

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FLÁVIA CRISTINA RIBEIRO PIAZZA RA: 125111355571

KARINA SILVA DE SOUZA RA: 125111374094

LIA MACIEL DE SOUZA MOREIRA RA: 125111353673

MÔNICA APARECIDA ROSSI RA: 12511134891

**O USO DA BIOLOGIA MOLECULAR NAS CIÊNCIAS FORENSES PARA
IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS EM LOCAIS DE CRIME:
BENEFÍCIOS E NOVAS PERSPECTIVAS.**

PIRACICABA-SP

2023

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

FLÁVIA CRISTINA RIBEIRO PIAZZA RA: 125111355571

KARINA SILVA DE SOUZA RA: 125111374094

LIA MACIEL DE SOUZA MOREIRA RA: 125111353673

MÔNICA APARECIDA ROSSI RA: 12511134891

**O USO DA BIOLOGIA MOLECULAR NAS CIÊNCIAS FORENSES PARA
IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS EM LOCAIS DE CRIME:
BENEFÍCIOS E NOVAS PERSPECTIVAS.**

PIRACICABA-SP

2023

RESUMO

O desenvolvimento da biologia molecular possui grande relevância na ciência forense, além de fornecer provas confiáveis através a análise de DNA no meio jurídico, ainda há a criação de um banco de perfis genéticos que auxiliam na identificação de criminosos, todavia é pertinente estimular avanços nas técnicas já conhecidas bem como o desenvolvimento de novas técnicas para que estes vestígios encontrados em cenas de crime se tornem provas irrefutáveis nos tribunais.

Palavras-chave: DNA forense, biologia molecular, pericia forense, PCR.

ABSTRACT

The development of molecular biology has great relevance in forensic science, in addition to providing reliable evidence through DNA analysis in the legal environment, there is still the creation of a bank of genetic profiles that help in the identification of criminals, however it is pertinent to stimulate advances in techniques already known as well as the development of new techniques so that these vestiges found in crime scenes become irrefutable evidence in the courts.

KEYWORDS: Forensic DNA, molecular biology, forensic expertise, PCR.

1. INTRODUÇÃO

A biologia molecular é a ciência que estuda a estrutura e função do material genético, tendo como foco as proteínas, que são seus produtos de expressão. Sua função é investigar todas as interações que ocorrem com o DNA (Ácido Desoxirribonucléico) na formação do RNA (Ácido Ribonucleico) e suas proteínas. O campo de estudo é muito abrangente, unindo bioquímica, biologia celular e genética (FRUEHWIRTH, DELAI, FOLHA, 2017).

Sabe-se que durante o ato criminoso diversos tipos de evidências biológicas podem ser transferidas para objetos e locais utilizados pelo infrator. A biologia molecular é uma ciência que fornece ferramentas para as ciências forenses buscarem respostas diante de crimes cometidos, tornando-se muito importantes para as investigações periciais por deixarem pistas fundamentais para a elucidação dos casos e, possivelmente, ajudarem a culpabilizar ou inocentar suspeitos, então o aperfeiçoamento da biologia molecular e suas ferramentas proporciona maiores recursos e creditação para as análises dentro dos diversos campus das ciências forenses. (FRANCISCO, 2021; AGUIAR, 2015).

As técnicas de biologia molecular na área forense são de suma importância, pois podem ser utilizadas em quase todos os tipos de investigação criminal como homicídio, lesão corporal, crime sexual, identificação de cadáveres carbonizados, mutilados ou em decomposição, relação entre instrumento lesivo e vítima, entre outros, e a correta realização de todos os procedimentos desde a coleta até a análise dos resultados com a utilização de técnicas da biologia molecular certifica a confiabilidade dos dados regressando o presente estudo fazendo uma revisão sobre as técnicas de biologia molecular que foram desenvolvidas nas últimas décadas e são utilizadas na prática como ferramentas pela ciência forense (FRUEHWIRTH, DELAI, FOLHA, 2015; PRADO & REIS, 2016; OLIVEIRA, 2018).

2. OBJETIVOS

Frente ao exposto, o objetivo deste trabalho é identificar quais os métodos da biologia molecular e da genética forense dispõe para desvendar os diversos tipos de crimes por intermédio da análise de DNA , com intuito de identificar o(s) indivíduos (s) envolvidos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo compreende em uma revisão integrativa, as revisões integrativas buscam descrever ou discutir o estado atual do tema pesquisado, selecionando os trabalhos consultados de acordo com o ponto de vista teórico e o contexto do tema abordado.

Com isso será realizado um levantamento bibliográfico utilizando-se como descritores os DECS e MeSH(inglês) : DNA forense, técnicas de biologia molecular, perícia criminal, PCR, utilizando as seguintes plataformas de pesquisa SCIELO (Scientific Electronic Library Online) e LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), em língua portuguesa e inglesa. Como critérios de seleção serão considerados os artigos com dados bibliográficos que abordam técnicas e materiais usados para desvendar crimes e outras informações específicas correlacionadas ao assunto.

Como estratégia de busca utilizamos a estratégia PICO. Onde "P" são os beneficiados nesse contexto os investigadores pela agilidade para elucidar os crimes. "I" através de amostras como fio de cabelo, digitais , sangue , esperma , saliva , urina, tecidos moles ,ossos entre outros. "Co" O material de DNA contribui para desvendar os crimes, com este avanço os números de casos esclarecidos foram muito maior e bem mais rápido para a população .

4. RESULTADOS

Após a busca nas bases de dados com os descritores e filtros previamente definidos foram localizados 60 estudos. A partir da leitura do título e do resumo foram, excluídos 40 artigos por não abordar a temática em estudo diretamente e incluídas 20 publicações. Posteriormente as leituras na íntegra das investigações atendiam aos critérios de elegibilidade.

Nos estudos incluídos foram descritos amostras como fio de cabelo , unhas , saliva provas com a qual junto com a ciência forense e a biologia molecular , são indispensáveis para desvendar os crimes e seus culpados.

Na Tabela 1 descreve-se o ano, a quantidade de publicações relacionadas aos anos selecionados na pesquisa para análise e o seu respectivo percentual. Foram encontrados estudos publicados a partir de 2015.

Tabela 1: Distribuição dos artigos conforme os anos de publicação

Ano	Número	Percentual (%)
2015	2	10
2016	2	10
2017	3	15
2018	5	25
2019	1	5
2020	1	5
2021	5	25
2022	1	5

A Tabela 2, os dados estão apresentados a quantidade e o percentual de publicações de acordo com os descritores selecionados para a pesquisa que foram DNA forense, biologia molecular, pericia forense, PCR.

Tabela 2: Distribuição dos artigos conforme os descritores

Descritores	Número	Percentual (%)
DNA forense	5	25
Biologia Molecular	8	40
Perícia criminal	4	20
PCR	3	15

De 60 artigos excluímos e utilizamos 20 artigos relevantes, onde se trata dos assuntos de ciência forense e biologia molecular.

Tabela 3: Biologia molecular e ciência forense importância nos crimes.

Título / Ano / País	Resultados	Conclusão
Técnicas de biologia molecular na genética forense / 2016 / Brasil .	Apenas uma porção de algum vestígio biológico, como sangue, sêmen ou até cabelos e pele, pode ser utilizado na identificação humana através de técnicas moleculares como reação em cadeia polimerase.	a maioria dos vestígios biológicos encontrados na cena do crime, são fáceis de serem coletados, manuseados, acondicionados e transportados, e são necessários apenas microlitros para conseguir realizar a análise.
Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana / 2017 / Brasil.	Pode-se inferir que o DNA possui diversas aplicações na identificação humana, principalmente em casos de degradação ou escassez das amostras coletadas e em casos de estupros	Torna-se essencial salientar que, apesar dos obstáculos, é de suma importância investir-se em condições ideais para realizar-se exames genéticos, na melhoria da preservação das amostras biológicas da cena de delito e no banco de dados nacional de perfis genéticos
Ciências forenses: princípios éticos e vieses / 2021 / Brasil.	As ciências forenses abrangem profissionais de diversas áreas e com formações variadas, cujos conselhos profissionais muitas vezes adotam normas deontológicas elencadas nos respectivos códigos de ética.	Entende-se, portanto, que os profissionais das ciências forenses devem ter treinamento contínuo, assim como orientação e formação ética e legal voltadas para os dilemas e casos específicos de suas funções, buscando prevenir vieses e parcialidades.

Título / Ano / País	Resultados	Conclusão
Biologia molecular na perícia criminal e implementação do CODIS no Brasil : Aplicações e perspectivas / 2021/ Brasil.	Foram demonstradas diversas áreas possíveis de aplicação da biologia molecular como instrumento de suma importância para investigação na perícia criminal. Além disso, foi possível a ilustração dos principais marcos regulatórios da inserção do CODIS no Brasil,	Ressalta-se a importância da atuação dos Poderes executivos, Legislativo e Judiciário de modo a intensificar projetos de leis visando ampliação dos crimes
Biologia Molecular e Forense no Ensino Médio / 2021 / Brasil.	Foram utilizadas simulações lúdicas, como a paternidade, cena de crime, PCR e eletroforese, além da prática experimental de Extração de DNA, permitiram aos estudantes levantarem hipóteses, testá-las, chegarem à solução dos problemas elencados e argumentarem seu posicionamento frente aos colegas.	Desse modo evidencia a importância da utilização de metodologias ativas como as propostas neste estudo em escolas do Ensino Médio. Assim, os estudantes conseguem atribuir maior significado aos temas abordados,
O impacto das técnicas de biologia molecular na resolução de crimes/2021 /Brasil.	O DNA pode ser utilizado na identificação de restos humanos acometidos na área criminalística, para a resolução de crimes contra a dignidade sexual e avaliação da relação entre suspeito, vítima e objetos	Pode-se afirmar que a biologia molecular possui grande relevância na ciência forense, pois além de fornecer provas confiáveis no âmbito jurídico, ela possui como um dos seus principais produtos a criação de bancos de perfis genéticos.
A perícia Forense e a análise de vestígios em locais de crime / 2018 /Brasil	Após o incidente de uma prática delituosa será encontradas no local materiais elementos para a resolução do mesmo e identificação do indivíduo.	A Perícia Forense tem como função viabilizar de forma precisa a identificação dos agentes, locais e vestígios envolvidos.
Estudo de DNA de toque em situações simuladas para finalidades forenses / 2021 / Brasil	Esse estudo mostrou que de forma geral o tipo de superfície de extração do DNA pode afetar significativamente na recuperação do DNA para ambos os métodos de extração.	O tipo de superfície em qual o material foi depositado influência na obtenção e qualidade dos perfis , dependendo da porosidade e rugosidade que ele possui.

Título / Ano / País	Resultados	Conclusão
Perícia e Ciência forense / 2017 / Brasil.	É possível definir prova como tudo aquilo que confirma ou estabelece a verdade de um fato a análise de DNA enquadra-se, nos Códigos da Lei, como corpo de delito e prova concreta para diversos casos criminais e civis.	O uso da análise de DNA mostrou-se um dos maiores avanços técnicos da investigação criminal do século XX.
O DNA Como Ferramenta De Identificação Humana E a Sua Importância No Trabalho Da Perícia Criminal / 2018 / Brasil.	A existência ou inexistência de vínculo genético, podem ser observadas, associando o conjunto de características hereditárias ou padrões fenotípicos (bandas) que individualiza cada indivíduo.	A investigação criminal, gera resultados que contribuem significativamente, em auxílio aos processos de culpar ou de inocentar, encontrando o suposto suspeito.
Técnicas de biologia molecular aplicadas a perícia e ciência forense/2015 / Brasil	Esclarecer dúvidas sobre DNA as características e as técnicas moleculares utilizadas na elucidação e descrição forense.	os procedimentos analíticos sejam cíveis ou criminosos, são totalmente dependentes fazer o uso do DNA.
A influência da PCR na perícia criminal 2022 revista amazônica Science Health / 2022 / Brasil.	Em todo crime cometido o autor deixará evidências ainda que a um grau minúsculo a nível microscópico.	comprovar a eficácia da técnica da PCR nas lucidações de crime através das amostras biológicas coletadas.
Técnicas de biologia molecular utilizadas para desvendar crimes / 2021 / Brasil / 2018 / Brasil.	Artigos relacionados as técnicas de genética forense, ADN, técnicas moleculares e reação em cadeia de polimerase sendo utilizadas nas cenas de crime.	estudo da genética forense, junto com as técnicas inovadoras da biologia molecular ficou de fato comprovadas que ambas auxiliam na investigação criminal.
Vestígios biológicos e técnicas moleculares aplicadas na investigação Criminal / 2016 / Brasil.	Descrever o uso do DNA, extraído de diversos vestígios encontrados na cena do crime.	Genética forense de suma importância para esclarecer os crimes bem como a correta manipulação dos vestígios biológicos coletados no local do crime e dos procedimentos realizados em laboratório.

Título / Ano / País	Resultados	Conclusão
A importância do biomédico na biologia molecular e hematologia forense / 2021 / Brasil.	Ao ser comparado com outros testes presuntivos, utilizado nas buscas de indícios criminais, o luminol sobressai-se, pois é o mais sensível, efetivo e seletivo para detectar manchas de sangue. Já para os testes de certeza, reações efetuadas por métodos químicos como Teichmann e Takayama, confirmam a presença de sangue na amostra.	A identificação de amostras forenses por DNA representa a maior revolução da esfera criminal. O Biomédico Forense é o grande ator dos Laboratórios de Genética Forense, contribuindo com a produção de resultados.
Uso e Benefício da Biologia Molecular nas Ciências Forenses e sua Aplicação no Banco de Perfis Genéticos / 2020 / Brasil.	a importância do uso da biologia molecular no âmbito forense, os benefícios da aplicação da Lei, bem como a evolução e a contribuição do banco de dados de perfis genéticos no país, através de relatórios emitidos pela Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos (RIBPG).	Os relatórios demonstram o grande crescimento na inserção de perfis genéticos de todas as categorias.
A aplicação de técnicas moleculares de DNA na investigação forense / 2018 / Brasil.	O desenvolvimento de técnicas de análise de DNA foi responsável por um grande avanço na investigação forense.	Neste estudo são abordados alguns aspectos referentes às principais técnicas disponíveis na análise de DNA e sua utilização, como a PCR, a Eletroforese e a Southern Blotting.

5. DISCUSSÃO

5.1 Biologia Molecular

A Biologia Molecular é uma área que tem como objeto de estudo as moléculas de DNA e RNA, encontradas em nosso organismo como saliva, sêmen, cabelos, pelos, unhas, sangue e ossos, a síntese proteica e as transmissões genotípicas de geração para geração, sendo por isso, uma das disciplinas adotadas pela Ciências Forenses, que buscando embasar investigações referentes à justiça criminal e civil (BRAULIO, 2016).

O DNA, por sua vez, é uma macromolécula formada a partir da ligação de unidades de nucleotídeos compostas por uma base nitrogenada, um açúcar e um fosfato, existem quatro tipos de bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina e timina) que formando arranjos no material genético dos seres vivos possibilitam a identificação e diferenciação humana pelo código genético (BRAULIO, 2016).

O DNA é uma molécula extremamente longa, formada por duas cadeias de polinucleotídeos enrolados de forma helicoidal e ligados transversalmente através de pontes de hidrogênio, o DNA genômico é encontrado internamente ao núcleo de cada célula do corpo humano, e representa uma fonte de DNA para quase todas as aplicações forense é onde estão inseridos todas as informações genéticas responsáveis pelas atividades celulares, e também, pelas características do indivíduo (SILVA E FRAGIOSA, 2018; BARROS E COLABORADORES, 2021).

O processo envolvendo a biologia molecular nas ciências forenses inclui: 1) coleta de amostras biológicas por perito criminal; 2) extração, purificação e quantificação do DNA; 3) análise dos loci; 4) visualização dos fragmentos e caracterização (com o uso da Eletroforese) e PCR Real Time; 5) interpretação e análise comparativa dos resultados (Frohlich e colaboradores 2018)

A Perícia Criminal é atividade que utilizando da interdisciplinaridade das ciências forenses, busca elucidar crimes a partir de metodologias de cunho técnico e científico. O perito criminal com especificação em biologia forense procura identificar indivíduos com uso da biologia molecular a partir de vestígios biológicos deixado em locais de crimes (SILVA E FRAGIOSA, 2018; BARROS E COLABORADORES, 2021)

No Brasil a legislação em vigor previstos nas leis nº 12.037/2009; lei nº8.072/1990; lei nº 12.654/2012, que dispõe sobre a identificação do civil, obrigando a coleta e armazenamento no banco de dados do material genético de indivíduos condenados por crimes dolosos com violência de natureza grave contra a pessoa ou condenados por qualquer dos crimes de natureza hedionda (BRAULIO, 2016).

Com base nestas leis sobre coleta e armazenamento de informações de DNA, um banco de dados criminais foi criado para fazer comparação dos perfis genéticos obtidos de suspeitos com os cadastrados no banco e identificação de criminosos a partir de outros crimes, a tecnologia em questão pode ser usada para provar a inocência ou culpa de suspeitos, identificar restos mortais e amostras biológicas. No Brasil, o procedimento é bem mais recente: a lei que prevê a coleta de DNA de criminosos e estipula a criação de um banco de dados de perfis genéticos foi sancionada pela presidente Dilma Rousseff em maio de 2012, mas só foi homologada no final do ano 2016, até o momento, 20 laboratórios forenses que contribuem para a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIPBG), gerida pela Polícia Federal (SANTIAGO, SIQUEIRA E BARCELOS, 2020).

As técnicas de biologia molecular aplicadas a área criminal concentram-se, em grande parte, em análises do DNA para identificação de um indivíduo a partir de cabelos, manchas de sangue e fluidos corporais, entre outros itens recuperados no local do crime (FRUEHWIRTH E DELAI, 2015).

5. 2 Vestígios Biológicos

Diferentes tecidos e fluidos biológicos obtidos no local de crime pode ser fonte de DNA como sangue, ossos, dentes, cabelo, saliva, tecidos mumificados, congelados e de líquido amniótico, muitas vezes, os vestígios são encontrados em parcelas ínfimas, por isso, são necessárias medidas corretas para evitar desperdícios do material que comprometam sua posterior análise. É importante realizar a coleta de maneira adequada, acondicionar e armazenar das amostras seguindo os critérios padronizados de cada espécie de vestígio (PRADO E REIS, 2017; SILVA E FRAGIOSA, 2018).

O sangue é o vestígio mais frequente em locais de crime contra a vida, como homicídio, aborto, suicídio e nos crimes de lesão corporal, pode ser encontrado em diversas formas líquida, coagulada e seca, a forma de apresentação desse vestígio, o padrão das manchas e até a tentativa ocultação ou lavagem são questões de interesse pericial criminalístico (PRADO E REIS, 2017; SILVA, MORONG E SILVA, 2018; SILVA E FRAGIOSA, 2018).

O sangue pode ser encontrado em estado líquido, seco, úmido ou coagulado, essas variações refletem na coleta das amostras, na forma líquida a coleta pode ser feita swab que deve secar para ser armazenado em envelope de papel, também pode ser feita com seringa e pipeta, uma vez que a amostra é transferida para tubo de coleta com anticoagulante. Na forma seca usa-se swab umedecido com água destilada ou raspagem com lâmina, o material também é acondicionado em

envelope de papel para evitar proliferação de microrganismos, a forma úmida geralmente está em tecidos e roupas e se procede com a coleta da peça que é encaminhada ao laboratório, a individualização do sangue se dá por um conjunto de análises como:

- o tipo sanguíneo (fator ABO e RH);
- caracterização das enzimas das células vermelhas;
- marcadores genéticos e
- pelo perfil de DNA (SILVA E VENTURA, 2020; SILVA, MORONG E SILVA, 2018; SILVA E FRAGIOSA, 2018; PRADO E REIS, 2017).

Já a saliva é um vestígio que normalmente encontrado em locais de crime que envolve homicídio, agressão ou crimes contra a dignidade sexual (estupro e atentado violento pudor), detecta-se geralmente em marcas de mordida, cigarro, copos, garrafas, talheres, cartas, envelopes entre outros, sua identificação é feita por exames químicos pela pesquisa de sulfocianeto de potássio e a enzima ptialina, além de métodos físicos usando a fluorescência da amilase, imunocromatográficos que detecta a amilase usando anticorpos monoclonais específicos, além disso, a análise do perfil genético pela análise do DNA das células do epitélio bucal (PRADO E REIS, 2017; SILVA, MORONG E SILVA, 2018; SILVA E FRAGIOSA, 2018).

O sêmen é um líquido de aspecto leitoso composto por espermatozoides e líquido seminal (mistura de secreções da próstata, vesícula seminal e glândulas bulbouretrais), o líquido seminal coagula depois de 5 min que foi ejaculado pela ação das proteínas das vesículas seminais, e após 10 a 20 min o sêmen dissolve-se pela atividade das enzimas e dos antígenos produzidos pela próstata, a identificação de sêmen no local do crime está ligado aos crimes contra a dignidade sexual como estupro e atentado violento ao pudor, sendo de suma importância para realizar a identificação do agressor. Esses vestígios podem ser encontrados em roupas, lençóis, estofados, tapetes, entre outros, são usados testes químicos para detecção de colina e fosfatase ácida e testes imunológicos pela identificação de antígeno prostático específico (PSA), e complementarmente é feita a extração de DNA dos espermatozoides para posteriores testes específicos de identificação (PRADO E REIS, 2017; SILVA, MORONG E SILVA, 2018).

Ossos e Dentes são os vestígios biológicos mais analisados em casos de acidentes aéreos, catástrofes ambientais, explosões e outros desastres em massa na qual a identificação humana por métodos convencionais de papiloscopia, antropologia e odontologia forense são prejudicados pelo estado de conservação dos corpos (SILVA E VENTURA, 2020). Por isso, a genética forense é uma alternativa para identificação dos cadáveres, já que as amostras de ossos e dentes possuem uma

matriz mineral que conserva o material biológico e preserva o DNA para posteriores análises, as principais fontes de DNA são ossos longos como fêmur, tíbia e úmero, já em relação aos dentes os molares e pré-molares possuem bons resultados de amplificação do DNA (SILVA, MORONG E SILVA, 2018; PRADO E REIS, 2017).

Já os pelos e os cabelos são estruturas filiformes anexas à pele, são constituídos de duas partes a haste (porção acima do nível da epiderme) e a raiz (formada pelo folículo piloso e bulbo, rica em células foliculares que permitem a extração do DNA), eles apresentam três fases de crescimento anágena, catágena e telógena, a verificação das etapas que os pelos e cabelos são encontrados e o estado da raiz permite identificar se ocorreu tratamento químico, se o cabelo foi arrancado, cortado ou se caiu naturalmente, podendo ser encontrado em diversos tipos de locais de crime como homicídio, estupro, sequestros, lesão corporal sendo detectadas em escovas de cabelo, pente, roupas, cama, móveis, interior do veículo, piso entre outros, utiliza-se uma pinça para pegar os vestígios no local do crime, em seguida são colocados em envelope de papel para serem transferidos ao laboratório são feitas análises macroscópicas que verificam as características externas do fio como: forma, cor, comprimento, textura, presença ou ausência da raiz, já na análise microscópica poderá ser determinado se é pelo ou fibra, a origem animal ou humana, a presença de tratamento químico, presença de danos, doenças, e a possível região do corpo (PRADO E REIS, 2017; SILVA, MORONG E SILVA, 2018).

A abordagem da Biologia Molecular como apresentado estuda amostras e vestígios biológicos para questões judiciais, englobando o estudo de temas relativos à estrutura e replicação do DNA, bem como a transcrição, a tradução e a regulação destes processos, essa área da ciência aborda ainda técnicas como a extração do DNA, amplificação de sequências de microssatélites (DNA repetitivo) pela Reação em Polimerase de Cadeia (PCR) e eletroforese, que realiza a comparação de moléculas de DNA (CARDOSO E COLABORADORES, 2021).

5.3 Técnicas De Biologia Molecular

Pode se afirmar que a etapa mais importante durante o processo de identificação genética é a extração do DNA, pois é a partir desta amostra que serão realizadas a reação em cadeia da polimerase (PCR) e as demais técnicas biomoleculares subsequentes utilizadas para identificação (CARVALHO, MIRANDA E FREITAS, 2021; OLIVEIRA E FILHO, 2018).

A PCR é um procedimento realizado *in vitro* de alta especificidade e aplicabilidade, gerando DNA suficiente para a realização de análises posteriores, para cada ciclo de PCR é necessário

etapas de desnaturação, pareamento, e síntese do fragmento de DNA, a desnaturação da fita rompe as pontes de hidrogênio permitindo a abertura da fita; ocorre através do calor, e logo em seguida ocorre a anelação do primer com uma das fitas de DNA, a enzima DNA polimerase é responsável por realizar a extensão do primer deixando-os estendidos. A repetição dessas etapas permite a amplificação de uma amostra de DNA (AGUIAR, 2016; MUNYSE E COLABORADORES, 2022; OLIVEIRA E FILHO, 2018).

Para estudos forenses esta é técnica principal e mais utilizada por não ter alto custo e ser de fácil aplicação. A única desvantagem é o aparecimento de manchas ou rastros, que pode ter como causa amostras de DNA de má qualidade, ou seja, amostras contaminadas ou fragmentadas (AGUIAR, 2016; MUNYSE E COLABORADORES, 2022; OLIVEIRA E FILHO, 2018).

Para a realização da técnica é necessárias as seguintes etapas:

- Amostra: qualquer amostra biológica de origem humana;
- Os primers: são fitas de DNA que tem em torno de 18 a 22 nucleotídeos, responsáveis pela identificação correta dos genes a serem amplificados;
- Desoxirribonucleicos Fosfatos (dNTP's): responsável pela produção de cópias da amostra amplificada;
- Taq-polimerase: extraída da bactéria *Thermus aquaticus* encontrada em fontes termais, sendo responsável por sintetizar novas cadeias de DNA;
- Cloreto de Magnésio e o tampão da PCR auxiliam a enzima polimerase;
- Termociclador: para a realização da desnaturação do DNA é necessária a alteração das temperaturas sendo o termociclador o responsável por essa alteração, anelamento dos primers e a extensão das novas cadeias de DNA (MUNYSE E COLABORADORES, 2022; OLIVEIRA E FILHO, 2018).

A desnaturação ocorre na temperatura em torno de 94-97°C; a hibridização dos primers ocorre em torno de 50-65°C; e a síntese de DNA ocorre em torno de 72°C. A cada ciclo de 25 a 45 minutos são realizados a amplificação gerando o triplo de fragmentos de DNA (CARVALHO, MIRANDA E FREITAS, 2021; OLIVEIRA E FILHO, 2018).

A eletroforese é uma técnica que consiste na visualização e separação das moléculas de DNA de acordo com seu tamanho, forma e compactação, através da ação de uma corrente elétrica, e géis de agarose ou acrilamida, o DNA migra para o polo positivo, pois sua carga é negativa. Por ter tamanhos diferentes, quanto maior for o fragmento de DNA, mais lenta será a migração da molécula, a comparação é feita através da distância percorrida no gel pelos fragmentos conhecidos,

os fragmentos de DNA de mesmo tamanho podem ser visualizados na presença do brometo de etídio, que é um composto intercalante responsável pela fluorescência do DNA quando exposto a luz ultravioleta (AGUIAR, 2016; CARVALHO, MIRANDA E FREITAS, 2021).

Southern Blotting é outra técnica utilizada na perícia criminal que consiste na hibridização dos ácidos nucleicos com o objetivo de localizar a posição de um determinado gene na fita de DNA, ou seja, sequências de DNA iguais ou semelhantes no genoma, enzimas de restrição realizam a fragmentação do DNA, que serão separados em eletroforese por gel de agarose, os fragmentos são desnaturados e transferidos para uma membrana de nylon ou nitrocelulose, na qual será realizada uma imobilização com radiação ultra violeta (UV) para a membrana de nylon, e uma imobilização de calor para as membranas de nitrocelulose. São utilizadas sondas de DNA e RNA marcadas com radioatividade no qual os fragmentos hibridizados são marcados com por autorradiografia revelando qual fragmento contém o gene clonado (AGUIAR, 2016; CARVALHO, MIRANDA E FREITAS, 2021).

É utilizada também a técnica do Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição (RFLP) para amplificação de uma determinada região do DNA através da PCR, e utiliza enzimas de restrição denominadas endonucleases, que tem como função reconhecer e recortar sítios específicos do DNA formando os fragmentos que serão separados por tamanhos na corrida eletroforética (AGUIAR, 2016; CARVALHO, MIRANDA E FREITAS, 2021).

Diferente dos lipídeos e carboidratos, o DNA é resistentes a fatores ambientais, ácidos, e detergentes, por isso, o estudo do DNA com finalidades forenses já é aceito em processos judiciais por todo o mundo, juntamente com o uso das técnicas de biologia molecular nos crimes sexuais, na identificação dos cadáveres carbonizados, mutilados, ou em decomposição (AGUIAR, 2016; BRAULIO, 2016).

As limitações ligadas a esse estudo são as dificuldades de preservação e manuseio correto das amostras biológicas para elucidar os crimes, uma vez que o DNA se trata de uma macromolécula difícil de manusear e trabalhar.

Em contrapartida esse estudo apresenta aspectos positivos e mostra como são utilizadas as técnicas para cada amostra biológica possivelmente encontrada em cenas de crime.

6. CONCLUSÃO

Atualmente o desenvolvimento da Biologia Molecular é o responsável por todo esse avanço na análise de DNA, porém em conjunto a ela, a criação de leis e normas para o uso do DNA foi indispensável para que esse tipo de prova conquistasse destaque no âmbito jurídico e alcançasse o patamar de importância.

Observou – se a vantagem da identificação por meio da molécula de DNA, é que a amostra pode ser retirada de diversas fontes de tecidos e líquidos, além de resistir a fatores ambientais, líquidos e detergentes, vimos também que a análise do DNA é feita através dos polimorfismos de DNA encontrados na amostra biológica, resultando em um perfil genético, que permite a investigação da amostra questionada, com a amostra referência. Dentre as variadas técnicas utilizadas e as mencionadas no trabalho, tem destaque principal a Reação em Cadeia da Polimerase pois a técnica tem alta especificidade e fácil aplicabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, M. A. **Técnicas de biologia molecular na genética forense**. [s. l.], 2016. Disponível em: <https://lyceumonline.usf.edu.br/salavirtual/documentos/2772.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2023.

ARAÚJO, S. K. **Estudo das aplicações forenses do DNA na obtenção da identificação humana**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) – Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.

BARROS, F., et al. Ciências forenses: princípios éticos e vieses. **Revista Bioética**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 55–65, 2021. DOI: Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/GYNrWJgbtfwQskD5TR7dCGN/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 13 mai. 2023.

BRAULIO, W. R. **Biologia molecular na perícia criminal e implementação do codis no brasil: aplicações e perspectivas**. 2021. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) – Faculdade Maria Milza, Bahia, 2021. Disponível em: <http://131.0.244.66:8082/jspui/handle/123456789/2279>. Acesso em: 17 fev. 2023.

CARDOSO, T. C., et al. Biologia Molecular e Forense no Ensino Médio. **Research, Society and Development**, Piauí, v. 10, ed. 8, p. 1-19, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17624>. Disponível em: Acesso em: 21 abr. 2023.

CARVALHO, M. L. A., MIRANDA, D. C., FREITAS, M. T. S. O impacto das técnicas de biologia molecular na resolução de crimes / O impacto das técnicas de biologia molecular na resolução de crimes. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**. [S. l.], v. 7, n. 12, p. 114750–114766, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n12-307. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/41002>. Acesso em: 15 mar. 2023.

CRISTINA RODRIGUES SILVA, L., FERREIRA MORONG, F., DOS SANTOS SILVA, C. A Perícia Forense e a Análise De Vestígios Em Locais De Crime. **Colloquium Socialis**, v. 2, n. Especial 2, p. 93–99, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5747/cs.2018.v02.nesp2.s0262>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/345482135_A_PERICIA_FORENSE_E_A_ANALISE_DE_VESTIGIOS_EM_LOCAIS_DE_CRIME. Acesso em: 12 mar. 2023.

FRANCISCO, D. O. **Estudo de DNA de toque em situações simuladas para finalidades forenses**. 2021. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021. DOI: <https://doi.org/10.11606/T.5.2021.tde-10112021-111233>. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-10112021-111233/publico/DanielaOliveiraFranciscoVersaoCorrigida.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2023.

FRUEHWIRTH, M., DELAI, R. M., FOLHA, R. D. A. Técnicas de biologia aplicadas a perícia e ciência forense. **Derecho y Cambio Social**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 1-25, 2008. Disponível em: <https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/399>. Acesso em: 30 mai. 2023.

FROHLICH, P. B. M., et al. O DNA como ferramenta de identificação humana e a sua importância no trabalho da perícia criminal. **Revista Biodiversidade**, [s. l.] v. 19, n. 1, p. 150–161, 2020.

Disponível em:

<https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/10001>. Acesso em: 28 mai. 2023.

MUNYSE, K., et al. The influence of PCR on criminal expertise : Systematic Review of Literature. **Revista Amazônia**, v. 10, n. 2, p. 1-15, 2022. Disponível em:

<http://ojs.unirg.edu.br/index.php/2/article/view/3758/1917>. Acesso em: 31 jan. 2023.

OLIVEIRA, T. S., FILHO, A. V. M. Técnicas De Biologia Molecular Utilizadas Para Desvendar Crimes. **Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde**, v. 4, n. 1, p. 89–102, ISSN: 2525-5250, 2018. Disponível em: <http://seer.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/246>. Acesso em: 20 mar. 2023.

PRADO, C. C. N. DEL, REIS, M. F. Vestígios Biológicos E Técnicas Moleculares Aplicadas Na Investigação Criminal. **Biblioteca Digital do SUSP**, [s. l.], 2018. Disponível em:

<http://dspace.mj.gov.br/handle/1/4918>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RODRIGUES, V. R. **O uso de material genético na resolução e casos e crimes contra a via humana: uma revisão sistemática**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade de Caxias do Sul, São Paulo, 2021. DOI:

doi.org/10.51891/rease.v7i6.1352. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/11338/9227>. Acesso em: 21 mar 2023.

SANTIAGO, M. C., SIQUEIRA, B. O., BARCELOS, R. DA S. S. Uso e Benefício da Biologia Molecular nas Ciências Forenses e sua Aplicação no Banco de Perfis Genéticos. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 9, n. 2, p. 95-104, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v9i2.342>.

Disponível em: <https://revista.rbc.org.br/index.php/rbc/article/view/342/pdf> . Acesso em: 25 mai. 2023.

SILVA, G. K. C., VENTURA, R. M. A Importância do Biomédico na Biologia Molecular e Hematologia Forense. **Revista ACIS**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 166-175, 2020. Disponível em:

<https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ACIS/article/view/2271>. Acesso em: 09 abr. 2023.

SILVA, T. A., FRANGIOSA, P. C. A aplicação de técnicas moleculares de DNA na investigação forense. **Revista Científica UMC**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 1–15, 2018. Disponível:

<http://seer.umc.br/index.php/revistaumc/article/view/246>. Acesso em: 03 fev. 2023.