



# DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA EM AMOSTRAS ESCASSAS APLICADAS À CIÊNCIA FORENSE

Ana Paula de Sá Ferreira Martins<sup>1</sup>, Mariane Castardo Araujo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar - UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/ICETI- UniCesumar. ferreira.ana.paula.sa.martins@gmail.com

<sup>2</sup>Orientadora, Mestre, Docente do curso de Ciências Biológicas, UNICESUMAR. Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. mariane.castardo@unicesumar.edu.br

## RESUMO

A genética forense utiliza a biologia molecular para analisar vestígios biológicos em cadeia de custódia, com o intuito de identificação humana por meio da molécula de DNA, sendo a extração o método de acesso ao DNA das células presentes nas amostras — um procedimento delicado que demanda a escolha do protocolo correto para obter o máximo de material possível. Em cenas de crime, a disponibilidade limitada de vestígios biológicos dificulta a extração, pois os protocolos requerem uma maior quantidade de tecido disponível, tornando necessário o desenvolvimento de mais protocolos de extração voltados a pequenas quantidades de amostra. O objetivo deste trabalho foi padronizar um método eficiente de extração de DNA *in-house*, para ser aplicado na análise de amostras de sangue de quantidade muito limitada, adaptando o método de *salting-out* por Gaaib et al. (2010), visando o auxílio em investigações periciais com mais exatidão e menor custo. As amostras obtidas foram testadas por meio de eletroforese e PCR. O protocolo de sangue modificado inicialmente obteve sucesso, apresentando bandas na eletroforese, porém falhou nas demais extrações por possível problema com os reagentes utilizados, também não havendo amplificação do DNA na PCR por problemas na quantidade ou qualidade do material extraído. Não se obteve sucesso nos objetivos, sendo necessárias mais pesquisas para avaliar os motivos das falhas no protocolo de extração.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biologia molecular; Genética forense; Perícia criminal.

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Declaração de Sydney, feita pela *International Association of Forensic Science*, a ciência forense pode ser definida como um conjunto de pesquisas que estuda os vestígios presentes em um caso, sendo remanescentes de atividades passadas, como a presença de um indivíduo e suas ações, a fim de compreender eventos como incidentes de segurança e crimes. A investigação desses vestígios ocorre através de sua detecção, reconhecimento, recuperação, exame e interpretação (Roux et al., 2022).

Essa definição entra em conformação com o artigo 158 do Código do Processo Penal (CPP), que atribui ao perito criminal a cadeia de custódia, o conjunto de todos os procedimentos utilizados para manter e documentar vestígios coletados em locais ou em vítimas de crimes, presente no Decreto-Lei no 3.689, de 03 de outubro de 1941, o qual aborda a área da Perícia Oficial Brasileira de Natureza Criminal, suas respectivas funções, e os encargos concedidos ao perito criminal em relação ao exame do corpo de delito, cadeia de custódia e perícias em geral (Brasil, 1941; Brasil, 2009; Silva et al., 2022).

De acordo com essa legislação, é função do perito isolar e preservar o local de crime, realizando atividades policiais ou periciais para a detecção de vestígio, seguindo as dez etapas constatadas no Art. 158-B, sendo elas: reconhecimento, isolamento, fixação, coleta, acondicionamento, transporte, recebimento, processamento, armazenamento e descarte (Brasil, 1941; Brasil, 2009).

O processamento entende-se pelo exame pericial em si, sendo que o vestígio deve ser manipulado adequadamente às suas características biológicas, físicas e químicas, e o resultado posterior a análise, formalizado em laudo produzido pelo perito. Nesse sentido, diferentes evidências coletadas devem ser investigadas pela área que melhor atende esses



critérios, sendo elas divididas em Biologia, Física e Química e subdivididas em outras áreas, como Toxicologia forense, balística forense, Entomologia forense, Genética forense e Hematologia forense (Santos; Montenegro, 2023).

No caso da Genética Forense, aliada a biologia molecular (ciência que estuda o material genético e seus derivados), os vestígios de origem biológica como sangue, sêmen, urina, saliva, tecidos, ossos, dentes, órgãos, entre outros, são avaliados com o objetivo principal da identificação humana por meio da extração e processamento do DNA, com as principais finalidades de redução de número de suspeitos ou detecção de restos mortais (Oliveira; Moraes Filho, 2018; Sessa; Salerno, 2024).

Essa área da ciência forense vem se mostrando útil nos casos de homicídio, estupro, troca ou abandono de crianças, identificação de indivíduos desaparecidos, disputas de paternidade e exoneração de condenados injustamente, tornando-se, segundo estudos, uma das evidências mais relevantes em julgamentos no tribunal (Ling et al., 2021; Sessa; Salerno, 2024).

O princípio de identificação por meio do DNA é baseado na detecção de polimorfismos, regiões que possuem um alto grau de variabilidade de pessoa para pessoa, sendo o mais utilizado atualmente na genética forense o STR (*Short Tandem Repeat*), que consiste em repetições curtas de nucleotídeos em sequência (Oliveira; Moraes Filho, 2018).

Para sua leitura as técnicas vão desde a PCR convencional, eletroforese e *Southern Blotting*, até métodos mais avançados como PCR em Tempo Real (qPCR), PCR *Multiplex*, *Nested* PCR, e Sequenciamento de Nova Geração (NGS). Entretanto, para aplicá-las é necessário primeiramente isolar do DNA contido nas provas coletadas em locais de crime por meio de uma técnica de extração (Oliveira; Moraes Filho, 2018; Sessa; Salerno, 2024).

A extração é o método de acesso ao DNA no núcleo das células, e geralmente consiste em três principais etapas, sendo a lise das membranas celulares, a remoção de proteínas e macromoléculas contaminantes, e a precipitação do DNA (Bonaccorso; Muakad, 2005). É um processo decisivo que demanda a escolha de um método de execução correto para a obtenção do máximo de material e informação possível, já que o tipo, a quantidade e o estado de conservação do material biológico influenciam no processo de extração, e a quantidade de DNA extraído afeta consideravelmente o resultado das análises (Wang, et al, 2011; Hirashima et al., 2022).

Em cenas de crime a disponibilidade de vestígios biológicos é geralmente muito limitada, dificultando a obtenção do DNA, uma vez que, grande parte dos protocolos de extração desenvolvidos requerem uma maior quantidade de tecido disponível. Além disso, os *Kits* utilizados são de alto custo ou não acessíveis a países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos (Wang et al., 2011; Tozzo et al., 2022).

Dessa forma, faz-se necessário o desenvolvimento de mais protocolos de extração de DNA voltados à obtenção de material genético a partir de pequenas quantidades de amostra, visando auxiliar as investigações criminais. O desenvolvimento desses protocolos pode assegurar que evidências de cunho biológico, como a identificação por meio do DNA, tornem-se mais precisas, garantindo sua exatidão e credibilidade em sua aplicação jurídica (Ling et al., 2021).

Nesse sentido, esta pesquisa buscou padronizar um método eficiente de extração de DNA *in-house*, para ser aplicado na análise de amostras de sangue de quantidade muito limitada, adaptando o método de *salting-out* por Gaaib et al. (2010), a fim de auxiliar as investigações periciais e conferir maior exatidão e menores custos aos resultados.

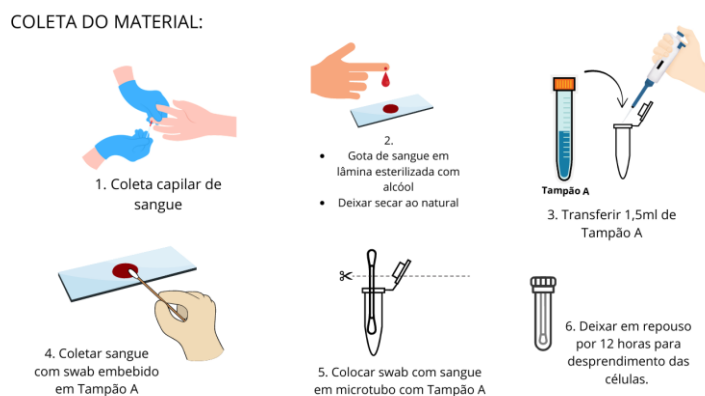


## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Cesumar Maringá-PR sob protocolo número 81925924.0.0000.5539. As amostras de gotas de sangue foram coletadas de onze voluntários, os quais assinaram termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE), no laboratório de Genética Humana da Universidade Cesumar, campus Maringá-PR.

### 2.1 EXTRAÇÃO DE DNA DE AMOSTRAS DE SANGUE

A coleta (Figura 1) consistiu em depositar gotas de sangue de tamanho padronizado (1cm<sup>2</sup>), por meio de punção capilar, em lâminas de microscopia limpas e identificadas. Foram realizadas quatro tentativas de obter o DNA das amostras. Aguardou-se o processo de secagem natural do material ao ar livre por cerca de 30 minutos. Em seguida, o material foi retirado da superfície da lâmina com uso de *swab* estéril embebido em Tampão A (10mM Tris-HCl, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM NaCl) para lise de hemácias e transferido para microtubo com 1,5ml da mesma solução, deixando os *swabs* em repouso por 12 horas para desprendimento das células.



**Figura 1:** Demonstração do método de coleta do material (teste 1)

**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

A extração de DNA realizou adaptações com base na técnica de *salting-out* por Gaaib et al. (2010), culminando em um protocolo final, o qual foi aplicado para a obtenção das amostras.

O protocolo adaptado consistiu nas seguintes etapas:

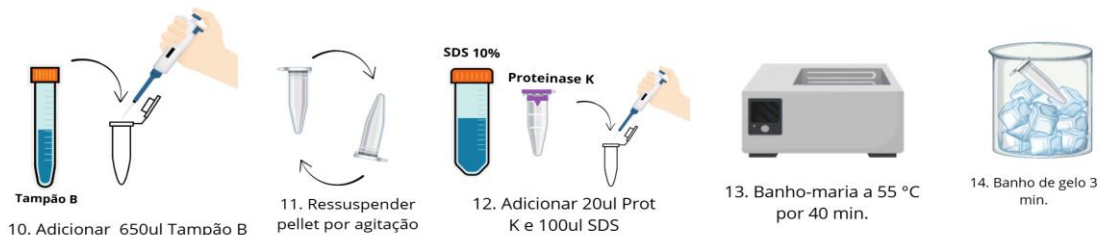
**Lise de hemácias:** Após tempo de desprendimento das hemácias, as amostras foram incubadas em temperatura ambiente, ainda no tampão A, por 15 minutos com inversão ocasional. Em seguida, foram centrifugadas a 4.500 RPM por 15 minutos e o sobrenadante descartado por inversão.

**Lise de leucócitos:** Foram adicionados 650µL de tampão B (20mM Tris-HCl, 5mM EDTA, 100mM NaCl) para lise de linfócitos e o *pellet* foi ressuspensionado por agitação. Após, foram adicionados 20µL de proteinase K e 100µL de SDS 10% e incubado em banho-maria a 55 °C por 40 minutos. Após retirar as amostras do banho-maria, as mesmas foram incubadas por 3 minutos em banho de gelo. Mais detalhes sobre essas etapas podem ser observados na Figura 2.

### LISE DE HEMÁCIAS:



### LISE DE LEUCÓCITOS:

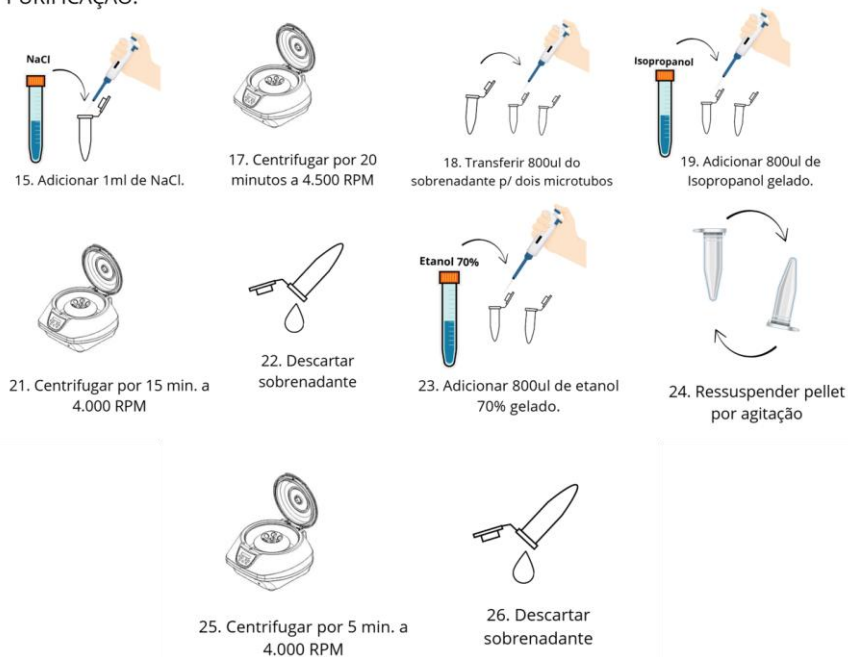


**Figura 2:** Demonstração das etapas de lise de hemácias e lise de leucócitos.

**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

**Purificação:** Ao mesmo tubo, foi adicionado 1ml de NaCl 5M e os tubos foram agitados em vórtex por 1 minuto. Em seguida, os tubos foram centrifugados por 20 minutos a 4.500 RPM. 800µL do sobrenadante foi transferido, com cuidado para não tocar o fundo do tubo, para 2 novos microtubos de 1,5ml vazios. Em ambos os microtubos foram adicionados 800µL de isopropanol P.A. gelado e o material foi homogeneizado delicadamente por inversão 5 a 6 vezes. Posteriormente, os microtubos foram centrifugados novamente a 4.000 RPM por 15 minutos, e o sobrenadante descartado por inversão. Aos microtubos foi adicionado 1ml de etanol 70% também gelado, e o *pellet* dissolvido por agitação manual. O material foi centrifugado por 5 minutos a 4.000 RPM e o sobrenadante descartado. Essa etapa está ilustrada na Figura 3.

### PURIFICAÇÃO:

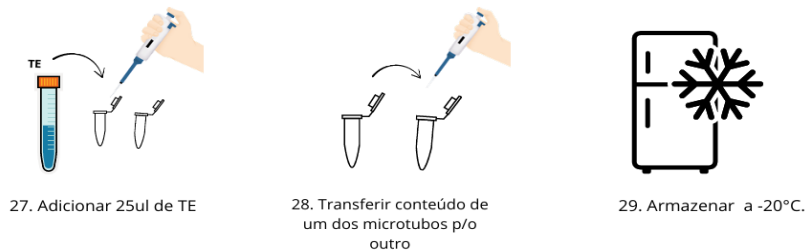




**Figura 3:** Demonstração da etapa de purificação do DNA.  
**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

**Eluição:** Foram adicionados 25 $\mu$ L de Tampão TE (Tris-HCl 100mM; EDTA 40mM) em cada microtubo e homogeneizado por agitação manual. Após essa etapa, o material obtido em um dos tubos foi transferido para o outro, de forma a juntar DNA eluído do mesmo voluntário dos dois microtubos em um só. Após a extração, o DNA foi armazenado a -20°C, como demonstrado na Figura 4.

ELUIÇÃO:



**Figura 4:** Demonstração da etapa de eluição.  
**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

## 2.2 REVELAÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados das extrações de sangue foram conferidos por meio de eletroforese em gel de agarose em concentração de 1,2%, corada com corante *Safer Dye* (Kasvi) e revelada em transiluminador LED. Foram comparadas as bandas obtidas nas amostras a um marcador de peso molecular de 1Kb (Kasvi). Em seguida, as amostras em que a extração obteve sucesso foram submetidas a PCR do gene da  $\beta$ -globina para conferir a capacidade de amplificação do DNA extraído.

## 2.3 AMPLIFICAÇÃO POR PCR

A amplificação de amostras pela PCR do gene da  $\beta$ -globina foi testada com as amostras em que se obteve sucesso na extração do DNA, seguindo o protocolo adaptado de Bell et al. (1993). Antes de iniciar a PCR, foi higienizada uma capela de fluxo laminar com solução de remoção de DNA, e os materiais utilizados foram limpos com hipoclorito de sódio a 1% e solução de remoção de DNA.

O *Mix* de PCR foi preparado com tampão GoTaq (Promega) diluído conforme indicação do fabricante, 10 mM de dNTP, 10uM de *Primer* GH20, 10uM de *Primer* PC04 e 5 U/uL de GoTaq Polimerase (Promega).

O ciclo de amplificação ocorreu com os seguintes passos: desnaturação inicial a 95°C (2 minutos); 35 ciclos de desnaturação a 94°C (30 segundos), anelamento a 55°C (30 segundos); e extensão a 72°C (1 minuto); extensão final a 72°C (5 minutos). Após o ciclo, as amostras passaram por eletroforese em gel de agarose a 2%, com ladder de 1Kb.



## 2.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A qualidade do DNA foi avaliada conforme os resultados das eletroforeses de extração e de PCR. A eletroforese do DNA genômico nos indica a presença ou não de DNA na amostra, sua integridade, e é possível avaliar, semiquantitativamente, sua concentração.

O resultado da eletroforese do produto da PCR nos indica a aplicabilidade deste DNA para análises futuras no campo da genética forense. Uma boa amplificação indica um DNA de qualidade, em boa quantidade, integridade e pureza. Além disso, o fato da PCR ser realizada após o armazenamento da amostra indica que o DNA presente se manteve estável até o momento da amplificação.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

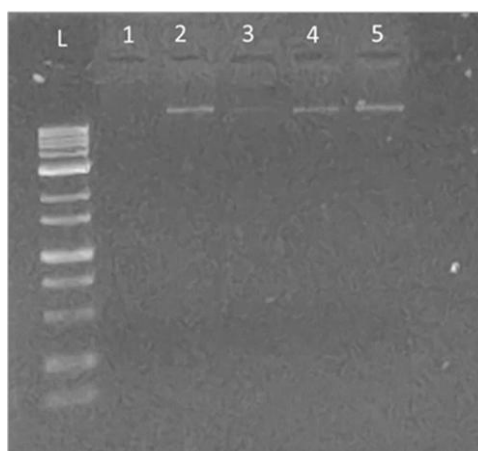
Dois testes realizados da extração de DNA de gotas de sangue obtiveram sucesso, apresentando bandas na eletroforese e totalizando a extração de DNA de sete participantes. Este resultado foi verificado através da presença de bandas no gel de agarose, como identificado nas Figuras 5 e 6.

A primeira extração, realizada no dia 15 de fevereiro, com amostras coletadas no dia anterior, extraiu com sucesso 4 das 5 amostras coletadas. A segunda extração, realizada dia 21 de fevereiro, contou com amostras dos mesmos voluntários que doaram as amostras 1 e 2 na primeira extração. Além de obter com sucesso essas duas amostras, essa extração também obteve DNA de mais dois voluntários.

Este resultado confirma que o protocolo foi suficiente para a obtenção de DNA das amostras doadas, mesmo que as mesmas foram coletadas em pequenas quantidades. Isso confirma a eficácia do método estabelecido por Gaaib et al. (2010).

Entretanto, outro teste para extração de mais 4 amostras foi realizado, seguindo o mesmo protocolo, no dia 12 de março de 2025. Este novo teste não apresentou os mesmos resultados.

Das quatro amostras coletadas, nenhuma apresentou bandas na eletroforese, indicando que não houve sucesso na obtenção de DNA. Esses mesmos voluntários forneceram novas amostras, extraídas em novo teste no dia 18 de março, e novamente não apresentaram resultado satisfatório, conforme pode ser observado no resultado da eletroforese dessas amostras (Figura 7).



**Figura 5:** Eletroforese da extração de DNA de sangue com protocolo adaptado (teste 1, de 15 de fevereiro de 2025).

L: Ladder 1Kb; 1: Amostra sem presença de banda na eletroforese; 2-5: Amostras com presença de banda.

**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

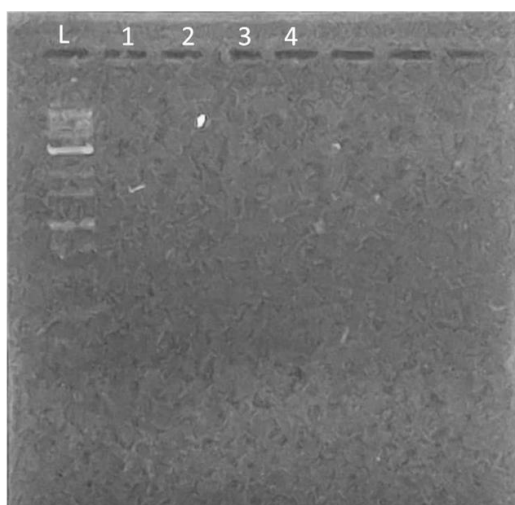


**Figura 6:** Eletroforese da extração de DNA de sangue com protocolo adaptado (teste 2, de 21 de fevereiro de 2025).

L: *Ladder* 1Kb; 1 e 2: Amostras com banda (repetição indivíduos 1 e 2 da extração anterior); 3 e 4: Amostras com banda, de novos voluntários.

**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

Em relação à amplificação do DNA por meio da PCR do gene da  $\beta$ -globina, nenhuma amostra apresentou banda nas eletroforeses realizadas, apontando a falha no processo de amplificação.



**Figura 7:** Eletroforese das extrações de DNA de amostras de sangue com protocolo adaptado. (teste 4, de 18 de março de 2025)

L: *Ladder* (marcador de peso molecular) 1Kb; 1 a 4: Amostras sem presença de banda na eletroforese.

**Fonte:** Elaborado pelas autoras.

O DNA é uma molécula sensível, e pequenas variações de execução no protocolo ou qualidade dos reagentes utilizados podem comprometer sua obtenção e amplificação (Wang et al., 2011).

Entre as possíveis causas de divergência nos resultados das extrações, está o modo de armazenamento dos reagentes, que é crucial para seu funcionamento e estabilidade durante o processo de extração (Lopez et al., 2024).

Durante a lise dos leucócitos, o Tampão B e a Proteinase K atuam na ruptura das membranas celulares e na digestão de proteínas, permitindo a liberação do DNA no sobrenadante, e quando são comprometidos, a liberação do material genético não ocorre de forma eficiente, ocorrendo a perda do DNA na etapa de centrifugação, o qual é descartado junto às células íntegras (Qamar et al., 2017; Khosravinia et al, 2007).



Dessa forma, é essencial que a temperatura da geladeira e freezer permaneça estável, a fim de evitar a degradação dos reagentes, assim como o banho-maria deve manter-se na temperatura ideal de funcionamento da enzima Proteinase K. As variações de temperatura desses equipamentos no laboratório podem ter comprometido a eficácia dos reagentes, os quais já estariam sujeitos a perda de propriedades por estarem abertos a um longo tempo (Qamar et al., 2017).

A baixa quantidade de amostra, conforme discutido na introdução, também pode ter impactado diretamente na obtenção do DNA, devido ao risco de perda de partes do material durante algumas etapas da extração, como, por exemplo, nas etapas de purificação (Menchhoff et al., 2020).

Segundo Khosravinia et al. (2007), o uso de uma velocidade menor de centrifugação afeta positivamente a quantidade e qualidade do DNA extraído. Desse modo, na etapa de precipitação das proteínas com uso do NaCl, é fundamental que a velocidade da centrifugação seja adequada para separar as proteínas do restante da amostra, sem eliminar o DNA no processo de transferência do sobrenadante para outro microtubo.

A adição de isopropanol na etapa seguinte procura precipitar o DNA, conservando-o no microtubo durante as demais etapas da purificação. No entanto, falhas nesse processo podem resultar na permanência do DNA no sobrenadante que será descartado. De acordo com Li et al. (2020), para que aconteça a precipitação dos ácidos nucleicos, é necessário o equilíbrio correto entre uma série de fatores, como a razão de volume entre isopropanol e a solução contendo DNA, a temperatura e o tempo de incubação, a velocidade e o tempo de centrifugação, e o tipo de solução salina com cátion e coprecipitante utilizados na etapa anterior. Interferências nessas condições podem prejudicar a quantidade de material precipitado.

O mesmo pode ocorrer durante a lavagem com etanol 70%, que pode provocar a ressuspensão do DNA, levando ao seu descarte. O etanol, juntamente com os cátions de alguns sais, atua enfraquecendo as forças repulsivas entre as cadeias de polinucleotídeos, promovendo sua precipitação. No entanto, em concentrações elevadas de etanol, as moléculas de água tendem a se agrupar formando nanoclusters, que interagem com o DNA e aumentam sua carga negativa, tornando-o mais solúvel em água, o que resulta na sua ressuspensão no sobrenadante após a precipitação. (Li et al., 2020; Oda et al., 2016).

Em relação à amplificação do DNA por meio da PCR do gene da  $\beta$ -globina, nenhuma amostra apresentou banda nas eletroforeses realizadas, apontando a falha no processo de amplificação. Segundo Wang et al. (2011), a qualidade e quantidade da amostra de DNA obtido influencia diretamente na amplificação desse material por PCR, sugerindo que a pureza ou quantidade do material extraído no protocolo testado não foi suficiente para a enzima Taq Polimerase realizar a amplificação.

Além disso, também em relação ao armazenamento dos reagentes, a boa conservação do Tampão A, responsável por promover a lise das hemácias na etapa inicial da extração, é crucial, pois segundo Caboux et al. (2012), a proteína do grupamento Heme presente nas hemácias é um forte inibidor da enzima Taq Polimerase e sua presença pode afetar diretamente a amplificação do DNA na PCR.

Dessa forma, não foi possível validar a extração de DNA de amostras escassas pela adaptação do método de *salting-out*, uma vez que o protocolo apresentou falhas na reprodutibilidade.

Mais testes devem ser realizados para identificar em qual etapa o procedimento de extração por sangue foi afetado e não teve mais sucesso, a fim de aprimorar a técnica e obter um DNA de qualidade.



## 4 CONCLUSÃO

Devido a necessidade do desenvolvimento de mais protocolos de extração de DNA de amostras escassas para auxiliar investigações periciais, essa pesquisa buscou adaptar o protocolo de salting out de Gaib et al. (2010) para a extração de DNA de amostras de sangue de quantidade muito limitada, visando mais exatidão e menores custos.

O sucesso da primeira adaptação, porém com as respectivas falhas nas extrações seguintes e na amplificação por PCR, confirmam a dificuldade de estabelecer um protocolo eficaz de extração para esse uso. Para isso, deve-se analisar e padronizar diversas variantes além da disponibilidade da amostra, como qualidade e armazenamento de reagentes, quantidades utilizadas e velocidades de centrifugação. Há a necessidade de mais pesquisas e ajustes no protocolo para a obtenção de uma amostra de DNA de qualidade para uso na genética forense.

## REFERÊNCIAS

BELL, Douglas A.; TAYLOR, Jack A.; PAULSON, David F.; ROBERTSON, Cary N.; MOHLER, James L.; LUCIER, George W. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 85, n.14, p.1159-1164, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jnci/85.14.1159> Acesso em: 22 de março, 2024.

BONACCORSO, Norma Sueli; MUAKAD, Irene Batista. **Aplicação do Exame de DNA na Elucidação de Crimes**. Dissertação - (Mestrado em Medicina Forense) - APLICAÇÃO DO EXAME DE DNA NA ELUCIDAÇÃO DE CRIMES, São Paulo, p. 11-191, 2005. Acesso em: 22 de março, 2024.

BRASIL, **Lei n 12.030, de 17 de setembro de 2009**. Dispõe sobre as perícias oficiais e dá outras providências. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2007-2010/2009/Lei/L\\_12030.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Lei/L_12030.htm)> Acesso em: 22 de março, 2024.

BRASIL, **Decreto-Lei no 3.689, de 3 de outubro de 1941**. Código de Processo Penal - Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Decreto-Lei/Del3689.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Decreto-Lei/Del3689.htm) > Acesso em: 22 de março, 2024.

CARBOUX, Elodi; LALLEMAND, Christophe; FERRO, Gilles; HÉMON, Bertrand; MENDY, Maimuna; BIESSY, Carine; SIMS, Matt; WAREHAM, Nick; BRITTEN, Abigail; BOLAND, Anne; HUTCHINSON, Amy; SIDDIQ, Afshan; VINEIS, Paolo; RIBOLI, Elio; ROMIEU, Isabelle; RINALDI, Sabina; GUNTER, Marc J.; PEETERS, Petra H. M.; SCHOUW, Yvonne T van der; TRAVIS, Ruth; BUENO-DE-MESQUITA, H. Bas; CANZIAN, Frederico; SÁNCHEZ, Maria-José; SKEIE, Guri; OLSEN, Karina Stendhal; LUND, Eiliv; BILBAO, Roberto; SALA, Núria; BARRICARTE, Aurelio; PALLI, Domenico; NAVARRO, Carmen; PANICO, Salvatore; REDONDO, Maria Luisa; POLIDORO, Silvia; DOSSUS, Laure; BOUTRON-RUAULT, Marie Christine; CLAVEL-CHAPELON, Françoise; TRICHOPOULOU, Antonia; TRICHOPOULOS, Dimitrios; LAGIOU, Pagona; BOEING, Heiner; FISHER, Eva; TUMINO, Rosario; AGNOLI, Claudia; HAINAUT, Pierre. Sources of Pre-Analytical Variations in Yield of DNA Extracted from Blood Samples: Analysis of



50,000 DNA Samples in EPIC. **PlosOne**. v. 7, n. 7, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0039821. Acesso em: 30 de julho, 2025.

GAAIB, Jawdat N.; AL-ASSIE, Akeel Hussein. Simple salting – out method for genomic DNA extraction from whole blood. **Tikrit Journal of Pure Science**. v. 16, n. 2, 2011. ISSN: 1813 – 1662. Acesso em: 22 de março, 2024.

HIRASHIMA, Hiroko; HISAZUMIC, Rinnosuke; MASOND, Maria Luisa T.; YAMAMOTOB, Akihiro, SAEKIB, Yuichi. Development of an effective method of human DNA extraction from soil as forensic evidence. **Forensic Science International**. v. 335, 2022. ISSN 0379-0738, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111284>. Acesso em: 22 de março, 2024.

KHOSRAVINIA, Heshmatollah; MURTHY, H. N. Narasimha; DODDANANJAPPA, Theertha Prasad; PIRANY, Nasrollah. Optimizing factors influencing DNA extraction from fresh whole avian blood. **African Journal of Biotechnology**. v. 6, n. 4, p. 481-486, 2007. <http://www.academicjournals.org/AJB>. Acesso em: 30 de julho, 2025.

LI, Yalin; CHEN, Suxiang; LIU, Nan; MA, Lixia; WANG, Tao; VEEDU, Rakesh N.; LI, Tao; ZHANG, Fengqiu; ZHOU, Huiyue; CHENG, Xiang; JING, Xumiao. A Systematic Investigation of Key Factors of Nucleic Acid Precipitation Toward Optimized DNA/RNA Isolation. **BioTechniques**. v. 68, n. 4, p. 191-199, 2020. <https://doi.org/10.2144/btn-2019-0109>. Acesso em: 30 de julho, 2025.

LING, Shichun; KAPLAN, Jacob; BERRYESSA, Colleen M. The importance of forensic evidence for decisions on criminal guilt. **Science & Justice**. v. 61, n. 2, p. 142 - 149, 2021. ISSN 1355-0306, <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2020.11.004>. Acesso em: 22 de março, 2024.

LOPEZ, Mark Loui D.; CRICHTON, Eilika M.; ALLISON, Michael J.; DEMA, Anna H.; BONDERUD, Matthew T.; HELBNG, Caren C. Effects of storage conditions on the stability of qPCR reagents: implications for environmental DNA detection. **BMC Research Notes**. n. 17, v. 199, p. 1-7, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13104-024-06850-4>. Acesso em: 22 de março, 2024.

MENCHHOFF, Sydney I.; DELACRUZ, Milady T.; HYTINEN, Madison E.; COX, Jordan O.; MILLER, Marilyn T.; CRUZ, Tracey Dawson Cruz. DNA Purification Cell Lysis and Wash Step Modifications for Low-Template DNA Sample Processing. **Journal of Forensic Sciences**. v. 65, n. 2, p. 597–600, 2020. doi:10.1111/1556-4029.14203. Acesso em: 30 de julho, 2025.

ODA, Yuki; SADAKANE, Koichiro; YOSHIKAWA, Yuko; IMANAKA, Tadayuki; TAKIGUCHI, Kingo; HAYASHI, Masahito; KENMOTSU, Takahiro; Kenmotsu, YOSHIKAWA, Kenichi. Highly Concentrated Ethanol Solutions: Good Solvents for DNA as Revealed by Single-Molecule Observation. **ChemPhysChem**. v. 17, p. 471 – 473, 2016. DOI: 10.1002/cphc.201500988. Acesso em: 30 de julho, 2025.

OLIVEIRA, Thaisa Souza de; MORAES FILHO, Aroldo Vieira. Técnicas De Biologia Molecular Utilizadas Para Desvendar Crimes. **Saúde & Ciência Em Açã**. **Revista**



QAMAR, Wajhul; KHAN, Mohammad Rashid; ARAFAH, Azher. Optimization of conditions to extract high quality DNA for PCR analysis from whole blood using

SDS-proteinase K method. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 24, n. 7, p. 1465-1469, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.09.016>. Acesso em: 30 de julho, 2025.

ROUX, Claude; BUCHTB, Rebecca; CRISPINOC, Frank; FORESTD, Peter De; LENNARDE, Chris; MARGOTF, Pierre; MIRANDAG, Michelle D. NICDAEIDH, Niamh; RIBAUXF, Olivier; ROSSI, Alastair; WILLISH, Sheila. The Sydney declaration – Revisiting the essence of forensic science through its fundamental principles. **Forensic Science International**. v. 332, 2022. ISSN 0379-0738, <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2022.111182>. Acesso em: 22 de março, 2024.

SANTOS, Ana Claudia de Jesus; MONTENEGRO, A. K. A. O papel da Biologia Forense na resolução de crimes de grande repercussão no Brasil e no mundo: uma revisão. **Revista Brasileira de Criminalística**. v. 12, n. 2, p. 12-20, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v12i2.581>. Acesso em: 22 de março, 2024.

SESSA, Francesco; SALERNO, Monica. Special Issue “Molecular Biology in Forensic Science: Past, Present and Future”. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 25, n. 5, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25052883>. Acesso em: 22 de março, 2024.

SILVA, Tiago Ferreira da; OLIVEIRA, Fabio Queiros de; BASTOS, Vanessa Pimentel. Perícia Criminal e a Legislação Brasileira. **Revista Brasileira de Criminalística**. v. 11, n. 2, p. 14-23, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.15260/rbc.v11i2.415>. Acesso em: 22 de março, 2024.

TOZZO, Pamela; MAZZOBEL, Enrico; MARCANTE, Beatrice; DELICARI, Arianna; CAENAZZO, Luciana. Touch DNA Sampling Methods: Efficacy Evaluation and Systematic Review. **International Journal of Molecular Sciences**. 2022. doi: 10.3390/ijms232415541. PMID: 36555182; PMCID: PMC9779423. Acesso em: 22 de março, 2024.

WANG, T. Y.; WANG, L.; ZHANG, J. H.; DONG, W. H. Dong et al. A simplified universal genomic DNA extraction protocol suitable for PC. **Genetics and Molecular Research**. v. 10, n. 1, p. 519-525, 2011. DOI 10.4238/vol10-1gmr1055. Acesso em: 30 de julho, 2025.