UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

ANA PAULA MARTINS CARDOSO

TÉCNICAS DE GENÉTICA FORENSE: UMA REVISÃO SOBRE AS PRINCIPAIS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A OBTENÇÃO DE PERFIL DE DNA NA RESOLUÇÃO DE CRIMES E SUA IMPORTÂNCIA NO ÂMBITO JURÍDICO

Tubarão

2021

ANA PAULA MARTINS CARDOSO

TÉCNICAS DE GENÉTICA FORENSE: UMA REVISÃO SOBRE AS PRINCIPAIS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A OBTENÇÃO DE PERFIL DE DNA NA RESOLUÇÃO DE CRIMES E SUA IMPORTÂNCIA NO ÂMBITO JURÍDICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas, da Universidade do Sul de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.ª Maricelma Simiano Jung, MSc

Tubarão

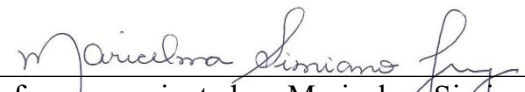
2021

ANA PAULA MARTINS CARDOSO

TÉCNICAS DE GENÉTICA FORENSE: UMA REVISÃO SOBRE AS PRINCIPAIS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A OBTENÇÃO DE PERFIL DE DNA NA RESOLUÇÃO DE CRIMES E SUA IMPORTÂNCIA NO ÂMBITO JURÍDICO

Esta Monografia foi julgada adequada à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas e aprovada em sua forma final pelo Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 29 de junho de 2021.



Professora e orientadora Maricelma Simiano Jung, MSc.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof.ª Emily Bruna Justino, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. Evandro Cittadin Soares, MSc.
Universidade do Sul de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família, por todo suporte que recebi durante toda a elaboração desse trabalho.

Aos meus amigos por todo o apoio e ajuda, em especial, ao meu melhor amigo e colega de faculdade, Adson Vargem Zomer, que não mediu esforços para me ajudar e estava sempre comigo nos momentos em que mais precisei.

À minha orientadora, Prof.ª Maricelma Simiano Jung, por todo seu comprometimento, dedicação, profissionalismo, apoio e todas as suas orientações que foram de suma importância durante toda a elaboração desse trabalho.

À banca examinadora, Prof.ª Emily Bruna Justino e ao Prof. Evandro Cittadin Soares por terem aceitado ler e qualificar meu trabalho.

“Todo contato deixa uma marca” (LOCARD, 1910).

RESUMO

Muitas das técnicas de genética forense são utilizadas para a resolução dos mais variados casos. Com isso, o estudo do DNA obtido a partir de vestígios biológicos é um instrumento importante para combater a criminalidade. Atualmente, tal área têm se tornado umas das mais inovadoras, com tecnologias que possibilitam conclusões em relatórios periciais, que ainda há pouco tempo eram inimagináveis. Nessa perspectiva, esse trabalho objetivou identificar quais as principais técnicas de genética forense utilizadas para obtenção de perfil de DNA na resolução de crimes e sua importância no âmbito jurídico. Sendo assim, foi realizada uma pesquisa bibliográfica, através de uma análise por meio da revisão de artigos científicos publicados no Portal de Periódicos CAPES/MEC e na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD). Para seleção dos artigos foram utilizados os seguintes descritores: (DNA forense) OR (biologia forense) AND (técnicas de genética forense), dentro de uma cronologia dos últimos 6 (seis) anos, entre 2016 e 2021, publicados em português e espanhol. Como resultado foram encontradas no total 4 publicações científicas em que condiziam com a proposta apresentada no presente estudo. Em relação as principais técnicas genéticas utilizadas na área forense, verificou-se que a utilização da PCR teve destaque por ser uma técnica eficiente. Quanto ao marcador molecular, o STR se mostrou o mais eficiente, por ocorrer com mais frequência na população. Por fim, pode-se verificar que os estudo relacionados à análise de DNA está avançando continuamente, tanto nas áreas de pesquisa científica, quanto na área tecnológica.

Palavras-chave: Genética Forense. DNA forense. Marcador molecular.

ABSTRACT

Many of the forensic genetics techniques are used to solve the most varied cases. Thus, the study of DNA obtained from biological traces is an important tool to fight crime. Currently, this area has become one of the most innovative, with technologies that allow for conclusions in expert reports, which were unimaginable a short time ago. From this perspective, this work aimed to identify the main forensic genetics techniques used to obtain a DNA profile in solving crimes and their importance in the legal field. Therefore, a bibliographical research was carried out, through an analysis through the review of scientific articles published in the Portal de Periódicos CAPES/MEC and in the Brazilian Digital Library of Theses and Dissertations (BDTD). For selection of articles, the following descriptors were used: (forensic DNA) OR (forensic biology) AND (forensic genetics techniques), within a chronology of the last 6 (six) years, between 2016 and 2021, published in Portuguese and Spanish. As a result, a total of 4 scientific publications were found that matched the proposal presented in this study. Regarding the main genetic techniques used in the forensic area, it was found that the use of PCR was highlighted for being an efficient technique. As for the molecular marker, STR proved to be the most efficient, as it occurs more frequently in the population. Finally, it can be seen that studies related to DNA analysis are advancing continuously, both in the areas of scientific research and in the technological area.

Keywords: Forensic genetics. DNA. Molecular marker.

SUMÁRIO

1 CARACTERIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA 8
2 OBJETIVOS 9
2.1 OBJETIVO GERAL 9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 9
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 10
3.1 HISTÓRIA DO DNA NO ÂMBITO CRIMINAL 10
3.2 POLIMORFISMOS DE DNA E SUA IDENTIFICAÇÃO 11
3.3 TÉCNICAS DE GENÉTICA FORENSE 14
3.3.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) 14
3.3.2 Polimorfismo do Comprimento do Fragmento (RFLP) 15
3.3.3 Eletroforese 16
***3.3.4 Southern Blotting* 19**
4 MÉTODOS 21
4.1 NATUREZA E TIPO DE PESQUISA 21
4.2 FONTE DA PESQUISA E PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA COLETA E ANÁLISE DE DADOS 21
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS DADOS 22
5.1 RESULTADO DA PESQUISA NAS BASES DE DADOS 22
5.2 PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS DO PORTAL DE PERIÓDICOS DA CAPES/MEC. 23
5.3 PUBLICAÇÕES CIENTIFÍCAS DA BIBLIOTECA DIGITAL BRASILEIRA DE TESES E DISSERTAÇÕES 25
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 29
REFERÊNCIAS 30

1 CARACTERIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA

A Ciência Forense é uma especialidade da Perícia Criminal que visa resolver questões no âmbito jurídico, auxiliando juízes e juris em inquéritos de processos jurídicos e questões civis. Tal área tem grande amplitude, abrangendo conhecimentos entre biologia, química, física e matemática, assim como balística, botânica, impressões digitais, entre outras (BARBOSA; ROMANO, 2018; BONACCORSO, 2005; JOBLING; GILL, 2004).

A utilização de marcadores genéticos na identificação de material biológico para fins jurídicos, tem se tornado ao longo dos anos um dos principais objetos da Genética Forense (BARBOSA; ROMANO, 2018; PINHEIRO, 2015). Atualmente tal área tem se tornado uma das mais inovadoras, com tecnologias que possibilitam conclusões em relatórios periciais, que há pouco tempo eram inimagináveis (ARAÚJO, 2018). Sendo assim, a genética forense apresenta um grande potencial em investigações judiciais, através de seus métodos genéticos e conhecimentos técnico-científicos (FILHO *et al.*, 2020).

Dessa forma, o estudo do DNA extraído de vestígios biológicos é um instrumento de suma importância para combater a criminalidade, podendo incriminar ou inocentar uma pessoa através das provas que são geradas (ARAÚJO, 2018). Tais vestígios são comumente encontrados nas ocorrências criminais, fazendo parte da rotina forense. Para que essas análises sejam feitas de forma justa a serviço da justiça, é necessário que sejam estabelecidas técnicas e procedimentos padrões para a obtenção de perfis genéticos confiáveis (BASTOS, 2018). Desta forma, no âmbito das investigações criminais, a perícia da genética forense em amostras biológicas de diferentes naturezas recolhidas em diferentes meios, inclui a sua investigação laboratorial para estabelecer características genéticas (PINHEIRO, 2015).

Diante do exposto, o presente trabalho pretende responder ao seguinte problema de pesquisa: quais as técnicas de genética forense utilizadas para a obtenção de perfil de DNA na resolução de crimes e sua importância no âmbito jurídico?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Levantar as técnicas de genética forense utilizadas para a obtenção de perfil de DNA na resolução de crimes e sua importância no âmbito jurídico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar quais as principais técnicas de genética forense utilizadas no âmbito jurídico;
- Identificar qual marcador molecular mais eficiente na área forense;
- Identificar a importância da genética forense na resolução de crimes;
- Verificar se há uma técnica indicada para cada tipo de caso.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 HISTÓRIA DO DNA NO ÂMBITO CRIMINAL

Desde o uso e reconhecimento das impressões digitais como características pessoais, o teste de DNA tem sido considerado a maior revolução científica no campo da medicina legal. A tecnologia de identificação baseada na análise direta de DNA tem pelo menos duas vantagens: a estabilidade química do DNA, mesmo depois de muito tempo, e por estar presente em todas as células nucleadas do organismo humano, de forma que os vestígios da cena do crime possam ser usados para condenar ou inocentar suspeitos de crimes (LEITE *et al*., 2013).

De acordo com Francez, Pombo e Silva (2020), desde a década de 80, o teste de DNA vem sendo utilizado para identificação humana. Tudo começou por volta de 1985, quando o cientista Alec Jeffreys descobriu que todos os indivíduos podem ser identificados a partir de padrões específicos por meio da análise de DNA (BERNATH, 2008). Segundo o autor, Jeffreys fez essa descoberta estudando um determinado gene, onde ele percebeu que existem diferenças entre as pessoas, que se diferiam ao longo da região do gene. Essas diferenças foram analisadas na forma de faixas de diferentes tamanhos por métodos indiretos. A partir daí, ele descobriu que essas regiões de tamanhos diferentes entre os indivíduos estão espalhadas por todo o genoma e, a partir dessas regiões, ele pode definir o que chama de "impressões digitais do DNA" ou "DNA *fingersprinting*" (BARBOSA; ROMANO, 2018; BERNATH, 2008). Em 1988 sua técnica foi usada oficialmente para resolver o caso Leicester, e desde então o uso de DNA forense vem sendo utilizado como principal ferramenta para solucionar casos criminais e no estudo de vínculo genético (BARBOSA; ROMANO, 2018).

Segundo Barbosa e Romano (2018), o primeiro caso solucionado através da análise de DNA, foi no assassinato de duas garotas, Lynda Mann e Dawn Ashcroft. Em 1983, no vilarejo de Narborough, na Inglaterra, foi encontrado o corpo de Lynda, de acordo com a polícia a garota tinha sido estuprada e assassinada logo em seguida. E em 1986 a polícia encontrou o corpo de Dawn, próximo a Narborough, onde a vítima também havia sido estuprada e assassinada do mesmo modo em que Lynda, e nos dois casos a polícia recolheu amostras de sêmen que tinham sido deixadas pelo estuprador, onde um homem chamado Richard Buckland confessou os dois crimes.

No mesmo local em que ocorreu os dois crimes vivia o cientista Alec Jeffreys, e na tentativa de solucionar o caso à polícia entrou em contato com o mesmo, para serem realizados testes de DNA com os sêmens encontrados nas vítimas, com o de Richard Buckland. Nesses

exames, eles descobriram que os sêmens encontrados eram do mesmo homem, mas não pertenciam a Richard. Na tentativa de encontrar o real estuprador a polícia realizou campanhas de doação de sangue na cidade, e com isso o cientista pode analisar cerca de 3.600 homens, mas nenhum tinha o DNA compatível. Após 2 anos do caso, uma mulher disse para a polícia sobre um funcionário de uma padaria chamado Ian Kelly, que ele havia doado sangue no lugar de seu colega Colin Pitchfork, ou seja, a polícia tinha o DNA de Ian como se fosse de Colin. Com isso, a polícia foi atrás de Colin, que deu uma amostra de seu sangue, confirmando então nos resultados do exame que o estuprador e Colin eram a mesma pessoa, entrando para a história como a primeira pessoa condenada por causa de um exame de DNA (BARBOSA; ROMANO, 2018).

Atualmente, o DNA Forense é utilizado em investigações no âmbito criminal e na esfera civil para investigações de paternidade. Tal método também é aplicado na identificação de outros fins, tais como: identificação de suspeitos em crimes sexuais; identificação de cadáveres carbonizados, mutilados, em decomposição, etc; cadáveres abandonados; aborto provocado; relação entre instrumento lesivo e vítima; investigação de paternidade em caso de gravidez resultante de estupro; estudo de vínculo genético entre outros (DOLINSKY; PEREIRA, 2007; LEITE *et al.,* 2005).

Deste modo, o avanço da Biologia Molecular permitiu caminhar no sentido de aprimoramento dos métodos de identificação humana, a tipagem individual relacionada ao DNA na década de 1980 tornou-se uma ferramenta poderosa. Desde o uso de impressões digitais, o teste de DNA se tornou a tecnologia de identificação humana mais importante (MILLARD, 2014).

3.2 POLIMORFISMOS DE DNA E SUA IDENTIFICAÇÃO

É possível encontrar nas células humanas nucleadas dois tipos de DNA, o DNA mitocondrial (DNAmt) e o DNA nuclear (DNAnu). No DNAnu seu núcleo é organizado em cromossomos, sendo altamente protegido e compactado por proteínas, chamadas de histonas. Atualmente o DNAnu é o preferencialmente utilizado para a identificação em casos forenses, podendo em algumas situações utilizar o DNAmt (PINHEIRO, 2015). O DNAmt é muito utilizada em questões relacionadas à parte materna, a análise de microssatélites do cromossomo Y tem sido uma excelente técnica usada em identificações humanas para solucionar casos de paternidade, uma vez que o mesmo é característica única da linhagem paterna (KOCK e ANDRADE, 2008). Além de suas diferenças estruturais, ambos apresentam distintas formas de

herança, onde o DNAnu é herdado do pai e da mãe, e o DNAmt possui herança uniparental materna (PINHEIRO, 2015).

A identificação genética de amostras biológicas utilizada na resolução de casos forenses, baseia-se na caracterização de polimorfismos do DNA, ou também chamados de marcadores genéticos, que são regiões não codificantes do genoma humano. Cerca de 3% do genoma humano é composto por repetições em *tandem*, cujas repetições são sequencias de DNA não codificante que se repetem sucessivamente, da qual a diferenciação entre os indivíduos da mesma espécie, se dá pelo número de repetições que cada indivíduo apresenta em um determinado *locus* de um par de cromossomos homólogos. Este tipo de herança relacionado ao número de repetições segue a lei da Herança de Mendel, assim como qualquer outro polimorfismo usado para fins forenses (PINHEIRO, 2015; VOET; VOET; PRATT, 2014).

Nos últimos anos, diversas técnicas foram desenvolvidas para estudar diferentes tipos de polimorfismos de DNA, no qual os cientistas podem escolher o método mais adequado para resolver o problema em questão (PENA, 2005). Atualmente o método mais utilizado é relacionado ao estudo dessas regiões repetitivas de DNA, sendo classificados em dois grupos, sendo eles chamados de minissatélites – VNTR's (*variable number of tandem repeats*) e microssatélites – STR's (*short tandem repeats*), classificado de acordo com o tamanho da sequência de repetição (PENA, 2005; PINHEIRO, 2015).

Tais regiões denominadas de microssatélites, tratam-se de marcadores genéticos designados de STR's, sendo compostas por uma sequência de DNA de 2-7 pares de base (pb) (**figura 1**), distribuída por todo o genoma e repetida em *tandem*. Seu tamanho de alelo é inferior a 350 pb. Regiões denominadas de VNTR's também designada como regiões minissatélites, são polimorfismos de DNA que consistem numa série de comprimento de repetições de fragmentos de DNA. Consiste em 500 a 1000 pb, compreendendo principalmente unidades repetidas em sequência, cada qual com cerca de 15 a 35 pb de comprimento (KOCK; ANDRADE, 2008; PINHEIRO, 2015).

Figura 1 – representação de sequência de DNA, apresentando 9 repetições consecutivas do bloco CTGA, exemplificando um microssatélite STR.

Fonte: PACHECO, 2010.

Em cada indivíduo o número dessas regiões de repetição podem variar, sendo assim, essa característica permite diferenciar os indivíduos de uma mesma população, mesmo sendo da mesma família, como irmãos que são filhos do mesmo pai e da mesma mãe, e até gêmeos dizigóticos, com exceção dos monozigóticos por possuírem informação genética idêntica até mesmo nesses marcadores, salvo raras exceções em caso de alguma mutação (PINHEIRO, 2015). Existem também outros tipos de polimorfismos, que ocorrem quando há inserção ou deleção de fragmentos do DNA (MILLARD, 2014).

Em perícias de Genética Forense é importante a análise destas sequências não codificantes de DNA, pelo fato de não estarem relacionadas com a síntese de proteínas e não haver nenhuma correlação que permita deduzir a predisposição dos dados da amostra biológica. Afirma-se que sequências de DNA codificantes, que possuem tais informações genéticas em relação à produção de proteínas é, na verdade, a mesma para todos os indivíduos. Sendo esta, uma das razões da qual estas regiões não são utilizadas para a identificação humana, sendo assim, não utilizadas no ramo da Genética Forense (PINHEIRO, 2015).

Por meio da tecnologia molecular, o DNA pode ser separado de outros componentes celulares, realizar cortes da molécula para manipulação, aumentar o número de cópias, separar a molécula e determinar a sequência de nucleotídeos do DNA de qualquer organismo (HEPP; NONOHAY, 2016). Técnicas como o Polimorfismo no Comprimento de Fragmento de Restrição (RFLP), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), Eletroforese, e *Southern Blotting* são utilizadas para uma ampla verificação em amostras de DNA na identificação de suspeitos (OLIVEIRA; FILHO, 2018).

De acordo com Millard (2014), de forma esquemática, estabelecer um perfil de DNA requer quatro passos principais: 1) a identificação de amostras biológicas (sêmen, sangue, entre outras); 2) a extração do DNA, ou seja, o tratamento da amostra biológica de modo a romper as células, extrair e purificar o DNA para processamento; 3) à amplificação do DNA extraído; 4) e por fim a separação e visualização do perfil DNA, visualizando os fragmentos STR por meio de um corante fluorescente e separá-los usando uma técnica específica de modo a possibilitar um perfil da amostra.

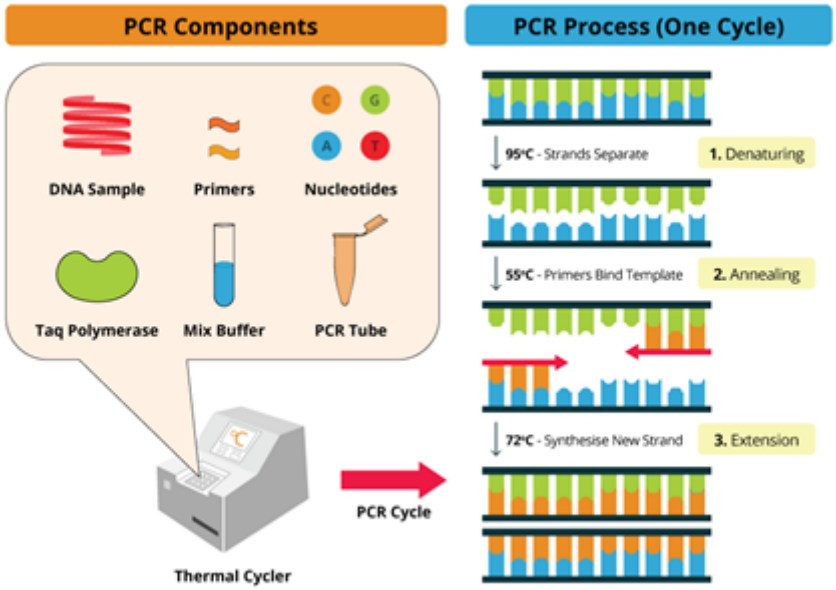
3.3 TÉCNICAS DE GENÉTICA FORENSE

3.3.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A técnica da reação em cadeia da polimerase – PCR (*polymerase chain reaction*), consiste em um método mais rápido e adequado para amplificar especificamente um DNA (VOET; VOET; PRATT, 2014). Tal técnica, permite amplificar uma molécula específica de DNA utilizando dois iniciadores (*primers*) complementares às extremidades do segmento que se quer amplificar, dNTP e uma DNA polimerase. Com isso, uma serie de reações cíclicas ocorre, consistindo em três etapas: inicialmente, chamada de etapa de desnaturação, a molécula de DNA é desnaturada através do aumento da temperatura por cerca de 95°C, então, as fitas se separam. A segunda, chamada de anelamento, onde a temperatura é então resfriada a 60°C, permitindo que cada iniciador pareie ou hibridize, com a sequência complementar presente no segmento a ser copiado. Em seguida, é denominada a fase de extensão, onde desenvolve-se através da polimerização da nova fita de DNA com o auxílio da enzima Taq polimerase, esse processo acontece a uma temperatura de 72°C. Entretanto, uma cópia do DNA é sintetizada a partir de cada iniciador, e o produto ao final das três etapas é usado como substrato para uma nova reação de amplificação, que é desenvolvida em sequência, com isso, o ciclo de desnaturação, hibridização e extensão é repetido muitas vezes para obter milhares de cópias do fragmento desejado. Vale ressaltar que todo esse processo é realizado através de um termociclador, que controla automaticamente a temperatura necessária em cada ciclo (MELLO; FONSECA-COSTA, 2005; ALMEIDA, *et al.*, 2010).

A amplificação do DNA por meio da técnica de PCR, tem se tornado uma ferramenta indispensável no estudo técnico-científico. Tal técnica, pode ser usada em diagnósticos de doenças e na detecção de eventos patológicos raros, onde no aspecto de análise forense, através de um único fio de cabelo ou do esperma encontrado no corpo da vítima é possível ser amplificado por meio da PCR, de modo que possa ser identificado de maneira eficiente o seu dador (VOET; VOET; PRATT, 2014).

Figura 2 – representação esquemática da técnica de PCR



Fonte: BOSTER, 2020.

Por sua alta sensibilidade, fácil realização e pelo baixo custo, a PCR é uma das técnicas mais utilizadas, por permitir que seja realizada variais cópias de uma determinada região do DNA (VIEIRA, 2011; OLIVEIRA; FILHO, 2018). Tal técnica é adotada como Padrão de Ouro (*Gold Standard*), ou seja, como prova definitiva em algumas situações (VIEIRA, 2011). Há relatos de casos, em que a partir da técnica da PCR, condenados puderam sair da prisão com base em seus resultados que provaram sua inocência (VOET; VOET; PRATT, 2014).

Em contrapartida, alguns problemas podem surgir, tal como a contaminação da amostra genética podendo gerar copias de DNA errôneas e com isso levar a conclusões periciais erradas (KINDERMANN; KLASS, 2006). Com isso, é importante frisar os cuidados que devem ser tomados na coleta dessas amostras e no manuseio das mesmas.

3.3.2 Polimorfismo do Comprimento do Fragmento (RFLP)

De modo geral, a técnica de Polimorfismo do Comprimento do Fragmento – RFLP (*derestriction fragment length polymorphism*) define-se como a identificação de diferenças genotípicas entre amostras de indivíduos diferentes, através de um comparativo referente ao tamanho dos fragmentos polimórficos do DNA, sendo estes obtidos por clivagem de enzimas

de restrição. Essas alterações no padrão de clivagem são detectadas utilizando a própria região polimórfica como sonda, esses padrões obtidos podem ser utilizados para estabelecer uma "impressão digital de DNA", onde é possível observar a diferença entre dois indivíduos (BRONDANI; PAIVA, 1992; ZAHA; FERREIRA; PASSALIA, 2014). Desse modo, a metodologia do RFLP consiste na mesma seguida em *Southern blotting,* podendo esta ser feita com o auxílio da PCR para ampliar uma região específica do DNA (PAVAN; MONTEIRO, 2014).

Apesar da técnica de RFLP ter sido amplamente utilizada desde sua invenção, seu procedimento consiste em numerosas etapas, exige uma grande quantidade de amostra de DNA e leva semanas para se obter um resultado, enquanto a técnica da PCR amplifica sequencias de DNA em poucas horas, sendo essa, uma grande desvantagem da técnica em questão (KOCK; ANDRADE, 2008).

O RFLP foi usado para diversas aplicações genéticas da análise desde sua invenção: para determinar o estado de doenças genéticas tais como a fibrose cística em um indivíduo; para determinar ou confirmar a fonte de uma amostra do DNA como em testes ou investigações penais de paternidade; no traço genético para determinar as taxas de recombinação que mostram a distância genética entre os *locus*; para identificar um portador de uma mutação de causa em uma família (PAVAN; MONTEIRO, 2014).

Com isso, vemos que o RFLP é um bom marcador molecular, por apresentar diversidade em aplicações e ser um marcador codominante, ou seja, onde é possível se diferenciar homozigotos de heterozigotos (PAVAN; MONTEIRO, 2014). Este marcador pode apontar relações de cruzamento entre casais, determinar relações de parentesco e até auxiliar na genética forense para resolução de crimes. Porém, entre as desvantagens dessa metodologia podemos citar o fato de ter alto custo para execução, utilizar sondas que são tóxicas e ser relativamente trabalhosa.

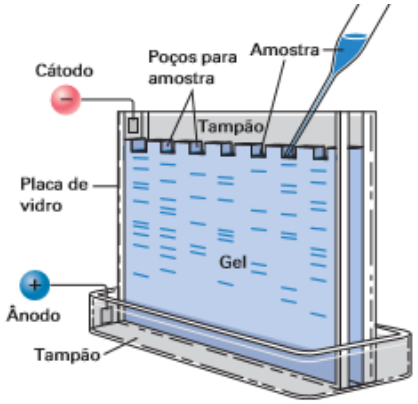
3.3.3 Eletroforese

A técnica de eletroforese é baseada na diferença de migração de compostos iônicos ou ionizáveis na presença de um campo elétrico (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012). Tal método consiste em uma separação e visualização de moléculas de DNA de acordo com sua compactação, forma e tamanho. Essas moléculas são submetidas a um campo elétrico, onde migram para um polo negativo ou positivo de acordo com sua carga, e seu fluxo migratório

depende de sua massa molecular (KOCH; ANDRADE, 2008; VOET; VOET; PRATT, 2014; ZAHA; FERREIRA; PASSALIA, 2014).

A realização da técnica de eletroforese se dá através uma matriz semelhante a um gel (**figura 3**), onde geralmente é composta por agarose ou poliacrilamida. O gel é mantido entre duas placas de vidro, onde as moléculas a serem separadas são aplicadas em uma das extremidades do gel e sob a influência de um campo elétrico migram pelos poros da matriz. As moléculas menores se movem através do gel mais rapidamente, dessa forma, migram mais longe em um determinado período (KOCH; ANDRADE, 2008; VOET; VOET; PRATT, 2014; ZAHA; FERREIRA; PASSALIA, 2014).

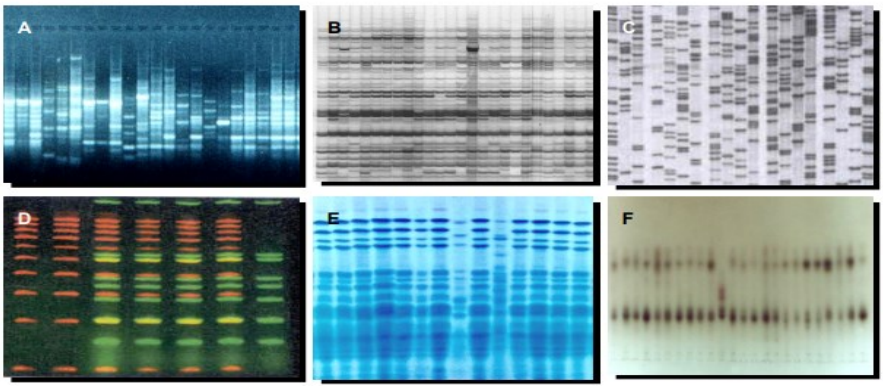
Figura 3 – representação esquemática da eletroforese em gel



Fonte: VOET; VOET; PRATT, 2014.

Após a realização da eletroforese, as moléculas são adicionadas para visualização em um gel através de um técnica apropriada (**figura 4**), como por exemplo, a adição de um corante que se liga fortemente ao DNA, por meio de uma marcação radioativa ou por sua fluorescência (KOCH; ANDRADE, 2008; VOET; VOET; PRATT, 2014; ZAHA; FERREIRA; PASSALIA, 2014).

Figura 4 – Diferentes sistemas de revelação dos géis: a) brometo de etídio; b) nitrato de prata; c) raio – X; d) quimiluminescência; e) coomasie blue e f) fast blue BB salt, α e β naftil acetato.

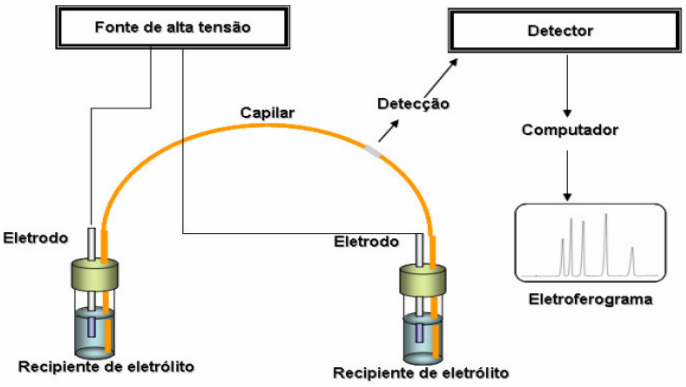


Fonte: BRAMMER, 2001.

Ao longo dos anos, a eletroforese tem sido aprimorada a fim de obter maior eficiência e reduzir o efeito térmico devido à aplicação de um campo elétrico. Para tanto, avanços na tecnologia de eletroforese têm permitido a introdução de colunas capilares nos sistemas de eletroforese, o que é denominado de Eletroforese Capilar – EC (*Capillary Electrophoresis*) (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012).

A eletroforese capilar (**figura 5**) consiste em separar rapidamente as moléculas carregadas, uma vez que, apesar das várias formas de eletroforese serem eficazes, em algumas situações elas podem levar várias horas para ficarem prontas, são difíceis de serem automatizadas e de difícil aplicação em análises quantitativas. Com o uso da eletroforese capilar, técnica onde a eletroforese é feita em tubos muito finos, tais dificuldades são superadas. Esses capilares têm a capacidade de dissipar o calor mais rapidamente, permitindo assim o uso de campos elétricos mais elevados, e consequentemente reduzindo o tempo da eletroforese em minutos (VOET; VOET; PRATT, 2014).

Figura 5 – representação esquemática da eletroforese capilar



Fonte: CAON, 2008.

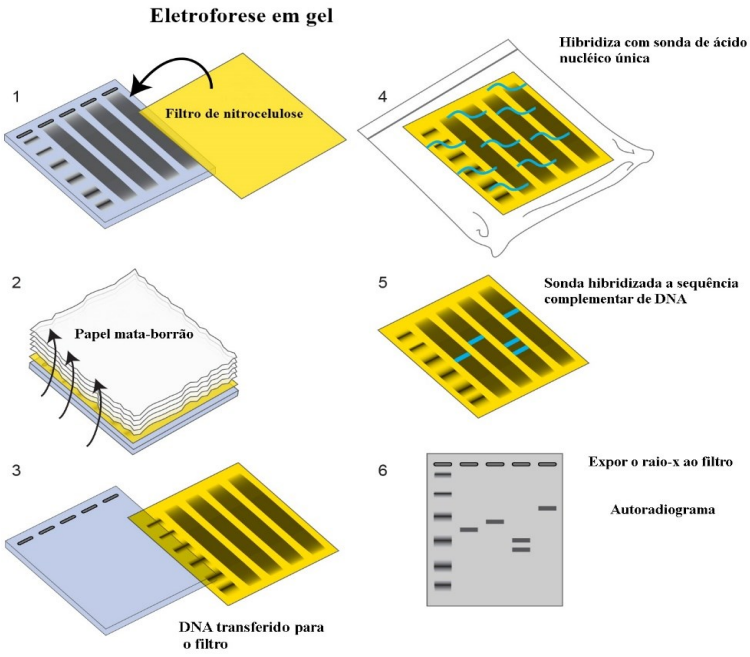
Tal técnica se apresenta promissora em diversos campos da ciências, destacando-se inclusive na Biologia Molecular (SPUDEIT; DOLZAN; MICKE, 2012). Desse modo, ressalta-se que a eletroforese capilar é amplamente utilizada em análises forenses, pelo fato de permitir que grandes quantidades de amostras sejam analisadas de forma automatizada, além de necessitar de poucas quantidades de amostra (LEITE *et al.*, 2013).

3.3.4 Southern Blotting

Outra técnica utilizada na perícia criminal é *Southern Blotting,* essa técnica consiste em uma forma de hibridização que detecta no DNA sequencias específicas. Nessa técnica, o DNA passa por um processo de clivagem com enzimas de restrição, podendo ser uma ou mais. Os fragmentos gerados são levados a eletroforese em gel de agarose, onde são separados (ZAHA; FERREIRA; PASSALIA, 2014). Posteriormente a eletroforese, os fragmentos de DNA de fita dupla são separados em fita simples, utilizando uma solução de 0,5M de NaOH. Dessa forma, o DNA fita simples, pode ser ligado a membrana de nitrocelulose, esta posta sobre o gel após a separação em fita simples do DNA. Os fragmentos de fita simples, são ligados à membrana exatamente na posição em que parou no gel, então depois da secagem à 80ºC da membrana, o DNA fixa de forma permanente na posição. A membrana seca pode ser umedecida minimamente com uma solução com a sonda de interesse incluída. Essa sonda pode ser de RNA que complementa a sequência desejada ou de DNA de fita simples. Após esse processo, a membrana precisa ser mantida a uma temperatura adequada para a hibridização da sequência de DNA com a sonda por algumas horas (VOET; VOET; PRATT, 2014).

O restante da sonda não ligada é removido em uma lavagem da membrana, que então é seca e analisada. Geralmente, as sondas são marcadas com um isótopo radioativo (32P) ou com um grupo florescente. No caso de ser uma sonda radioativa, é utilizada uma autorradiografia com a exposição da nitrocelulose a um filme de raio-X. O aparecimento de manchas escuras no filme que foi revelado, indica a posição das sequencias complementares à sonda radioativa usada. No caso de uma sonda fluorescente, é realizada uma fotografia digital usando um instrumento de imagem (VOET; VOET; PRATT, 2014).

Figura 6 – representação esquemática da técnica de *Southern Blotting*



Fonte: adaptado de INSTITUTE, 2020.

Apesar da técnica de *Southern Blotting* se mostrar muito eficiente, ela possui algumas desvantagens devido ao seu alto custo, ela também requer uma grande quantidade de DNA de alta qualidade, sendo essa, uma técnica bem trabalhosa (OOSTRA; WILLEMSEN, 2009).

4 MÉTODOS

4.1 NATUREZA E TIPO DE PESQUISA

Foi realizado uma pesquisa bibliográfica, através de uma análise por meio da revisão de artigos científicos publicados no Portal de Periódicos CAPES/MEC e na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD). Segundo Gill (2002), a pesquisa bibliográfica é desenvolvida com base em material elaborado, constituído principalmente de artigos científicos.

Esta pesquisa teve natureza qualitativa. Sendo assim, a análise consistiu, assim como afirma Gill (2002, p. 133), em "uma sequência de atividades, que envolve a redução dos dados, a categorização desses dados, sua interpretação e a redação do relatório".

4.2 FONTE DA PESQUISA E PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA COLETA E ANÁLISE DE DADOS

O levantamento de dados foi realizado no Portal de Periódicos da CAPES/MEC e na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD), sendo utilizado como parâmetro temático os seguintes descritores: (DNA forense) OR (biologia forense) AND (técnicas de genética forense). Dentro de uma cronologia dos últimos 6 (seis) anos, entre 2016 e 2021, dentre esses, foram utilizados os trabalhos em português e espanhol.

Foram selecionados artigos que abordassem o tema proposto, e para a análise desses artigos, foram seguidos alguns critérios de exclusão e inclusão.

Como método de exclusão, foram retirados os trabalhos que não apresentavam o tema proposto nesse presente estudo em suas palavras-chave ou títulos. E como método de inclusão foram pré-selecionados trabalhos que tratassem o tema proposto em suas palavras-chave ou títulos. Estes por sua vez, passaram pela seguinte triagem: 1) Inicialmente, foram lidos os seus resumos na tentativa de localizar os aspectos requeridos no trabalho, e selecionando os que tratassem sobre o que foi proposto nos objetivos desse presente estudo. 2) Logo após, esses foram lidos de forma mais seletiva afim de localizar a temática do trabalho, selecionando por sua vez, apenas os trabalhos que realmente apresentavam o tema de interesse nesse presente estudo. 3) Por fim, os dados coletados foram tabulados no *Microsoft Office Excel,* e analisado pela pesquisadora, a fim de se construir um banco de dados.

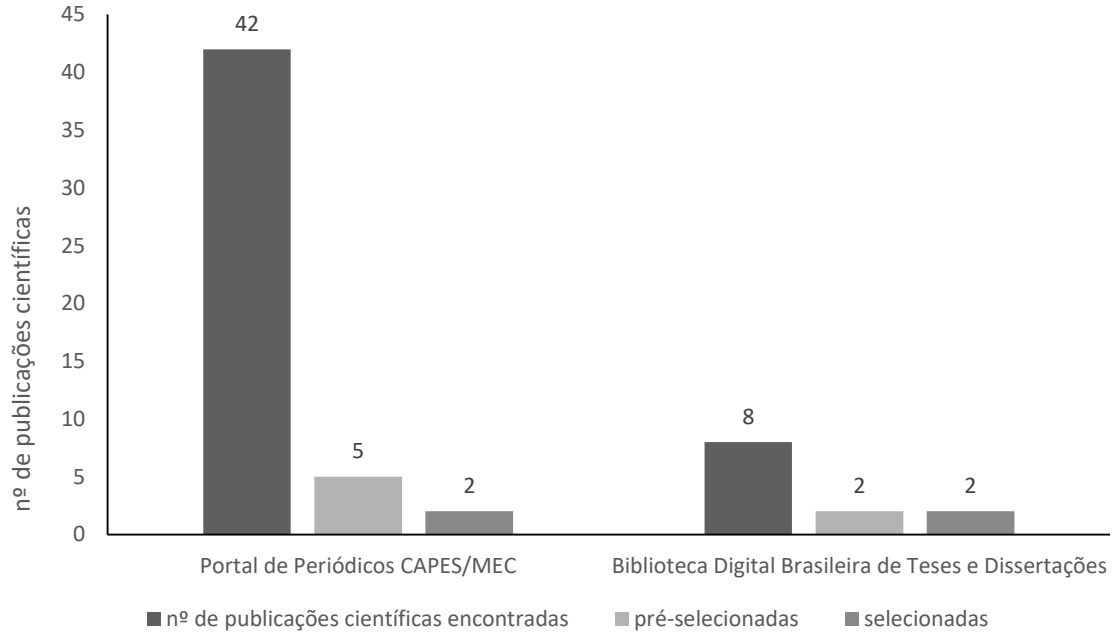
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS DADOS

5.1 RESULTADO DA PESQUISA NAS BASES DE DADOS

Foram encontradas, ao total, 4 publicações científicas, conforme o **gráfico 1**, em que condiziam com a proposta apresentada no presente estudo. No Portal de Periódicos CAPES/MEC, incialmente, foram encontradas 42 publicações cientificas, que a partir dos descritores pré-definidos neste trabalho, 35 foram excluídas, restando 5 publicações cientificas que foram pré-selecionadas a partir dos títulos e palavras-chave. Após essas publicações cientificas serem submetidas a uma leitura aprofundada dos resumos, foram selecionadas 2.

Na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações foram encontradas 8 publicações cientificas, sendo pré-selecionadas 2 a partir dos títulos e palavras-chave e, após serem submetidas a uma leitura aprofundada dos resumos, as duas foram selecionadas.

Gráfico 1 – número de publicações cientificas encontradas e selecionadas por base de dados



Fonte: da autora, 2021.

5.2 PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS DO PORTAL DE PERIÓDICOS DA CAPES/MEC

A primeira publicação científica selecionada é intitulada como: "Análise transdisciplinar do Banco Nacional de Perfis Genéticos: técnicas moleculares e aspectos jurídicos". Essa publicação tem como autores: Samantha Lopes Monteiro, Ívna Soares de Oliveira, Tarcísio André Amorim de Carvalho, sendo publicada na Revista Brasileira de Criminalística, no ano de 2019. O artigo tem como principal objetivo, realizar uma análise transdisciplinar do Banco Nacional de Perfis Genéticos (BNPG), e com isso fazer uma análise sobre sua funcionalidade, suas técnicas moleculares aplicadas e também discutir questões jurídicas.

Com base nos estudos feitos por Monteiro, Oliveira e Carvalho (2019), por ser uma técnica muito específica, a análise de DNA se tornou de ampla aplicabilidade na resolução de casos na área forense. Pois é possível fazer a ligação de um suspeito com a cena de um crime, assim como, a ligação de uma cena de crime com outra. Os autores ressaltam, que a técnica utilizada para identificação humana anteriormente era o RFLP, técnica que consiste em utilizar enzimas de restrição no objetivo de "cortar" o DNA em locais específicos, porém, tal técnica foi substituída por ser demorada e complexa demais. Com isso, surgiu a análise por meio da PCR, que está relacionada a detecção do polimorfismo de comprimento de sequência. A PCR é uma técnica realizada por meio *in vitro*, sendo utilizada para a amplificação do DNA e até mesmo do material genético encontrado em quantidade ínfima (MONTEIRO; OLIVEIRA; CARVALHO, 2019).

A respeito dos marcadores moleculares, Monteiro, Oliveira e Carvalho (2019), apontam que dentre os polimorfismos de comprimento existem regiões que apresentam repetições de DNA, as denominadas de VNTR's ou minissatélites e STR's ou microssatélites, sendo basicamente estes os únicos utilizados na atualidade. Porém, por possuir uma especificidade melhor em relação a diferenciação entre os indivíduos, o polimorfismo genético por meio de microssatélites se mostra o mais eficaz. Há também um outro marcador utilizado dentro da perícia criminal, que é o DNA mitocondrial ou mtDNA, que geralmente é utilizado quando a amostra a ser analisada esta muito degradada e não é possível extrair seu DNA nuclear.

Em 2006 no Brasil, o Ministério da Justiça, através da Secretaria Nacional de Segurança Pública, criou um protocolo onde ele padroniza os exames da perícia criminal, utilizando o CODIS (*Combined* DNA *System Index*) de 13 *loci* de STRs. Os 13 marcadores requeridos à elaboração dos perfis de DNA são: CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 e D21S11. Tal protocolo é de uso obrigatório

no Brasil, porém o laboratório pode utilizar mais marcadores, além dos 13 mencionados (MONTEIRO; OLIVEIRA; CARVALHO, 2019).

Nesse modo, os autores concluem que ao associar as investigações criminais com o estudo da identificação humana por meio da análise de DNA, tem gerado grandes avanços no combate ao crime. Com a criação do banco de dados, e a criação da Lei de Identificação Criminal por Perfil Genético no Brasil, gerou várias opiniões discutidas em outros países. Entretanto, o conhecimento do potencial dessa ferramenta poderá despertar o interesse de profissionais das áreas de biológicas e jurídica, para que possam melhorá-la e desenvolver outras aplicações no futuro (MONTEIRO; OLIVEIRA; CARVALHO, 2019).

A segunda publicação científica selecionada nessa base é intitulada como: "O papel de marcadores moleculares na genética forense". Essa publicação tem como autora: Daniele Decanine, sendo publicada na Revista Brasileira de Criminalística, no ano de 2016. O artigo tem como principal objetivo fazer uma revisão sobre as principais tecnologias utilizadas na genética forense, com ênfase nos marcadores moleculares.

Conforme os estudos de Decanine (2016), a utilização da biologia molecular em resolução de crimes, tem evoluído ao longo desses últimos anos. Sua principal aplicação tem sido no teste de identificação humana, onde são utilizados marcadores não fenotípicos de um único nucleotídeo. A seleção desses marcadores para análise forense é determinada principalmente pelo seu polimorfismo, além de garantirem o anonimato do indivíduo analisado.

Obviamente, as evidências biológicas, principalmente as genéticas, conquistaram posição de destaque nos tribunais criminais, passando de provas complementares a bases de decisões judiciais. Do ponto de vista social, o uso de marcadores de DNA é uma das ferramentas mais revolucionárias para a análise da identidade humana, porém, existem muitos obstáculos na prática forense atualmente, incluindo a pressão do judiciário para dar uma resposta mais eficaz (DECANINE, 2016).

Com ênfase nos marcadores moleculares, a autora aponta que o STR apesar de ser similar ao VNTR, no microssatélite há um grande número de diferentes alelos, inclusive maior do que o encontrado em VNTR, o que os torna ainda mais útil para identificação humana. Porém, quando analisado individualmente não se faz tão eficiente quanto ao VNTR, e com isso, é preciso uma análise em conjunto de vários *locus* STRs para garantir resultados confiáveis. Há também a possibilidade de fazer a análise a partir do mtDNA, nos casos em que a análise por meio de STR se torna difícil devido a sua quantidade ou qualidade de DNA, porém vale ressaltar que tal análise não é tão informativa como as análises por meio de STR, mas é tão útil como (DECANINE, 2016).

No estudo, a autora também menciona que a utilização de marcadores forenses Y-STR, tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, ressaltando sua importância principalmente em casos de violência sexual, mas que também pode ser muito útil em análises de parentesco, devido ao seu padrão de herança paterna. Seu único ponto negativo destacado pela autora, seria devido a sua taxa de mutação, por ser muito baixa, é difícil fazer a diferenciação de indivíduos do sexo masculino da mesma família (DECANINE, 2019).

Decanine (2019) traz em seus estudos novas perspectivas que poderão ser utilizadas futuramente para a análise de DNA forense, uma delas, é o sequenciamento de próxima geração (NGS), uma tecnologia com capacidade de alto rendimento e baixo custo, podendo ser aplicada para analisar simultaneamente múltiplos *loci* de interesse forense em diferentes contextos genéticos. Ressalta também, que em breve tal tecnologia deve substituir o STR convencional.

Outra perspectiva que a autora traz, é que os cientistas forenses pretenderem fazer a transição da eletroforese capilar para o sequenciamento paralelo maciço (MPS), utilizando-os para aperfeiçoar as análises de perfis genéticos. Tal tecnologia promete várias vantagens sobre a eletroforese capilar, uma delas seria STR multiplex com números ilimitados de *loci* gênico e SNP, sem restrição de separação de tamanho e um maior poder de discriminação (DECANINE, 2019).

Com isso, a autora conclui que a Biologia Molecular tem cada vez ganhado mais espaço e se tornado mais útil no âmbito jurídico. Por outro lado, ressalta também sobre a inovação e os novos conhecimentos que estão sendo adquiridos e aperfeiçoados ao longo dos anos, trazendo novas tecnologias que prometem ser mais eficientes e mais satisfatórias com o custo benefício (DECANINE, 2019).

5.3 PUBLICAÇÕES CIENTIFÍCAS DA BIBLIOTECA DIGITAL BRASILEIRA DE TESES E DISSERTAÇÕES

A primeira publicação científica selecionada nessa base é intitulada como: “Identificação Genética e Crime: a introdução dos bancos de DNA no Brasil”. Essa publicação tem como autor: Vitor Simonis Richter, sendo publicada na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, no ano de 2016. O trabalho tem como principal objetivo, buscar uma compreensão etnográfica dos nexos entre ciência, direito, tecnologia, segurança e poder em torno do processo de introdução dos bancos de perfis genéticos no Brasil. Portanto, essa presente revisão deu ênfase ao segundo capítulo da tese, intitulado como: “Bancos de DNA

para fins criminais: novas configurações de um estilo de pensamento", onde aborda sobre a PCR e a multiplicação dos marcadores STR .

No estudo, o autor afirma que a PCR se tornou extremamente importante no ramo da genética forense por três razões. 1) por sua agilidade no resultado dos perfis genéticos, permitindo assim um resultado em um menor tempo. 2) por permitir que sejam analisadas pequenas porções de DNA. 3) pela possibilidade que a PCR trazia de criar iniciadores que buscassem uma multiplicidade de sequências desejadas, permitindo a comparação de mais *lócus*, e sucessivamente aumentando sua precisão de identificação (RICHTER, 2016).

Richter (2016) aponta que os STRs assim como os VNTRs, são regiões polimórficas hipervariáveis. Entretanto, enquanto os VNTRs são muito grandes para serem amplificados, os STR são compostos por apenas de 2 a 7 pares de bases. No entanto, ao contrário dos VNTRs, os STRs, ocorrem com mais frequência na população. Apesar do aumento da probabilidade de STRs serem encontrados nas populações de referência, a possibilidade do uso de maior número de marcadores permite chegar a probabilidades muito baixas de encontrar aleatoriamente o mesmo conjunto de repetições de pares de bases nas regiões analisadas.

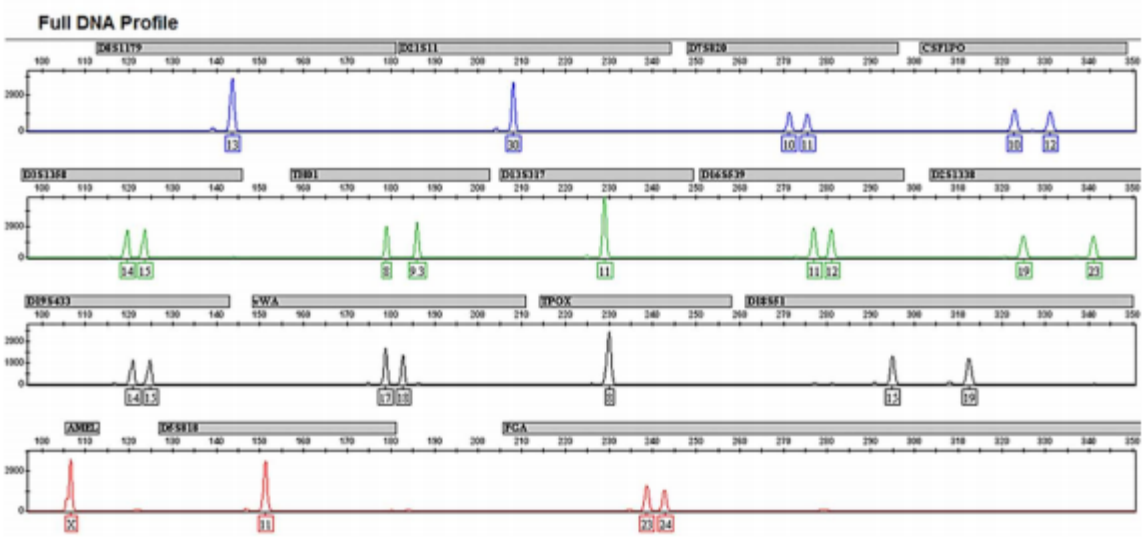
Richter (2016), também ressalta que a combinação entre PCR e marcadores STR permitiriam o surgimento de uma série de características que viriam transformar e reduzir as fontes de incertezas que a identificação genética carregava. Além disso, permitindo também a chance de diminuir a probabilidade de encontrar perfis geneticamente iguais, possibilitando que as amostras degradadas fossem usadas com mais segurança pelos cientistas. Pois as sequências curtas dos STRs, resistem por mais tempo às reações químicas que atingiriam a molécula de DNA durante sua exposição na cena do crime. Como vantagem, a combinação entre PCR e marcadores STR traz uma nova forma de visualização das repetições encontradas nos marcadores genéticos.

A análise baseada no VNTR e na autorradiografia de eletroforese em gel, obtém uma análise mais subjetiva ao comparar as posições do VNTR na imagem gerada pela autorradiografia. Na análise por meio dos STRs, promete fornecer um resultado exato das sequencias de pares de bases em cada região analisada, através de um programa chamado de eletroferograma.

O método de eletroferograma consiste em alguns passos, o primeiro é fazer com que o DNA amplificado pela PCR, seja lançado através de um tubo capilar de eletroforese. Assim como na eletroforese por agarose usada até então, o movimento da molécula de DNA é gerado pela aplicação de um campo elétrico. No final deste tubo, um raio laser faz a leitura do tamanho das sequências repetidas em cada marcador STR de acordo com a velocidade que os fragmentos

passam por ele. Visto que, os fragmentos menores percorrem mais rápidos e os maiores são mais devagar. No mais, logo após todo esse processo, uma imagem digital é gerada em forma de um gráfico, permitindo visualizar picos coloridos referentes ao tamanho das repetições encontradas em cada local do genoma em que foi analisado, conforme podemos analisar na **figura 7** (RICHTER, 2016).

Figura 7 – Imagem de eletroferograma



Fonte: RICHTER, 2016.

Dessa forma, o autor conclui que a combinação entre PCR e STR, traz muito além do que mudanças em sua precisão, agilidade, e confiabilidade na identificação forense. Também contribui para impulsionar mudanças organizacionais e administrativas no trabalho de investigação policial (RICHTER, 2016).

A segunda publicação científica selecionada nessa base, é intitulada como: “Banco de dados de perfis genéticos Y- específicos como ferramenta na investigação de crimes sexuais”. Essa publicação tem como autora: Grasielly de Oliveira Lázaro e Arão, sendo publicada na Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações, no ano de 2019. O trabalho trata-se de uma pesquisa aplicada descritiva, que tem como principal objetivo a criação de um Banco *in house* de Vestígios de Perfis Genéticos para os marcadores STR do cromossomo Y (BVPG-YSTR), com ênfase na elucidação de crimes sexuais.

Inicialmente, Arão (2019) destaca que o banco de vestígios que contem perfis genéticos de amostras coletadas em cenas de crime e são tipadas com marcadores Y-STR, podem ser utilizadas para fins de investigação criminal. Ou seja, o banco de vestígios Y-STR pode atuar

como ferramenta na elucidação de crimes, pois permite a comparação sistemática das amostras inseridas e reporta as coincidências haplotípicas entre diferentes casos.

No estudo, as amostras foram selecionadas a partir de vestígios de crimes sexuais, ocorridos no estado de Goiás. Foi cedido pelo Laboratório de DNA Forense do estado de Minas Gerais, uma versão primaria do *software* do banco de vestígios, tal programa conta com 3 botões básicos: 1) Marcadores, utilizados para incluir os marcadores genéticos Y-STR. 2) Perfis, utilizado para a inserção ou edição de perfis genéticos. 3) Pesquisar, utilizado para a pesquisa de perfis coincidentes. Para a realização do seu estudo, no BVPG-YSTR, foram inseridos perfis haplotípicos provindo exclusivamente de vestígios relacionados a crime sexual contra pessoa do sexo feminino e que apresentaram perfil genético de qualidade (ARÃO, 2019).

Foram obtidos resultados satisfatórios sobre a eficiência do BVPG-YSTR. Além disso, também foi observado que no caso de um resultado negativo relacionado a pesquisa de espermatozoide, possivelmente pode-se pensar que isso pode mascarar a hipótese de conjunção carnal. Porém, a autora conclui que é possível obter o perfil genético usando os marcadores Y-STR de células epiteliais do agressor deixadas na vítima durante o ato sexual, ou até mesmo de outras células nucleadas presentes no líquido seminal, como por exemplo, células germinativas imaturas ou até mesmo leucócitos (ARÃO, 2019).

Com base nisso, podemos observar um achado muito importante na pesquisa de Arão (2019), onde podemos ver que os marcadores Y-STR são ferramentas genéticas promissoras quando a análise com marcadores autossômicos é inconclusiva, advindas por exemplo, de agressores sexuais vasectomizados ou quando não houve ejaculação durante o ato.

A autora ressalta que o banco de perfis genéticos Y-STR pode corroborar com a investigação policial, a fim de identificar crimes e fornecer subsídios para iniciar uma investigação. Tendo em vista os resultados benéficos na redução da reincidência de crimes, na agilidade da investigação, na redução do dinheiro público utilizado para a prevenção do crime e na colaboração no processo de julgamento e condenação (ARÃO, 2019).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação as principais técnicas genéticas utilizadas na área forense, verificou-se poucos estudos relacionados ao tema. Entretanto, no estudo de Monteiro, Oliveira e Carvalho (2019), os autores destacam sobre a utilização da PCR como uma técnica muito mais eficiente que o RFLP, sendo essa uma técnica mais complexa e demorada. O que corrobora com o estudo de Richter (2016), onde o autor ressalta a importância da técnica no ramo da genética forense, sendo que PCR é a técnica mais indicada, por ser precisa e ágil, ou seja, temos resultados muito mais rápidos, e também permite que sejam analisadas quantidades ínfimas de DNA.

O marcador molecular STR se mostra eficaz por ocorrer com mais frequência na população, conforme visto nos estudos analisados. Com isso, a combinação da PCR e dos marcadores STR pode trazer resultados muito mais precisos. Há também outros marcadores moleculares que podem ser utilizados em algumas situações especificas, como o mtDNA, utilizado em casos referente a linhagem materna, ou quando não é possível utilizar o STR pela sua qualidade ou quantidade. Apesar disso, não foi possível relacionar cada técnica utilizada com cada tipo de caso, porém o Y-STR se mostra como marcador molecular importante utilizado em casos específicos, como o de abuso sexual.

Um achado bem interessante nessa revisão, são as novas perspectivas que poderão ser utilizadas futuramente para a análise de DNA forense, o que parece ser muito promissor trazendo benefícios dentro da área da genética forense prometendo ser mais eficientes e mais satisfatórios.

Diante disso, vemos que o ramo da Biologia Molecular tem ganhado mais espaço e se tornado mais útil no âmbito jurídico, auxiliando em casos forenses a terem mais precisão e confiabilidade em suas provas genéticas. Vimos que os estudos relacionados a análise de DNA está avançando continuamente, tanto na área de pesquisa cientifica quanto na área tecnológica, que os torna indispensável um conhecimento mais aprofundado sobre o tema em questão.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P. *et al*. Aplicabilidade das técnicas de biologia molecular para a compreensão da foliculogênese inicial em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.34, n.3, p.133-148, jul./set. 2010.

ARÃO, G. O. L. **Banco de Dados de Perfis Genéticos Y específicos como Ferramenta na Investigação de Crimes Sexuais.** 2019. 111 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação STRICTO SENSU em Genética) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia-GO.

ARAÚJO, M. C. **O DNA como ferramenta de identificação humana e a sua importância no trabalho da perícia criminal.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) – Centro Universitário CESMAC, Maceió, 2018.

BARBOSA, R. P.; ROMANO, L. H. História e importância da genética na área forense. **Revista Saúde em Foco**, ed. 10, p. 300-307, 2018.

BASTOS, G. V. **Utilização do kit DNA IQ™ system na extração de DNA por lise diferencial em amostras coletadas de vítimas de crime sexual.** 2018. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2018.

BERNATH, V. El ADN como herramienta para la resolución de procesos judiciales. Pasado, presente y futuro. **Química Viva.** Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires, v.7, n.2, p 103-112, jul./ago., 2008. Disponível em: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86370203. Acesso em: 26 out. 2020.

BONACCORSO, N. S. **Aplicação do Exame de DNA na elucidação de crimes.** 2005. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Medicina Forense) – Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2005.

BOSTER. Antibody and ELISA expert. **PCR PRINCIPLE:** Learn the fundamentals of molecular biology, cDNA libraries and genomic libraries, and polymerase chain reaction (PCR). 2020. Disponível em: https://www.bosterbio.com/protocol-and-troubleshooting/pcr-principle. Acesso em: 30 nov. 2020.

BRAMMER, S. P. **A técnica de eletroforese: importância e aplicações em análises genéticas.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. (Embrapa Trigo. Documentos *Online*; 6). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do06.htm. Acesso em: 24 nov. 2020.

BRONDANI, C.; PAIVA, E. **Utilização da técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) no monitoramento da bactéria Azospirillum brasiliense sp 245 em trigo.** Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991, Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS, 1992.

CAON, K. **Estudo de interação da série homóloga dos p-hidroxibenzoatos de alquila com micela aniônica utilizando eletroforese capilar**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

DECANINE, D. O papel de marcadores moleculares na genética forense. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 18-27, 2016.

DOLINSKY, L. C.; PEREIRA, L. M. C. V. DNA forense artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista.** Universidade do Grande Rio – Unigranrio/ Duque de Caxias – RJ. 2 (2): 11-22, 2007.

FILHO, C. R. D. *et al*. Introdução a Genética Forense. *In*: FILHO, C. R. D; MENEZES, M. A. M; FRANCEZ, P. A. C. **História da genética forense.** Editora Millennium, 2020.

FRANCEZ, P. A. C; POMBO, A. M. L; SILVA, R. S. Risco de contaminação por DNA de alto peso molecular e por amplicons em Laboratório de Genética Forense no Brasil. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 9, n. 2, p. 85-94, 2020.

GIL, A. C. *et al*. Como elaborar projetos de pesquisa. São Paulo: **Atlas**, 2002.

HEPP, D; NONOHAY, J. S. A importância das técnicas e análises de DNA. **ScientiaTec**, v.3, n. 2, p. 114-124, 2016.

INSTITUTE, National Human Genome Research. *Southern Blotting*. 2020. Disponível em: https://www.genome.gov/genetics-glossary/Southern-Blot. Acesso em: 30 nov. 2020.

JOBLING, M. A.; GILL, P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 10, p. 739-751, 2004.

KINDERMANN, F; KLAAS, I. **Técnicas de biologia molecular.** 2006. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (Endodontia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

KOCH, A.; ANDRADE, F. M. A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão; **RBAC**, v. 40 (1), p.17-23, 2008.

LEITE, V. S. *et al*. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. **Derecho y Cambio Social**, 2013.

LIMA, L. M. **Conceitos Básicos em Biologia Molecular**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA-2009-09/22214/1/DOC191.pdf> acesso em: 11 de nov. 2020.

MELLO, F. C. Q; FONSECA-COSTA, J . A utilidade da biologia molecular no diagnóstico da tuberculose. **Jornal brasileiro de pneumologia**, São Paulo , v. 31, n. 3, p. 188-190, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-37132005000300002&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 30 nov. 2020. https://doi.org/10.1590/S1806-37132005000300002.

MILLARD, G. H. **Aspectos científicos, técnicos, éticos e legais do DNA forense.** 2015. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.

MONTEIRO, S. L; OLIVEIRA, Í. S; CARVALHO, T. A. A. Análise transdisciplinar do Banco Nacional de Perfis Genéticos: técnicas moleculares e aspectos jurídicos. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 8, n. 1, p. 48-53, 2019.

OLIVEIRA, T. S; FILHO, A. V. Técnicas de biologia molecular utilizadas para desvendar crimes. **Saúde & Ciência em Ação**, v. 4, n. 1, p. 89-102, 2018.

OOSTRA, B. A.; WILLEMSEN, R. FMR1: a gene with three faces. **Biochim Biophys Acta**, v.1790(6), p.467-77, 2009.

PACHECO, A. C. **Emprego de miniSTRs "non-CODIS" em amostras biológicas de DNA forense.** 2010. Tese (Mestre em Biotecnologia) – Programa de Pós-graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT. Instituto de Ciências Biomédicas, USP. São Paulo, 2010.

PAVAN, M.G; MONTEIRO, F.A. Técnicas moleculares aplicadas à sistemática e ao controle vetorial. *In*: Vetores da doença de chagas no Brasil. Curitiba: **Sociedade Brasileira de Zoologia**, 2014, pp. 241-260. Zoologia: guias e manuais de identificação series. ISBN 978-85-98203-09-6. *Available from* SciELO *Books* .

PENA, S. D. J. Segurança Pública: determinação de identidade genética pelo DNA. Seminários Temáticos para a 3ª Conferência Nacional de C, T & I. **Parcerias Estratégicas**, v.20, p 447-460, 2005. Disponível em: http://laboratoriogene.info/Cientificos/Seguranca_Publica.pdf. Acesso em: 26 out. 2020.

PINHEIRO, M. F. Criminalística Biológica. *In:* CORTE-REAL, F.; VIEIRA, D. N. **Princípios de genética forense**. Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press, 2015. 197 p.

RICHTER, V. S. **Identificação Genética e Crime: a introdução dos bancos de DNA no Brasil.** 2016. Tese (doutor em Antropologia Social) – Programa de Pós Graduação em Antropologia Social da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Filosofia e Ciências Humanas. Porto Alegre, 2016

SPUDEIT, D. A; DOLZAN, M. D; MICKE, G. A. Conceitos básicos em eletroforese capilar. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 287-297, 2012.

VIEIRA, D. P. **Técnicas de PCR: Aplicações e Padronização de Reações.** 2011.

VOET, D; VOET, J; PRATT, C. W. Nucleotídeos, Ácidos Nucleicos e Informação Genética. *In*: VOET, D; VOET, J; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica.** Porto Alegre: Artmed; 4ª ed. 2014.

ZAHA, A; FERREIRA, H. B; PASSALIA, L. M. Biologia Molecular Básica. 5 Ed. Porto. Alegre: **Artmed**, 2014.