

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GENÉTICA FORENSE

SILVANA VIEIRA

Trabalho de conclusão de curso de Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio da Universidade Federal do Paraná, sob a orientação da Prof^a. Lupe Furtado Alle.

Votorantim/SP

2011

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	03
2 O DNA NA ÁREA FORENSE.....	05
2.1 História.....	05
2.2 Técnicas de Utilização.....	06
2.3 Bancos de Dados de DNA Forense.....	14
2.4 Minissatélites e Macrossatélites.....	17
2.5 PCR (Cadeia de Polimerase).....	20
2.6 STR (Repetições Curtas em Tandem).....	22
3 CONCLUSÕES.....	26
REFERÊNCIAS.....	28

RESUMO

Os avanços nas tecnologias de DNA (Ácido Desorribonucléico) surtiram um enorme impacto no campo da Genética Forense. O presente trabalho fará uma revisão, através de autores pesquisados, sobre as técnicas de Biologia Forense – PCR (Cadeia de Polimerase) e STR (Repetições Curtas em Tandem), que foram desenvolvidas a partir dos anos 80 por Sir Alec Jeffreys, para o estudo do polimorfismo de DNA e a identificação de indivíduos (PCR) e identificação de uma sequência de bases específicas do DNA (STR). Será descrita a reação da cadeia da polimerase (PCR), um método laboratorial capaz de copiar milhões de vezes um segmento de DNA que se destaca por ser um procedimento relativamente simples e fácil de realizar em laboratório, gerando resultados precisos e satisfatórios, em um curto espaço de tempo. O objetivo principal, será descrever as técnicas de PCR e STR relacionadas à Genética Forense.

Palavras-chave: Genética Forense, DNA, PCR, STR.

1 INTRODUÇÃO

O avanço da ciência e tecnologia forense teve seu ponto culminante em meados dos anos 80, quando as técnicas de identificação, fundamentadas na análise direta do DNA (Ácido Desoxirribonucléico) tornaram-se uma das mais poderosas ferramentas para a identificação humana e investigações criminais (BENECKE, 1997)

Entre as múltiplas atividades de um laboratório de Genética Forense constam a realização de perícias referentes aos casos de filiação, criminalística biológica e identificação individual (genética). A identificação genética pressupõe sempre o estabelecimento da individualidade biológica que cada ser humano representa e fundamenta-se na exclusividade do seu DNA e na igualdade e invariabilidade deste em todas as células do organismo ao longo da vida.

O primeiro método de utilização da análise do DNA para identificar indivíduos foi desenvolvido em meados da década de 1980 por Sir Alec Jeffreys, da Universidade de Leicester e, apesar do seu enorme poder potencial, houve sérias reservas quanto ao seu uso real, pois no início, havia muitas dúvidas quanto à reprodutividade e à confiabilidade dos métodos (DUARTE *et al.*, 2001; BROWN, 2001).

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 (LEITE, 2000).

A determinação de identidade genética pelo DNA pode ser usada para demonstrar a culpabilidade dos criminosos, exonerar os inocentes, identificar corpos e restos humanos em desastre aéreos e campos de batalha, determinar paternidade e confiabilidade praticamente absoluta, elucidar trocas de bebês em berçários e detectar substituições e erros de rotulação em laboratórios de patologia clínica (PENA, 2005).

As aplicações da Biologia Forense no laboratório criminal centralizam-se em grande parte, na capacidade da análise do DNA em identificar um indivíduo a partir de cabelos, manchas de sangue e fluídos corporais, entre outros itens recuperados no local do crime. Essas técnicas são conhecidas como datiloscopia genética

(genetic fingerprinting), embora o termo mais preciso e utilizado para designá-las seja perfil de DNA (BROWN, 2001). O perfil de DNA se baseia no fato de que gêmeos idênticos são os únicos indivíduos que possuem cópias idênticas do genoma humano, mas este, em indivíduos diferentes, contém muitos polimorfismos, que são posições onde a sequência de nucleotídeo difere em cada membro da população. Para ser considerado um polimorfismo, o alelo raro de um determinado local deve estar presente em mais de 1% dos indivíduos da população. Assim, com esta grande variação no número e no tipo de variações, fica possível identificar uma pessoa com base no seu padrão de polimorfismos (BROWN, 2001).

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 pós-graduação em genética ou com vários anos de experiência neste setor.

Com uma incrível sensibilidade e poder de discriminação, a análise de DNA fornece grandes progressos no campo da ciência forense através de técnicas desenvolvidas. Neste trabalho o enfoque será o PCR (Cadeia de Polimerase) e STR (Repetições Curtas em Tandem).

Assim, o objetivo deste trabalho é descrever as técnicas PCR e STR relacionadas à investigação forense.

2 O DNA NA ÁREA FORENSE

2.1 História

Historicamente, nos países onde as tecnologias aqui discutidas foram aceitas como forma de obtenção de provas periciais, houve uma fase de muitas controvérsias antes da larga aceitação que os testes de DNA hoje possuem. Este período foi marcado por debates que acabaram por estabelecer rigorosos padrões para a execução dos exames. No Brasil, não há fiscalização adequada ou padronização dos exames. Este fato, somado ao desconhecimento que alguns magistrados têm de que os testes não são infalíveis, pode interferir nos julgamentos.

A genética forense teve origem através das primeiras utilizações das características genéticas para fazer testes de paternidade, ajudando a justiça.

A fase moderna da genética forense se aconteceu na década de 1980 quando investigadores descobriram regiões altamente variáveis do ADN, capazes de individualizar uma pessoa.

Em 1984, na Inglaterra, o médico Alec Jeffreys, elaborou um método de identificar as pessoas por meio de fragmentos do seu material genético.

Em 1985, no Reino Unido, foi pela primeira vez efetuada a análise do DNA com aplicação médico legal.

Em 1988 o FBI (Federal Bureau of Investigation) realiza casos através do DNA.

Na década de 1990, houve uma grande evolução tecnológica e científica que levou à popularização da técnica da PCR e um desenvolvimento de técnicas cada vez mais sensíveis, capazes de identificar a origem de amostras biológicas com pouco DNA.

A capacidade de introduzir achados de DNA no tribunal sofre grande impacto pela coleta das provas e métodos de preservação. Do ponto de vista técnico e criminalista, o DNA pode ser coletado da maioria das espécies biológicas, pois sendo uma molécula estável em ambiente seco e frio, se armazenado em tais condições, tem grandes chances de resultados confiáveis (BENECKE, 2005).

A tipagem do DNA para finalidade forense se baseia nos mesmos princípios fundamentais e usa as mesmas técnicas que são empregadas numa ampla

variedade de situações médicas e genéticas, tais como: o diagnóstico e o mapeamento genético (DUARTE *et al.*, 2001).

Em geral, uma quantidade significativa de material deve ser coletada para garantir a extração de DNA suficiente para os testes. No entanto, é importante preservar a coleta de sujeira adicional, gorduras, fluidos e outros materiais que possam afetar o processo de tipagem de DNA (LEE e LAAD, 2001). Deve-se levar em consideração que o material biológico recuperado na cena do crime pode sofrer alterações da cadeia de nucleotídeos e, como consequência, modificar a composição e estrutura normal do DNA, impossibilitando a análise (BONACCORSO, 2004).

2.2 Técnicas de Utilização

As matérias vivas contêm quatro tipos básicos de substância orgânica: proteína, glicídios, lipídios e ácidos nucléicos. Todas as formas de vida possuem os chamados ácidos nucléicos, as maiores e mais importantes moléculas orgânicas presentes nas formas vivas.

Temos dois tipos identificados de ácidos nucléicos: DNA (DesoxirriboNucleic Acid, ou ácido desoxirribonucleico), assim denominado pela sua constituição a partir do açúcar desoxirribose e, RNA (RiboNucleic Acid, ou ácido ribonucleico), originário do açúcar ribose.

Desvendando grande parte do mecanismo desses ácidos, em particular o DNA, se pode entender o funcionamento da vida, a perpetuação das espécies e a possibilidade da investigação da paternidade.

O DNA é possui duas fitas em forma de serpentina (helicoidais), formadas por filamentos paralelos, em face da ponte de hidrogênio que liga estas cadeias de filamentos. São formadas por uma base hidrogenada e pelos nucleotídeos (guanina, citosina, adenosina e timina). Existe cerca de um milhão de bilhões de células constituindo um corpo humano médio e, com algumas exceções, cada uma dessas células contém uma cópia completa do DNA daquele corpo. Portanto, o ácido nucléico se constitui numa central de informações, permitindo que a célula execute suas funções. Assim, se replica em cópias de si mesma e supervisiona a fabricação de outra molécula, a proteína (que forma grande parte da estrutura de um corpo),

além de controlar os processos químicos que ocorrem dentro da célula, ligando-os e desligando-os no momento e no lugar certo. Essa movimentação intracelular leva uma primeira célula a formar um bebe e, mais tarde, um corpo adulto.

Segundo Duarte *et al.* (2001), o DNA está na forma de cromossomos microscópicos, localizados no interior da célula, no núcleo. Nos seres humanos, o DNA que carrega o código genético ocorre em todas as células que possuem núcleo, inclusive os glóbulos brancos, os espermatozóides, as células que envolvem as raízes capilares e as células encontradas na saliva. Estas são as células que oferecem maior interesse para os estudos forenses.

A quantificação do DNA desempenha um papel central em todas as áreas e aplicações da análise do DNA forense. A avaliação cuidadosa da quantidade de DNA extraído de amostras biológicas é indispensável para amplificação do DNA. Quando um vestígio biológico proveniente da cena de um crime é processado para o isolamento do DNA, todas as fontes de DNA são extraídas e estarão presentes nas amostras a serem examinadas (BUTLER, 2009).

O excesso de DNA em uma amostra quando analisada resulta em um eletroforetograma com baixa resolução, o que torna a interpretação dos resultados mais difícil e demorada. Já a falta de DNA resulta na perda de alelos devido a amplificação aleatória, o que também impede a análise correta.

Existem vários métodos para estimar a concentração total de DNA ou somente a concentração do DNA humanos presente em uma amostra. Alguns desses testes incluem: espectrofotometria, géis, sistema *slot blot*, PCR em tempo real entre outros (BUTLER, 2009; BONACCORSO, 2004).

A quantificação do DNA em gel de agarose ou por espectrofotometria não são métodos muito sensíveis. A análise através do gel é relativamente simples e pode ser utilizada para comprovação da extração do DNA. A espectrofotometria não é específica para o DNA e alguns contaminantes da extração como proteínas e o fenol podem emitir sinais falsos (BONACCORSO, 2004).

O *slot blot* é um método quimioluminescente utilizado nos laboratórios forenses no final dos anos 90. Esse teste é feito através da hibridização e uma membrana de nylon de uma sonda de 40 pb específica para humanos e outros primatas no cromossomo 17.

Conhecendo o DNA e suas funções, tornou-se possível manipular seus genes, extraí-lo de uma célula, fragmentá-lo, separar os específicos e introduzi-los em outro organismo vivo. Hoje, via exame de tipagem de DNA, é possível confirmar ou negar uma paternidade ou maternidade, bem como, a inocência ou a culpa de um acusado, por meios de comparação entre o material encontrado na vítima e o encontrado no suspeito, com margem de acerto próxima dos 100% (PENA, 2005).

Entre um indivíduo e outro existem pequenas diferenças na sequência do DNA que em média ocorre uma para cada 500 a 1.000 pares de bases. Essas diferenças geralmente estão presentes em apenas uma fração da população humana e cada indivíduo possui algumas delas. Essas alterações podem afetar os sítios de reconhecimento para as enzimas de restrição, o que leva a uma diferença de tamanho quando certos fragmentos de DNA são produzidos pela digestão com uma enzima de restrição particular. O polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLPs) é conhecido como sendo essas diferenças de tamanho (NELSON; COX, 2002).

Para se detectar os RFLPs normalmente se utiliza um procedimento de hibridização chamado de *Southern blotting*. Essa técnica foi desenvolvida por E. M. Southern em 1975 e permite identificar a localização de genes de outras sequências de DNA em fragmentos de restrição separados por eletroforeses em gel (SNUSTAD; SIMMONS, 2008). As moléculas de DNA que são separadas pela eletroforese são desnaturadas colocando-se o gel em substância alcalina e em seguida são transferidas para uma membrana de nitrocelulose ou de náilon. Dessa maneira a membrana passa a reproduzir a distribuição dos fragmentos no gel. A membrana é imersa numa solução que contém uma sonda de DNA radiotivamente marcada. A sonda irá hibridizar apenas com as moléculas de DNA na membrana que contém uma sequência de nucleotídeos complementar à sequência da sonda, que corresponde alguns dos milhares de fragmentos de DNA produzido quando o genoma é digerido com uma enzima de restrição. A revelação desses fragmentos é feita através da auto-radiografia (NELSON; COX, 2002).

As sequências de DNA escolhidas para realização desses testes são normalmente regiões que contêm DNA repetitivo. O número de repetições varia entre os indivíduos (exceto no caso de gêmeos idênticos). Quando são usadas

várias sondas em um único teste é possível identificar um único indivíduo na população humana, pois o padrão de uma banda geralmente é distinto para cada indivíduo testado. Porém, para realização desse método são necessárias grandes quantidades de DNA, que normalmente não são encontradas na cena do crime. A reação em cadeia da polimerase (PCR) é utilizada para aumentar a sensibilidade da análise de RFLP, pois essa reação permite ampliar pequenas quantidades de DNA como encontrada em um único fio de cabelo, uma gota de sangue ou amostras antigas (NELSON; COX, 2002).

O DNA Forense é usado hoje na esfera criminal, para a investigação criminal e na esfera civil, para investigação de paternidade. O DNA Forense é aplicado na identificação de suspeito em casos de crimes sexuais (estupro, atentado violento o pudor, ato libidinoso diverso da conjugação carnal); identificação de cadáveres carbonizados, em decomposição, relação entre instrumento lesivo e vítima; identificação de cadáveres abandonados; aborto provocado; infanticídio; falta de assistência durante o estado puerperal; investigação de paternidade em caso de gravidez resultante de estupro; estudo de vínculo genético: raptos, sequestros e tráfico de menores; e anulação de registro civil de nascimento (BEZERRA, 2004).

Além dos cuidados que devem ser tomados com todas as evidências criminais e civis, nos casos que envolvem a análise de DNA, deve-se ter atenção em relação à contaminação das evidências criminais que contenham material genético. Por isso é importante o uso de luvas descartáveis, mascarar e gorros cirúrgicos quando for fazer a coleta, manuseio e processamento das evidências. Amostras biológicas de interesse forense qualquer tipo de tecido ou fluido biológico pode ser utilizado como fonte de DNA, uma vez que são formados por células. Nas células, o DNA de interesse forense encontra-se tanto no núcleo como nas mitocôndrias (BEZERRA, 2004).

Os tipos de amostras mais comuns são sangue, sêmen, cabelo, saliva, urina, pêlos, unha, ossos, líquidos amnióticos, vilosidade crônica, fígado, músculo, suor, fezes. Podem ocorrer degradação e contaminação de DNA nos laboratórios e nos locais de crime. A degradação biológica do DNA é feita por enzimas produzidas por fungo e bactérias, por causa da umidade e do calor. O DNA resiste bem ao calor (temperatura de até 100°C não o destrói), mas existe o problema da contaminação, que é a deposição de material biológico de outra pessoa na amostra. Por exemplo,

num caso de estupro, quando o material coletado com swab pode conter sêmen (espermatozóide) do esturador e fluido vaginal com células da vítima (SILVA & PASSOS, 2006).

Segundo Passos & Silva (2006) é importante destacar alguns vestígios encontrados com mais frequência através do DNA:

- Manchas de sangue: O sangue é o tipo de amostra mais frequentemente analisada, tanto no estado líquido como em manchas secas. O DNA é extraído dos leucócitos do sangue, uma vez que os eritrócitos são células anucleadas. Esta extração é efetuada mediante diferentes protocolos, sendo os mais usados os que utilizam o fenol-clorofórmio ou o Chelex. As manchas são encontradas em suportes porosos e absorventes existentes na cena do crime, como sofás, tapetes e mesmo nas roupas da vítima ou autor do crime; ou em suportes não porosos como, por exemplo, diferentes tipos de revestimentos de chão ou paredes de residências, vidros ou cerâmicas.

- Sêmen: O sêmen (suspensão de espermatozóides no líquido seminal), é o vestígio mais estudado, o que se deve ao fato de haver muitos casos de suspeita de agressão sexual. O DNA a analisar é extraído dos espermatozóides. Por isso, é conveniente efetuar, em primeiro lugar, uma confirmação microscópica da sua existência na amostra a ser estudada. É prática efetuar o teste ou reação da Brentamina (determinação da atividade da fosfatase ácida), cuja reação positiva se traduz no aparecimento de uma coloração púrpura, numa mancha que se suspeita de ser de sêmem, depois da aplicação do reagente. Por vezes, o resultado é duvidoso, por se tratar de uma reação colorimétrica e, em alguns casos, de difícil interpretação devido à cor do próprio tecido onde a reação é efetuada.

Depois da extração do DNA do vestígio biológico ou dos exsudatos vaginais ou anais, procede-se ao estudo da amelogenina. A amplificação do gene homólogo da amelogenina X-Y, permite concluir que quando estão presentes células masculinas aparecem duas bandas, uma com 212 pb, específica do cromossoma X e outra com 218 pb, característica do cromossoma Y, cujos tamanhos em pares de bases dependem dos primers usados. Na grande maioria dos casos estudados, a amostra presente para exame é o exsudato vaginal da queixosa, que é colhido na hora do exame. Pode haver sêmen em peças de vestuário da vítima ou do agressor, ou até mesmo, no local onde ocorreu a violação, tanto em suportes porosos ou não.

As amostras de sêmen podem estar misturadas com outro tipo de produtos biológicos da vítima ou haver mistura de sêmen de dois ou mais indivíduos, o qual não constitui problema para a resolução do caso. Atualmente, há metodologias que permitem a separação eficiente do DNA dos espermatozoides do DNA das células do epitélio vaginal da violada e, no caso de mistura de sêmen de mais de um indivíduo, a análise de DNA possibilita a detecção e identificação dos indivíduos.

- Pêlo: Os pêlos podem aparecer em peças de vestuário, nas mãos da vítima, ou ainda na cena do crime e devem ser recolhidos e acondicionados com precaução, pois podem ser provenientes de pessoas distintas. O DNA dos pêlos está particularmente concentrado na raiz os quais dão melhores resultados, pois na generalidade dos casos, possuem células do folículo piloso, o qual permite obter DNA em maior quantidade. Em condições ideais pode-se conseguir até 0,5 µg de DNA de um só pêlo, sendo a quantidade normalmente conseguida de 200 µg em cabelos recentemente arrancados e cerca de 10 µg em cabelos caídos.

- Saliva e urina: A saliva e a urina não contêm células na sua constituição, mas, por transportarem células epiteliais, respectivamente da cavidade bucal e das vias urinárias, possuem DNA. As amostras que contêm saliva, como filtros de cigarros fumados, garrafas ou latas de refresco e selos ou envelopes, são susceptíveis de identificar o autor do crime.

- Urina: A urina possui bactérias e outros agentes contaminantes que dificultam a obtenção de resultados.

- Fezes: Os resultados são ainda mais escassos, porque na maioria das vezes, não possuem material genético, susceptível de ser analisado e têm uma composição de elementos que impedem o êxito do estudo.

Para um efetivo controle da integridade física do material biológico coletado, faz-se necessário a documentação de sua cadeia de custódia, que diz respeito à identificação de todas as pessoas que ficaram responsáveis pela guarda da amostra, e das condições em que as mesmas se encontravam a cada nova transmissão, desde a coleta até sua análise em laboratório. As amostras biológicas merecem especial atenção devido a sua susceptibilidade à degradação e contaminação. Este controle é obtido mediante recibos assinados a cada transmissão de posse da amostra (SILVA & PASSOS, 2006).

O DNA está na forma de cromossomos microscópicos, localizados no interior da célula, no núcleo (DUARTE *et al.*, 2001). Fora do núcleo, no citoplasma da célula também é encontrado DNA de interesse forense. Este DNA está localizado nas mitocôndrias, organelas especializadas na produção de energia. Nos estudos rotineiros de identificação humana somente se estuda DNA nuclear. Nos casos em que não é possível a tipagem utilizando-se DNA nuclear, pode ser usado DNA mitocondrial. Por exemplo, fios de cabelos que não possuem mais bulbos e ossos antigos podem ser utilizados para extração de DNA mitocondrial. Qualquer tecido ou fluido biológico pode ser utilizado como fonte de DNA, desde que possua células próprias ou células de outros tecidos. Por exemplo, na urina podemos encontrar células oriundas da bexiga, mucosa do pênis e células brancas do sangue, que podem ser utilizadas em estudos de identificação. Da mesma forma podem ser encontradas células na saliva, lágrimas, suor, e em outras substâncias orgânicas (SILVA & PASSOS, 2006).

Nos seres humanos, o DNA que carrega o código genético ocorre em todas as células que possuem núcleo, inclusive os glóbulos brancos, os espermatozoides, as células que envolvem as raízes capilares e as células encontradas na saliva. Estas são as células que oferecem maior interesse para os estudos forenses (DUARTE *et al.*, 2001).

O DNA mitocondrial (mtDNA) é de origem extranuclear, e seu genoma circular é encontrado em grande quantidade no citoplasma das células. Esse DNA foi completamente sequenciado, e a região que possui variações de sequência é chamada de região controle. Uma das características de interesse é o seu caráter monoclonal, sendo que todo o mtDNA de um indivíduo apresenta a mesma sequência. Entretanto, uma condição chamada de heteroplasmia pode existir, quando uma pessoa apresenta mais de um tipo de mtDNA. Dessa maneira, a análise de fios de cabelo pode demonstrar resultados diferentes ou ambíguos (JOBIM *et al.*, 2006).

O mtDNA é um marcador genético de grande interesse na área forense, pois uma única célula possui mais de 5.000 cópias de mtDNA, associados à resistência do mtDNA com estruturas circular, à digestão enzimática. Assim, em grandes desastres (incêndios, explosões, queda de aviões, etc.), quando é mais difícil identificar os corpos, analisa-se o mtDNA e compara-se com sequências obtidas de possíveis

irmãos ou ascendentes maternos (LIMA, 2006).

Utiliza-se mtDNA quando a amostra em questão tem uma quantidade pequena ou não tem DNA nuclear; como, por exemplo, quando a única amostra que temos do possível criminoso é um pêlo ou cabelo sem bulbo. A técnica também pode ser usada quando se quer fazer um exame de maternidade e não se tem o pai. O mtDNA é de herança materna, sendo que recebemos esses marcador de nossas mães e temos identidade com nossos irmãos e parentes próximos pela linhagem materna (JOBIM *et al.*, 2006).

O cromossomo Y (crY) é transmitido pelo pai somente para os filhos homens e a análise destas regiões pode fornecer importante informação quanto à origem parental dos indivíduos, embora não forneça informação indivíduo-específico. Seus microssatélites são importantes na análise forense do DNA. Devido à falta de um cromossomo homólogo, não existe recombinação durante a meiose. Só são identificados alelos de origem masculina, herdados em bloco dos antepassados masculinos. A herança em bloco de alelos de diferentes STR do mesmo cromossomo é denominada herança haplótipa, e o conjunto dos alelos chamam-se haplótipos (JOBIM *et al.*, 2006).

A análise de microssatélites existentes no cromossomo Y (crY) tem sido utilizada para elucidar casos de estupro onde se tem mistura de material biológico e, por isso, de DNA. Além disso, pode-se realizar teste de paternidade sem a mãe.

No cromossomo Y existem três regiões distintas. Duas pequenas regiões são homólogas ao cromossomo X e podem sofrer recombinação. No entanto, há uma parte do cromossomo Y que é exclusiva e que não sofre recombinação com o cromossomo X e por isso é passada de pai pra filho sem sofrer qualquer alteração.

Estudos apontam um baixo índice de mutação, podendo os mesmos haplótipos ser encontrados em varias gerações de homens, alcançando talvez algumas centenas de anos.

Enquanto que no estudo de microssatélite de DNA de cromossomos somáticos um mesmo indivíduo pode possuir dois alelos, diferentes ou não, para a mesma região (o que significa homo ou heterogozidade), no estudo de microssatélite de cromossomo Y, cada homem possui apenas um alelo, uma vez que possui apenas um cromossomo Y (JOBIM *et al.*, 2006).

2.3 Bancos de Dados de DNA Forense

É usado 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. Usa-se o Sistema CODIS (Combined DNA Index System) do FBI / EUA (todo o país), que preconiza no mínimo 13 regiões de STR. As 13 regiões são: D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TPOX, THO1 e D16S539 (SILVA & PASSOS, 2006).

Apontada como a maior revolução científica na esfera forense desde o reconhecimento das impressões digitais como uma característica pessoal, as técnicas de identificação fundamentada na análise do DNA, ostentam duas vantagens sobre os métodos convencionais de identificação: a estabilidade química do DNA, mesmo após longo período de tempo, e a sua ocorrência em todas as células nucleadas do organismo humano, o que permite condenar ou absolver um suspeito com uma única gota de sangue ou através de um único fio de cabelo encontrado na cena do crime. O estudo do DNA e seu emprego na área forense auxiliam muito na apuração de paternidade, quando já é falecido o suposto pai. As amostras mais frequentes nos laboratórios, para realização de perícias, são, pela ordem, o sangue (líquido ou sob a forma de mancha seca), o sêmen (colhido no exsudato vaginal, peças íntimas ou manchas), os pêlos (no qual o DNA está concentrado na raiz) e os objetos com saliva (as salivas não contêm células, mas nela podem ser encontradas células epiteliais da cavidade bucal, as quais possuem DNA; restos cadavéricos, amostra de músculos, ossos e polpa dentária).

Considerando que a análise de DNA é uma técnica poderosa de identificação, ela deve ser utilizada de forma correta. O nível de sensibilidade de alguns dos procedimentos de identificação por DNA é tão alto que as células das mãos de quem manipulam as amostras ou aqueles presentes em um espirro podem contaminar as evidências criminais que contenham material genético. Dessa forma, o cuidado na coleta, custódia e manipulações da amostra são determinantes para a validade das análises. Portanto é importante a utilização de luvas). Descartáveis, além de mascarar e gorros cirúrgicos quando da coleta e processamento das evidências. Os

procedimentos de coleta e as análises iniciais deverão ser padronizados, através de manuais de coletas.

Os laboratórios que prestam esse tipo de serviço devem ser submetidos a testes, para assegurar que eles estejam trabalhando com um controle de qualidade aceitável, uma vez que está em jogo a liberdade de um inocente e a sentença para o autor do delito. (MATIOLI, 2001).

Em termos de aplicações forenses específicas, nada teve um efeito mais profundo do que a implementação global dos bancos de dados de DNA forense. Eles têm alterado a paisagem do sistema de justiça criminal e remodelado o campo da genética forense, principalmente por fornecerem a chance da identificação de indivíduos e resolução de casos em que não existem suspeitos, e portanto não existem amostras para serem comparadas com o material coletado na cena do crime. Com o fornecimento de novos desafios de mecanismos pelos quais as provas forenses podem ser utilizadas, o ônus de responsabilidade daqueles que administram seu uso, tem aumentado. Os bancos de dados necessitam de um nível apropriado de sofisticação e também um bom suporte logístico, político e financeiro (WALSH, 2004).

O primeiro banco de dados de perfis genéticos de criminosos foi criado na Inglaterra, mas o banco mais importante, criado pelo FBI nos Estados Unidos, é o Sistema de Índice de DNA Combinado (CODIS). Ele começou como um projeto piloto em 1990 e ganhou impulso com o DNA Identification Act de 1994, deu ao FBI a autoridade de estabelecer um banco de dados em nível nacional para fins de investigação criminal.

O CODIS possui cinco tipos de perfis em seu banco de dados: infratores condenados; amostras de DNA provenientes de cenas de crimes; de pessoas desaparecidas e de sobreviventes; de parentes de pessoas desaparecidas e banco de dados da população para estudo da raridade de ocorrência de um perfil de DNA (WATSON *et al.*, 2009).

O sistema é estruturado em laboratórios estaduais com uma coordenação central. Existem dois arquivos diferentes de perfis genéticos com objetivos complementares. O Índice Forense (Forense Index) contém atualmente 96.473 perfis genéticos obtidos a partir de cenas de crimes e o Índice de Criminosos (Offender Index) contém 2.072.513 perfis genéticos de criminosos condenados por

crimes sexuais e outros crimes violentos. Até dezembro de 2004, o Codis havia permitido 19 mil identificações de suspeitos, demonstrando sua grande utilidade (PENA, 2005).

Um grande número de agências profissionais segundo Butler (2009) tem se envolvido na acreditação e certificação de laboratórios e pessoas ligadas de análises forenses de DNA. Testes interlaboratoriais são os meios pelos quais vários laboratórios têm para comparar seus resultados, demonstrando que os métodos utilizados em um laboratório são reproduzíveis em outro.

Esses testes são essenciais para demonstrar a coerência dos resultados de vários laboratórios, especialmente porque os bancos de dados de DNA são alimentados por muitos laboratórios que contribuem com perfis de DNA.

Segundo Pena (2005) o Brasil deveria estabelecer como uma prioridade nacional à implementação de um programa eficiente de determinação de identidade genética que possa ajudar em investigações criminais e aumentar a segurança pública. As seguintes etapas seriam de grande importância: montar uma rede eficiente de laboratórios de DNA forense; fazer treinamento da polícia para coleta correta da evidência em cenas de crime; fazer treinamento dos profissionais que atendem nas delegacias e nos serviços de urgência médica para que possam providenciar de maneira correta a coleta de evidência de vítimas de estupro; fazer treinamento de juízes de vara criminal e promotores para atenderem os princípios da tipagem de DNA com fins forenses; montar um banco nacional de perfis genético semelhante ao Codis do FBI.

O crescimento de bancos de dados de DNA vem aumentando o envolvimento da polícia científica na aplicação da lei. Além de sua função essencial de ligar crimes e suspeitos, os bancos de dados de DNA colecionam informações sobre crimes e criminosos. A análise desses dados pode aumentar compreensão do contexto no qual as Ciências Forenses funcionam como ferramentas para a justiça criminal. Além disso, os dados de DNA exigem considerações de questões específicas para sua utilização (PENA, 2005).

Ressalte-se ainda, a exemplo de outros países, a criação de banco de dados genéticos com armazenamento de perfis de DNA, obtidos de familiares de pessoas desaparecidas, de vestígios biológicos de origem desconhecida, de suspeitos e de criminosos condenados, que tem contribuído para a identificação de pessoas e para

a elucidação de delitos realizados no tempo presente, passado e futuro. A criação desses bancos genéticos no Brasil e a discussão de queixas éticas, legais e sociais surgidas em decorrência dessa criação são o alvo principal do estudo do DNA na Genética forense (GRIFFITHS *et al.*, 2009).

Uma das principais vantagens para um banco de dados é potencial de se fazer cold hits, que são as identificações a partir dos dados já cadastrados. Os bancos de dados forenses são essenciais para armazenar e recuperar dados de sequências de DNA e são importantes na busca de uma sequência compatível a um perfil desconhecido. Desde sua criação, o CODIS já efetuou milhares de identificações que não teriam sido possíveis de outra maneira (WATSON *et al.*, 2009).

2.4 Minissatélites e Microssatélites

Nos testes de determinação de identidade genética são estudadas regiões genômicas em que há variação entre pessoas normais. Essas regiões são chamadas de polimorfismo de DNA ou marcadores de DNA. Nos últimos anos foram desenvolvidas diversas técnicas para estudo de diferentes tipos de polimorfismo de DNA, no qual os cientistas e laboratórios podem escolher o sistema mais adequado para solucionar o problema evidente (PENA, 2005).

O método mais usado hoje em dia é o estudo das regiões repetitivas de DNA, chamada de minissatélites (VNTR's) e microssatélites (STRs). A chave da diversidade nessas regiões é que o número de repetições varia entre indivíduos e pode ser estudada com sondas de DNA, ou através de PCR, como vem sendo feito em maior escala atualmente.

VNTRs (do inglês variable number of tandem repeats ou número variável de repetições em tandem), também denominados de minissatélites, são polimorfismos de DNA que consistem numa série de comprimento de repetições de fragmentos de DNA. Uma região VNTR típica consiste de 500 a 1000 pb, compreendendo principalmente unidades repetidas em sequência, cada qual com cerca de 15 35 pb de comprimento. Os locos VNTR são particularmente convenientes como

marcadores para a identificação humana, pois possuem um número muito grande de alelos genótipo.

STRs (do inglês *short tandem repeats* ou repetições curtas em tandem), ou microssatélites são polimorfismos muito similares aos VNTRs, mas diferindo em seu tamanho (em geral não ultrapassam 200 pb) e no comprimento das unidades de repetição em tandem, que variam de 2 a 7 nucleotídeos. Estes locos são muito abundantes no genoma humano e cada um deles possui um grande número de diferentes alelos, inclusive maior do que o encontrado em VNTRs, o que os torna ainda mais útil para identificação humana (PENA, 2005).

Marcadores bi-alélicos, além dos minissatélites e microssatélites há dois grandes grupos de polimorfismos no genoma humano - os polimorfismos de substituição de nucleotídeos únicos (ou SNPs) e os polimorfismos de inserção ou deleção de um ou mais nucleotídeos (polimorfismos de inserção). Ambos polimorfismos apresentam a grande vantagem de que podem ser estudados em produtos de amplificação muito curtos (50 pb ou menos) e, assim, apresentam distintas vantagens sobre os microssatélites no estudo de DNA extremamente degradado. Os mais abundantes e os melhores estudados desse grupo são os SNPs. Cerca de 5,3 milhões deles foram encontrados no genoma humano, o que corresponde a um SNP a cada 600 pb (XIAG *et al.*, 2006).

Os minissatélites são regiões frequentemente usadas na análise forense. Essas regiões não são genes, mas possuem um papel importante na identificação de indivíduos por ser um tipo de marcador molecular altamente polimórfico. Esses marcadores geralmente variam de dez a cem pares de bases que se repetem muitas vezes, consecutivamente, ao longo do cromossomo. Cada indivíduo possui um número de repetições diferente. As sequências com número variável de unidades repetidas são chamadas nesse caso de alelos. Como os alelos diferentes contem um número diverso de repetições, podem ser identificados por seus comprimentos (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001).

Os loci de minissatélites escolhidos para as análises forenses estão localizados em diferentes cromossomos, ou, no mesmo cromossomo, afastado um do outro, de forma que são herdados independentemente. O fato de terem muitos alelos torna os minissatélites convenientes, pois o número de genótipos possíveis é enorme. Uma análise utilizando 5 loci com 20 alelos corresponde a uma quantidade

de genótipos de mais de 400 bilhões. Outra vantagem é que nenhum dos alelos é muito comum, o que se deve à elevada taxa de mutação as quais são responsáveis por diminuir ou aumentar o comprimento de um minissatélite em apenas uma ou algumas unidades. Assim como os RFLPs, os minissatélites podem ser identificados pela técnica de Southern blotting (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001).

No genoma humano também são encontradas muitas outras sequências repetitivas. As sequências repetitivas em tandem com repetições entre dois a sete pares de bases são chamadas de microssatélites ou repetições curtas em tandem (STRs – Short Tandem Repeats) que são altamente variáveis. Devido ao seu tamanho pode-se utilizar a PCR para amplificar os alelos. O FBI (Federal Bureau of Investigation) por volta de 1997, selecionou 13 STRs como padrão para serem utilizados nas investigações e outras agências no mundo como o Serviço de Ciências Forense no Reino Unido e na Interpol na Europa adotaram marcadores semelhantes (WATSON *et al.*, 2009).

Essas STRs variam de 5 repetições até mais de 30, através de uma sonda e são distribuídas através de 12 autossomos. É incluída uma sonda adicional para o gene da amelogenina que é encontrada em uma região do cromossomo Y que é homóloga ao cromossomo X. Esse gene é usado para determinação do sexo, pois a amplificação dessa sonda produz dois fragmentos, de 112 e 106 pb, quando o DNA é proveniente do homem (cromossomos Y e X) e somente o fragmento 106 pb, proveniente da mulher (cromossomo X) (WATSON *et al.*, 2009).

As análises entre os STRs forenses vêm sendo realizadas através da amplificação com PCR multiplex e marcadores fluorescentes. Os pares de primers que flanqueiam as sequências de STR carregam um fluoróforo. Após a amplificação os comprimentos de cada STRs são determinados. A detecção de cada fragmento é feita através de um laser e é transmitida para um programa computacional que determina qual o tipo de fluoróforo está associado a cada STR, produzindo gráficos e tabelas a partir dos resultados obtidos. Kits comerciais são capazes de detectar em uma única reação todas as 13 STRs exigidas pelo FBI, o gene da amelogenina e duas STRs adicionais usadas no Reino Unidos (WATSON, *et al.*, 2009).

2.5 PCR (Cadeia de Polimerase)

A reação em cadeia da DNA revolucionou a genética molecular por permitir a rápida clonagem e a análise do DNA. É um método *in vitro* rápido e versátil para a amplificação de sequência de DNA definidas, presentes em uma preparação de DNA. Geralmente, o método é programado para permitir a amplificação seletiva de uma sequência-alvo de DNA específica a partir de DNA total previamente extraído. Para permitir tal amplificação seletiva, alguma informação prévia, a respeito das sequências-alvo é necessária. Essa informação é utilizada para desenhar dois oligonucleotídeos iniciadores, denominados primers, os quais são específicos para a sequência-alvo e apresentam cerca de 15 a 25 nucleotídeos de extensão. Após os primers terem sido adicionados ao DNA-molde desnaturado, eles se ligam especificamente às sequências de DNA complementares ao seu sítio alvo, flanqueando e delimitando a região a ser analisada. Na presença de uma DNA-polimerase termoestável apropriada e dos quatro desoxirribonucléicos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), é iniciada a síntese de novas fitas de DNA, que são complementares a cada uma das fitas de DNA do segmento-alvo de DNA, formando, desta maneira, um fragmento de DNA com sequência idêntica à do DNA a ser analisado, e previamente selecionado pelo par de primers (STRACHAN *et al.*, 2002).

Uma vez que este ciclo de duplicação molecular é repetido várias vezes, a PCR é uma reação em cadeia porque as fitas de DNA, recentemente sintetizadas, irão atuar como moldes para mais uma síntese de DNA nos ciclos subsequentes. Após cerca de 25 ciclos de síntese de DNA, os produtos da PCR irão incluir, além do DNA que iniciou a reação, cerca de 105 cópias da sequência-alvo específica, uma quantidade que é facilmente visualizada como uma banda distinta de tamanho específico quando submetida à eletroforese em gel de agarose (STRACHAN *et al.*, 2002).

As principais vantagens da técnica de PCR são:

Velocidade e facilidade de utilização: a clonagem de DNA por PCR pode ser realizada em poucas horas usando-se um equipamento relativamente simples, cuja função fundamental é a variação de temperatura em cada passo da técnica. Uma reação de PCR consiste de 30 ciclos contendo as etapas de desnaturação, síntese e pareamento, com cada ciclo individual levando em geral 3 a 5 minutos em um

termociclador automatizado, o que totaliza menos de três horas para todo o processo (STRACHAN *et al.*, 2002).

Sensibilidade: a PCR é capaz de amplificar sequências a partir de quantidades íntimas do DNA-alvo e do DNA de uma única célula. Esta vantagem torna a técnica útil na análise forense, quando, em muitos casos, a quantidade de material biológico, e portanto de DNA extraído de algumas amostras, é muito pequena, como em fios de cabelo ou traços de saliva em tocos de cigarro. Desta maneira, a técnica possibilita a tipagem do DNA em amostras de provas que não podem ser analisadas através de outras técnicas, como exemplo o Southern, uma vez que esta técnica necessita de uma grande quantidade de DNA total. Além disso, a pequena quantidade de DNA, necessária para a PCR, torna mais fácil guardar porções de amostras para repetir os testes no mesmo ou em outro laboratório (DUARTE *et al.*, 2001).

Segundo Strachan *et al.* (2002), tal sensibilidade tem fornecido novos métodos para o estudo da origem molecular de doenças e tem encontrado numerosas aplicações na ciência forense, no diagnóstico, na análise de ligações genéticas, utilizando classificação de um único tipo de esperma.

Robustez e possibilidade de amostras degradadas: Segundo Duarte *et al.* (2002), a PCR pode permitir a amplificação de sequências específicas a partir de material no qual o DNA está gravemente degradado ou embebido em um meio onde o isolamento de DNA é problemático. Como o Southern utiliza DNA genômico total, é necessário que este DNA esteja em bom estado, ou seja, que as moléculas estejam intactas. Mas em genética forense, nem sempre as amostras biológicas são novas e se encontram em bom estado de conservação, o que compromete a integridade do genoma da célula a ser analisada. Uma vez que somente um fragmento do DNA é isolado e amplificado pela PCR, uma enorme vantagem desta técnica é permitir a utilização de amostras que contenham DNA degradado. Assim, através da PCR, é possível a tipagem do DNA em amostras que de outra maneira não poderiam ser analisadas, como amostras antigas e já decompostas, restos mortais de vítimas de incêndios ou acidente e corpos em decomposição.

2.6 STR (Repetições Curtas em Tandem)

Os STR são ferramentas eficientes para fins de identificação genética individual humana. As primeiras aplicações destes marcadores no âmbito forense concretizaram-se no início dos anos 90, na tipagem dos restos cadavéricos de vítimas homicidas (KASHYAP *et al.*, 2004).

Atualmente os STRs são considerados os marcadores forenses por excelência, título em grande parte devido à sua abundância e elevada variabilidade, ao fato de serem facilmente amplificáveis por PCR, funcionarem com baixas quantidades de DNA e serem passíveis de automatização com processos envolvendo detecção por fluorescência.

Os microssatélites ou loci STR são compostos por sequências repetidas em tandem que possuem um tamanho entre 2 e 7 pares de bases. Loci STR com repetições em tandem de 4 pares de bases (tetranucleotídeos) são habitualmente utilizados nos exames de identificação humana pelo DNA com finalidades forenses (BUTLER, 2009).

Todos os processos descritos anteriormente são, atualmente, investigados através de PCR.

Segundo Kashyap *et al.* (2004) quando a tipagem de DNA através de PCR é avaliada, uma série de vantagens são percebidas. A mais importante é a de que amostras com alto grau de degradação podem ser analisadas, uma vez que não é necessário que as moléculas de DNA estejam intactas, pois a extensão de DNA a ser investigada é pequena. Além disto, outras vantagens são importantes como a possibilidade de utilização de pequenas quantidades de DNA, a avaliação de um grande número de locos, garantindo um maior poder de discriminação, e a rapidez do procedimento. Enquanto que, na análise de STRs através de PCR, apenas a região de interesse será amplificada: com o Southern, se fazia necessário que o DNA genômico inteiro estivesse no gel. Com o advento dos métodos automatizados, uma série de kits comerciais para tipagem de STRs estão disponíveis, o que demonstra a importância destes marcadores na Genética Forense.

Atualmente, entre as técnicas de tipagem de DNA usadas na identificação humana, a genotipagem automatizada de DNA com STR Multiplex, baseada em

fluorescência é, sem dúvida, segundo Kashyap *et al.* (2004) a mais informativa, precisa, robusta e de maior rapidez.

Nesta metodologia, utilizada por Kashyap *et al.* (2004), vários STRs são amplificados utilizando-se vários pares de primers (PCR Multiplex) que compõe um kit comercial. O produto da reação de amplificação dos STRs pode ser facilmente detectado através de seus respectivos tamanhos, através da migração em gel de eletroforese de alta resolução, localizado dentro de um capilar, como ocorre no sequenciamento automático. Quando utilizada a tecnologia de coloração fluorescente com detecção por laser, é possível avaliar STRs de mesmo tamanho, bastando para isto que cada um seja marcado com uma coloração diferente. Cada kit de PCR Multiplex utiliza diferentes colorações, e amplifica diferentes STRs, como os kits comerciais Profiler Plus™ que analisa simultaneamente 10 marcadores. O kit Power Plex para 16 STRs e o Identifiler™ para 16 marcadores.

A técnica para a análise de STRs utilizando laser é significativamente mais sensível em comparação a outras metodologias padrão. Segundo Kashyap *et al.* (2004) geralmente é necessário apenas 0,5 e 2 ng de DNA para genotipagem. Somente 1 a 2% dos produtos de 28 ciclos PRC são necessários para a tipagem alélica, o que significa que o material amplificado pode ser estocado para uma nova análise, quando necessário. Essas metodologias que utilizam fluorescência são aproximadamente 200 vezes mais sensíveis do que qualquer outra técnica de coloração.

A análise de STRs do cromossomo Y tem sido uma excelente técnica usada na identificação humana para solucionar disputas de paternidade de filhos do sexo masculino, uma vez que o mesmo é característica única da linhagem paterna. O cromossomo Y presente no DNA nuclear, encontra-se com uma frequência de apenas uma cópia por célula e é transmitido para todos os descendentes masculinos. Investigações de STRs do cromossomo Y têm sido úteis em casos de estupro, onde são encontradas misturas de secreção vaginal com sêmen. Kits comerciais para tipagem STR-Y tornaram-se recentemente disponíveis pela empresa Relia Gene Technologies, Inc. Uma característica particularmente útil desses kits é a escala alélica que permite a identificação de alelos em amostras com comparação direta. Segundo Kashyap *et al.* (2004) o Instituto Nacional de Padronização e Tecnologia (NIST) U.S.A. também desenvolveu um sistema de 20-

PLEX p/ tipagem STR-Y que permite a amplificação simultânea de 20 STRs em uma única reação.

Segundo Walsh (2004) em termos de aplicações forenses específicas, de tecnologias moleculares, nada teve um efeito mais profundo do que a implementação global nos bancos de dados de DNA forense. Eles têm alterado a paisagem do sistema de justiça criminal e remodelado o campo da ciência forense, principalmente por fornecerem a chance de identificação de indivíduos e resolução de casos em que não existem suspeitos, e portanto, não existem amostras para serem comparadas com o material coletado na cena do crime. Com o fornecimento de novos desafios de mecanismos pelos quais as provas forenses podem ser utilizadas.

Automação das análises de STRs para bancos de dados de DNA foi empregada para ajudar no processamento de milhares de amostras de sangue líquido para alimentar os bancos de dados de perfis genéticos.

A tecnologia STR permitiu a rápida geração de dados de DNA altamente informativos para utilização na identificação humana (BONACCORSO, 2004).

Bancos de dados de DNA de condenados devem ser exatos. Para minimizar erros, os dados originais de STRs são cuidadosamente revistos por duas ou mais pessoas. Para minorar esses erros, foram desenvolvidos sistemas especializados, como o TrueAllele desenvolvido por Perlin (2002). Esse tipo de sistema atua em um computador o qual automatiza quase todas as funções humanas de revisão e oferece qualidade consistente na avaliação e na designação de alelos. Esses sistemas são validados a partir da reanálise de milhares de amostras originais, com parâmetros adequados para diferentes plataformas de análises, empregando-se diversos sistemas multiplex que usualmente são utilizados para gerar dados de DNA. Os dados obtidos automaticamente foram comparados com os resultados obtidos manualmente. Tais sistemas têm grande precisão e demonstram ser viável a prática da análise automatizada.

Na atualidade, segundo Perlin (2002), os sistemas automatizados encontram-se presentes nos grandes laboratórios forenses de DNA, principalmente naqueles que continuamente geram perfis para alimentar os bancos de dados civis e criminais. Esses sistemas inteligentes de análise de dados, além de livrar os analistas de DNA de possíveis erros oriundos da monótona análise manual de

STRs, podem também ajudá-los a dedicar seu valioso tempo para melhorar e servir à justiça.

3 CONCLUSÕES

A análise do DNA é um dos maiores progressos técnicos da investigação criminal desde a descoberta das impressões digitais. Métodos para determinar o perfil do DNA estão firmemente embasados na tecnologia da Genética Forense. Quando a determinação do perfil é feita com cuidados adequados, os resultados são altamente reprodutíveis.

Os métodos baseados na PCR são imediatos, requerem apenas uma pequena quantidade de material e podem fornecer identificação não-ambígua de alelos individuais.

Os avanços no campo da Genética Forense deve-se também as STRs, cuja técnica exposta através de Southern visa a identificação de uma sequência de bases específicas e polimorfismos.

Por sua capacidade de fornecer informações técnicas com possibilidade de orientar investigações policiais, um banco de dados de DNA pode ser visto como uma fonte de inteligência, de forma a funcionar de modo semelhante aos sistemas automatizados para comparação de impressões digitais. Esse papel positivo é algo novo para a prova forense de DNA que é usualmente apenas empregada para confirmar ou refutar uma hipótese sobre uma versão de acontecimentos.

A tecnologia e os métodos relacionados à análise de DNA progrediram a ponto de não colocar em dúvida a admissibilidade dos bancos de dados da Genética Forense, quando coletados e analisados adequadamente, a fim de que a grande maioria dos casos de investigações forenses tenham um desfecho triunfal dentro da área cível.

Conclui-se que nos últimos anos, um grande crescimento da área forense no Brasil e novas técnicas são empregadas nos laboratórios, se encontram com equipamento de primeiro mundo. As informações de caráter técnico não são completamente entendidas por uma parcela dos profissionais da lei. É muito difícil estabelecer um paralelo com outras ferramentas científicas empregadas pela justiça, já que nenhuma se compara à investigação Genética forense no tocante ao seu alto poder de discriminação.

Após toda a explanação referente a Genética Forense resta concluir que é importante: assegurar a qualidade, integridade e segurança em exames periciais

envolvendo a utilização de DNA; os procedimentos de coleta e as análises iniciais deverá ser padronizadas, através de manuais de coleta; os manuais de coleta devem conter especificações sobre a embalagem, o transporte e armazenamento de amostras biológicas; verificar as condições técnicas necessárias para a formação e manutenção de bancos de dados de DNA.

Este trabalho mostrou que a análise do DNA é uma ferramenta poderosa para a identificação humana e investigações criminais através da genética forense.

REFERÊNCIAS

BENECKE, Mark. *DNA typing in foensic medicine and in criminal investigations: a current survey*. Naturwissenschaften, v. 84, p. 181-188, 23.nov.1997.

_____. *Forensic DNA samples: collection and handling*. Encyclopedia of Diagnostic and Proteomics, 2005. Disponível em: <http://www.benecke.com/dnacollection.pdf>. Acesso em: 20.fev.2011.

BEZERRA, Carlos Cesar. *Exame de DNA: técnicas de coleta em locais de crimes*. Revista Política Federal. Brasília-DF, n. 18, p. 7-14, 22.out.2004.

BONACCORSO, N. *Análise forense do DNA*. São Paulo: Sarvier, 2004.

BROWN, T. A. *Clonagem Gênica e Análise de DNA: uma introdução*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2001.

BUTLER, J. M. *Fundamentos of Forense DNA Typing*. Elsevier Academic Press, 2009.

CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA. Comitê sobre Tecnologia do DNA na Ciência Forense. *A avaliação do DNA como prova forense*. Ribeirão Preto: FUNPC, 2001. Disponível em: <http://www.funpc.gov.br>. Acesso em: 18.abr.2011.

DURTE, Francisco, A. M.; PERES, Augusto, M.; Pena, Sergio D.; DE BARROS, Margareth, P. M.; ROSSI, Elsie O. *A avaliação do DNA com o prova forense*. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2001. Disponível em: <http://www.funpc.gov.br>. Acesso em: 18.abr.2001.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al. Introdução à Genética*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2009.

JOBIM, L. F.; JOBIM, M.R.; BRENNER, C. *Identificação humana pelo DNA: investigação de paternidade e análise de casos forenses*. In: Identificação humana. Volume I, Porto Alegre: Sagra Luzzato, 2006.

KASHYAP, V. K.; SITALAXIMIT, T.; CHATTOPADHYAY, P.; TRIVEDI R. *DNA profiling Technologies in Forensic Analysis*. Int. J. Hum. Genet., v. 4, n. 1, p. 11-30, 2004.

LEE, Henry C.; LADD, Carli. *Preservation and Collection of Biological Evidence*. Croating Medical Journal, v. 42, n. 3, p. 225-228, 2001.

LEITE, Eduardo de Oliveira. *DNA como meio de prova de filiação*. Rio de Janeiro: Forense, 2000.

LIMA, L. O. *Direito Médico: utilização de poliformismo em análises forense*. (2006). Disponível em:<http://WWW.geneticaffcmpa.br>. Acesso em: 18 de abr.2011.

MATIOLI, S. R. *Biologia molecular r evolução*. São Paulo: Editora Holos, 2001.

NELSON, D. L.; COX, M.M. *Lehninger princípios de bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

PENA, Sérgio D. J. *Segurança Pública: determinação de identidade genética pelo DNA*. In: Seminários Temáticos para a 3ª Conferência Nacional de C. T I. Parcerias Estratégicas, v. 20, p. 447, 18. Abr.2005.

PERLIN, M. W. *Automete STR analysis for DNA databases*: NIJ Grant final report. Pittsburg: Cybergenetis, 2002.

SILVA, L. A. F.; PASSOS, N. S. *DNA forense: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudos do DNA*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M.J. *Fundamentos de Genética*. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

STRACHAN, Tom.; READ, Andrew P. *Genética Molecular Humana*. 2. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

WALSH, J. Simon. *Recent advances in forensic genetics*. Expert **Rev. Mol. Diagn.** v.4, n. 1, p. 31-40, 21.jan.2004.

WATSON, J. D. *et al. DNA Recombinante: genes e genomas*. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

XIAG, Junhua *et al. A modified simple RFLP-PCR method for single nucleotide polymorphism (SNP) typing*. Genetics and Molecular Biology, v. 29, n. 3, p. 562-565, 18.jun.2004.