FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE FERNANDÓPOLIS – FEF FACULDADES INTEGRADAS DE FERNANDÓPOLIS - FIFE

CAMILA MIRANDA DE FREITAS ELOIZA GONÇALVES CORRÊA LAIANE FREITAS SILVA

BIOLOGIA MOLECULAR NAS CIÊNCIAS FORENSES

FERNANDÓPOLIS 2022

CAMILA MIRANDA DE FREITAS ELOIZA GONÇALVES CORRÊA LAIANE FREITAS SILVA

BIOLOGIA MOLECULAR NAS CIÊNCIAS FORENSES

Artigo científico apresentado à Banca Examinadora do Curso de Graduação em Biomedicina da Fundação Educacional de Fernandópolis como exigência parcial para obtenção do título de biomédica.

Orientador: Prof. Esp. Lucas Augusto Bonfadini

FUNDAÇÃO EDUCACIONAL DE FERNANDÓPOLIS
FERNANDOPÓLIS – SP
2022

BIOLOGIA MOLECULAR NA CIÊNCIA FORENSES

MOLECULAR BIOLOGY IN FORENSIC SCIENCES

MIRANDA, Camila¹; GONÇALVES, Eloiza; ¹ FREITAS, Laiane¹; BONFADINI, Lucas Augusto ².

E-mail: eloiza.udipres@gmail.com; lucasbonfadini@fef.edu.br

ABSTRACT: The advancement of technology in science has resulted in a major impact on genetics and forensic science. The forensic study has an extremely important role to play in helping with the elucidation of crimes, such as preventing an upcoming crime or arresting the suspect based on molecular techniques for deoxyribonucleic acid (DNA) identification. This literature aimed to understand how to review techniques such as molecular biology and identification of biological polymerase chain reactions (PCR), Restriction Fragment Length Length Polymorphism (RF), Variable Number Tandem (VNTR), Short Tandem Repeats (STR) and DNA fingerprint. It was possible to identify that forensic genetics has helped in the identification and solution of criminal cases, since each individual has a unique genetic profile, and a human analysis is a great tool for identifying the genome of a suspect. The present work was elaborated through studies of literature, of materials already elaborated of scientific materials, of extreme studies of archives. Finally, it is worth emphasizing the importance of molecular biology in the forensic study to identify a billion suspect to help justice, as these techniques will allow the sequencing of all three base pairs of the human genome.

Keywords: Molecular Biology, Forensic Sciences, Forensic Genetics.

RESUMO: O avanço da tecnologia na ciência resultou em um grande impacto na genética e ciência forense. O estudo forense tem um papel extremamente importante para auxiliar a justiça no que diz respeito a elucidação de crimes, como a evitar um

¹ Acadêmico(a) do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas de Fernandópolis - FIFE, Fernandópolis-SP.

² Biomédico, orientador e professor do curso de Biomedicina das Faculdades Integradas de Fernandópolis - FIFE, Fernandópolis-SP.

próximo crime ou prender o suspeito através de técnicas moleculares para identificação do ácido desoxirribonucleico (DNA). Essa revisão bibliográfica teve como objetivo entender as técnicas inovadoras da biologia molecular nas ciências forenses tais como a coleta e identificação de vestígios biológicos através da reação em cadeia polimerase (PCR), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Variable Number Tandem Repeat (VNTR), Short Tandem Repeats (STR) e DNA fingerprint. Foi possível identificar que a genética forense tem ajudado na identificação e na solução de casos criminais, visto que cada indivíduo possui um perfil genético único, sendo a análise do genoma humano uma ótima ferramenta para identificação de um suspeito. O presente trabalho foi elaborado através de revisões de literatura, de materiais já elaborados de arquivos científicos, materiais estes de extrema relevância. Por fim, cabe ressaltar a importância da biologia molecular no estudo forense para identificação de um suspeito auxiliando a justiça, pois estas técnicas permitiram o sequenciamento de todos os três bilhões de pares bases do genoma humano.

Palavras-chave: Biologia Molecular, ciências foreses, genética Forenses.

INTRODUÇÃO

Genética Forense ou DNA Forense, trata da utilização dos conhecimentos e das técnicas de Genética e de Biologia Molecular no auxílio da justiça no que tange desde a identificação de cadáveres e de suspeitos quanto à definição de paternidade ou maternidade (IBOGI, 2016).

Já as técnicas de biologia molecular aplicadas à área criminal, concentram-se mais em análises de DNA para identificação de um indivíduo a partir de cabelos, manchas de sangue e fluidos corporais, entre outros itens recuperados no local do crime. A função da biologia molecular é investigar todas as interações que ocorrem com o DNA (Ácido Desoxirribonucléico), na formação do RNA (Ácido Ribonucléico) e as proteínas. Seu campo de estudo é muito abrangente, unindo bioquímica, biologia celular e também genética. (DOREA, 2005).

O avanço da ciência e tecnologia a nível forense teve início a partir da década de 80, proporcionando grande impacto, graças às técnicas e análises direta do ácido desoxirribonucleico (DNA), que se tornou uma poderosa ferramenta para a

identificação humana e investigações criminais. (BENECKE, 1997).

Foi realizado o primeiro método de utilização da, análise do DNA por Sir Alec Jeffreys para identificar indivíduos, apesar do seu enorme poder potencial, houve sérias reservas quanto o seu uso real, pois no início, havia muitas dúvidas quanto à reprodutibilidade e à confiabilidade dos métodos. (DUARTE et al., 2001; BROWN, 2001).

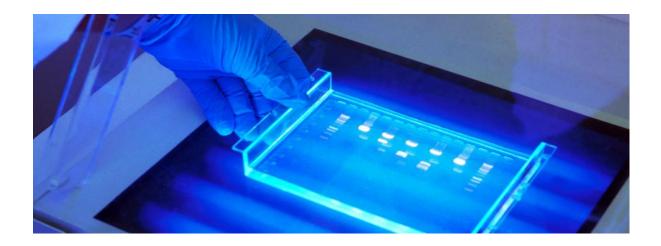
Nas últimas décadas, muitas técnicas foram desenvolvidas, objetivando a identificação genética precisa de indivíduo. As principais técnicas de biologia molecular utilizadas na investigação forense são a reação em cadeia polimerase (PCR), restriction fragment length polymorphism (RFLP), variable number landem repeat (VNTR), short tandem repeats (STR), DNA fingerprint para o isolamento do DNA (KOCH et al, 2008).

Dentre elas, as mais significativas são: Polimorfismo de compressão de fragmentos de DNA (RFLP) que consiste em obter DNA e tratá-lo com enzima de restrição; seguido de eletroforese que é uma técnica possível de separar moléculas em função da sua massa (tamanho), forma e compactação. Trata-se de uma técnica rápida, sensível e precisa. A molécula em questão, por exemplo o DNA, migra em suportes (géis de agarose ou acrilamida) por ação de uma corrente elétrica, com diferentes velocidades, dependendo do seu tamanho e forma. Quando submetido a um campo elétrico, as moléculas de DNA migram para o polo positivo, pois são carregadas negativamente, e como força oposta à migração existe o atrito com o suporte (gel). Quanto maior a molécula, maior o atrito e mais lenta a migração; portanto, moléculas de tamanhos diferentes terão migrado uma distância diferente depois de algum tempo. A distância que os fragmentos percorreram a partir do ponto de aplicação é comparada com a distância que outros fragmentos de tamanhos conhecidos percorreram no mesmo gel. (VIEIRA, 2006).

O DNA pode ser visualizado na presença de compostos intercalantes, sendo que o mais utilizado é o brometo de etídio. Em presença desse composto, o DNA emite fluorescência por exposição à luz UV e, assim, moléculas de um mesmo tamanho são visualizadas em um mesmo ponto do gel, formando uma faixa fluorescente. (ZAHA et al, 2003).

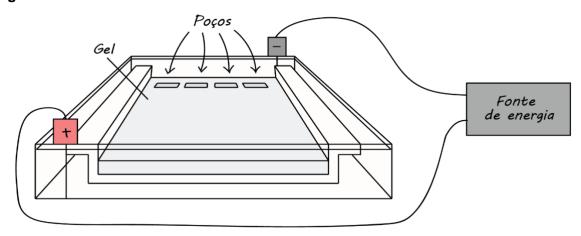
O número variável de repetições em série (VNTR) que é localizado na região promotora do gene da enzima mancamina oxidase A (MAOA) com alterações no comportamento humano e em diversos transtornos psiquiátricos. (SILVIA A., 2010).

Figura 1- Exame Eletroforese em Gel.



Fonte: disponível em: https://www.splabor.com.br/blog/cuba-de-eletroforese/o-que-eletroforese-. Acesso em: Julho de 2022.

Figura 2- Exame Eletroforese em Gel.

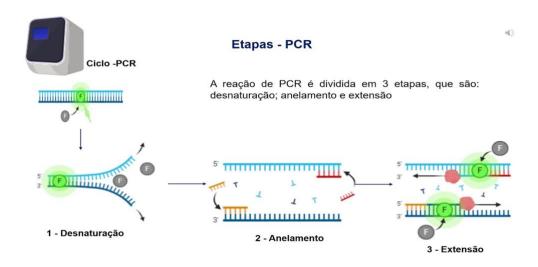


Fonte: disponível em:

https://pt.khanacademy.org/science/biology/biotech/dna/technology/dna-sequencing-pcr-electrophoresis/a/gel-electrophoresis. Acesso em: Julho de 2022.

Reação em cadeia Polimerase (PCR), que consiste em uma técnica rotineira de laboratório usada para fazer muitas cópias de uma região especifica do DNA, o objetivo da PCR é fabricar quantidade suficiente da região de interesse do DNA de modo que essa possa ser analisada e utilizada de alguma outra maneira e identificação de uma sequência de bases especificas do DNA (STR). (ALBUQUERQUE, 2004).

Figura 3- Exame PCR.



Fonte: disponível em: https://www.youtube.com/watch?v=UgMC3tfbJoQ. Acesso em: Julho de 2022.

O Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) que é um método que se baseia na existência de uma sequência repetitiva específica ativa em diferentes indivíduos de uma população ou nos dois homólogos diferentes do cromossomo num indivíduo diplóide. O VNTR consiste de regiões denominadas minisatélites ou repetição em tandem de número variável. Os VNTRs exibem uma enorme variabilidade e são constituídos de 9 à 100 pares de bases repetidos sequencialmente em loci cromossômicos. Uma repetição em série ("tandem repeaf") é uma sequência curta do DNA que é repetido na forma de "head-to-tail" num locus cromossómico específico. As repetições em série são evidenciadas ao longo de todo o genoma humano, sendo que algumas sequências são encontradas em somente um local - um único locus - e o número de unidades repetidas varia entre indivíduos. É uma técnica que constitui um contributo na investigação forense na análise de impressões digitais. (GÓES et al, 2002).

A expressão DNA "Finger-Print" (ou Impressões Genéricas) designa uma técnica de separação de segmentos de DNA que permite a identificação genética dos indivíduos. Recorrendo a marcadores genéticos, a PCR, a eletroforese e ao sequenciamento, obtém-se padrões de bandas (caso se utilizem géis) ou de picos (caso se utilizem sequenciadores automáticos) e os perfis obtidos são comparados com um padrão e os indivíduos são identificados. Esta técnica é muito utilizada na

investigação criminal para identificar criminosos a partir de resíduos de DNA (pele, sangue, esperma, cabelos, entre outros) ou em testes de paternidade para identificar os pais. (KOCH et al, 2008).

Testes de DNA se tornam eficientes por estarem associados a grande sensibilidade dos exames de DNA. Além disso, o DNA é uma molécula robusta, relativamente resistente aos fatores ambientais, ácidos, álcalis e detergentes, diferentemente dos determinantes protéicos, lipídicos e carboidratos. (DOLINSKY, 2006).

O uso do DNA para fins forenses, não irá por si só provar a culpabilidade ou inocência de criminosos, mas irá relacioná-lo com a cena do crime. Aceita em processos judiciais por todo o mundo, o uso das técnicas de biologia molecular na área forense é de grande valia, pois podem ser utilizadas em quase todos os tipos de investigação tais como: crime sexual, identificação de cadáveres carbonizados, mutilados ou em decomposição, relação entre instrumento lesivo e vítima, entre outros. (DOLINSKY, 2006).

Em geral, em todas as cenas de crime encontram-se diversos tipos de vestígios biológicos, onde testes de DNA podem ser realizados, tomando-as evidencias importantes inclusive, sendo possível excluir inocentes e indicar suspeitos, cabendo ao perito identificar o tipo de amostra encontrada e qual melhor técnica de identificação, sem esquecer que os exames devem ser realizados com a utilização de métodos científicos e os laudos devem ser escritos em linguagem ética e juridicamente perfeita, e para que não ocorra nenhum tipo de erro no exame regras rígidas de coleta e processamento das amostras devem ser adotadas, para maior precisão dos resultados. (DOREA, 2005).

Não há crime perfeito. Em todas as metrópoles do mundo há crimes de difícil solução. Contudo, os laboratórios de genética forense já podem enxergar o invisível, a molécula de DNA, componente celular responsável por carregar e transmitir a informação genética em todas as pessoas. (VIEIRA, 2011).

Em geral, os profissionais indicados para a execução de exames judiciais de DNA, área conhecida como genética forense, são biólogos, biomédicos e médicos. Todavia, recomenda-se que sejam nomeados somente profissionais com pósgraduação em genética ou com vários anos de experiência neste setor. (VIEIRA, 2011).

OBJETIVO

O objetivo dessa revisão é identificar e compreender as técnicas utilizadas na biologia molecular com finalidade de ciências forenses.

METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de uma revisão de literatura, sendo pesquisa desenvolvida a partir de matérias já elaborados constituídos principalmente de artigos científicos, teses, dissertações e matérias relevantes, estão sendo utilizados atráves de publicações de sites como: google acadêmico, Scielo (=Scientific Eletronic Library oline) e Pub Med.

Foram utilizados como descritores: "Biologia Molecular", "ciências foreses", "genética Forenses". Os critérios de inclusão foram 1) antigos publicados nos últimos 10 anos, de 2012 á 2022; 2) que trouxeram informações do uso da biologia molecular nas ciências forenses. Os critérios de inclusão foram os seguintes: 1) descritores incompletos; 2) inexistência de resumos nas bases de dados selecionados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AUTOR	OBJETIVO	RESULTADO E DISCUSSÃO
KOCH et al, 2008	Revisão sobre as técnicas de biologia molecular mais significativas-RFLP, VNTR, PCR E STR- que foram desenvolvidas nas últimas décadas, tendo como princípio os estudos de diferentes polimorfismos de DNA para identificação precisa de indivíduos.	Métodos para determinar o perfil do DNA, estão firmemente embasados na tecnologia molecular. Quando a determinação do perfil é feita com cuidados adequados os resultados são altamente reprodutíveis.
DECANINE, 2016	Apresentar uma revisão bibliográfica sobre as tecnologias utilizadas na genética floresce enfatizando o uso de marcados moleculares para identificação humana, a utilização desses marcadores é a peça fundamental para os testes de DNA forenses.	As tecnologias aplicadas e os métodos relacionados ao DNA progrediram a ponto de não colocar em duvida a admissibilidade dos dados quando estes foram coletados e analisados de maneira adequada.

FRUEHWIRTH et al, 2015	Elucidar duvidas sobre o DNA, suas características em relação as técnicas moleculares utilizadas na elucidações forense e sua discrição.	o DNA genômico é encontrado internamente no núcleo de cada célula do corpo humano, estão inseridos todas as informações genéticas responsáveis pelas atividades celulares e também pelas características do indivíduo.
KAYSER et al, 2011	O perfil do DNA forense atualmente permite a identificação de pessoas já conhecidas pelas autoridades investigadoras. Avanços recentes produziram novos tipos de marcadores genéticos com potencial para superar algumas limitações importantes nos métodos atuais de perfil de DNA.	Inclui novas abordagens moleculares para encontrar indivíduos anteriormente desconhecidos pelos investigadores e novos métodos moleculares para apoiar as ligações entre doadores de amostras forenses e atos criminosos, esses avanços em genética, genômica e biologia molecular provavelmente melhoraram o trabalho de casos forenses humanos em um futuro próximo.

Fonte: Elaborado pelas autoras.

Para que os vestígios biológicos tenham valor jurídico, é necessário que estes materiais encontrados na cena do crime, estejam preservados. Qualquer material biológico encontrado na cena do crime e que se destine a análise do DNA deve ser tratados com cautela, de forma cuidadosa, pois estes são materiais de fácil degradação e contaminação e qualquer desvio, o valor do vestígio biológico judicial pode ser comprometido. Assim, a coleta, do acondicionamento e transporte dos vestígios biológicos são muito importantes. (ABRANTES, 2022).

De forma geral, todos os vestígios biológicos encontrados na cena do crime, devem ser fotografados, antes de ser manuseados, pois a foto e uma prova, e alem disso, ressaltar a importância da coleta correta dos materiais biológicos, sua forma de acondicionar e transportar para um laboratório de pesquisas genéticas, pois qualquer desvio, qualquer degradação o material perde o valor judicial e não é possível condenar ou absorver um suspeito. (ABRANTES, 2022).

CONCLUSÃO

O estudo da genética forense junto com as técnicas inovadoras da biologia molecular auxilia na justiça. As técnicas de biologia molecular são excelente para investigação criminal, e contribuíram muito para solucionar os casos, pois cada indivíduos possui seu próprio material genético, exceto gêmeos monozigóticos.

Os procedimentos analíticos utilizados para determinação de um perfil genético são totalmente dependentes do DNA, portanto é imprescindível que se tenha muito cuidado na hora de coletar, armazenar e transportar o material biológico, pois estes podem perder o valor judicial devido contaminações exógenas ou degradações.

O Perito cabe um papel fundamental para este processo de coleta, armazenamento e transporte dos vestígios biológicos até o laudo pericial.

Em suma, 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. Na maioria dos casos, utiliza-se a PCR para amplificação do DNA nuclear e, desse modo, tentar identificar o suspeito.

Por fim, cabe ressaltar a importância da biologia molecular no estudo forense para identificação de um suspeito auxiliando a justiça, pois estas técnicas permitiram o sequenciamento de todos os três bilhões de pares bases do genoma humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KOCH, Analara. A Utilização de Técnicas de Biologia Molecular na Genética Forense: uma revisão. **Moodl**, 2007. Disponível em: https://moodle.ufsc.br/file.php/19765/topico_vii/genetica_forense_1.pdf. Acesso em: 18 de Maio de 2022.

FRUEHWIRTH, Marcelo. Técnicas de Biologia Molecular Aplicadas a Perícia e Ciência Forense. **Derecho y Cambio Social**, 2015. Disponível: www.derechoycambiosocial.com. Acesso em: 18 de Maio de 2022.

DECANINE, D. O Papel de Marcadores Moleculares na Genética Forense. **Revista rasileira de Criminalística**, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v5i2.123. Acesso em: 18 de Maio de 2022.

KAYSER, Manfred. Melhorando a Perícia Humana por Meio de Avanços em

Genética, Genômica e Biologia Molecular. **Nature**, 2011. Disponível em: www.nature.com/reviews/genetics. Acesso em: 18 de Maio de 2022.

BENECKE, Mark. Forensic DNA Samples: Collection and Handling. Encyclopedia of Diagnostic and Proteomics, 2005. Disponível em: http://www.benecke.com/dnacollection.pdf. Acesso em: 19 de Maio de 2022.

GENÉTICA FORENSE: CONHEÇA COMO É REALIZADA A INVESTIGAÇÃO CRIMINAL POR EXAMES DE DNA. **Ibog Blog**, 2016. Disponível em:https://blog.ipog.edu.br/tecnologia/genetica-forense-conheca-como-e-realizada-investigacao-criminal-por-exames-de-dna/. Acesso em: 19 de Maio de 2022.

DOREA, Luiz Eduardo Carvalho; STUMVOLL, Victor Paulo; QUINTELA, Victor. Tratado de Pericias Criminalísticas. 3. Ed. Campinas, SP: Millenium Editora, 2005.

DUARTE, Francisco. A. M; PEREZ, Sergio. D.; DE BARROS, Margareth. P. M.; Rossi, Elsie O. A avaliação do DNA como Prova Forense. Ribeirão Preto: FUNPEC. 2001. 283p.

BROWN, T. A. Clonagem Gênica e Análise de DnNA: Uma introdução. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed. 2001. 376p.

VIEIRA, Daniel P. Técnicas de Pcr: Aplicações e Padronização de Reações. Disponível em: http://www.etalf.hpg.ig.com.br/aula1b.pdf. Acesso em: 19 de Maio de 2022.

ZAHA, Arnaldo.; SCHRANK, Augusto.; LORETO, Élgion S.; FERREIRA.; HENRIQUE B.; SCHRANK, Irene S. Biologia Molecular Básica. 3. Ed. Porto Alegre: mercado aberto 2003. 421p.

SILVIA A.. O papel do polimorfismo funcional VNTR da região promotora do gene MAOA nos transtornos psiquiátricos. **Scielo Brasil**, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rpc/a/zbyTQtJLdhB7zWSb6vQFJfh/?lang=pt. Acesso em 18 de Maio de 2022.

ALBUQUERQUE, Tricia K. Identificação humana atráves de marcadores moleculares, Caderno La Salle XI, Canoas, v. 2, n. 1, p.265-270, 2004.

GOES, Andréa C. S.; SILVA, Dayse, A. DOMINGUES, Cristiane S.; SOBRINHO, Jão M.; CARVALHO, Elizeu F. C. Identification of a criminal by DNA typing in a rape case in Rio de Jnaiero, Brzil. São Paulo Medial Journal, v. 120, n. 3, p.77-80, 2002.

DORLINSKY, Luciana Cresta; PEREIRA, Lissiane M> C. Veras. Dna Forense- Artigo de Revisão. Disponível em:

http://publicacoes.unigranrio.edu.br/index.php/sare/article/view/242/231. Acesso em: 19 de Maio de 2022.

VIEIRA, Silvana. Genetica Forense. **Acervo Digital**, 2011. Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/38895/R%20-%20E%20-%20SILVANA%20VIEIRA.pdf?sequence=2&isAllowed=y#:~:text=N%C3%A3o%20h

%C3%A1%20crime%20perfeito.,pessoas%20(LEITE%2C%202000). Acesso em: 19 de Maio de 2022.

VIEIRA, Daniel P. Técnas de PCR: Aplicações e Padronização de Reações. Disponível em: http://www.etalf.hpg.ig.com.br/aula1b.pdf. Acesso em: 19 de Maio de 2022.

ABRANTES, Marina. Técnicas de biologia molecular na genética forense. **Lyceu Monline**. Disponível em:

http://lyceumonline.usf.edu.br/salavirtual/documentos/2772.pdf. Acesso em: 18 de Maio de 2022.