

BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA À ÁREA FORENSE: UM RESGATE NO TEMPO

MOLECULAR BIOLOGY APPLIED TO THE FORENSIC AREA: A RESCUE IN TIME

Alesson Pereira Cavalleiro¹

Resumo: A análise de amostras de DNA para a solução de crimes é algo bastante observado em filmes e séries de ficção, todavia, será que isso realmente acontece no cotidiano? O presente trabalho consiste em uma revisão bibliográfica, cujo objetivo é fazer um resgate histórico do desenvolvimento da Biologia Molecular, do seu emprego para a área forense e das principais técnicas por ela utilizadas. Nesse sentido, nota-se que o desenvolvimento desta ciência, bem como das técnicas e metodologias por ela realizadas acompanham o desenvolvimento tecnológico e das ferramentas que lhe são disponíveis. A utilização de DNA que outrora se iniciou com o objetivo de identificar imigrantes, hoje se utiliza das mais diversas técnicas para culpar ou discriminar suspeitos de delitos. Ainda que se encontre avançada e que este trabalho descreva algumas das técnicas utilizadas pela Biologia molecular, muitas outras podem ser caracterizadas para que se compreenda o futuro dessa ciência dentro da investigação criminal.

Palavras chaves: Ácidos nucleicos. Investigação Criminal. Técnicas moleculares

Abstract: The analysis of DNA samples to solve crimes is something widely observed in films and fiction series, however, does this really happen in everyday life? The present work consists of a bibliogra-

¹ Especialista em Ciências Ambientais e graduado em Ciências Biológicas pelas Faculdades Magsul



phical review, the objective of which is to provide a historical review of the development of Molecular Biology, its use in the forensic field and the main techniques used by it. In this sense, it is noted that the development of this science, as well as the techniques and methodologies it carries out, accompany the technological development and tools available to it. The use of DNA, which once began with the aim of identifying immigrants, is now used in a variety of techniques to blame or discriminate against criminal suspects. Although it is advanced and this work describes some of the techniques used by molecular biology, many others can be characterized to understand the future of this science within criminal investigation.

Keywords: Nucleic acids. Criminal investigation. Molecular techniques

INTRODUÇÃO

As ciências ligadas a área forense parecem remeter a situações tão somente presentes em filmes e séries da ficção. Todo aparato utilizado na solução de crimes dentro desse contexto faz com que as Ciências forenses aludem a algo de natureza fantasiosa, bem longe da realidade de nosso cotidiano.

Como ciência, a área forense é bastante recente, se apresentando com caráter multi/interdisciplinar na solução de crimes. Descrever a trajetória de um projétil usando a física, analisar dados bancários, identificar pessoas a partir de amostras de DNA, estas são algumas das atividades realizadas pelo conjunto de técnicas e áreas de conhecimento que formam a Ciência forense.

Uma das áreas ligadas a tudo isso é a Biologia Molecular. No entanto, qual sua importância para as investigações? Quais as principais técnicas utilizadas? Esta área é relativamente recente dentro da investigação criminal?

Sendo a Biologia Molecular um ramo da Biologia, é possível caracterizá-la como tão recente quanto e que suas técnicas se aprimoraram ao longo do tempo, uma vez que, como em qualquer outra

ciência, o surgimento de novas tecnologias propiciou novos avanços dentro da área.

Nesse sentido, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar o papel da Biologia molecular dentro da área forense, bem como elucidar como foi seu desenvolvimento e as principais técnicas que são utilizadas para tanto.

Demonstrar como uma das áreas da ciência forense se construiu ao longo do tempo e como ela trabalha é de suma importância para que se note que essa ciência vai muito além da ficção. A Biologia Molecular auxilia na solução de crimes através de amostras biológicas e compreender as técnicas utilizadas e como elas se desenvolveram ao longo do tempo se faz necessário para entender que tal ciência faz parte do nosso cotidiano, sendo de grande utilidade na área criminal e não se restringindo a mera natureza fictícia.

Assim, considerando o resgate histórico que este trabalho pretende, optou-se por uma pesquisa de cunho bibliográfico, buscando compilar o máximo de informações sobre a temática. A pesquisa está dividida em tópicos que caracterizam, respectivamente, a construção da Biologia Molecular como ciência, como ela é utilizada dentro da área forense e quais as principais técnicas utilizadas para tanto.

DESENVOLVIMENTO

Metodologia

O presente trabalho busca fazer uma análise descritiva do objeto de estudo proposto, dando ênfase nas relações e informações a este relacionados. Portanto, pode-se considerar uma abordagem qualitativa, a qual, conforme se desprende de Prodanov e Freitas (2013), é um tipo de pesquisa descritiva, na qual predomina o foco no objeto de estudo e no estabelecimento de relações entre as informações a ele inerentes, sendo os dados estatísticos de pouca relevância para a pesquisa como um todo.

Além disso, trata-se de uma pesquisa bibliográfica:

A pesquisa bibliográfica consiste em reunir informações de materiais já pu-

blicados, principalmente livros e revistas. Ela possui vantagens sobre outros tipos de pesquisa, uma vez que permite coletar uma maior gama de informações sobre o tema a ser pesquisado. Vale ressaltar, também, da importância de analisar tais informações, pois, em alguns casos, existem fontes que processam dados de forma incorreta(GIL, 2002).

Assim, conforme as informações que foram coletadas, fez-se uma breve descrição de como a Biologia Molecular se construiu como ciência, qual seu papel na investigação criminal, bem como as principais técnicas utilizadas para tanto.

A Biologia molecular como Ciência

A Biologia Molecular é um ramo da Biologia e assim como esta representa uma ciência bastante recente. Seu objeto de estudo são os processos biológicos que ocorrem a nível molecular, com destaque os processos realizados pelos ácidos nucleicos: DNA(Ácido Desoxirribonucleico) e RNA(Ácido ribonucleico).

Consoante Snustad e Simmons(2017), em Biologia Molecular, a maioria dos estudos são baseados em vírus e bactérias, sendo que o fluxo de informações no sentido DNA -RNA- proteínas constitui o que se chama dogma central da Biologia Molecular(figura 1), envolvendo os processos de Replicação, transcrição e tradução.



Figura 1: Esquema do dogma central da biologia molecular. Fonte: google imagens

[...] na replicação, a informação passa de uma molécula de DNA para outra molécula de DNA; na transcrição, a informação passa do DNA para o RNA; e, na tradução, a informação passa do RNA para a proteína. Esse conceito de fluxo de informação foi formalizado por Francis Crick em um conceito que ele chamou de dogma central da biologia molecular[...] (PIERCE, 2016, s/p. Grifo nosso).

Vale ressaltar que os estudos que deram origem à Biologia Molecular se iniciaram bem antes de que se conhecesse estes três processos. De acordo com Weinstein e colaboradores (2017), os estudos precursores da Biologia Molecular tem seus primórdios na observação da célula em um microscópio, por Robert Hooke, em 1665. Posteriormente, foram desenvolvidos estudos sobre a estrutura nuclear, a transmissão de características (por Mendel), Morgan relaciona a ligação entre gene e cromossomos (em 1915), ocorre aceitação da ideia de Avery de que as informações genéticas estão contidas no DNA (1944), mas a compreensão da estrutura desse ácido nucleico por Watson e Crick só acontece em 1953.

O grande avanço no estudo dos ácidos nucleicos ocorreu em 1953, quando James Watson e Francis Crick deduziram o modo de organização dos nucleotídeos no DNA. Watson e Crick descobriram que os nucleotídeos estão unidos um ao outro em uma cadeia. As ligações são formadas por interações químicas entre o fosfato de um nucleotídeo e o açúcar de outro nucleotídeo. As bases nitrogenadas não participam dessas interações. Assim, uma cadeia de nucleotídeos é constituída de uma cadeia principal de açúcar-fosfato à qual estão fixadas as bases, uma base para cada açúcar da cadeia principal. De uma extremidade da cadeia até a outra, as bases formam uma sequência linear característica dessa cadeia específica. Essa sequência de bases é que distingue um gene do outro (SNUSTAD & SIMMONS, 2017, s/p).

Esses dois cientistas, segundo Vasconcelos e colaboradores (2021), desenvolveriam, anos mais tarde, estudos que conformariam o dogma central da Biologia molecular: em 1957, Francis Crick supunha que a informação genética é traduzida no processo de formação de uma proteína e que esta não conseguiria retornar a forma dos ácidos nucleicos, nem conformar outra proteína. No ano de 1965, James Watson propôs que a síntese proteica acontecia conforme o esquema DNA-RNA-proteína, processo

nomeado pela comunidade científica da época como dogma central da Biologia Molecular.

Com o avanço das tecnologias, os estudos não se limitaram a tais processos: um ano depois fora descrito o código genético humano; em 1982 e 1996 tem-se casos de clonagem, respectivamente, de um camundongo e da ovelha Dolly; e, em 2001, 99% do genoma humano estava decifrado (WAINSTEIN et al.,2017).

Esses foram os marcos no desenvolvimento da Biologia Molecular como ciência e até mesmo na atualidade existem estudos atrelados a essa área de conhecimento.

Biologia Molecular e Ciência Forense

Apesar de parecer restrita a mera natureza fictícia, a ciência forense para a solução de crimes já faz parte da realidade do mundo e do Brasil. A ciência forense consiste em um conjunto de áreas de conhecimentos(interdisciplinares), técnicas e princípios que são utilizados nos âmbitos penais, cíveis e administrativos para determinar ou excluir a autoria dos atos delituosos(BARROS et al.,2021).

Nesse sentido, a Biologia Molecular, através das técnicas envolvendo DNA/RNA ganham destaque para tanto:

A análise de DNA se tornou um importante avanço na área de investigação criminal, visto que existem inúmeras fontes de amostras: sangue, sêmen, saliva, cabelo e outros fluidos corporais além de que, a partir do DNA mitocondrial, permite descobrir a identidade genética, seja identificando corpos em desastres aéreos, campos de guerra, acidentes graves e até exames de paternidade. Esse tipo de estudo, com seu potencial discriminatório se tornou de suma importância nos processos judiciais (TARGINO et al.,2019).

De acordo com Bonaccorso(2005), os primeiros casos da utilização do DNA para mecanismos de identificação remontam a 1985, para solucionar casos de imigração. Todavia, seu emprego dentro da área criminal só aconteceria um ano depois quando, utilizando-se de “minissatélites”, Jeffreys identi-



ficou o verdadeiro estuprador e assassino de duas vítimas-caso Enderby. Era o início da utilização de técnicas de DNA aliada a solução de crimes.

Atualmente, inúmeros são os avanços relacionados ao estudo do DNA, entretanto, para a ciência forense, as ferramentas que permitem a identificação baseada no material genético não devem ser substituídas e sim aprimoradas ao longo do tempo(SALA & TEJADA,2023). Em alguns países, existem sistemas de comparação de informações, como o CODIS, que auxiliam na eficácia de tais análises:

O CODIS, um dos maiores bancos de dados de DNA do mundo, foi desenvolvido pelo FBI e permitiu que as polícias do Brasil criassem bancos de dados com amostras de DNA de criminosos, suspeitos e vítimas; e estabelecessem vínculos entre amostras biológicas forenses tipadas através de microsátélites de DNA autossômico, DNA do cromossomo Y e também do DNA mitocondrial, em casos de crimes sexuais, evidências encontradas em locais de crimes e também identificação de ossadas e pessoas desaparecidas(CALIGIORNE & CHAGAS,2019.p13).

Com a evolução da tecnologia, fica evidente que as técnicas utilizadas para análise também se desenvolveram com o tempo, variando conforme a necessidade. Os principais tipos de técnicas utilizados são descritos posteriormente.

Principais Técnicas Utilizadas

Sabe-se, conforme o que fora demonstrado por Watson e Crick(figura 2), que o DNA(ácido desoxirribonucleico) é um polímero de nucleotídeos e estes por sua vez são formados por um grupo fosfato, uma pentose - no caso do DNA, a desoxirribose - e uma sequência de bases nitrogenadas que formam pares adenina-timina, citosina-guanina. Entre as bases nitrogenadas formam-se ligações de hidrogênio , enquanto entre a pentose de um nucleotídeo, o fosfato e a pentose do próximo, formam-se as ligações fosfodiéster, de modo que tais forças interagem na conformação da estrutura molecular desse ácido nucleico, que possui uma estrutura helicoidal com dupla hélice (ALBERTS et al.2017).



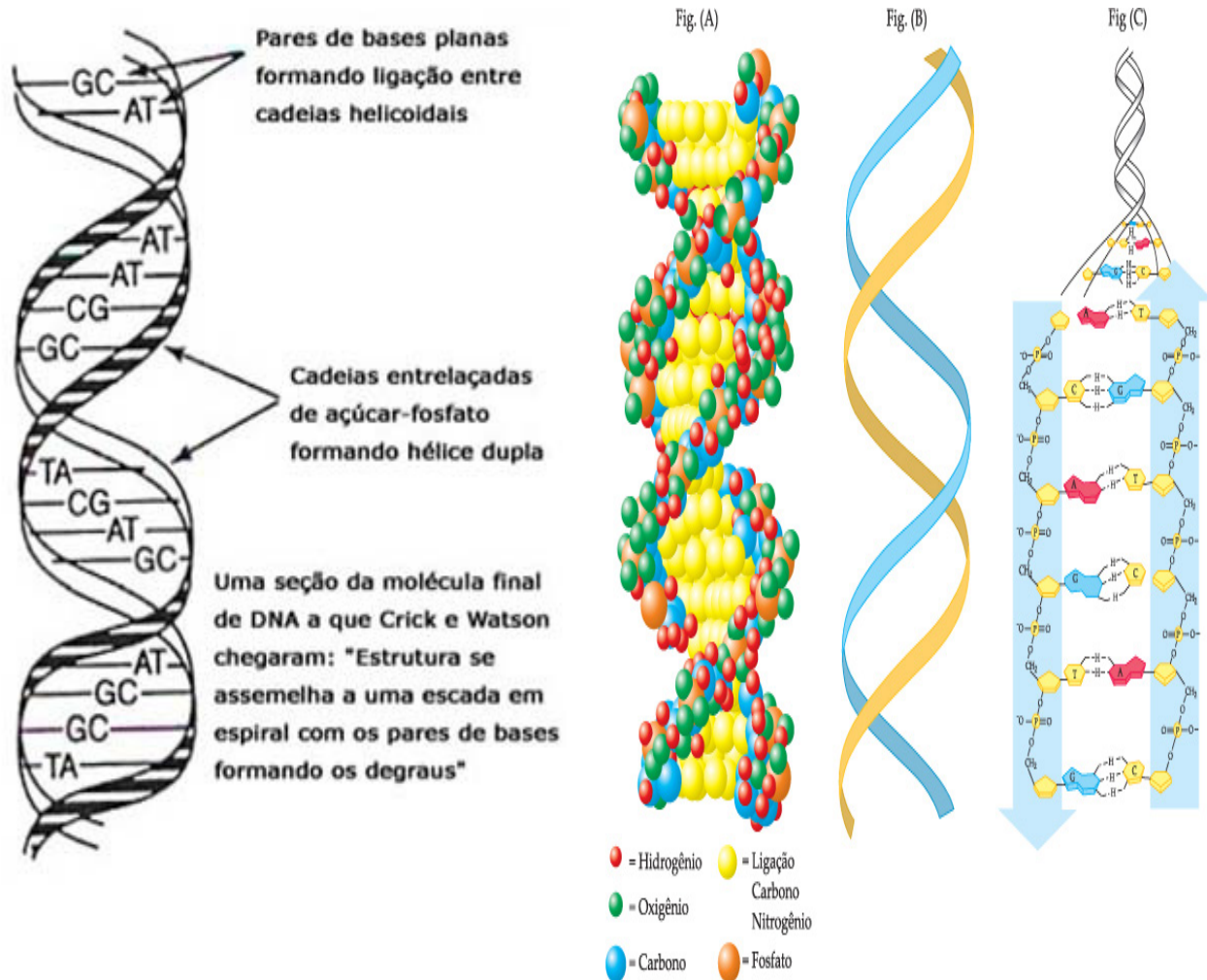


Figura 2: à esquerda, esquema do dna proposto por watson e crick. a direita, estrutura detalhada da molécula. Fonte: google imagens.

Além da estrutura do DNA, algumas outras características são de grande relevância para que este seja tão utilizado no processo de identificação no âmbito criminal.

Das várias características que possui o DNA, algumas se destacam para os trabalhos desenvolvidos na ciência forense: primeiro, este ácido nucleico pode ser extraído de diversos fluidos corporais, além de cabelo e tecidos; segundo, tem alto teor discriminatório, uma vez que, à exceção de gêmeos monozigó-

ticos, ninguém compartilha os exatamente os mesmos marcadores; terceiro, ele é bastante sensível; quarto, sua resistência a inúmeros fatores ambientais; e, por último, a capacidade de se conseguir separar DNA espermático daquele não-espermático(BONACCORSO,2005).

Mesmo com todas essas vantagens, o DNA é submetido a diferentes etapas e processos de coleta, transporte, extração entre outros, dependendo do tipo de técnica que será utilizada para análise. Tais itens são descritos a seguir.

PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

Parafraseando Carvalho e colaboradores (2021,p.114758)” É uma técnica in vitro conhecida por multiplicar de forma exponencial uma sequência-alvo (molde ou template) de DNA”, ou seja, essa técnica é utilizada para se amplificar pequenas regiões do DNA, de modo a se produzir inúmeras cópias de uma sequência específica e, logo depois, designa-se os marcadores específicos(primers).

A realização desta técnica utiliza um aparelho chamado de termociclador, no qual ocorrerão etapas de aquecimento e resfriamento do material genético, até a separação das duas cadeias de DNA. Em seguida, a enzima DNA-polimerase sintetiza cadeias complementares. O ciclo é repetido inúmeras vezes até se obter uma quantidade exponencial do material (figura 3).

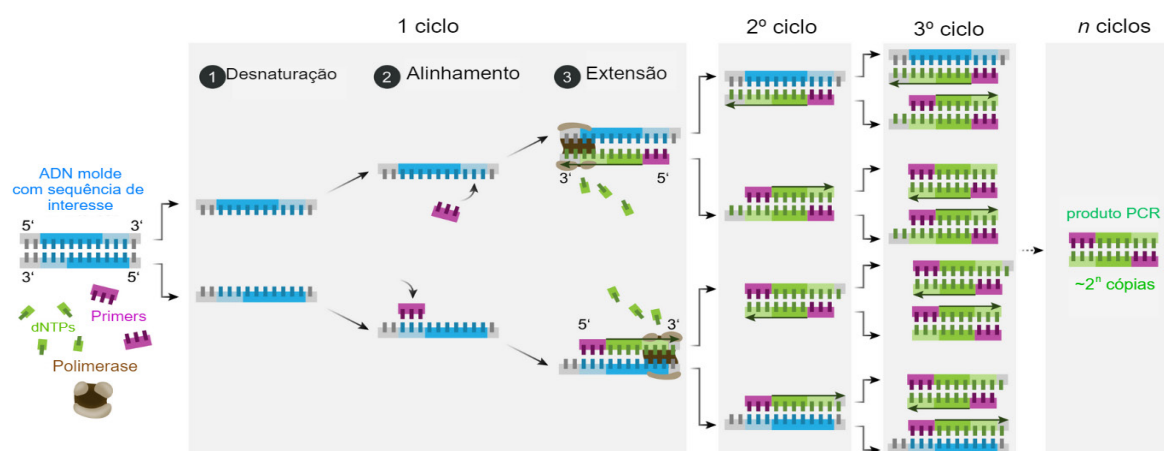


Figura 3: etapas de realização da técnica pcr, em esquema simplificado. Fonte: google imagens

Dentro do termociclador, a realização da PCR envolve três etapas: desnaturação, anelamento/alinhamento e extensão. Na primeira etapa, a amostra será aquecida até cerca de 95°C, de modo a romper as ligações de hidrogênio entre as bases e separar as duas fitas do DNA. Durante o anelamento, ocorre o resfriamento entre 37°C e 70°C, para que os primers se unam a seus sítios complementares. Na etapa de extensão, a temperatura é elevada para 72°C, onde a polimerase irá sintetizar as novas sequências. Esse ciclo será repetido inúmeras vezes até a acumulação exponencial do DNA(LOPES & PIRES,2022).

Segundo Alberts e colaboradores(2017), essa técnica é bastante útil dentro da investigação criminal, principalmente quando a amostra é escassa, uma vez que permite replicar o material para analisar posteriormente.

Sequenciamento do DNA

Esse método baseia-se na determinação da sequência de bases nitrogenadas do DNA, fornecendo informações sobre a estrutura e função do gene (PIERCE,2016).

Conforme Lopes e Pires (2022), essa técnica se desenvolveu em quatro gerações de métodos distintos, cada qual utilizando das tecnologias que lhes eram disponíveis. O mais comum desses métodos é o de Sanger (didesoxi), que consiste em replicar uma sequência até encontrar a base nitrogenada que serve de referência.

Vale ressaltar que também é possível que haja utilização de outras técnicas no seu desenvolvimento, como a PCR e a Eletroforese em gel.

RFLP (Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição)

“Os polimorfismos de comprimento do fragmento de restrição são variações



no padrão dos fragmentos produzidos pelas enzimas de restrição, que revelam variações nas sequências de DNA. Estes polimorfismos são muito usados no mapeamento gênico”(PIERCE,2016,s/p).

De acordo com Prado e Reis(2018), nesse método, fragmentos específicos de DNA são produzidos por clivagens utilizando enzimas de restrição, que serão analisados utilizando eletroforese, posteriormente. Todavia, trata-se de uma técnica complexa, com várias etapas; “morosa e laboriosa”, que demanda bastante tempo- 4 a 6 semanas- além de necessitar de uma grande amostra de DNA que precisa estar íntegro (BONACCORSO,2005).

Por esse motivo, sua utilização foi de grande importância no passado, mas devido ao grande número de etapas, tempo para realização, entre outros fatores, foi substituída por técnicas mais modernas como a PCR.

Eletroforese

Essa técnica consiste na separação do DNA, RNA e proteínas, utilizando como critérios o peso molecular e a carga elétrica do material estudado(figura 4), sendo simples, sensível e de rápida realização(CARVALHO et al.,2021). De modo simplificado, as amostras são colocadas em um gel e submetidas a uma corrente elétrica. As moléculas se movem através do gel em direção ao polo oposto, separando-se de acordo com o tamanho.

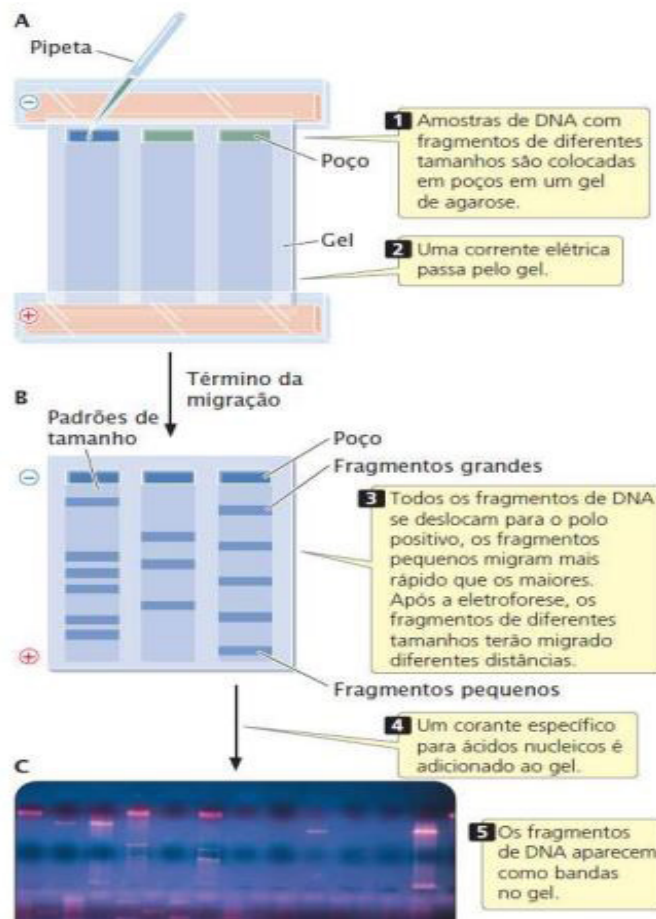


Figura 4:A eletroforese em gel pode ser usada para separar a molécula de DNA com base no seu tamanho e na carga. Fonte: (PIERCE,2016)

Os ácidos nucleicos são exemplos de moléculas com cargas elétricas negativas, devido à presença do grupo fosfato. Essa característica faz com que seja possível impulsionar essas moléculas por um gel e separá-las conforme seu tamanho. Os principais tipos de gel utilizados nessa técnica são a acrilamida e a agarose. “A acrilamida é um dos principais e mais versáteis materiais para a produção do gel eletroforético. A reação de ligação entre a molécula linear de acrilamida a uma molécula ramificada da bisacrilamida é capaz de gerar uma malha fina o suficiente para apresentar resistência à passagem das moléculas de DNA”(LOPES & PIRES,2022,p.49).

Entretanto, a acrilamida não é o único método para a realização da eletroforese. Conforme

Bonaccorso (2005), existem várias técnicas de análise do DNA através da fluorescência. O outro processo é em gel de agarose, na qual será adicionado um corante fluorescente: conforme a intensidade da fluorescência, estima-se a quantidade de DNA. Esta técnica é simples, porém de pouca precisão, de modo a ser utilizada, principalmente, para averiguar o êxito na etapa de extração.

Na ciência forense, a eletroforese é usada para separar e analisar fragmentos de DNA, RNA ou proteínas, permitindo a comparação de tamanhos e a identificação de padrões distintos entre amostras, tudo isso de forma automatizada. Todavia, ela é limitada no que diz respeito a identificação dos pares de bases, conseguindo, apenas, separar essas por tamanho ou peso molecular(CARVALHO et al.,2021).

Vale ressaltar que todas as técnicas supracitadas são tão somente algumas das que existem, sendo que cada uma possui suas especificidades e funções para a Biologia Molecular e a investigação criminal como um todo. De todas essas técnicas, a que realmente ganha destaque, conforme se desprende da maioria dos autores aqui referenciados, é a técnica PCR, devido à metodologia utilizada, ao tempo de realização e a seu custo-benefício.

CONCLUSÃO

O desenvolvimento da Biologia Molecular como ciência ocorreu de modo paralelo com o surgimento de novas tecnologias e ferramentas que lhe propiciaram isso. Ao passo que esta área e suas técnicas evoluíram, passaram a auxiliar outros campos de estudo e a sociedade de modo geral.

A observação, descrição e o emprego de técnicas de manipulação dos ácidos nucleicos, com ênfase do DNA, trouxe à Biologia Molecular um papel de destaque dentro investigação criminal. Suas técnicas são as mais variadas possíveis, utilizadas conforme a necessidade que se tem. Nesse contexto, das técnicas descritas, a PCR é aquela que aparenta ser mais utilizada, que passou a substituir as técnicas que eram utilizadas nos primórdios do emprego da Biologia Molecular na Ciência Forense.

Assim, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos, que descrevam as técnicas não



apresentadas neste trabalho, bem como o futuro da Biologia Molecular na investigação criminal.

REFERÊNCIAS

ALBERTS,B. et al. Biologia molecular da célula [recurso eletrônico]. tradução: [Ardala Elisa Breda Andrade et al.] ; revisão técnica: Ardala Elisa Breda Andrade,Cristiano Valim Bizarro, Gaby Renard. – 6. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2017.

BARROS,F.; et al. Ciências forenses: princípios éticos e vieses. Revista Bioética. vol.29 n.1, Brasília, Jan/Mar. 2021.

BONACCORSO, N. S. Aplicação do exame de DNA na elucidação de crimes. 2005. Dissertação (Mestrado em Direito Penal) - Faculdade de Direito, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CALIGIORNE,S.M.;CHAGAS, A.T.A. DNA forense - o uso da Biologia molecular na resolução de casos criminais. Revista Criminalística e Medicina Legal .v.4 | n.1 | 2019 | p. 9 – 15.

CARVALHO,M.L.A. et al. O impacto das técnicas de biologia molecular na resolução de crimes. Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.7, n.12, p. 114750-114766 dec. 2021.

GIL, A. C. Como elaborar projetos de pesquisa.4. ed. - São Paulo: Atlas, 2002.

LOPES,D.O.;PIRES,S.F. Práticas de biologia molecular. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

PIERCE, B. A. Genética: um enfoque conceitual / Benjamin A. Pierce; tradução Beatriz Araujo do Rosário. - 5. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

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

PRODANOV,C.C.;FREITAS, E.C. Metodologia do trabalho científico [recurso eletrônico] : métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico. 2. ed. – Novo Hamburgo: Feevale, 2013.



SALA,M.L.; TEJADA,E.C.S. Uso da biologia molecular nas ciências forenses. ACiS • São Paulo • vol. 11 n. 4 • p. 81-91 • outubro 2023

SNUSTAD, D.P.;SIMMONS,M.J. Fundamentos de genética. revisão técnica Cláudia Vitória de Moura Gallo. – 7. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

TARGINO, M.F.B.; et al. Uso da biologia molecular para o reconhecimento de DNA na Ciência Forense: uma revisão de literatura. Mostra Científica de Biomedicina, Quixadá, Volume 4, Número 2, Novembro-2019.

VASCONCELOS,F.T.G.R; et al. Revisitando o Dogma Central: a relação entre genes e proteínas. Genética na Escola | Vol. 16 | N° 2 | 2021

WAINSTEIN, A.J.A; et al. Biologia molecular: aplicações médicas. In: Colégio Brasileiro de Cirurgiões; Bravo Neto GP, Victor FC, organizadores. PROACI Programa de Atualização em Cirurgia: Ciclo 13. Porto Alegre: Artmed Panamericana; 2017. p. 9–36.