



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

JAQUELINE OSIRO CAMPOS

A UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES APLICADOS
NA IDENTIFICAÇÃO HUMANA

Trabalho de conclusão de curso, apresentado no formato de artigo científico ao Centro Universitário de Brasília - UniCEUB como requisito parcial para a conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: PhD. Paulo Roberto Queiroz.

BRASÍLIA

2015

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu noivo Sergio Oliveira Bergmann que me incentivou a realizar esta segunda graduação, me apoiando em todas as decisões no decorrer do curso. Obrigado por acreditar em mim e por ser, acima de tudo, minha inspiração para nunca desistir dos meus sonhos.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por estar sempre presente na minha vida, me amparando nos momentos de dificuldade e por tudo que tenho conquistado até hoje.

À minha mãe, por ser um exemplo de pessoa e ter me proporcionado condições de terminar o segundo curso.

Ao meu noivo, simplesmente não tenho palavras para expressar a minha eterna gratidão.

A todos os meus professores, em especial, Eduardo Cyrino e meu orientador Paulo Roberto Queiroz que contribuíram de forma significativa para o desenvolvimento e conclusão desta pesquisa.

A utilização de marcadores moleculares aplicados na identificação humana.

Jaqueline Osiro Campos¹
Paulo Roberto Martins Queiroz²

Resumo

O uso de marcadores moleculares na obtenção de perfis genéticos tem grande relevância no processo de identificação humana. A presente pesquisa trata-se de uma revisão em formato narrativo, com o objetivo de descrever os principais marcadores moleculares usados nas investigações forenses. A análise de marcadores polimórficos associada aos bancos de dados de DNA forense tornam-se elementos fundamentais para solucionar crimes sem suspeitos. Além disso, é possível estabelecer uma conexão entre o suspeito e sua presença na cena de crime. Nesse sentido, o material biológico deve ser coletado, acondicionado e manipulado de acordo com critérios rigorosos, para que possa produzir resultados esperados e autênticos. Com a descoberta da técnica de Fenotipagem Forense de DNA é possível indicar se a amostra analisada contém traços físicos de um indivíduo. Dessa forma, espera-se que as técnicas de biologia molecular sejam aperfeiçoadas de forma a auxiliar as investigações criminais e a solução de casos em aberto.

Palavras-chave: Tipagem de DNA. Identificação humana. Perfil genético. Marcadores moleculares. Polimorfismos. Fenotipagem forense.

The use of molecular markers applied in human identification.

Abstract

The use of molecular markers to obtain genetic profiles has great significance in the aspect of human identification. This research comes up for a narrative review, aiming to describe the main molecular markers used in forensic investigations. Analysis of polymorphic markers associated with forensic DNA databases become crucial elements to solve crimes without suspects. It is also possible to connect the suspect to the crime scene. In this sense, the biological material should be collected, prepared and handled according to strict criteria in order to produce expected and authentic results. With the discovery of DNA Forensic Phenotyping technique it is possible to indicate whether the analyzed sample contains physical traits of an individual. It is expected that the molecular biology techniques will be improved to support criminal investigations and the solution of open cases.

Keywords: DNA typing. Human identification. Genetic profile. Molecular markers. Polymorphisms. Forensic phenotyping.

¹Bacharel em Direito, graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

²Biólogo, MsC em Biologia Molecular – UnB, PhD em Biologia Animal – UnB, professor de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1 Introdução

A identificação humana por meio do DNA constitui uma das técnicas mais importantes e revolucionárias da Genética. Em poucos anos tornou-se uma ferramenta indispensável na investigação criminal, sendo aceita frequentemente em processos judiciais. A importância não está apenas na possibilidade de provar a culpabilidade de uma pessoa ou inocentá-la, mas em estabelecer uma conexão irrefutável entre o indivíduo e sua presença na cena do crime (PANETO, 2006).

A evolução no campo da identidade ocorreu a partir do estudo do genoma humano. A impressão digital genética do DNA contribuiu na atividade pericial desde a determinação do vínculo de paternidade até a análise de vestígios humanos com a utilização de marcadores genéticos e polimorfismos do DNA. Os métodos de identificação humana têm contribuído na análise de materiais biológicos no âmbito pericial, assim, fluidos como sangue, sêmen, saliva, pêlos e partes cadavéricas podem ser objetos de identificação de indivíduos (FRUMKIN et al., 2010).

O termo identidade apresenta propriedades, sinais ou marcas que caracterizam uma pessoa individualmente. Já a identificação pode ser definida como um método próprio, em uma sucessão de atos ou de técnicas que permitem individualizar o material estudado. Para que um determinado critério seja usado no processo de identificação este deve possuir os seguintes elementos: Unicidade, quando todos os indivíduos possuem determinada característica; Imutabilidade, característica que não pode variar com o decorrer dos anos; Perenidade, capacidade da característica em resistir à ação do tempo; Viabilidade, questões de custo envolvidas na execução do método de obtenção de alguma característica; Classificabilidade, quando o processo em questão pode ser facilmente arquivado, seja por meio físico ou eletrônico (COIRADAS, 2008).

O perfil genético de um indivíduo é baseado na combinação de diversos marcadores que são herdados de seus progenitores. Geralmente, esses marcadores são diferenças nas sequências de DNA nuclear entre os indivíduos, conhecidos como polimorfismos. Com relação ao estabelecimento do perfil genético são analisadas algumas regiões do DNA que apresentam maior variação individual e facilidade de estudo, conhecidas como marcadores genéticos ou moleculares. Além disso, estes podem ser utilizados para caracterizar o DNA de um indivíduo em um padrão ou perfil de fragmentos únicos (DUARTE et al., 2001; PANETO, 2006).

O desenvolvimento da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) proporcionou uma revolução no processo de identificação humana por DNA, ao permitir em poucas horas, a obtenção de bilhões de cópias de um determinado *locus* presente em um pequeno fragmento de DNA. Um dos marcadores mais utilizados é o microssatélite ou STR (Repetições Curtas *in tandem*), que são regiões repetitivas do DNA obtidas por meio dessa técnica. Assim, a amplificação do DNA pela PCR resultou em um grande aumento de sensibilidade, fazendo com que materiais biológicos degradados presentes em pequenas quantidades pudessem ser analisados com sucesso (JOBLING; GILL, 2004; BUTLER, 2005; DOLINSKY; PEREIRA, 2007).

Os marcadores de polimorfismos SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Simples) são baseados na substituição de nucleotídeos únicos e visam uma posição única no genoma. Dessa forma, podem ser estudados em produtos de amplificação muito curtos (50 pb ou menos), sendo um procedimento mais eficaz para analisar moléculas de DNA de má qualidade ou extremamente degradadas, como sangue pouco fresco ou em casos de cadáveres em estado avançado de decomposição ou carbonizados (PENA, 2005).

Ao longo dos últimos anos, a análise do DNA revolucionou a ciência forense e tornou-se um instrumento essencial na investigação criminal. A evidência do DNA é indispensável para a condenação ou absolvição de suspeitos em diversos crimes. A análise de DNA em casos forenses utilizando marcadores moleculares é fundamental e pode ser utilizada na resolução de crimes sem suspeitos, possibilitando assim a identificação de indivíduos por meio dos vestígios encontrados no local do crime (MUNIZ; FRUMKIN et al., 2010).

A partir do exposto, o objetivo deste trabalho foi descrever os principais tipos de marcadores moleculares usados na obtenção de perfis genéticos visando a identificação humana com a finalidade de auxiliar nas investigações de crimes.

2 Metodologia

Esta pesquisa trata-se de uma revisão bibliográfica em formato narrativo, que segundo Cordeiro (2007) é aquela que apresenta uma temática mais aberta, não exige um protocolo rígido para sua confecção e a busca das fontes não é pré-determinada e específica. Para isso, foram consultadas as bases de dados SciELO, ScienceDirect, PubMed, MEDLINE, BIREME, LILACS, para levantar artigos publicados no período de 2004 a 2014 utilizando as palavras-chave: tipagem de DNA, identificação humana, perfil genético, marcadores moleculares, polimorfismos, fenotipagem forense.

3 Desenvolvimento

3.1 Coleta e preservação de materiais biológicos

O material biológico a ser usado nas análises por DNA deve ser coletado, acondicionado e manipulado de acordo com critérios rigorosos e restritos, para que possa produzir resultados esperados e autênticos em análises posteriores. O método utilizado na coleta dependerá do estado e condição das amostras, sendo imprescindível uma quantidade significativa (em torno de nanogramas). É importante considerar também que as amostras de DNA estão sujeitas a sofrer alterações que afetem a cadeia de nucleotídeos, modificando a estrutura e composição, tornando inviável a sua utilização. Para evitar que isso ocorra, a amostra deve ser acondicionada em ambiente seco e em baixa temperatura a fim de manter a sua atividade biológica. A Tabela 1 ilustra a quantidade de DNA presente nos tipos de amostras (SILVA; PASSOS, 2006).

Tabela 1. Conteúdo de DNA nas amostras biológicas.

Tipo de amostra	Quantidade de DNA *
Sangue	20.000 - 40.000 ng/mL
mancha com 1 cm ² de área	cerca de 200 ng
mancha com 1 mm ² de área	cerca de 2 ng
Sêmen	150.000 - 300.000 ng/mL
esfregação vaginal pós-coital	0 - 3.000 ng
Cabelo	
arrancado	1 - 750 ng/fio
desprendido	1 - 12 ng/fio
Saliva	1.000 - 10.000 ng/mL
Urina	1 - 20 ng/mL

*A quantidade de DNA é fornecida em nanogramas (ng); 1 ng = um bilionésimo de grama (10⁻⁹g)

Fonte: Adaptado de Bonaccorso (2005).

Cada tipo de material biológico com finalidade forense exige um tipo diferente de coleta. É comum que fluidos, tais como sangue, saliva, esperma, entre outros estejam em estado líquido e em pequenas quantidades para que a coleta seja realizada com swab estéril. Entretanto, pode-se usar uma seringa descartável estéril se a quantidade for maior. Se o fluido for encontrado em pequenos objetos ou vestes e estiver seco, estes deverão ser encaminhados para a análise e se estiverem em grandes objetos ou em algum tipo de superfície, podem ser removidos com bisturi, espátula ou swab umedecido com água estéril. Utiliza-se tesoura em objetos que possam ser cortados e pinça quando o fluido estiver em alguma parte do corpo (PARADELA; FIGUEIREDO; SMARRA, 2006).

Devem ser documentadas por fotografia ou descrição as amostras que forem compostas de tecido, osso, pele, sangue, unhas, pêlos. Recipientes neutros e estéreis são utilizados para acondicionar saliva, urina e outros fluidos corporais, mantendo esses materiais em ambiente frio e na ausência de luz. Em caso de manchas é feita a documentação e a coleta de parte do material biológico. Se forem objetos maiores ou metálicos a coleta é feita com utensílios apropriados (SILVA; PASSOS, 2006).

Todo procedimento de coleta de material biológico para análise deve ser realizado com base nos procedimentos de biossegurança padronizados pela legislação e programas de acreditação laboratorial, tendo como finalidade a proteção do perito a fim de evitar falha humana. Assim, após a coleta e acondicionamento apropriado, os materiais devem ser encaminhados ao laboratório e preparados para posterior análise (ARCANJO; GONTIJO, 2010).

3.2 Marcadores moleculares e técnicas de identificação humana

A caracterização da variabilidade do genoma humano foi possível em função das técnicas de biologia molecular, que estão sendo aplicadas na área forense com o objetivo de identificar indivíduos que possam ser a fonte de material biológico. Uma das técnicas forense padrão atualmente reconhecida é a análise de marcadores polimórficos, usada na investigação e detecção de uma variedade de crimes. Esses polimorfismos também são úteis na identificação de vítimas de guerra ou desastres em massa (BOND, 2007).

O segmento de DNA que ocupa um mesmo *locus* em diferentes cromossomos homólogos pode ser idêntico (homozigoto) ou diferente (heterozigoto), devido à ocorrência de mutações ao longo do tempo. O termo polimorfismo refere-se à presença de mais de um alelo de um mesmo gene ou segmento de DNA em uma população. Porém, para que um *locus* gênico seja considerado polimórfico, o seu alelo mais comum não deve apresentar frequência populacional superior a 99%, de modo que o outro alelo polimórfico tenha frequência igual ou maior que 1% (UTIYAMA; REASON; KOTZE, 2004; BUTLER, 2005).

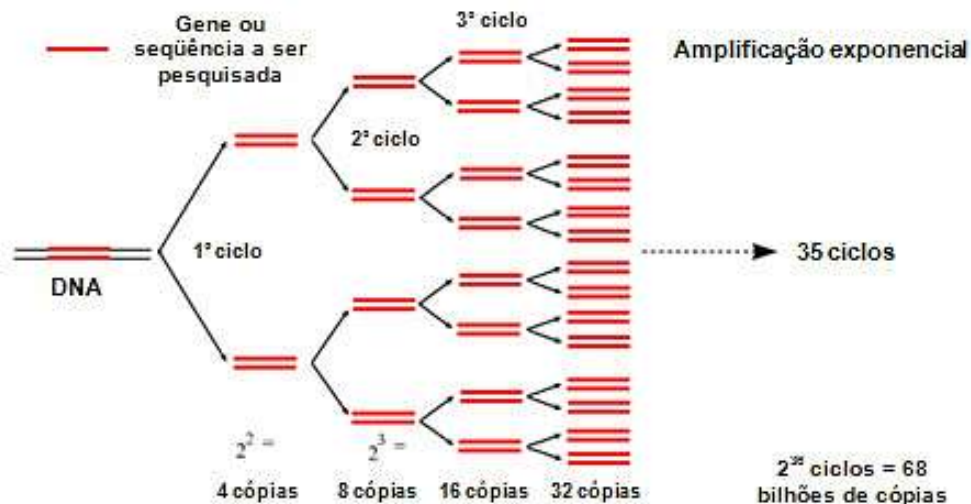
A obtenção de perfis genéticos a partir de amostras de material biológico coletado na cena de crime apresenta grande utilidade quando comparado com o perfil de DNA de eventuais suspeitos. Nesse sentido, é possível auxiliar os investigadores a estabelecer uma conexão entre o criminoso e o local do crime ou inclusive, eliminar suspeitos na fase de inquérito ou durante as investigações (ALONSO et al., 2005).

3.2.1 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

A amplificação do DNA pela técnica de PCR resultou em um grande aumento de sensibilidade, fazendo com que materiais biológicos degradados, encontrados em pequenas quantidades nas cenas de crime, pudessem ser analisados com sucesso. Dessa forma, marcadores genéticos polimórficos analisados em pequenos fragmentos de DNA passaram a representar a base que fundamenta a identificação humana por DNA (JOBILING; GILL, 2004; BUTLER, 2005).

Para amplificar uma determinada região de um gene usando a PCR, são necessários dois iniciadores complementares das sequências que flanqueiam o fragmento de DNA a amplificar, nos seus terminais 3', de modo a permitir a atuação da enzima DNA polimerase durante a síntese da cadeia complementar, usando como molde cada uma das duas cadeias simples constituintes do DNA a amplificar. São necessários pelo menos 30 ciclos para obter uma quantidade suficiente de cópias, sendo que a cada ciclo o número de cópias aumenta exponencialmente em duas vezes, conforme ilustrado na Figura 1 (VANOUSE, 2011).

Figura 1. Amplificação exponencial da PCR.



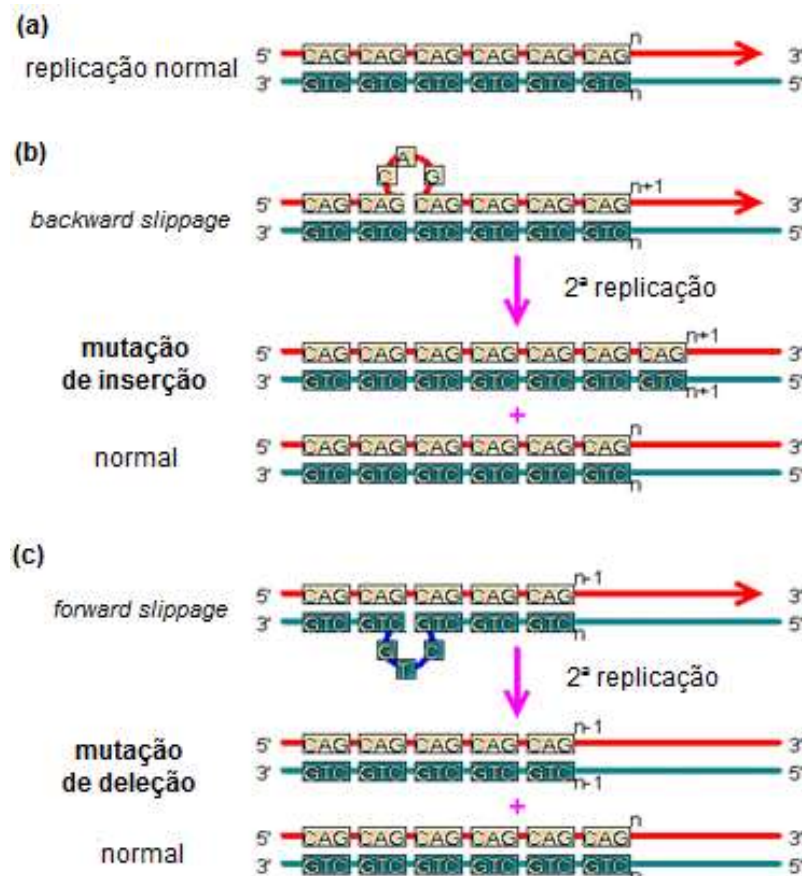
Fonte: Adaptado de Vanouse (2011).

Dentre os principais marcadores genéticos polimórficos, os STRs (Repetições Curtas *in tandem*) e os SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Simples) são aqueles que apresentam maior aplicabilidade no âmbito forense. Os STRs ou microssatélites são polimorfismos genéticos gerados por um arranjo de sequência *in tandem* de múltiplas cópias de um pequeno segmento de DNA. Os STRs podem apresentar alelos diferentes, sendo que cada alelo conterá

um número específico de cópias da unidade de repetição. Portanto, a diversidade de alelos observada deve-se à variabilidade do número de unidades repetidas contidas no segmento de DNA. Desse modo, dois indivíduos apresentam grande probabilidade de apresentarem alelos distintos em um determinado *locus* (JOBBLING; GILL, 2004; ALONSO et al., 2005).

O processo de geração dos microssatélite parece ser um fenômeno que ocorre por falhas no momento da replicação do DNA que terminam por aumentar ou diminuir o número de unidades de repetição. Este fenômeno pode ser associado à *polymerase slippage* e outros mecanismos. Apesar da presença destes mecanismos sutis serem benéficos para toda a população, podem ocorrer erros como a repetição do trinucleotídeo humano que é associado a doenças, como a doença de Huntington, de herança autossômica dominante, caracterizada clinicamente por distúrbios progressivos do movimento e demência que levam à morte. Dessa forma, o fato dos microssatélites poderem ser associados a doenças como estas, caracteriza-os como ótimos marcadores para pesquisa de genes envolvidos em uma ampla variedade de doenças, como ilustrado na Figura 2 (QUEIROZ, 2012).

Figura 2. Representação esquemática da *polymerase slippage* responsável pela variação nos números de repetição do STR.



Fonte: Adaptado de Queiroz (2012).

Os SNPs podem ser definidos como polimorfismos criados por uma mutação de ponto, resultantes da substituição de um nucleotídeo por outro, proporcionando o surgimento de diferentes alelos. Esses polimorfismos estão presentes por todo o genoma nuclear e no DNA mitocondrial, sendo identificados mais de milhões de SNPs. A facilidade de análise em larga escala por meio de tecnologias modernas e adaptação aos processos de automação laboratorial estão dentre as principais vantagens. Dessa maneira, milhares de SNPs podem ser analisados simultaneamente em um único indivíduo e servirem de grande utilidade no exame de fragmentos pequenos presentes em amostras degradadas (ALONSO et al., 2005).

Outro aspecto importante é a presença de polimorfismos nas regiões codificadoras e promotoras dos genes, ou seja, em regiões responsáveis pela codificação das proteínas, que tem como finalidade o fenótipo do indivíduo. Nesse sentido, conjuntos específicos de SNPs presentes nesses genes são de grande relevância para a determinação de características físicas, como a cor da pele, olhos, espessura dos fios de cabelo, formas da face e estatura. Em breve, é possível que a análise de SNPs nesses genes venha a contribuir para a determinação do retrato “falado” biomolecular de um criminoso que tenha deixado vestígios de sangue ou de outros materiais biológicos em uma cena de crime (FRUDAKIS, 2008).

3.2.2 RFLP (Polimorfismo de Fragmentos de Restrição)

Os VNTRs (Número Variável de Repetições *in tandem*) ou minissatélites são marcadores genéticos altamente polimórficos gerados por um arranjo em sequência *in tandem* de múltiplas cópias de um pequeno segmento de DNA, composto de 9 a 100 pares de bases. Esses marcadores são analisados pela técnica de RFLP, baseada em mutações que modificam sequências no DNA, em que enzimas de restrição que perdem a capacidade de clivar aquele DNA em posições suscetíveis. Indivíduos podem ser diferenciados pelo comprimento de sequências VNTR gerados após a ação de uma enzima de restrição. Esse padrão de fragmentos é característico e herdado por indivíduos geneticamente relacionados, uma vez que a localização dos sítios de restrição é típica, sendo cada sonda híbrida com dois segmentos de DNA corresponde aos alelos materno e paterno (JOBILING; GILL, 2004; GÓES, 2010).

Entretanto, há desvantagens na tipagem de alelos VNTR, pois requer que o DNA esteja íntegro e em grande quantidade (500 a 1000 ng), tornando praticamente inviável a tipagem de amostras biológicas antigas, degradadas ou com insuficiente quantidade de DNA, sendo pouco utilizado em investigações. Os STRs diferem dos VNTRs no tamanho, visto que

em geral contém poucos pares de bases, permitindo que amostras com quantidades mínimas de DNA ou com alto grau de degradação possam ser tipadas. Nesse sentido, a análise de *loci* STR superou várias limitações relacionadas à manipulação de sequências VNTR, sendo a tipagem de marcadores STR escolhida para análise de vestígios biológicos, tornando estes marcadores importantes em estudos de vínculo genético e identificação criminal de suspeitos. O Quadro 1 apresenta as características, vantagens e limitações dos marcadores moleculares (KASHYAP et al., 2004; MAGALHÃES; SILVA, 2006; GÓES, 2010).

Quadro 1. Principais marcadores moleculares utilizados na identificação humana.

	SNPs	STRs ou MICROSSATÉLITES	VNTRs ou MINISSATÉLITES
CARACTERÍSTICA	Polimorfismos nas regiões responsáveis pelo fenótipo do indivíduo.	Alelos diferentes: número específico de cópias da unidade de repetição.	Padrão de fragmentos é característico e herdado por indivíduos geneticamente relacionados.
TAMANHO	> 8 pb	2 a 8 pb	9 a 100 pb
TÉCNICA	PCR	PCR	RFLP
AMOSTRA	Degradada e pouca quantidade.	Degradada e pouca quantidade.	Íntegra e em grande quantidade.
VANTAGENS	Análise em larga escala; Determinação de características físicas.	Alto conteúdo de informação polimórfica.	Abrange grande número de <i>loci</i> .
LIMITAÇÕES	Sequenciamento	Gêmeos univitelinos	Técnica demorada

Fonte: Adaptado de Jobling; Gill (2004); Alonso et al (2005); Frudakis (2008); Góes (2010).

3.2.3 Marcadores moleculares uniparentais

O DNA mitocondrial humano (DNAm) é uma molécula circular de fita dupla, dividida em uma região controle e outra codificante. As regiões controles ou hipervariáveis de DNAm são utilizadas para a análise de DNA degradado, devido ao alto grau de polimorfismo e compreendem três segmentos: HV1, HV2 e HV3. Mais especificamente, as regiões hipervariáveis I e II são encontradas por apresentarem maior número de variações, assim, a taxa de mutação do DNA mitocondrial é de 10 a 100 vezes maior do que a taxa do DNA nuclear, sendo mais alta na região de controle (PANETO; MAGALHÃES; SILVA, 2006).

O DNA mitocondrial é transmitido aos descendentes apenas pela mãe, o que torna possível identificar a linhagem materna de uma pessoa. A molécula de DNA mitocondrial é mais resistente à degradação do que o DNA nuclear, além de estar presente em várias cópias por célula. Assim, quando o processo de identificação dos corpos é complexo, como nos casos de grandes desastres, incêndios e explosões, a análise de DNAmT é feita com a extração dos restos mortais, enquanto a sequência de interesse é comparada com sequências obtidas de irmãos ou ascendentes maternos (ANJOS et al., 2004; HOONG; LEK, 2005).

Existe a possibilidade da amostra pertencer a outro indivíduo não aparentado. Por essa razão, a identidade de duas amostras na região HV1 e HV2 não pode ser considerada uma identificação conclusiva. Para determinar a significância dessa identidade é necessário verificar a frequência com que esse conjunto de polimorfismos ocorre na população, o que gera a necessidade de um banco de dados populacional de DNAmT. Haplótipos pouco frequentes indicam maior probabilidade da amostra ser realmente de mesma origem da amostra referência. Entretanto, haplótipos muito frequentes indicam menor probabilidade de coincidência, já que muitos indivíduos apresentam o mesmo conjunto de polimorfismos naquela população (HOLLAND; PARSONS, 1999; SWGDAM, 2003).

O cromossomo Y é transmitido pela linhagem paterna para os descendentes masculinos e a análise desta região pode fornecer informações quanto à origem parental dos indivíduos. A falta de recombinação na maior parte do cromossomo Y induz ao comportamento semelhante a um fragmento único de DNA, sendo este transmitido intacto por via paterna à descendência masculina. A única fonte de variação nesta região é representada pelas mutações que se acumulam gradativamente com o tempo e a maioria ocorre nas regiões de íntrons e nas regiões extragênicas. Dessa maneira, pode-se dizer que o cromossomo Y contém uma gravação de todos os eventos mutacionais ocorridos ao longo da história, possibilitando a reconstrução das linhagens paternas (DAWID, 2001; LEE et al., 2002).

Outra ferramenta importante na genética forense é a análise dos STRs do cromossomo Y (Y-STR), pois da mesma forma que o DNAmT, os haplótipos Y-STR representam a informação de uma linhagem não recombinada que pode ser compartilhada por vários indivíduos. Entretanto, a utilidade do cromossomo Y tem sido reconhecida nos casos de deficiência de paternidade com descendência masculina e nos casos de genética forense, em que as análises autossômicas dos STRs falham em fornecer conclusões claras. O conjunto de dados de *locus* analisados pode caracterizar o indivíduo e individualizar populações, formando uma grande variedade de marcadores polimórficos que podem ser genotipados por PCR e está disponível para a pesquisa da diversidade do cromossomo Y. Assim, a

disponibilidade de protocolos de tipagem de Y-STR possibilita uma crescente e útil ferramenta para identificação masculina em estudos forenses (BUTLER, 2003; PERIC et al., 2005; GUSMÃO et al., 2006).

O estudo do cromossomo Y por meio dos testes de DNA masculinos, portanto, possibilitará a descoberta da linhagem paterna, podendo ser utilizados em testes de identificação humana, incluindo análises forenses que evidenciem abuso sexual, condução de investigações de pessoas desaparecidas e testes de paternidade deficientes. Além disso, é importante ressaltar que o uso do DNAm é necessário, tendo em vista que contém regiões polimórficas que permitem a sua individualização (MAGALHÃES; SILVA, 2006; DOLINSKY; PEREIRA, 2007; LIMA, 2010).

4 A importância das técnicas de identificação humana

A eficácia do DNA em relação à sorologia tradicional consiste na possibilidade da sua aplicação em qualquer fonte de material biológico. Assim, os testes sorológicos podem ser realizados somente no sangue e não em outros tecidos ou líquidos corporais. Em contraposição, estudos com DNA permitem que traços de qualquer material biológico ou fluidos corporais, possam ser analisados para associar a identificação de um indivíduo. O uso do DNA para fins forenses não só prova a culpabilidade ou inocência de criminosos, mas faz uma relação com a cena do crime (DOLINSKY; PEREIRA, 2007).

A utilização das técnicas de biologia molecular na área forense é de grande importância, pois podem ser empregadas na maioria dos tipos de investigação, tais como, crimes sexuais, identificação de cadáveres carbonizados, mutilados ou em decomposição, relação entre instrumento lesivo e vítima, entre outros. Nesse sentido, os resultados são imediatos e confiáveis quando coletados e analisados corretamente (MUNIZ; ARCANJO; GONTIJO, 2010).

Testes de DNA tornaram-se essenciais, tendo em vista que podem estar associados a grande sensibilidade dos exames de DNA. Além disso, é uma molécula relativamente resistente aos fatores ambientais, ácidos, detergentes, diferentemente dos determinantes proteicos, lipídicos e carboidratos. A determinação do polimorfismo por meio da técnica de PCR pode ser efetuada com o DNA de poucas células, superando a sensibilidade dos exames tradicionais. A eficiência com a qual um exame de DNA é discriminatório pode ser considerada uma das mais importantes características e é responsável pela ampliação da adoção destas técnicas para fins forenses. Dessa forma, enquanto a sorologia usa o grupo

sanguíneo ABO e tem capacidade de discriminar aproximadamente um em três indivíduos na população geral, com a utilização do DNA esta capacidade discriminatória pode ser de um indivíduo entre bilhões. O Quadro 2 apresenta as principais diferenças entre os testes de DNA e a sorologia tradicional (DOLINSKY; PEREIRA, 2007; KOCH; ANDRADE, 2008).

Quadro 2. Comparação dos testes de DNA e sorologia tradicional.

	TESTES DE DNA	SOROLOGIA TRADICIONAL
Aplicação	Qualquer fonte de material biológico.	Sangue (ABO)
Sensibilidade	Alta	Baixa
Resistência	Alta	Baixa
Quantidade de material	Pouca (nanogramas)	Variável
Identificação de indivíduos	1 entre bilhões	1 em 3
Limitações	Reações cruzadas, inibição de técnicas, ausência de padronização dos métodos de análise, falta de bancos de dados de DNA unificados.	Aplicação, sensibilidade, resistência, quantidade de material para análise, baixo potencial discriminatório.

Fonte: Adaptado de Dolinsky; Pereira (2007); Koch; Andrade (2008).

Apesar das vantagens dos testes de DNA, existem situações que estes apresentam certas limitações em relação às peculiaridades da análise. Com frequência, vestígio de outros materiais biológicos ou impurezas colhidas com as amostras biológicas como fragmentos de tecidos coloridos, inibem a reação da PCR ou produzem reações cruzadas. Outra restrição é a falta de padronização dos métodos de análise, bem como, a falta de banco de dados de DNA, com informações genéticas de criminosos e desaparecidos. Além disso, existe uma alta dependência de produtos importados, o que encarece e limita o acesso aos vários laboratórios de DNA forense, implicando na demora em relação aos resultados (KOCH; ANDRADE, 2008; ARCANJO; GONTIJO, 2010).

4.1 DNA *Fingerprint*

O DNA *fingerprint* ou “impressão digital genética” é um método de identificação que compara fragmentos de DNA, cujas sequências repetidas de nucleotídeos são exclusivas para cada pessoa e transmitidas de pais para filhos. Essa técnica permite determinar a paternidade em 99,9% de confiabilidade comparando o DNA da criança, da mãe e dos prováveis pais. Esse estudo é viável, pois o padrão de diferentes tamanhos das sequências isoladas é herdado da mesma maneira que os genes, isto é, o indivíduo recebe metade do padrão do pai e da mãe (TRISTÃO et al., 2011).

Segundo Tristão e colaboradores (2011) a técnica do DNA *fingerprint* é amplamente utilizada na identificação de material biológico. No genoma humano existem sequências de DNA repetitivas que são reconhecidas e clivadas por determinadas enzimas de restrição. Estas enzimas dividem o DNA em fragmentos, em que as dimensões e composição de nucleotídeos variam de pessoa para pessoa e refletem as diferenças entre os alelos dos vários *loci*. Diferentes fragmentos de DNA movimentam-se de modo diferente quando submetidos à eletroforese, técnica baseada na separação de moléculas em um determinado gel (agarose ou poliacrilamida) de acordo com a sua massa e carga, apresentando um padrão de bandas diferente para cada indivíduo como resultado. Com exceção de gêmeos idênticos, o DNA completo de cada indivíduo é único e usando estas sequências, cada pessoa pode ser identificada exclusivamente pela sequência de pares de base.

4.2 Fenotipagem Forense de DNA

A técnica da Fenotipagem Forense de DNA apenas permite a identificação de pessoas conhecidas pelas autoridades investigadoras, independente de qual tipo de marcador genético usado. Na ausência de uma base de dados universal de perfis de DNA, sem um eficiente policiamento e considerando os problemas éticos, legais e econômicos, esta técnica pode ser essencial para orientar as investigações policiais na busca de pessoas desconhecidas. Além disso, a fenotipagem forense também inclui informações a respeito das características externas visíveis a partir de uma amostra de DNA (SPINNEY, 2008; KAYSER, 2009).

Com a análise simultânea de vários SNPs e com a modificação de uma única base de nucleotídeos no DNA, algumas informações fenotípicas podem ser estimadas a partir da amostra de um indivíduo. Estes traços incluem cor da pele, olhos, cabelos e a estimativa da altura de quem pertence à amostra biológica analisada, entre outros fenótipos. A identificação

dos SNPs pode ser feita com um gel de tamanhos diferentes de DNA, em que são detectados devido às diferenças em um único par de bases no material genético das pessoas ou de forma automatizada. Dependendo do perfil genético ou genótipo do indivíduo analisado, haverá uma maior probabilidade de ter uma ou outra característica física investigada (CERQUEIRA, 2013).

Com relação às cenas de crime, espera-se reduzir o número de potenciais suspeitos com essa técnica com o intuito de orientar as investigações policiais para encontrar o infrator anteriormente desconhecido. A fenotipagem forense também pode ser útil na identificação de pessoa desaparecidas, incluindo identificação de vítimas de desastre, para fornecer pistas para encontrar amostras relevantes. É importante ressaltar que esta técnica não está livre de questões éticas e também necessita de apoio legislativo. Para contrapor declarações de testemunhas oculares, que possuem taxas consideráveis de erros, o valor das características externas visíveis de DNA pode ser importante na solução de casos (KAYSER, 2009).

Com o avanço no conhecimento dos dados genéticos funcionais, estudos realizados a respeito do efeito de genótipos específicos com características humanas diversas, relacionados com a variação fenotípica normal e patológica no organismo, indicam se a amostra analisada tinha alguma característica específica. A acurácia é de 92% de confiabilidade e devido ao resultado não ser completamente confiável para o uso na prática criminal, a fenotipagem também pode ser utilizada em diagnósticos moleculares de doenças genéticas mais preciso e objetivo (CERQUEIRA, 2013).

Por fim, são necessárias mais pesquisas para determinar o nível de detalhe que informações a respeito da aparência podem ser inferidas a partir de materiais biológicos. A capacidade para estimar a aparência específica do indivíduo por meio do DNA e a predição da morfologia facial é uma meta importante para a identificação de pessoas desconhecidas. Dessa forma, novas tecnologias são necessárias para a genotipagem e fenotipagem em paralelo com grandes números de SNPs, que podem ser eficazes em pequenas quantidades de DNA degradado (KAYSER; SCHNEIDER, 2011).

4.2.1 Aspectos éticos e legais relacionados à Fenotipagem Forense de DNA

Em relação à predição de características físicas é importante realizar uma abordagem com relação ao debate ético. Além das informações apresentadas serem relevantes para os pesquisadores da área forense, as questões éticas têm sido discutidas em congressos científicos e também na comunidade em geral. O principal argumento a favor da técnica de

fenotipagem forense é que a pigmentação da pele, dos olhos e cabelos, não necessita de confidencialidade, uma vez que são fenótipos óbvios. Trata-se de características observáveis por qualquer um, ou seja, o DNA não revelaria nada que alguém já não soubesse. Exemplo de fenótipo não visível externamente é o grupo sanguíneo de um indivíduo ou se este tem predisposição para alguma doença genética específica. Além disso, essa tecnologia inclui principalmente o uso de SNPs e seria útil apenas como fator de investigação e como uma essencial ferramenta de inteligência. Entretanto, não é necessário fazer uso quando a análise convencional por STRs for suficiente para esclarecer um crime (CERQUEIRA, 2014).

De acordo com Cerqueira (2014) o principal argumento contra é que essa técnica pode ser usada para práticas eugênicas por pessoas ou empresas com interesses adversos, que podem fazer a seleção de zigotos com predisposição para traços genéticos que os pais desejam nos futuros filhos. Estes traços podem estar relacionados com inteligência, aptidão física, pigmentação, presença ou ausência de doenças, para posterior implantação no útero materno. Várias características normais ou patológicas podem estar relacionadas com os diversos SNPs difundidos pelo genoma. Nesse sentido, é importante ressaltar que a fenotipagem forense está em fase de pesquisa e na prática ainda não é utilizada na maioria dos países.

No Brasil, a Lei 12.654, de 28 de maio de 2012, diz que “as informações genéticas contidas nos bancos de dados de perfis genéticos não poderão revelar traços somáticos ou comportamentais das pessoas, exceto determinação genética de gênero [...]”. Portanto, a tecnologia de predizer fenótipos por meio da análise do DNA, apesar de promissora, não poderá ser utilizada sem uma regulamentação devida e sem que haja uma alta confiabilidade. Muitos obstáculos técnicos estão sendo superados para que a predição fenotípica para uso forense seja um fato e que os aspectos éticos e legais relacionados com o tema sejam discutidos e avaliados por fóruns especializados e pela sociedade civil (CERQUEIRA, 2014).

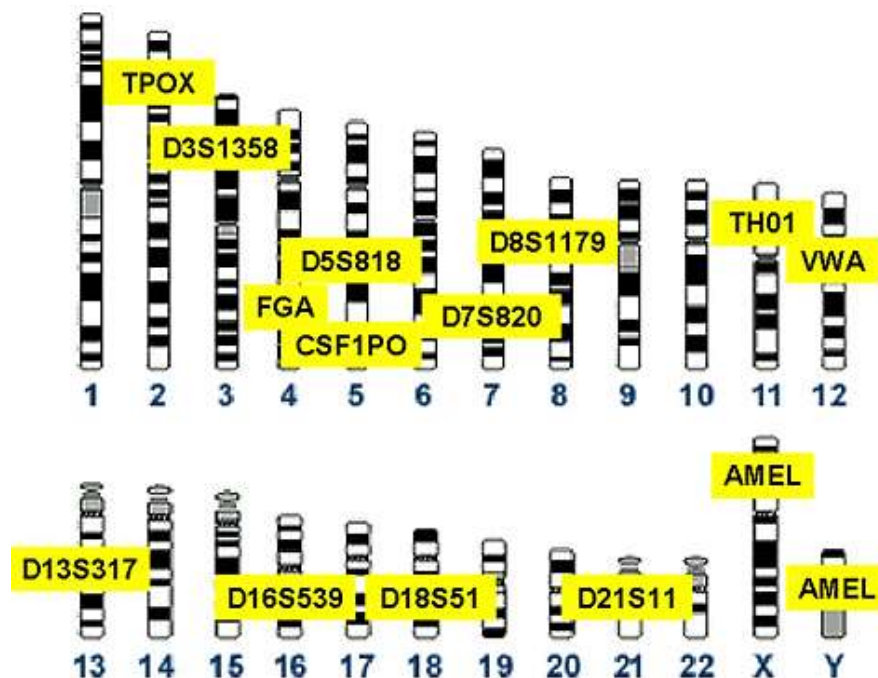
4.3 Bases de dados de DNA

O banco de dados de perfis genéticos tem como finalidade comparar perfis de suspeitos cadastrados e identificar criminosos a partir de outros crimes, podendo ser usado para provar a inocência ou culpa de suspeitos, além de fazer a identificação de restos mortais e amostras biológicas. Esse banco tem auxiliado o sistema de justiça criminal em muitos países, principalmente com a finalidade de fornecer grande possibilidade de identificação de indivíduos e resolução de casos sem suspeitos, caso não existam amostras para serem comparadas com o material coletado na cena do crime. Na construção de um banco de dados

operacional para armazenamento e comparação de informações genéticas, as informações geradas devem ser úteis para a maioria dos casos. Devido a isto, dados a respeito das regiões STR presentes no DNA nuclear devem ser incluídos, assim como, as tipagens de DNA mitocondrial quando cabíveis (WALSH, 2004; PARADELA; FIGUEIREDO; SMARRA, 2006; DOLINSKY; PEREIRA, 2007).

Na Inglaterra, foi criado o primeiro banco de dados de perfis genéticos de criminosos. Nos Estados Unidos surgiu o banco de dados mais conhecido e importante, o Sistema de Índice de DNA Combinado (CODIS). Neste sistema existem dois arquivos diferentes de perfis genéticos em que os objetivos se completam: o *Forensic Index* (índice forense) que contém 96.473 perfis genéticos obtidos a partir de cenas de crime e o *Offender Index* (índice de criminosos), com 2.072.513 perfis genéticos de criminosos. A Figura 3 ilustra os 13 marcadores genéticos que formam o sistema CODIS na identificação criminal. O banco de dados britânico, implementado em 1995, encontra-se em um estágio bem desenvolvido em relação aos demais. Dados de 2006 mostram o quanto é eficiente esse banco de perfis genéticos, pois verificou-se que a taxa de resolução de crimes passou de 26% para 40% quando vestígios encontrados no local do crime são colocados no banco de dados (PENA, 2005; LIMA, 2007).

Figura 3. Principais marcadores STRs utilizados pelo sistema CODIS indicando a sua distribuição cromossomal.



Fonte: National Institute of Standards and Technology (2011).

O Brasil ainda não possui uma legislação específica para análise e uso de dados genéticos para fins forenses e estabelecimento de bancos de perfis genéticos. Entretanto, existem normas que tratam de provas periciais e condições para que sejam aceitas. A ausência de uma legislação específica capaz de padronizar os procedimentos de análise de amostras de DNA e o uso das técnicas moleculares gera ainda inúmeros problemas, uma vez que, os laboratórios são relativamente novos e não há padrões definidos ou órgão responsável pela certificação, fiscalização e regulação dos laboratórios forenses (ARCANJO; GONTIJO, 2010).

É importante ressaltar que o FBI e a Polícia Federal brasileira assinaram convênio em 2009 para cessão do sistema CODIS ao governo brasileiro, o que permitirá a criação de um banco de dados nacional com amostras de DNA de criminosos, suspeitos e vítimas. Além disso, no mesmo ano, foi criada a Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG), que surgiu da iniciativa conjunta do Ministério da Justiça e das Secretarias de Segurança Pública Estaduais tendo por objetivo propiciar o intercâmbio de perfis genéticos de interesse da Justiça, obtidos em laboratórios de perícia oficial. Para ser útil na apuração criminal, a RIBPG depende da devida inserção de perfis genéticos, das amostras biológicas deixadas pelos infratores nos locais de crime e dos vestígios provenientes de casos com ou sem suspeitos. Atualmente essa rede reúne mais de 2.500 perfis genéticos (MINISTÉRIO DA JUSTIÇA, 2013).

De acordo com o Ministério da Justiça (2013), o cumprimento da Lei nº 12.654/12 e o efetivo cadastramento de pessoas são fundamentais para que os vestígios sejam identificados e a RIBPG possa auxiliar na elucidação de crimes, bem como evitar condenações equivocadas. A identificação de pessoas desaparecidas ocorre mediante a alimentação sistemática dos perfis genéticos de quatro tipos diferentes de amostras biológicas: cadáveres e restos mortais não identificados, pessoas de identidade desconhecida, referências diretas de pessoas desaparecidas e familiares de pessoas desaparecidas, as quais são confrontadas periodicamente para verificação de eventual vínculo genético entre as mesmas.

Em casos de agressões sexuais, o exame de DNA permite identificar o agressor por meio de vestígios biológicos como manchas de sêmen, sangue ou pêlo, os quais podem ser coletados diretamente da vítima ou do local do crime. Este exame também inocenta pessoas falsamente acusadas por um crime sexual. Um dos fatores para o sucesso do banco de dados de DNA, portanto, é a regulamentação da legislação, sendo importante na resolução de crimes para os quais não há suspeitos e que, de outra forma, permaneceriam sem solução (PARADELA; FIGUEIREDO; SMARRA, 2006; LIMA, 2007).

5 Considerações finais

A utilização de marcadores moleculares na identificação humana requer uma série de procedimentos, tendo como base a coleta de amostras de DNA para posterior análise forense. O acondicionamento e coleta do material biológico de forma correta são essenciais para manter e preservar a atividade biológica da amostra. Todo processo de coleta deve ser realizado com base nos procedimentos de biossegurança padronizados pela legislação, com a finalidade de evitar falhas na obtenção de vestígios encontrados na cena de crime.

As técnicas de identificação humana e os marcadores moleculares são essenciais para obter perfis genéticos a partir de amostras coletadas, permitindo uma comparação com o perfil de DNA de possíveis suspeitos. É possível estabelecer uma conexão entre o local do crime e o criminoso, sendo possível auxiliar na acusação ou absolvição no decorrer do processo. Entretanto, o uso do DNA no âmbito forense apresenta limitações, tais como, reações cruzadas, inibição de técnicas, ausência de padronização dos métodos de análise, falta de bancos de dados de DNA unificados que contenham informações genéticas de criminosos para posterior comparação de dados, que afetam o andamento das investigações policiais, o resultado dos laudos periciais e a conclusão de todo o trâmite processual.

Com os recentes avanços tecnológicos e estudos mais aprofundados a respeito da identificação humana, está sendo desenvolvida a técnica de Fenotipagem Forense por DNA, que pode definir os traços de um indivíduo a partir de uma amostra de DNA. Neste sentido, será possível descrever as características físicas de um suspeito. Entretanto, essa técnica ainda não está sendo utilizada em alguns países, pois necessita de aprofundamento científico e metodológico, além de questões éticas, que dificultam o seu uso no âmbito forense. Por tratar-se de abordagem recente, não existe ainda uma ampla literatura a respeito do assunto.

Espera-se em breve que as técnicas de biologia molecular sejam aperfeiçoadas, com o intuito de auxiliar com maior precisão as investigações e ajudar com eficiência e agilidade a solução de crimes. Dessa forma, é importante que estas questões sejam amplamente discutidas e que as pesquisas científicas possam evoluir no aprimoramento dessas técnicas, para que sirvam como ferramentas de suporte e de assistência para uma eficiente e rápida identificação de suspeitos.

Referências

- ALONSO, A., et al. Challenges of DNA profiling in mass disaster investigations. **Croatian Medical Journ**, Zagreb, v. 46, n. 4, p. 540-548, ago. 2005.
- ANJOS, M. et al. Individual genetic identification of biological samples: a case of an aircraft accident. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 146, p. 115-117, dez. 2004.
- ARCANJO, A. C.; GONTIJO, C. C. Acreditação, validação e verificação em práticas forenses. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU DA PUC GOIÁS, Goiás, 2010. **Anais ...** Goiás: PUC Goiás, 2010.
- BONACCORSO, N. S. **Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes**. 2005. 156 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Direito. Universidade de São Paulo, 2005.
- BOND, J. W. Value of DNA evidence in detecting crime. **Journal of Forensic Sciences**, Chicago, v. 52, n. 1, p. 128-136, jan. 2007.
- BUTLER, J. M. **Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers**. 2 ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005.
- _____. Recent developments in Y-short tandem repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. **Forensic Science Review**, v. 15, n. 2, p. 91-111, jul. 2003.
- CERQUEIRA, C. Predição de características físicas pelo DNA - uma tecnologia aliada à justiça. **Portal Educação**. 22 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/biologia/artigos/53190/predicao-de-caracteristicas-fisicas-pelo-dna-uma-tecnologia-aliada-a-justica>>. Acesso em: 27 ago. 2014.
- _____. Promessas da genética forense na perícia criminal. **Ciência Hoje**. 03 jun. 2014. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/revista-ch/2014/314/promessas-da-genetica-forense-na-pericia-criminal>>. Acesso em: 15 out. 2014.
- COIRADAS, G. **Métodos de identificação humana: a importância da identificação pela arcada dentária nas forças armadas**. 102 f. 2008. Trabalho de conclusão de curso (Oficiais do Serviço de Saúde, especialização em Aplicações Complementares às Ciências Militares) - Escola de Saúde do Exército, Rio de Janeiro, 2008.
- CORDEIRO, A. M. et al. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 428-431, dez. 2007.
- DAWID, A. P.; MORTERA, J.; PASCALI, V. L. Non-fatherhood or mutation? A probabilistic approach to parental exclusion in paternity testing. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 124, n. 1, p. 55-61, dez. 2001.
- DOLINSKY, L. C.; PEREIRA, L. M. DNA Forense. **Saúde e ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v. 2, n. 2, p.1 1-22, dez. 2007.
- DUARTE, F. et al. **A avaliação do DNA como prova forense**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2001.

FRUDAKIS, T. **Molecular photofitting**: predicting ancestry and phenotype using DNA. Amsterdam, Elsevier: Academic Press, 2008.

FRUMKIN, D. et al. Authentication of forensic DNA samples. **Forensic Science International: Genetics**, Amsterdam, v. 4, n. 2, p. 95–103, fev. 2010.

GÓES, A. C. S. Análise de regiões polimórficas do DNA com o objetivo de estabelecer vínculos genéticos, identificar restos mortais ou realizar perícias criminais. **Revista do Biomédico**. 65 ed. Disponível em: <http://www.crbm1.gov.br/bio65/artigocien_65.asp>. Acesso em: 16 mar. 2015.

GUSMÃO, L. et al. DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. **International Journal of Legal Medicine**, Heidelberg, v. 120, n. 4, jul. 2006.

HOLLAND, M. M.; PARSONS, T. J. Mitochondrial DNA sequence analysis - validation and use for forensic casework. **Forensic Science Review**, v. 11, n. 1, p. 22-50, jun. 1999.

HOONG, L. L.; LEK, K. C. Genetic polymorphisms in mitochondrial DNA hypervariable regions I, II and III of the Malaysian population. **Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 79-85, 2005.

JOBLING, M. A.; GILL, P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 5, n. 10, p. 739-752, out. 2004.

KASHYAP, V. K. et al. DNA profiling technologies in forensic analysis. **International Journal of Human Genetics**, v. 4, n. 1, p. 11-30, 2004.

KAYSER, M. Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. **Forensic Science International: Genetics**, London, v. 12, n. 3, p. 179–192, mar. 2011.

KAYSER, M.; SCHNEIDER, P. M. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. **Forensic Science International: Genetics**, Amsterdam, v. 3, n. 3, p. 154–161, jun. 2009.

KOCH, A.; ANDRADE, A. A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão; **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 1, p. 17-23, 2008.

LEE H. S. et al. Motherless case in paternity testing. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 125, n. 2-3, fev. 2002.

LEE, H. Y. et al. Mitochondrial DNA control region sequences in Koreans: identification of useful variable sites and phylogenetic analysis for mtDNA data quality control. **International Journal of Legal Medicine**, v. 120, n. 1, p. 5-14, jan. 2006.

LIMA, H. B. DNA x Criminalidade. **Revista Perícia Federal**, Brasília, v. 9, n. 26, p. 8-11, mar. 2007.

LIMA, L. Utilização de polimorfismo em análises forenses. **Academia.edu**. Disponível em: <https://www.academia.edu/6598269/utilizacao_dos_polimorfismos_em_analises_forenses>. Acesso em: 02 abr. 2015.

MAGALHÃES, I. M; SILVA, D. M. Informações acerca de marcadores moleculares uniparentais: DNA mitocondrial e cromossomo Y. **Estudos de Biologia**, v. 28, n. 63, p. 81-88, jun. 2006.

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA. **Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos (RIBPG)**. Disponível em: <<http://www.justica.gov.br/sua-seguranca/ribpg/institucional>>. Acesso em 30 jun. 2015.

MUNIZ, S. A utilização de marcadores moleculares de DNA aplicados nas investigações forenses. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSU DA PUC GOIÁS, 5., Goiás, 2010. **Anais ...** Goiás: PUC Goiás, 2010.

NIST (NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY). **FBI CODIS Core STR Loci**. Disponível em: <<http://www.cstl.nist.gov/strbase/fbicore.htm>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

PANETO, G. **Utilização do DNA mitocondrial no contexto forense brasileiro**. 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

PARADELA, R. E.; FIGUEIREDO, S. L.; SMARRA, A. L. S. A identificação humana por DNA: aplicações e limites. **Âmbito Jurídico**, Rio Grande, n.30, jun. 2006. Disponível em: <http://www.ambitojuridico.com.br/site/index.php?artigo_id=1175&n_link=revista_artigos_leitura>. Acesso em: 25 mar. 2015.

PENA, S. D. J. Segurança pública: determinação de identidade genética pelo DNA. **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**, Brasília, ed. especial, n. 20, p. 1-554, jun. 2005.

PERIC, M. et al. Review of Croatian genetic heritage as revealed by mitochondrial DNA and y chromosomal lineages. **Croatian Medical Journal**, Zagreb, v. 46, n. 4, ago. 2005.

QUEIROZ, P. R. M. **Conceitos de DNA forense aplicados à identificação humana**. 1 ed. Curitiba: Appris, 2012.

SILVA, L. A.; PASSOS, N. S. **DNA Forense: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudo do DNA**. 2 ed. Maceió: Edufal, 2006.

SPINNEY, L. Eyewitness identification: line-ups on trial. **Nature**, London, v. 205, n. 976, p. 442-444, mai. 2008.

SWGDM (SCIENTIFIC WORKING GROUP ON DNA ANALYSIS METHODS). Guidelines for Mitochondrial DNA (mtDNA) Nucleotide Sequence Interpretation. **Forensic Science Communications**, Washington, v. 5, n. 2, abr. 2003.

TRISTÃO, C. et al. **Vínculos Genéticos: DNA Fingerprint**. Disponível em: <<http://fingerprint-vinculos-geneticos.blogspot.com.br/p/o-que-e-dna-fingerprinting.html>>. Acesso em: 17 mai. 2015.

UTIYAMA, S.; REASON, I.; KOTZE, L. O sistema complemento nas doenças: genética e patogenia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 277-86, ago. 2004.

VANOUSE, P. **Deep Woods PCR**. 2011. Disponível em: <<http://www.paulvanouse.com/dwpcr.html>>. Acesso em: 30 jun. 2015.

WALSH, J. S. Recent advances in forensic genetics. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, London, v. 4, n. 1, p. 31-40, jan. 2004.

ZHANG, Y. J. et al. Haplotype diversity in mitochondrial DNA hypervariable region I, II and III in northeast China Han. **Forensic Science International**, Lausanne, v. 149, n. 2-3, p. 267-269, mai. 2005.