

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Gabriela Schroeder de Sousa

**MÉTODOS BIOMOLECULARES PARA ANÁLISE DE DNA EM CENAS DE
CRIMES**

São Paulo

2023

Gabriela Schroeder de Sousa

**MÉTODOS BIOMOLECULARES PARA ANÁLISE DE DNA EM CENAS DE
CRIMES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Fabio Mitsuo Lima como requisito parcial para obtenção do título de Biomédica.

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Sousa, Gabriela Schroeder de

Métodos biomoleculares para análise de DNA em cenas de crimes / Gabriela Schroeder de Sousa. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.
34 p.

Orientação de Fabio Mitsuo Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Antropologia forense 2. Bases de dados de ácidos nucleicos 3. Biologia molecular 4. Crime 5. DNA I. Lima, Fabio Mitsuo II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 574.8

Gabriela Schroeder de Sousa

Métodos Biomoleculares para análise de DNA em cenas de crime

Professor orientador (Fabio Mitsuo Lima)

Professora examinadora (Nilce Naomi Hashimoto Marconato)

Examinador (Dr. Wagner Narciso de Campos)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO	9
3. METODOLOGIA	9
4. DESENVOLVIMENTO	11
4.1 BIOLOGIA MOLECULAR	11
4.2 MICROSSATÉLITES	12
4.3 IDENTIFICAÇÃO DE Y-STRs	13
4.3.1 Amelogenina	15
4.4 TÉCNICAS MAIS UTILIZADAS	16
4.5 ANÁLISE DO DNA MITOCONDRIAL	22
4.6 LEGISLAÇÃO: INTERFERÊNCIA DA AMOSTRA NO CASO.....	24
4.7 CASOS	27
4.7.1 Caso Leicester	27
4.7.2 Caso Rachel Genofre	28
4.7.3 Caso Brumadinho-MG	29
4.7.4 Caso estuprador em série de Goiás	30
5. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

LISTA DE FIGURAS

1. Figura 1: Funcionamento da reação da cadeia polimerase (PCR)
2. Figura 2: Eletroforese
3. Figura 3: *Southern Blotting*
4. Figura 4: Sequenciamento
5. Figura 5: DNA Mitocondrial

LISTA DE ABREVIÇÕES

ARMS-PCR: Análise no sistema de mutação refratária à amplificação tetra-primer

mRNA: RNA mensageiro

PB: Pares de base

PCR: Reação em cadeia polimerase

q-PCR: Reação em cadeia polimerase em Tempo Real

STR: Microssatélite

RESUMO

Dentro da Biologia Molecular, estuda-se vários aspectos, como o gene e suas funções, a importância de cada parte do gene e como ele é capaz de fornecer tantas informações. Portanto, é importante destacar como os microssatélites auxiliam nas investigações criminais no cromossomo Y, em casos de estupro, pesquisa de paternidade e reconhecimento de vítimas masculinas em casos de desastres. Com o avanço da tecnologia e o estudo da Biologia Molecular, foi possível desenvolver diversas técnicas importantes em várias áreas da saúde, bem como na área forense. Temos como principal e maior exemplo a PCR, que ajuda na amplificação eficiente e de baixo custo do gene-alvo, quando comparada a outras técnicas, e, portanto, é a mais usada atualmente. Além da PCR, também temos outras técnicas, como q-PCR, impressão digital de DNA, eletroforese, Southern Blotting e sequenciamento, que também auxiliam no processo de identificação de indivíduos. Em casos de desastres em massa, é comum não haver amostras suficientes para realizar análises para possível reconhecimento das vítimas. Nesses casos, o DNA mitocondrial é amplamente utilizado para análises por meio da técnica de sequenciamento, que, juntamente com STR, permite a análise de várias regiões do DNA. Atualmente, a legislação permite a coleta de amostras biológicas de suspeitos criminais para inserção no Banco de Dados Genéticos, mas se for constatado que esse indivíduo não é o autor do crime, seu perfil deve ser removido do banco de dados, permanecendo apenas aqueles que cometeram o ato criminoso. Quando comparado a outros tipos de evidências, o DNA é considerado o mais importante devido à precisão das técnicas de identificação. No entanto, apesar disso, a genética forense não define quem é culpado e quem não é, isso cabe apenas ao sistema legal; o papel da biologia molecular é apenas fornecer informações.

Palavras-chaves: DNA, sequenciamento e identificação.

ABSTRACT

Within Molecular Biology, one studies various aspects such as the gene and its functions, the importance of each part of the gene and how it is able to provide so many informations. Therefore, it is important to highlight how microsatellites assist in criminal investigations on the Y chromosome, for cases of rape, paternity research and recognition of male victims in cases of disaster. With the advancement of technology and the study of Molecular Biology, it was possible to develop numerous techniques that are important in several areas of health, as well as forensic area. We have as main and largest example the PCR, which helps with the amplification of the mold gene efficiently and cheaply when compared to other techniques and so, currently, it is the most used. In addition to PCR, we also have other techniques such as q-PCR, DNA finger print, electrophoresis, Southern Blotting and sequencing, which also helps in the process of identifying individuals. In cases of mass disasters, it is very common not to have enough samples to perform analysis for possible recognition of victims. In such cases, mitochondrial DNA is widely used for analysis through the sequencing technique that, together with STR, allows analysis of several regions of DNA. Currently, the legislation allows biological samples to be collected from criminal suspects for insertion in the Genetic Database, but if it is found that this individual is not the author of the crime, his profile should be removed from the database and remains only those who performed the criminal act. When compared to other types of evidence, DNA is considered the most important due the accuracy of identification techniques. However, despite this, forensic genetics does not define who is guilty and who is not, this is only up to the legal framework, the role of molecular biology is just to provide the information.

Keywords: DNA, sequencing and identification.

1. INTRODUÇÃO

A ciência forense é uma área interdisciplinar que possui o objetivo de dar suporte às investigações policiais. Essa ciência atua em diversos setores, além das investigações de mortes violentas, também está presente em detecção de adulteração de combustíveis e bebidas; detecção de drogas ilícitas; perícia de alimentos, medicamentos e ambiental; e investigação de doping esportivo.

No âmbito da biologia molecular, existe a análise de amostras em cenas de crimes como, por exemplo, homicídio e estupro, auxiliando na identificação da vítima e/ou suspeito, além de auxiliar em assuntos legais como teste de paternidade, por meio da análise do perfil genético. Todos os indivíduos são diferentes, geneticamente, uns dos outros, isso graças aos microssatélites (SSR – *Simple Sequence Repeats*) que são pequenas sequências de DNA que se repetem ao longo do genoma, gerando sítios polimórficos, que são os principais responsáveis pela marcação molecular (BRUIJNS, 2018). Desse modo, algumas técnicas como PCR e eletroforese são utilizadas para realizar a análise do DNA.

A biologia molecular forense teve início em 1984, por Alec Jeffreys na Universidade de Leicester no Reino Unido que elaborou o conceito de DNA *finger print* por meio da observação de padrões de repetições de nucleotídeos no genoma humano que poderiam variar entre pessoas. Em uma primeira ocasião, sua técnica foi utilizada para comprovar um caso de imigração. Após isso, foi utilizada para solucionar dois crimes de estupro seguidos de assassinato ocorridos em 1983 e 1986, sendo realizado o teste com sêmen encontrado nas vítimas em comparação com uma campanha de doação de sangue que a polícia havia incentivado para encontrar o suspeito (Barbosa, 2018).

A informação genética tem papel fundamental, principalmente na criação de banco de dados. Segundo a Associação Brasileira de Criminalística, a taxa de esclarecimento dos crimes de homicídio no Brasil varia entre 5% e 8%. Atualmente, de acordo com o governo federal, existe cerca de 100 mil indivíduos cadastrados no Banco Nacional de Perfis Genéticos no Brasil, que já auxiliaram mais de 2 mil investigações criminais. Deste quantitativo, por volta de 75 mil são de condenados e

o restante de vestígios da cena do crime. Em 2012, uma lei foi aprovada determinando que condenados por crimes graves e hediondos tenham seu material genético coletado obrigatoriamente.

2. OBJETIVO

Realizar levantamento bibliográfico, sintetizando, analisando e discutindo informações mais recentes sobre os métodos biomoleculares utilizados em análise de DNA em cenas de crimes.

3. METODOLOGIA

Será realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos publicados entre 2010 – 2023 em inglês e português, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar, utilizando-se as seguintes palavras chaves: DNA, sequenciamento, Y-STRS (*Y Short Tandem Repeat*) e crimes.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 BIOLOGIA MOLECULAR

O gene é um segmento de DNA que colabora para um fenótipo ou uma função. Caso não haja função, o gene pode ser definido como sequência (Bruford., et al, 2020).

Os íntrons e éxons presentes nos genes são sequências que intercalam as regiões codificadoras. Os íntrons são sequências que são removidas quando ocorre o processamento do transcrito primário por meio do *splicing* do RNA e são regiões não traduzidas, enquanto os éxons são sequências presentes no mRNA maduro (Schaefer, Tompson, 2015).

O cromossomo é uma estrutura presente no núcleo celular, constituída por DNA e proteínas e é responsável pela transmissão de genes para as células filhas. O cromossomo dos eucariotos apresenta um número diploide, na maioria das células, nos humanos esse número é de 46 cromossomos nas células somáticas. Além disso, essa estrutura contém dois telômeros e um centrômero. Os centrômeros são estrutura primárias do cromossomo e são responsáveis por segregar corretamente os cromossomos após replicação do DNA e sua ausência causa distribuição aleatória deles fazendo com que a célula-filha possua duas cópias do mesmo ou nenhuma. Dito isso, a presença de mais de um centrômero em um cromossomo também pode ser prejudicial. Já os telômeros são estruturas de extremidade do cromossomo que possui papel fundamental já que suas proteínas diferenciam a extremidade natural do cromossomo de sítios de quebra cromossômica e de outras quebras no DNA celular (Watson, Baker, Bell, 2015).

Algumas sequências de DNA codificam uma molécula de RNA que possui função importante. Os RNAs podem ser classificados de duas maneiras, sendo elas, codificante e não codificante. As sequências codificantes são constituídas por RNA mensageiro que, são denominados assim, por carregarem informações para estrutura primária de um polipeptídeo e a expressão desses genes codificantes é realizada pelos eventos de transcrição e tradução. Já os RNAs não codificantes são constituídos pelos RNAs ribossômico, transportador e microRNAs (Becker, Barbosa, 2018).

4.2 MICROSSATÉLITES

Os microssatélites, também conhecidos como repetições curtas em tandem (STRs – *Short Tandem Repeat*) ou repetições curtas de sequência (SSRs – *Simple Sequence Repeat*) são padrões de repetição de 1 a 6 pares de bases presentes em regiões não codificantes do genoma. Serão muito utilizadas como marcadores moleculares, principalmente em análise de parentesco e análises forenses, devido sua abundância, cerca de 3% do genoma, e alta reprodutibilidade (Badshaw, 2017).

A partir do STR, o *Federal Bureau of Investigation* (FBI), criou a primeira base de dados genética que entrou em operação em 1998. A base de dados conhecida como CODIS (*Combined DNA Index System*) é formada por 13 *loci* STR nucleares que reconhecem a determinação de um perfil genético dos indivíduos com antecedentes criminais (Martins, 2017).

Existe uma distribuição aleatória de STRs no genoma de eucariotos. Em geral, há uma diferença de comprimento dependendo da região. Regiões não codificadoras tendem a ter alelos mais longos, enquanto as codificadoras possuem alelos mais curtos devido à pressão evolutiva. Além disso, os microssatélites são divididos quanto a quantidade de nucleotídeos presentes, sendo, nos mononucleotídeos as bases mais frequentes A/T, nos dinucleotídeos, as bases mais frequentes são GT/CA e AT/TA e os tetranucleotídeos possuem mais A/T (Eckert, Hile, 2010).

4.3 IDENTIFICAÇÃO DE Y-STRS

A pesquisa do cromossomo Y ocorre, na área forense, principalmente em casos de estupro, identificação de vítimas de desastres do sexo masculino, ancestralidade biogeográfica e pesquisa de paternidade.

Em casos de países que possuem banco de dados de DNA, é muito comum a coleta do DNA da cena para comparação com o banco de dados para identificação de um suspeito ou possíveis parentescos com o mesmo. Essas informações podem ser coletadas por meio da análise de *loci* genéticos presentes em ambos os cromossomos sexuais (Silva, Ioshida).

A técnica mais utilizada hoje em dia para identificação de Y-STRS em casos que envolvem apenas indivíduos do sexo masculino é por meio de PCR. A taxa de mutação de Y-STRs é o principal ponto para determinar uma relação entre indivíduos do sexo masculino. Atualmente, existe uma melhora na detecção dessas mutações, já que foram identificados 13 *loci* com alta taxa de mutação, sendo eles DYF387S1, DYF399S1, DYF403S1a/b, DYF404S1, DYS449, DYS518, DYS526I/II, DYS547, DYS570, DYS576, DYS612, DYS626 e DYS627. Além disso, para um melhor resultado da pesquisa do cromossomo Y, foram desenvolvidos dois métodos utilizando os marcadores DIP (*Deletion-Insertion Polymorphism*)-STR (Polimorfismo de deleção/inserção ligado a um STR) e SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*)-STR (Combinações de Polimorfismo de nucleotídeo único ligado a um STR), que são capazes de determinar o perfil completo do DNA coletado, independente do sexo do indivíduo (Forouzesh, et al, 2022).

O método DIP-STR consiste em duas regiões sendo elas um polimorfismo STR e a outra uma região de deleção para um alelo "S" (*Short*) ou curto ou inserção para um alelo "L" (*Long*) ou longo. Com isso, foram desenvolvidos dois primers específicos para PCR, um deles para inserção e o outro para deleção. Este marcador permite que o DNA parcial amplificado por PCR atinja uma especificidade maior, além de detectar genótipos com base da presença de incompatibilidades dos alelos S/L. Em geral, os alelos DIP de primers específicos possibilitam a análise do DNA parcial com maior sensibilidade quando comparado com os STRs convencionais. Além disso, devido a presença do DIP-STR ao longo do genoma, é possível que o método seja utilizado em amostras de DNA

independente do sexo do indivíduo, contudo o marcador não permite identificação da linhagem paterna, apenas do indivíduo, mesmo com a presença do Y-STR (Forouzesh, et al, 2022).

Já o SNP-STR é formado por um SNP bialélico que se liga a um polimorfismo STR. Quando utilizado em uma mistura de dois doadores, os genótipos serão constatados com base na presença de um alelo específico no genótipo do doador parcial e a ausência desse alelo no genótipo do doador dominante. Este marcador é utilizado na técnica ARMS (*Mutation Refractory Amplification System*)-PCR que consiste na detecção de qualquer mutação que envolva modificações de bases únicas ou pequenas deleções e é baseado na utilização de quatro primers específicos de PCR marcados com diferentes corantes fluorescentes que permitem a amplificação do DNA apenas se o alelo alvo estiver presente na amostra (MEDRANO, R; OLIVEIRA, C; 2014). Os resultados são visíveis por meio da eletroforese, semelhante ao método de marcador DIP-STR (Forouzesh, et al, 2022).

Comparando os dois métodos, o DIP-STR se mostrou mais sensível, porém está em menor quantidade no genoma, limitando sua utilização. Além disso, ao contrário de outros STRs utilizados na área forense, os DIP-STRs estão quase indisponíveis, fazendo com que os resultados não sejam comparáveis com os métodos de STRs convencionais. Sendo assim, o SNP-STR pode ser uma alternativa melhor para marcadores genéticos para análise de DNAs misturados, além de ter a possibilidade de análise dos alelos SNP e STR na mesma reação (Forouzesh, et al, 2022).

4.3.1 AMELOGENINA

Atualmente, o método mais utilizado é a identificação de indivíduos por meio de pequenos fragmentos do gene da amelogenina que é codificada por dois genes alelos, um presente no cromossomo X e outro no cromossomo Y. Apesar de homólogos, apresentam grande diferença de tamanho e ao longo da sequência de nucleotídeos, o que permite a realização da sexagem (Silva, Ioshida). Mesmo

sendo a técnica mais utilizada hoje em dia, ainda é criticada devido à falta de detecções de deleções no cromossomo Y que incluem a amelogenina, indicando, falsamente no resultado, uma pessoa do sexo feminino.

O locus da amelogenina possui dois genes homólogos, sendo eles AMELX que está localizado no braço curto do cromossomo X (p-22.1 e p-22.3) e o AMELY localizado próximo ao centrômero do cromossomo Y (p-11.2) (Butler, Li, 2014).

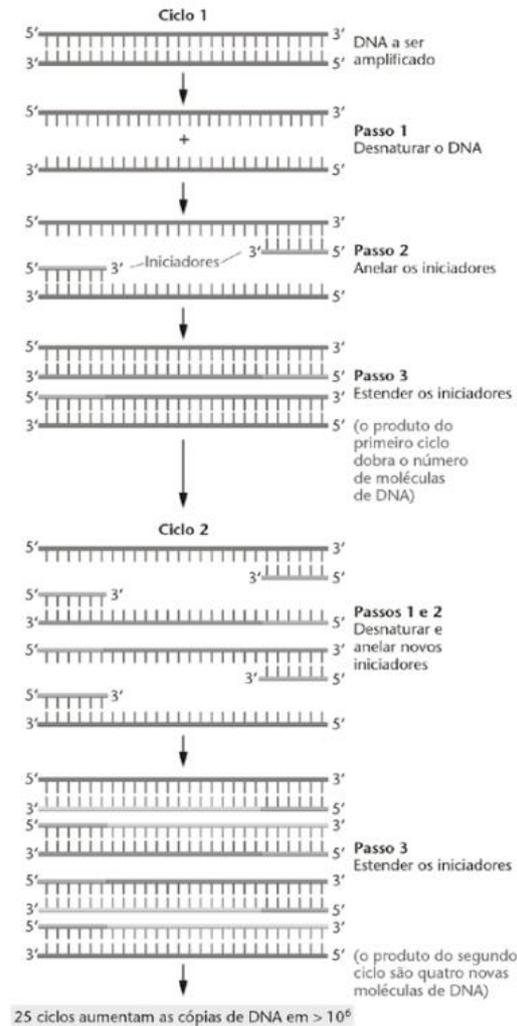
4.4 TÉCNICAS MAIS UTILIZADAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE SUSPEITOS

Hoje em dia, as técnicas mais utilizadas para análise dos materiais biológicos encontrados nas cenas de crime são a Reação em Cadeia Polimerase (PCR), eletroforese, sequenciamento e DNA *finger print*.

A técnica de PCR consiste em replicar *in vitro* o DNA de forma rápida. Atualmente, é a técnica mais utilizada devido à fácil aplicação, necessidade de pouca quantidade de amostra e não ter um custo tão elevado. Como indicado na figura 1, a reação é dividida em três fases, iniciando pela fase de desnaturação que tem como objetivo abrir a dupla fita de DNA por meio do aumento de temperatura. A segunda fase, a de alinhamento dos primers, possui o objetivo de a *Taq DNA Polimerase* amplificar o DNA molde. Esse ciclo ocorre em torno de 20 a 40 vezes dependendo do protocolo (Figura 1) (Aguiar, Roversi, 2017).

A única desvantagem da PCR é que em algumas situações, ocorre o aparecimento de manchas ou rastros que atrapalham a visualização do resultado e ocorrem devido à má qualidade da amostra (Figura 1) (Oliveira, Filho, 2018).

Figura 1: Funcionamento da reação da cadeia polimerase (PCR)



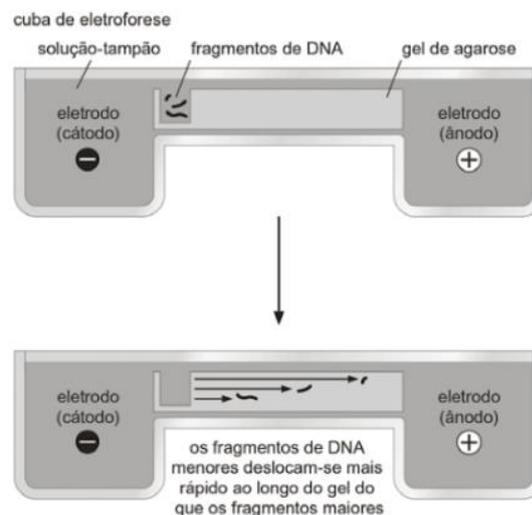
Fonte: Becker, R. O., & Barbosa, B.L. F., 2018.

A Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (q-PCR) tem seu procedimento semelhante ao do PCR, diferenciando apenas na capacidade de quantificar em tempo real o DNA amplificado em cada ciclo da PCR que ocorre de forma automatizada (MARTINS, C.; 2017). Atualmente, existem kits comercializados capazes de identificar de 16 a 21 regiões STR por meio da amplificação de diversas regiões do DNA (qPCR multiplex) com a utilização de sondas fluorescentes capazes de se ligar a regiões específicas do DNA (Figura 5) (Girardi, Subtil, Rangel, 2018).

Já o DNA *Finger print* consiste em uma junção de resultados provenientes de marcadores genéticos, PCR, eletroforese e sequenciamento, onde adquire-se

padrões de bandas e faz-se uma comparação com um padrão e as amostras coletadas na cena do crime (Figuras 1, 2 e 4) (Aguiar, Roversi, 2017). Sendo a eletroforese, uma técnica que compreende em separar moléculas de DNA de acordo com tamanho, forma e compactação. A técnica ocorre com a ação de uma corrente elétrica em um gel que pode ser composto de agarose ou acrilamida e, devido a corrente, o DNA migra para o polo positivo pois sua carga é negativa. Quanto maior o fragmento de DNA, mais lento ele correrá no gel. As bandas podem ser visualizadas através da utilização de Gel Red que é responsável pela fluorescência do DNA quando submetido a luz ultravioleta. Desse modo, realiza-se uma comparação entre um padrão e a amostra coletada na cena (Oliveira, Filho, 2018). Em alguns casos, a eletroforese é utilizada apenas para separação das sequências que podem ser posteriormente analisadas por outras técnicas como, por exemplo, a hibridização (Girardi, Subtil, Rangel, 2018).

Figura 2: Processo da técnica de eletroforese

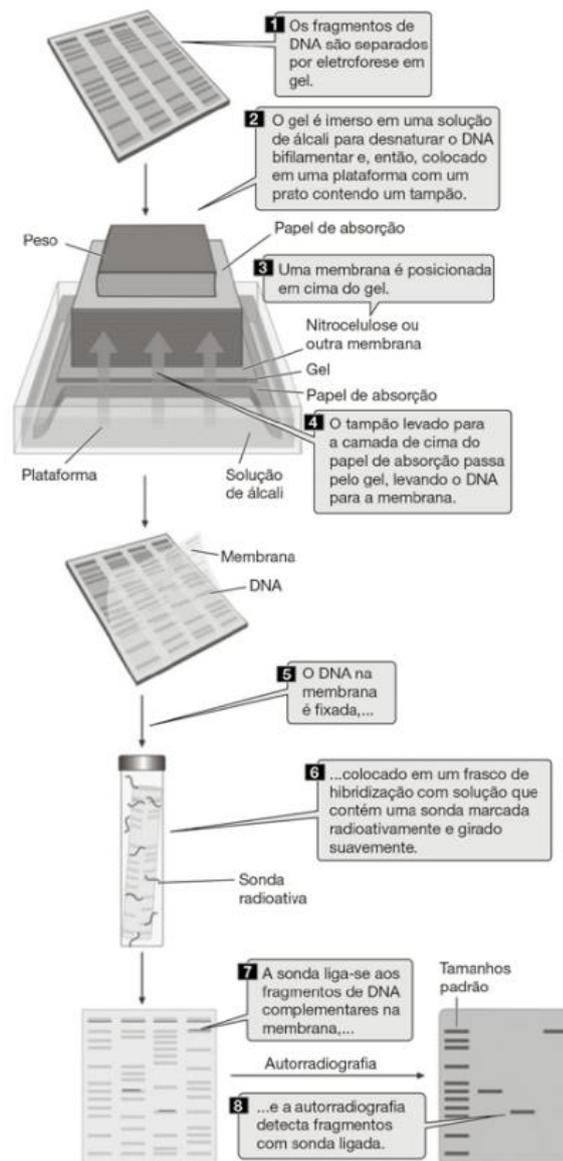


Fonte: Becker, R. O., & Barbosa, B.L. F., 2018.

Southern Blotting é outra técnica utilizada atualmente que hibridiza os ácidos nucléicos com o objetivo de identificar a posição de determinado gene no DNA, sendo sequências iguais ou parecidas no genoma. Ocorre fragmentação do DNA por meio de enzimas e o mesmo será separado pela técnica de eletroforese por gel de agarose. Os fragmentos são transferidos para uma membrana de nitrocelulose. Ocorre

revelação do fragmento que possui o gene por meio de sondas de DNA marcadas por radioatividade (Figura 3) (Oliveira, Filho, 2018).

Figura 3: Mecanismo do *Southern Blotting*

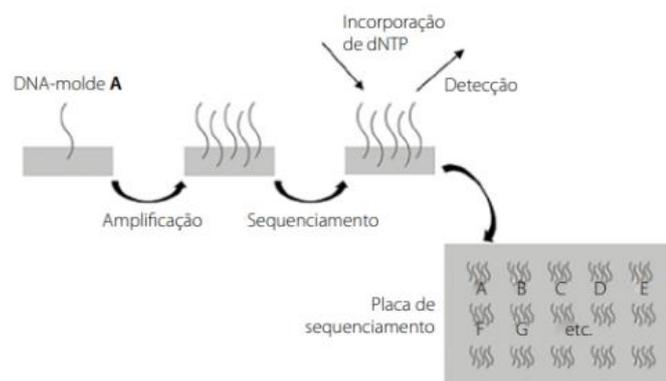


Fonte: Becker, R. O., & Barbosa, B.L. F., 2018.

Por fim, o sequenciamento consiste em determinar determinada sequência de nucleotídeos no DNA. A sequência decorrente da fragmentação do DNA é separada pela técnica de eletroforese e examinada para revelar a sequência do DNA.

Primeiramente, por meio do PCR, é realizada a amplificação do DNA molde que será sequenciado durante a síntese das fitas complementares pela DNA Polimerase. Segundo a integração dos nucleotídeos, o sequenciador detectará a sequência da fita sintetizada. O iniciador ou um dos desoxirribonucleotídeos serão marcados com fluorescência para análise posterior. A enzima polimerase, durante a síntese do DNA, insere um didesoxinucleotídeo no lugar de um desoxirribonucleotídeo, interrompendo o processo de síntese, uma vez que o didesoxinucleotídeo não possui grupo OH-3', não sendo capaz de formar ligação 3' com outro nucleotídeo. Essa sequência é colocada em eletroforese em gel para análise e os resultados são observados em bandas como visto anteriormente (Figura 4) (Girardi, Subtil, Rangel, 2018).

Figura 4: Processo de sequenciamento

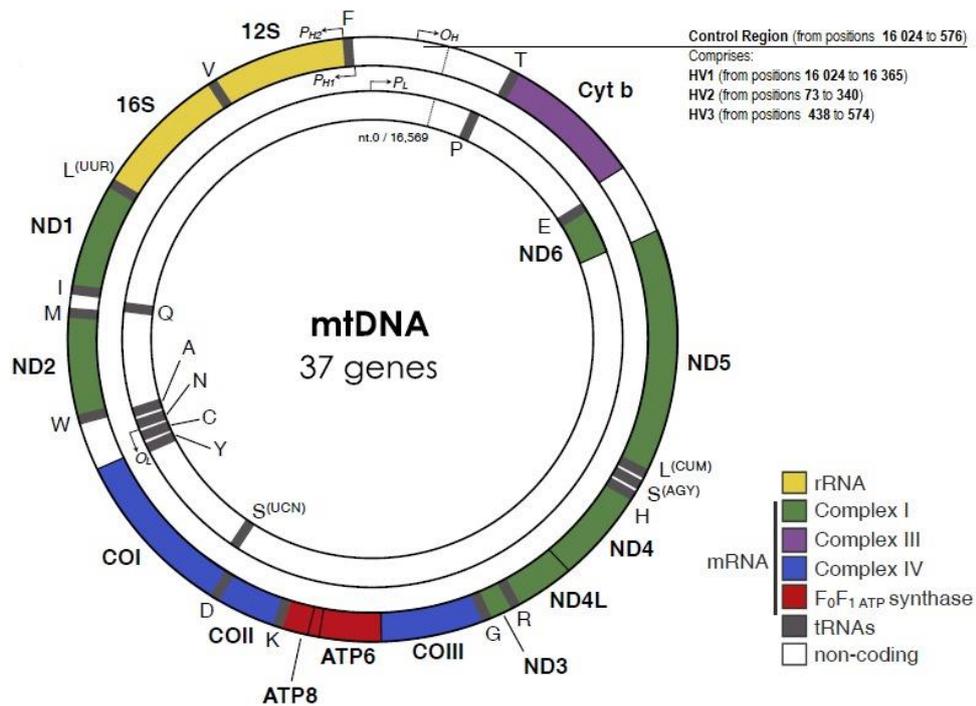


Fonte: Girardi, C. S., Subtil, F. T., & Rangel, J. O., 2018.

4.5 ANÁLISE DO DNA MITOCONDRIAL

O DNA mitocondrial é o genoma extracromossômico presente na mitocôndria e que está separado do genoma nuclear. As cadeias de mtDNA possuem densidades diferentes, sendo classificadas como cadeia pesada e cadeia leve. A cadeia pesada é responsável por codificar 2 rRNAs e possui sua composição rica em guanina, enquanto a cadeia leve codifica 8 tRNAs e composição rica em citosina. A maior parte das informações é codificada na cadeia pesada que possui genes para 2 rRNAs, 14 tRNAs e 12 polipeptídeos, enquanto a cadeia leve codifica 8 tRNAs e um único polipeptídeo. Além disso, possui também uma região D-Loop ou não codificante formada por uma fita tripla e que dá origem a replicação. (António, Teresa, Nuno, 2019).

Figura 5: DNA Mitocondrial



Fonte: A, António; F, Teresa; T, Nuno, 2019.

Atualmente, a técnica mais utilizada para análise do mtDNA é o sequenciamento, que, quando comparado com análise de perfil de repetição curta em tandem (STR) pelo método de eletroforese capilar (CE), possui mais vantagens como a possibilidade de identificação de marcadores em uma única vez, além da capacidade de análise com pouca quantidade de amostra, o que é muito

importante na área forense (Thássia, et al, 2022). Apesar de mais eficaz, o sequenciamento complementa STR devido a capacidade de análise simultânea de diversas regiões.

A análise do mtDNA normalmente é realizada em casos em que há pouca quantidade de amostra ou em que o DNA esteja muito degradado, além de casos em que haja apenas restos cadavéricos ou provenientes de desastres e também de hereditariedade uniparental materna. Contudo, como o mtDNA é herdado apenas da mãe, não há possibilidade de distinção de indivíduos da mesma linhagem. Pode ocorrer heteroplasmia de posição que é quando a diferença dos tipos de mtDNA está em um nucleotídeo em determinada posição, ou de comprimento que é quando ocorre deleção ou inserção de uma base, modificando o comprimento do mtDNA e isso acaba dificultando a análise dos resultados (Martins, 2017). A análise do mtDNA é somente utilizada quando não há possibilidade alguma de análise de DNA nuclear.

4.6 LEGISLAÇÃO: INTERFERÊNCIA DA AMOSTRA NO CASO

O DNA, em análises forenses, é utilizado para identificação de indivíduos, tanto vítimas quanto autores, em casos de crimes sexuais, testes de paternidade e relação de instrumento com vítima e autor. Atualmente, o tipo de coleta de amostra biológica mais utilizado é por meio do esfregaço da mucosa jugal (parte interna da bochecha) com a utilização de um *swab* ou uma escova. Isso porque é uma forma de coleta completamente indolor, não-invasiva e que não ofende a dignidade humana (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

É importante ter-se em mente a diferença entre DNA e perfil genético. O DNA fornece informações mais sensíveis como, por exemplo, tendência a desenvolver certas doenças. Enquanto o perfil genético, que é obtido por meio das regiões não codificantes do DNA, tem exclusiva função de diferenciar um indivíduo do outro (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

O uso de materiais biológicos no âmbito forense possui muitas vantagens quando comparado com outras provas. Isso ocorre devido a precisão do exame de DNA, pois a identificação por DNA também é um tipo de identificação, assim como identificações fotográficas e datiloscópicas (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

Para que haja um resultado confiável e válido de uma amostra coletada na cena do crime, é necessário uma série de procedimentos de coleta do material biológico para que não haja contaminação ou perda da amostra. Antes de qualquer manuseio dos vestígios encontrados, o perito deve fotografar a cena e os materiais biológicos. Além disso, para que haja a coleta, deverá ser realizado uma observação do material para analisar as condições em que se encontra, considerando estado e quantidade disponível para coleta. Para manter a qualidade do material coletado, ou seja, para que não haja modificação na composição e estrutura, é importante mantê-lo em ambiente frio e seco (Santos, 2018).

Apesar de todas as informações que o material biológico fornece aos investigadores, o DNA por si só não é capaz de condenar alguém, apenas ligar o indivíduo a cena do crime. Entretanto, a identificação de DNA já é muito aceita em processos judiciais e, mesmo o Brasil não tendo uma legislação específica para a genética forense existem uma série de normas e condutas que devem ser

seguidas para manter a integridade e legitimidade do material, como citado anteriormente (Ferreira, Passos, 2006). Definir se o indivíduo é ou não culpado, cabe apenas ao âmbito legal.

Em 2009, o FBI implantou o *software* CODIS para a Polícia Federal Brasileira isso porque a rede genética que existia no Brasil era muito limitada e pouco desenvolvida. Apenas em 2012 foi decretada a Lei 12.654 prevendo a coleta de amostras biológicas para identificação de perfis genéticos e armazenamento das informações no banco de dados (Santana, Cordeiro, 2023).

Atualmente, existem dois tipos de Banco de Dados de Perfil Genético, um determinado como banco de amostra-vestígio e o outro como perfis genéticos de referência. Amostras sem origem conhecida são consideradas para o banco de amostra-vestígio, enquanto as amostras coletadas de vítimas ou suspeito são amostras-referência (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

Em 2019, foi decretada a Lei 13.964, também conhecida como Pacote Anticrime que regulamenta a cadeia de custódia, métodos de armazenamento e descarte dos materiais coletados (SANTANA, G. S.; CORDEIRO, T. L.; 2023). As principais alterações que ocorreram após a implementação da lei foram (I) o réu por crimes dolosos praticados com violência grave contra pessoa, por crimes contra vida, liberdade sexual e crimes sexuais contra vulneráveis que negar o fornecimento de amostra biológica, implicará em infração grave; (II) é garantido a proteção de dados presentes no Banco de Dados de Perfis Genéticos; (III) a amostrada coletada só pode ser utilizada para identificação do perfil genético e não poderá ser utilizada em fenotipagem, busca familiar e deverá ser descartada imediatamente após o uso; (IV) o indivíduo que possui seus dados no banco deve ser assegurado sobre o acesso aos dados presentes em seu perfil e aos documentos que declaram a conservação da cadeia de custódia do material biológico; (V) em caso de indivíduos absolvidos, a amostra deve ser excluída imediatamente do banco de dados; (IV) a exclusão do perfil genético do réu só ocorrerá após 20 anos do cumprimento da pena, sem justificativa científica (Borges, Nascimento, 2021).

Para que haja o desdobramento do caso em questão, em relação ao procedimento penal, é essencial a reunião de um conjunto de provas que

comprovem que, de fato, o crime foi cometido. Conhecido como *corpus delecti*, é definido como a junção de todos os elementos legais e forenses reunidos para análise. Sendo assim, é preciso que o perito transforme a questão legal em questão forense para análise e, quando isso não é possível, a ciência forense não tem importância no caso (Monteiro, 2010).

4.7 CASOS

4.7.1 CASO LEICESTER

Em 1983, na Inglaterra, Lynda Man, uma jovem de 15 anos foi encontrada morta no vilarejo de Narborough. A polícia concluiu, por meio da coleta de sêmen no corpo da vítima, que a garota havia sido estuprada e depois assassinada. Após 3 anos do ocorrido, foi encontrado outro corpo de uma jovem de 15 anos, Dawn Ashcroft próximo do mesmo vilarejo e teria acontecido o mesmo que Lynda. O sêmen coletado nos corpos pertencia ao mesmo homem, cujo reconhecimento da polícia, era pertencente a Richard Buckland que confessou os crimes (Barbosa, Romano, 2018).

Alec Jeffreys, um professor da universidade de Leicester, publicou um artigo sobre determinadas regiões do DNA denominadas microssatélites e como essas regiões seriam capazes de diferenciar um indivíduo de outro e, devido a isso, ele as nomeou como DNA *fingerprint* (MALAYS, J; 2020). Foi solicitado ao professor a realização de teste com as amostras coletadas nos corpos das jovens e com o DNA de Richard Buckland e constatou-se que o sêmen encontrado em ambas as vítimas pertencia ao mesmo homem, porém não a Richard (Barbosa, Romano, 2018).

Na tentativa de encontrar o autor dos crimes, a polícia realizou uma campanha de doação de sangue para homens, porém nenhum deles era o criminoso. Em 1988, um funcionário da padaria do vilarejo, Ian Kelly, contou que havia doado sangue no lugar de um colega padeiro chamado Colin Pitchfork e isso fez com que a polícia fosse atrás do homem para que o mesmo concedesse uma amostra de sangue para análise. O resultado do teste mostrou que Colin era o estuproador e assassino das duas jovens, se tornando a primeira pessoa condenada por meio da análise de DNA (Barbosa, Romano, 2018).

4.7.2 CASO RACHEL GENOFRE

Em 2008, a menina de 9 anos de idade, Rachel Maria Lobo Oliveira Genofre, estava desaparecida após sair da escola e não retornar para casa. Dois dias após seu desaparecimento, a menina foi encontrada morta e seminua dentro de uma mala, na rodoviária de Curitiba (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

A Polícia Científica de Curitiba coletou amostras biológicas deixadas pelo criminoso encontradas na mala em que a criança estava e em seu corpo e emitiu um laudo confirmando que a menina de 9 anos havia sofrido abuso sexual. Na época, a polícia fez um levantamento genético de 116 suspeitos que se pareciam com o retrato falado, porém não houve nenhum êxito (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

Em 2019, 11 anos após o crime, foi realizada uma integração de dados entre São Paulo, Paraná e Brasília e o caso pôde ser resolvido. Foi realizado um mutirão de coleta de amostras nos presídios de São Paulo e, em Sorocaba, foi identificado um perfil que coincidiu com as amostras coletadas na cena do crime. O homem estava detido desde 2016, condenado a 22 anos por estelionato, estupro, roubo e falsificação de documento (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

Segundo o delegado adjunto da Polícia Civil, o *software* do Banco Nacional de Perfis Genéticos é atualizado semanalmente com amostras de presos que cometeram crimes hediondos. Quando o Instituto de Criminalística de São Paulo adicionou o perfil do homem ao banco, resultou em 100% de compatibilidade para o caso de Rachel. O homem foi interrogado e confessou o crime (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

Graças a atualização constante e integração entre os Bancos de Dados estaduais, foi possível solucionar o caso de Rachel.

4.7.3 CASO BRUMADINHO-MG

A identificação de vítimas de desastres é um processo conhecido por sua alta especialização devido realização por meio de coordenadas antropológicas, impressões digitais, registros odontológicos e amostras de DNA. Esse tipo de identificação é realizado após um acontecimento de desastre em massa onde dificilmente é possível fazer o reconhecimento das vítimas (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

A barragem de rejeitos da mina do Córrego do Feijão, explorada pela empresa Vale, derramou por volta de 11,7 milhões de metros cúbicos de lama com alta quantidade de silício e ferro no leito do Córrego Ferro-Carvão em 2019. Até o meio do mês de março de 2019, haviam sido contabilizados 206 mortos e 102 desaparecidos (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

O Laboratório de DNA Forense da Polícia Civil de Minas Gerais ficou responsável pelo processamento das amostras biológicas encontradas na tragédia. A utilização do CODIS foi essencial para a identificação das vítimas e com o auxílio do *software*, em junho de 2019, 263 vítimas foram identificadas (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

4.7.4 CASO ESTUPRADOR EM SÉRIE DE GOIÁS

No período de 2015 a 2018, várias mulheres relataram terem sido violentadas sexualmente e quando os vestígios dessas vítimas eram coletados, 9 mulheres haviam sido vítimas do mesmo homem (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

O indivíduo cometia crimes desde 2008, mas foi preso somente em 2011 após violentar uma mulher e sua filha de 5 meses. O criminoso também respondia por outros crimes em Mato Grosso, entre eles, a morte de uma mulher e seus dois filhos. Porém, em 2013, ele fugiu da prisão e voltou para Goiás (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

De acordo com a Polícia, o homem agia da mesma forma com todas as vítimas: simulava um assalto, pegava os celulares das vítimas, as obrigava a subir na garupa da moto e as levava para um lugar mais afastado onde cometia o crime sexual e para evitar reconhecimento facial, o homem ficava de capacete o tempo inteiro durante o crime (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

O acusado foi preso em 2019 após uma força tarefa que durou cerca de 45 dias e teve auxílio de 40 pessoas, devido a Polícia Técnico-Científica ter encontrado o perfil genético do homem em vários casos de estupro. Até outubro de 2019, 25 casos de estupro já estavam ligados a ele após confirmações por exames de DNA e ainda eram investigados mais 30 casos em que ele poderia ser o possível agressor, alguns deles de vítimas que procuraram a polícia após a prisão do homem (Souza, Fiorentin, Aleixo, Silva, 2019).

5 CONCLUSÃO

Desde 1983, onde deu-se o início da utilização da genética forense, houve diversos avanços técnicos. O estudo da Biologia Molecular foi crucial para o desenvolvimento das novas técnicas utilizadas na área que auxiliam em resoluções de crimes, pesquisa de paternidade e identificação de vítimas.

Atualmente, com a existência de um Banco de Dados de Perfil Genético, que teve sua criação graças ao estudo da Biologia Molecular, muitos criminosos são ligados facilmente a crimes cometidos, mesmo após anos do ato.

A utilização da Biologia Molecular no âmbito forense é crucial para a resolução de casos já que é por meio dela, que se obtém provas de que determinado indivíduo esteve ou não no local do crime, assim como, é importante para identificação de vítimas de desastres. Apesar de provar a presença de um suspeito no local, a Biologia Molecular não tem a capacidade de definir se o indivíduo é ou não culpado por determinado crime, isso cabe apenas ao âmbito legal.

Casos como o de Rachel Genofre mostram a importância da evolução dessa área, que constantemente demonstra ter papel fundamental em muitas situações. Se não fosse pelo constante avanço da tecnologia e estudo da Biologia Molecular, o caso de Rachel não teria sido solucionado como foi, mesmo após tantos anos.

REFERÊNCIAS

Aguiar, Marina Abrantes de; Técnicas de Biologia Molecular na Genética Forense. Disponível em: <https://lyceumonline.usf.edu.br/salavirtual/documentos/2772.pdf>

Amorim, António; Fernandes, Teresa; Taveira, Nuno. Mitochondrial DNA in human identification: a review. *PeerJ*, 2019. doi: 10.7717/peerj.7314. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6697116/>. Acesso em: 5 de junho de 2023.

Bagshaw, Andrew T. M. Functional Mechanisms of Microsatellite DNA in Eukaryotic Genomes. *Genome Biology and Evolution*, 2017. 9:2428 – 2443. doi: 10.1093/gbe/evx164. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622345/>. Acesso em: 8 de julho de 2023.

Barbosa, R. P.; Romano, L. H.; História e importância da genética na área forense. *Saúde em Foco*, 2018. Disponível em: https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/06/041_Hist%C3%B3ria_e_Import%C3%A2ncia_da_Genetica_Forense.pdf. Acesso em: 13 de maio de 2023.

Bruford, Elspeth A.; Braschi, Bryony; Denny, Paul; Jones, Tasmin E. M.; Seal, Ruth L.; Tweedie, Susan. Guidelines for Human Gene Nomenclature. *Nature Genetics*, 2021. 8:754 – 758. doi: 10.1038/s41588-020-0669-3. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7494048/>. Acesso em: 13 de maio de 2023.

Butler, Erin; Li, Richard. Genetic Markers for Sex Identification in Forensic DNA Analysis. *J Forensic Investigation*, 2014. Disponível em: https://academicworks.cuny.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1281&context=jj_pubs. Acesso em: 8 de julho de 2023.

Cardoso, Ana Paula M.; 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. 2021. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/14272>. Acesso em: 16 de agosto de 2023.

Carratto, Thássia M. T.; Moraes, Vitor M. S.; Recalde, Tamara S. F.; Oliveira, Maria Luiza G.; Junior, Celso T. M. Applications of massively parallel sequencing in forensic genetics. *Genetics and Molecular Biology*, 2022. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2022-0077. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9514793/>. Acesso em: 20 de agosto de 2023.

Fiuza, Jênifer J. G.; Aplicabilidade da técnica de sequenciamento de nova geração com enfoque na aclaração de investigações na perícia forense. 2021. Disponível em: <http://131.0.244.66:8082/jspui/bitstream/123456789/2422/1/BIOMEDICINA%20-%20J%c3%8aNIFER%20JOHNES%20GON%c3%87ALVES%20FIUZA.pdf>. Acesso em: 5 de julho de 2023.

Fontes, Aparecida Maria. Gene: Estrutura e função. *Departamento de Genética*, 2021. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/6579346/mod_resource/content/1/Gene_Est_Fun_Parte_2_2021v2.pdf. Acesso em: 4 de junho de 2023.

Forouzesh, Mehdi; IRANI, Shiva; Soleimani, Azam; Monobati, Seyed Jalil. Application of Y-STR, DIP-STR and SNP-STR Markers in Interpretation of Forensic Genetic Profiling: A Narrative Review. *Iranian Journal of Public Health*, 2022. 7:1538 – 1545. doi: 10.18502/ijph.v51i7.10087. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9529747/#B18>. Acesso em: 6 de agosto de 2023.

Girardi, Carolina S.; Subtil, Fernanda T.; Rangel, Juliana O. *Biologia molecular*. Porto Alegre: Grupo A, 2018. E-book. ISBN 9788595026995. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595026995/>. Acesso em: 13 ago. 2023.

Kayser, Manfred. Uso Forense do DNA do cromossomo Y: uma visão geral. *J Hum Genet*, 2017.136:621 – 635. doi: 10.1007 / s00439-017-1776-9. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5418305/>. Acesso em: 8 de julho de 2023.

Martins, Cátia A. P.; Quantificação de DNA por PCR em Tempo Real em Diferentes Amostras Forenses. *ProQuest Dissertations Publishing*, 2016. Disponível em:

<https://www.proquest.com/openview/a83e95e49ce02297594d7862d2ecfc80/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>. Acesso em: 12 de agosto de 2023.

Medrano, Ruan F. V.; Oliveira, Camila Andréa. Diretrizes para o desenvolvimento da técnica ARMS-PCR tetra-primer. *Molecular Biotechnology*, 2014. doi: 10.1007 / s12033-014-9734-4. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24519268/>. Acesso em: 12 de agosto de 2023.

Monteiro, Inês V. P.; Vestígios Hemáticos no local de crime Sua importância Médico-Legal. *U.Porto*, 2010. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/26904/2/Vestgios%20Hemáticos%20no%20local%20de%20crime%20%20Sua%20Importncia%20Mdico%20Legal.pdf>. Acesso em: 7 de julho de 2023.

Oliveira, Thaise S.; Filho, Aroldo V. M.; Técnicas de Biologia Molecular utilizadas para desvendar crimes. *Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde*, 2018. Disponível em: <https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/399/316>.

Santana, Giulia S.; Cordeiro, Taina L. C.; A (im) possibilidade da ampliação do uso da genética forense sob a perspectiva dos direitos e garantias fundamentais da constituição federal brasileira. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 2023. doi: 10.51891/rease.v9i4.9227. Disponível em: <https://www.periodicorease.pro.br/rease/article/view/9227/3612>. Acesso em: 1 de outubro de 2023.

Santos, Anderson Eduardo. As principais linhas da biologia forense e como auxiliam na resolução de crimes. *Revista Brasileira de Criminalística*, 2018. doi: 10.15260/rbc.v7i3.190. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Anderson-Eduardo-Santos/publication/328642218_As_principais_linhas_da_biologia_forense_e_como_auxiliam_na_resolucao_de_crimes/links/5c7f37b2299bf1268d3ce231/As-principais-linhas-da-biologia-forense-e-como-auxiliam-na-resolucao-de-crimes.pdf. Acesso em: 1 de outubro de 2023.

Siddique, Nasir; Shahid, Ahmad Ali; Sughra, Kalsoom. Diversification of Pakistani Amelogenin-Y-Null Male Haplotypes. *Scientifica*, 2021. doi: 10.1155/2021/5521411. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8116151/>. Acesso em: 12 de agosto de 2023.

Souza, B. T.; Fiorentin, F.; Aleixo, V.; Silva, C. B.; Criação de Banco de Dados Genéticos prevista na Lei 12.654/12: uma revisão sobre o histórico e sua utilização. *Toledo: Prime Support Assessoria*, 2019. Disponível em: https://www.ricardocairesperito.com.br/uploads/artigos/genetica/1_artigo_genetica.pdf. Acesso em: 2 de outubro de 2023.

Stanley, Udogadi N.; Khadija, Abdullahi M.; Bukola, Adams T.; Precious, Imose O.; Davidson, Esewi A.; Foresinc DNA Profiling: Autosomal Short Tandem Repeat as a Prominent Marker in Crime Investigation. *The Malasyan Journal of Medical Sciences*, 2020. doi: 10.21315/mjms2020.27.4.3. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7444828/>. Acesso em: 6 de setembro de 2023.

Watson, James D.; Baker, Tânia A.; Bell, Stephen P.; e outros. *Biologia Molecular do Gene*. Grupo A, 2015. E-book. ISBN 9788582712092. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582712092/>. Acesso em: 23 jul. 2023.