeça do cadáver que estava semi-enterrada na lama do leito do açude. A cabeça ainda está lá, disse o trabalhador, como se fosse uma senha que permitisse à mulher o resgate da cabeça de seu suposto filho desaparecido.

Ao anoitecer, Maria do Socorro voltou ao açude e cavou com as mãos o local indicado em que estava a cabeça do cadáver. Seu coração disparou em batidas fortes quando retirou o crânio enlameado do buraco. Pegou-o como quem segura uma peça valiosa e delicada, pacientemente limpou-o com uns trapos de pano que havia levado e observou que não havia mais pele e nem cabelo. A seguir, embrulhou o crânio num pano branco de algodão e guardou-o com muito cuidado, em seu bernal.

Embora fosse uma pessoa muito simples e semi-analfabeta, sua inteligência foi capaz de ter arquitetado um plano para realizar, quando surgisse a notícia de que o corpo de algum

cadáver fosse encontrado na região. Alguns meses antes, dona Maria havia assistido, num programa de TV, à identificação de um cadáver pelo teste do DNA. Guardou direitinho o endereço que ouviu da repórter: Laboratório de DNA Forense da Universidade Federal de Alagoas. Rapidamente saiu da fazenda e caminhou a madrugada inteira até chegar na cidade mais próxima do vilarejo. De lá tomou um ônibus de linha e rumou para Maceió. Na rodoviária, ainda no início da tarde, perguntou como fazia para chegar ao Laboratório de DNA Forense. Após uma instrução mais ou menos entendida, foi caminhando e perguntando.

— Professor Luiz, tem uma senhora que precisa conversar com o senhor. Ela insiste em dizer que é muito importante!, disse o porteiro ao chefe do laboratório.

O professor, um senhor experiente, sentiu que o assunto devia ser realmente muito importante. Pediu para trazê-la ao seu gabinete e mal ela chegou à porta do gabinete, começou a retirar o crânio do seu bernal. O pesquisador arregalou os olhos e, antes que ele falasse qualquer coisa, dona Maria disse:

— Essa cabeça parece ser do meu filho desaparecido há 7 meses. Contou a história e a sua sensação de que se tratava do filho e se fosse confirmada ela enterraria o que restou do corpo de Talisson no cemitério da vila.

O Professor examinou o crânio, chamou sua esposa que trabalhava com ele na extração de DNA e juntos ficaram olhando para o crânio ainda atônitos e pensando nos trâmites burocráticos que deveriam ser observados. Decidiu cuidar da formalização da análise, solicitando inicialmente o boletim de ocorrência que o escrivão havia aconselhado a fazer, quando do desaparecimento do filho de dona Maria. A mulher do professor retornou ao gabinete exultante, pois as polpas de três dentes estavam em condições de extrair o DNA. O professor solicitou ao Serviço Social da cidade que amparasse dona Maria por três dias, tempo necessário para a coleta

de sangue dela e das informações da polícia. Depois disse à pobre mulher:

— Dentro de uma semana entre em contato comigo e a senhora saberá do resultado. E deu a ela o cartão do Laboratório, com seu telefone pessoal. A velha senhora abraçou-o emocionada com a atenção que recebera.



O professor pegou com extremo cuidado a mandíbula em que estavam os três dentes com suas polpas ainda conservadas. Fez a extração desses dentes com boticão especial, colocando-os num recipiente de vidro. As polpas foram raspadas com um bisturi e o resíduo desses tecidos foram colocados em um tubo, com um líquido próprio para separar o DNA de algumas células que resistiram ao tempo e às condições em que ficaram durante sete meses. Felizmente havia uma quantidade suficiente de DNA mitocondrial para análise. Com o uso de enzimas de bactérias, produzidas em laboratório para esse fim, o DNA foi cortado em pedaços. O mesmo procedimento foi feito no sangue de dona Maria do Socorro. Após algumas horas de tratamento químico, o DNA obtido das polpas dos dentes extraídos da mandíbula suspeita de ser o de Talisson e o DNA obtido das células do sangue de dona Maria foram analisados e surpresa... havia coincidências nas análises laboratoriais das duas amostras. Com 99,99% de chances de o crânio pertencer a Talisson assim a pobre mãe pôde enterrar com carinho e dignidade o que restou de seu filho.



Atualmente as análises laboratoriais de DNA ainda são feitas por laboratórios especializados. Há situações que se tornaram rotineiras, como os testes de paternidade em que se realizam os DNAs extraídos do sangue da criança, da mãe e do suposto pai. Porém, essa análise se torna mais difícil, quando somente estão disponíveis os DNAs do sangue da criança e do suposto pai. Como

esse teste se faz por meio de comparação entre pedaços do DNA, é desejável que, no teste de paternidade, tenha a participação da mãe, do filho e do suposto pai, pois a necessidade de reações químicas é menor e o teste tem um custo menor. Na ausência da mãe, que pode ocorrer por vários motivos, o custo é muito mais elevado devido ao maior número de reações bioquímicas necessárias. Assim, para cada caso específico, há também técnicas específicas.

Mas de uma forma geral, os procedimentos têm padrões semelhantes, notadamente depois que o Projeto do Genoma Humano, concluído em 2001, popularizou cientificamente o conhecimento dos principais genes humanos. Por essas razões, o pesquisador precisa saber qual a região do DNA que deseja ser analisada. Definida a região, é possível conhecer a sequência química do DNA, por exemplo: CACTGGACTGAAGCTAAGGATAG. A seguir, escolhe uma enzima bacteriana capaz de romper as ligações químicas do DNA, por exemplo: foi escolhida a enzima da bactéria *E.coli*, catalogada como **Eco-3**, que, ao encontrar a sequência GGA, promove a ruptura desse pequeno bloco de bases nitrogenadas quando identificadas na sequência do DNA. Assim, o que era uma estrutura inteira no exemplo acima, passa a ter cinco segmentos menores de DNA:

CACT – **GGA** – CTAGAAGCTAA – **GGA** – TAG

Esses segmentos com diferentes tamanhos e cargas químicas são fracionados por uma técnica conhecida por eletroforese de DNA e, dessa forma, é possível visualizar quatro frações de DNA: (CACT) (GGA) (CTAGAAGCTTAA) e (TAG). Os dois segmentos GGA, por serem idênticos, se fundem numa única fração que facilmente são identificadas por um técnico especializado.

Entre todas as técnicas disponíveis até o presente momento para analisar o DNA, a mais sensacional é aquela que permite identificar individualmente o funcionamento de cada gene do nosso genoma. São biochips bioquímicos impregnados com cópias de milhares de moléculas de DNA, pertencentes aos diversos genes

humanos, dispostos em um cartão plástico com as dimensões de um cartão de crédito. Essa técnica é conhecida por microarray (ou microarranjos de DNA). Há microarrays capazes de identificar sete, dez e até quinze mil genes do total dos 25 mil genes do nosso genoma. Ainda mais, por meio de procedimentos fluorescentes dos biochips, cada gene emite luminosidades em azul ou verde, que indica atividade normal do gene, e em vermelho, que revela atividade patológica do gene.

As análises das emissões luminosas de cada gene somente são possíveis por meio de um computador especial, capaz de realizar 1,2 trilhão de cálculos por segundo. Por essa razão é possível mapear quase todos os genes de uma pessoa e com os resultados pode-se supor que essa pessoa seja susceptível a desenvolver alguma doença. O campo da suposição ainda gera muita polêmica, pois há inúmeros interferentes biológicos da pessoa analisada e interferentes ambientais que podem desencadear ou podem eliminar o aparecimento de alguma doença. No momento, o microarray é a tecnologia que fornece a nossa identidade molecular. Enfim, o DNA que é o código da vida, pode se transformar num código de barra? Esse será o assunto do próximo capítulo.