



www.aifo-italia.it

Applicazioni di genetica forense

Margini di errore e limiti delle analisi del DNA

relatore: dott. Ugo Ricci

**Dirigente Biologo, Specialista in Genetica Medica
c/o Azienda Ospedaliero-Universitaria "A.Meyer"**

Via Luca Giordano, 13 50132 Firenze

e-mail: ricciugo@tin.it Tel 335-6133442

La prova del DNA e la genetica forense

**IL TEST DEL DNA PER
L'IDENTIFICAZIONE**

Dr. Ugo Ricci

Di cosa parleremo oggi

- . Gli STR: lo standard analitico
- . Microsatelliti corti
- . Analisi degli SNP
- . Programmi per analisi dati

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).

² Loquat-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **5**, 285 (1949).

³ Von Alk, W. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor.*, **11** (3) (1960).

⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (DNA). This

is a residue tion. We adjacent re structure re is, after 34 from the fib the outside,

The struc is rather hi expect the become mo

The nove in which ti purins and are perpen together in hydrogen-b chain, so th

King's College, London. One of us (J. D. W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge.
April 2.

¹ Dalling, L., and Corey, R. B., *Nature*, **171**, 946 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 84 (1953).

² Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, **6**, 634 (1952).

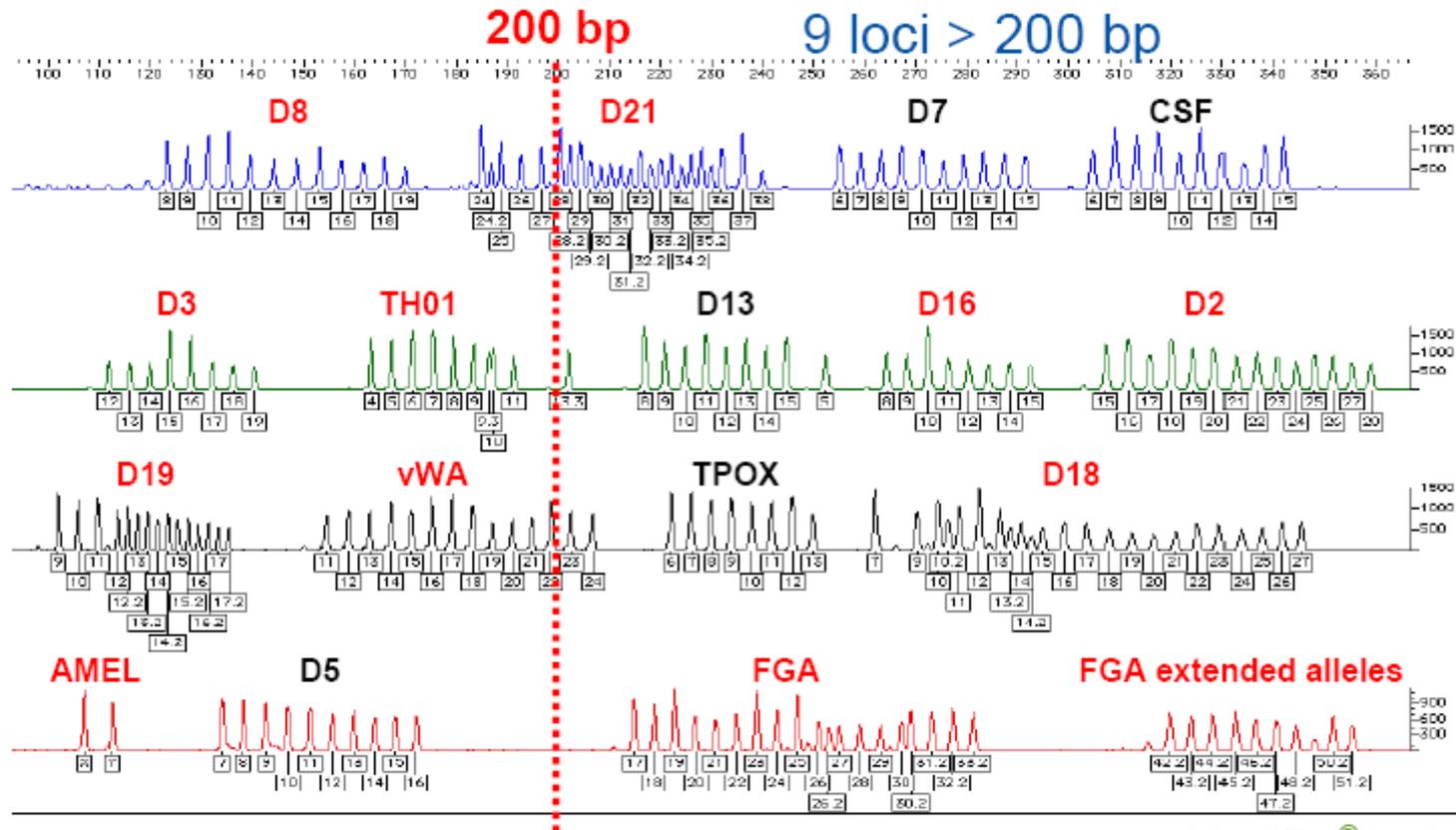
³ Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Braverman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **8**, 402 (1952).

⁴ Wyatt, G. E., *J. Gen. Physiol.*, **35**, 201 (1952).

⁵ Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1**, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

⁶ Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 102 (1953).

Selection of MiniFile™ Kit Loci

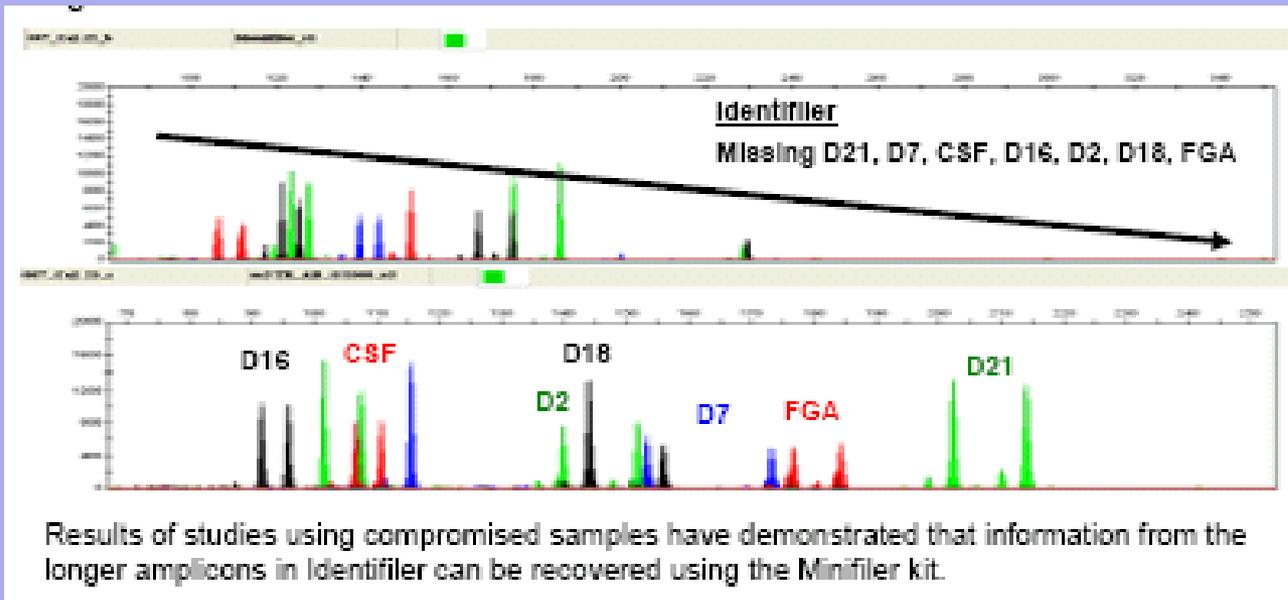


Red=Loci in SGM Plus® Kit

Identifiler® ladder



1k1k



ORIGINAL ARTICLE

J. M. Butler · J. Li · T. A. Shaler · J. A. Monforte
C. H. Becker

Reliable genotyping of short tandem repeat loci without an allelic ladder using time-of-flight mass spectrometry

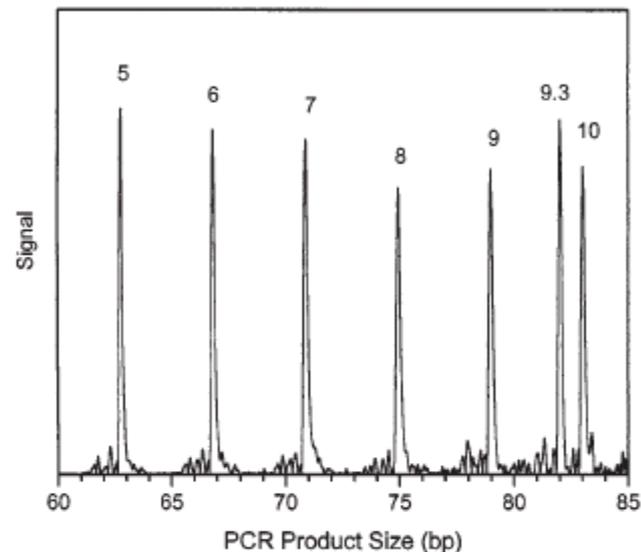
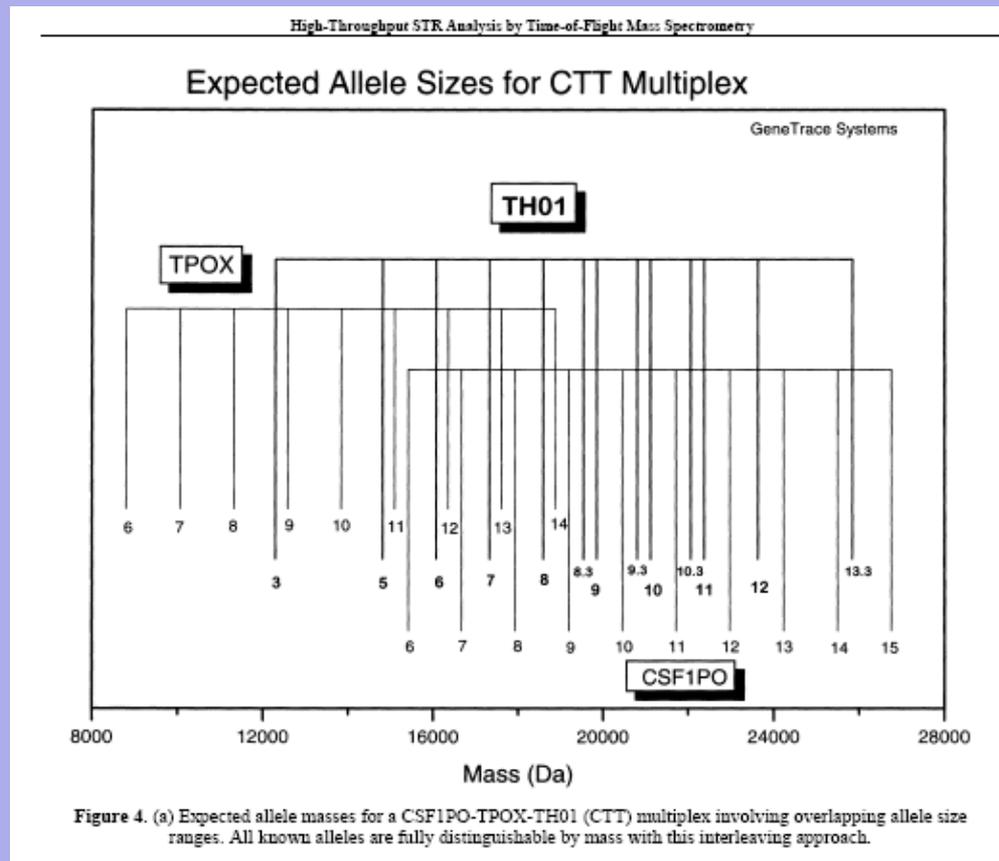


Fig. 3 TH01 allelic ladder demonstrating single-base resolution of alleles 9.3 and 10. The allele names, corresponding to the number of repeats, are included over each peak. The mass difference between alleles 9.3 and 10 was 315 Da, which corresponds to the difference of a single A (expected mass: 313.2 Da)

High-Throughput STR Analysis by Time-of-Flight Mass Spectrometry

John M. Butler, Kathryn M. Stephens, Joseph A. Monforte, Christopher H. Becker
GeneTrace Systems Inc., 1401 Harbor Bay Parkway, Alameda, CA 94502



John M. Butler,¹ Ph.D.; Yin Shen,^{2,3} Ph.D.; and Bruce R. McCord, Ph.D.²

The Development of Reduced Size STR Amplicons as Tools for Analysis of Degraded DNA*

TABLE 1—Information on 16 STRs examined in this study. The reference sequences used for primer design are available at http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/seq_ref.htm. Allele ranges are from Appendix 1 of *Forensic DNA Typing (3)* or from the kit manuals in the cases of Penta D, Penta E, and D2S1338.

STR Locus	GenBank Accession	GenBank Allele	Allele Range	Allele Spread	Product Size (STR Kit)	MiniSTR Size	Size Reduction
CSF1PO	X14720	12	6–16	40 bp	280–320 bp (Cofiler)	89–129 bp	191 bp
FGA	M64982	21	12.2–51.2	156 bp	196–352 bp (ProPlus)	125–281 bp	71 bp
TH01	D00269	9	3–14	44 bp	160–204 bp (Cofiler)	51–98 bp	105 bp
TPOX	M68651	11	5–14	36 bp	213–249 bp (Cofiler)	65–101 bp	148 bp
vWA	M25858	18	10–25	60 bp	152–212 bp (ProPlus)	88–148 bp	64 bp
D3S1358	NT_005997	18	8–20	48 bp	97–145 bp (ProPlus)	72–120 bp	25 bp
D5S818	AC008512	11	7–16	36 bp	134–170 bp (ProPlus)	81–117 bp	53 bp
D7S820	AC004848	13	5–15	40 bp	253–293 bp (ProPlus)	136–176 bp	117 bp
D8S1179	AF216671	13	7–19	48 bp	123–171 bp (ProPlus)	86–134 bp	37 bp
D13S317	AL353628	11	5–16	44 bp	193–237 bp (ProPlus)	88–132 bp	105 bp
D16S539	AC024591	11	5–15	40 bp	233–273 bp (Cofiler)	81–121 bp	152 bp
D18S51	AP001534	18	7–27	80 bp	264–344 bp (ProPlus)	113–193 bp	151 bp
D21S11	AP000433	29	24–38.2	58 bp	186–244 bp (ProPlus)	153–211 bp	33 bp
Penta D	AP001752	13	2.2–17	73 bp	376–449 bp (PP16)	94–167 bp	282 bp
Penta E	AC027004	5	5–24	95 bp	379–474 bp (PP16)	80–175 bp	299 bp
D2S1338	AC010136	20	15–28	52 bp	288–340 bp (SGM Plus)	90–142 bp	198 bp

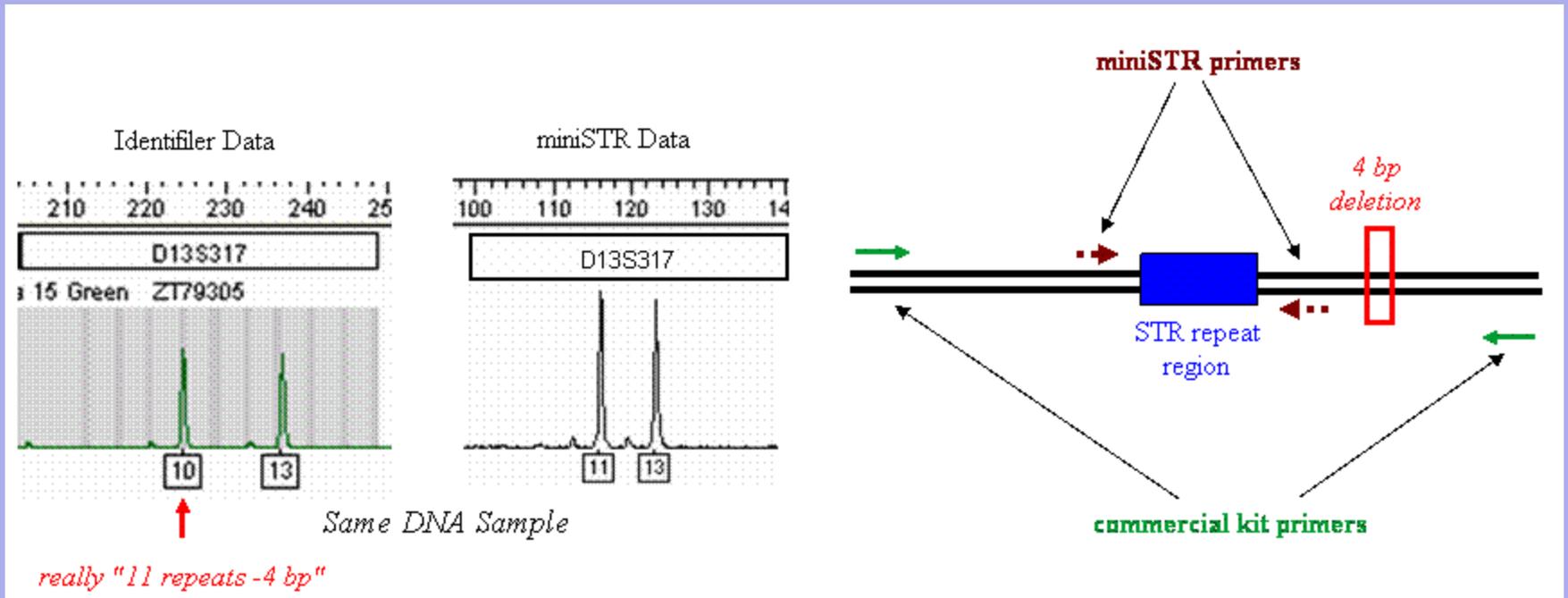
FOR THE RECORD

Jiří Drábek,¹ Ph.D.; Denise T. Chung,¹ B.S.; John M. Butler,² Ph.D.; and Bruce R. McCord,¹ Ph.D.

Concordance Study Between Miniplex Assays and a Commercial STR Typing Kit*

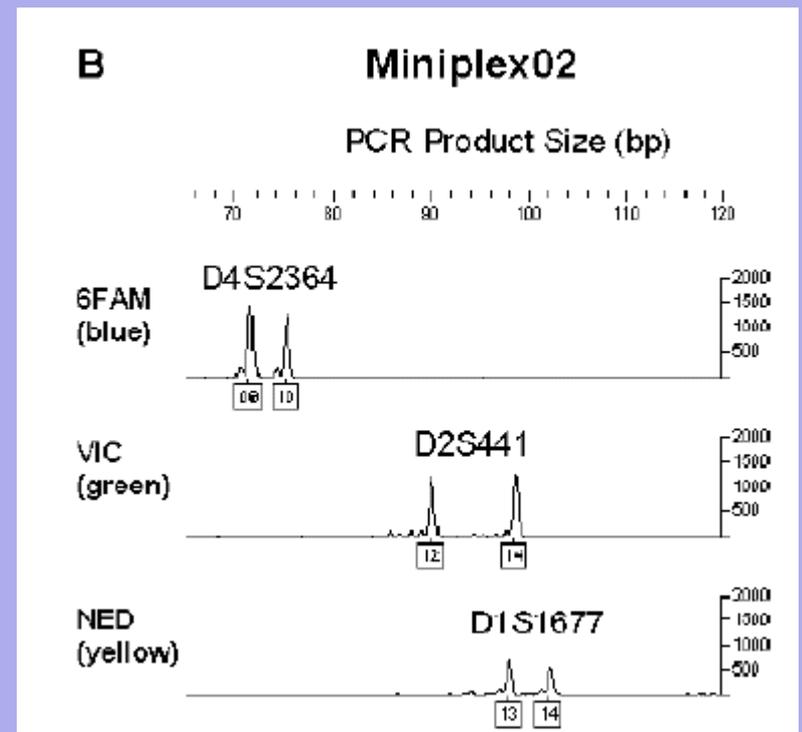
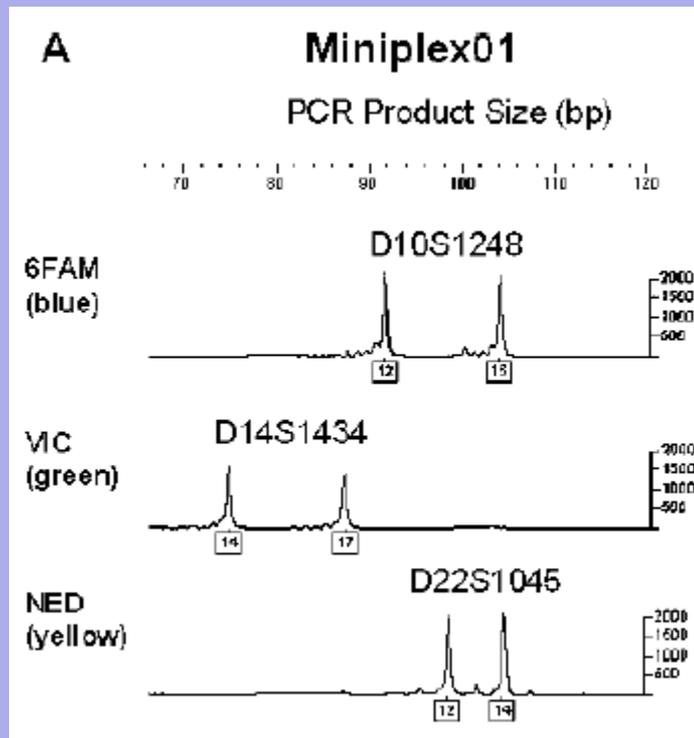
TABLE 1—Summary of 15 discordant STR profiling results observed in this study between the Identifiler kit and our Miniplex assays for 12 different African American (AA) and 3 Hispanic (H) samples. PowerPlex 16 (PP16) results all agree with the Identifiler results for these 15 samples. Single allele shifts of 1 repeat in the D13S317 heterozygotes are likely due to a 4 base pair deletion in the flanking region outside of the Miniplex primer binding site (see Ref 2). Allele dropout at D5S818 (see Ref 2), D13S317, and vWA (see Ref 3) are likely due to primer binding site mutations at specific alleles.

	Locus	Origin	Miniplex	Identifiler	PP16	Likely Cause
1	D13S317	AA	11, 13	10, 13	10, 13	deletion outside of allele 11
2	D13S317	H	14, 14	8, 14	8, 14	allele 8 primer binding site mutation
3	D13S317	AA	10, 11	9, 11	9, 11	deletion outside of allele 10
4	D13S317	H	10, 11	9, 11	9, 11	deletion outside of allele 10
5	D13S317	H	10, 14	9, 14	9, 14	deletion outside of allele 10
6	D5S818	AA	11, 11	11, 12	11, 12	allele 12 primer binding site mutation
7	vWA	AA	16, 16	12, 16	12, 16	allele 12 primer binding site mutation
8	vWA	AA	18, 18	13, 18	13, 18	allele 13 primer binding site mutation
9	vWA	AA	15, 15	14, 15	14, 15	allele 14 primer binding site mutation
10	vWA	AA	15, 15	14, 15	14, 15	allele 14 primer binding site mutation
11	vWA	AA	17, 17	14, 17	14, 17	allele 14 primer binding site mutation
12	vWA	AA	17, 17	14, 17	14, 17	allele 14 primer binding site mutation
13	vWA	AA	19, 19	14, 19	14, 19	allele 14 primer binding site mutation
14	vWA	AA	19, 19	14, 19	14, 19	allele 14 primer binding site mutation
15	vWA	AA	19, 19	14, 19	14, 19	allele 14 primer binding site mutation



Michael D. Coble,¹ Ph.D. and John M. Butler,¹ Ph.D.

Characterization of New MiniSTR Loci to Aid Analysis of Degraded DNA*



Lo standard Europeo

European Standard Set of loci (ESS) o
Interpol Standard Set of Loci (ISSOL)

VWA	TH01	D21S11	FGA	D8S1179	D3S1358	D18S51	Amelogenina
-----	------	--------	-----	---------	---------	--------	-------------



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Forensic Science International 156 (2006) 242–244

Forensic
Science
International

www.elsevier.com/locate/forensiint

Short communication

The evolution of DNA databases—Recommendations for new European STR loci

Peter Gill^{a,*}, Lyn Fereday^b, Niels Morling^c, Peter M. Schneider^d

^aForensic Science Service, Birmingham, UK

^bForensic Science Service, London, UK

^cDepartment of Forensic Genetics, Institute of Forensic Medicine, University of Copenhagen, Denmark

^dInstitute of Legal Medicine, University of Cologne, Germany

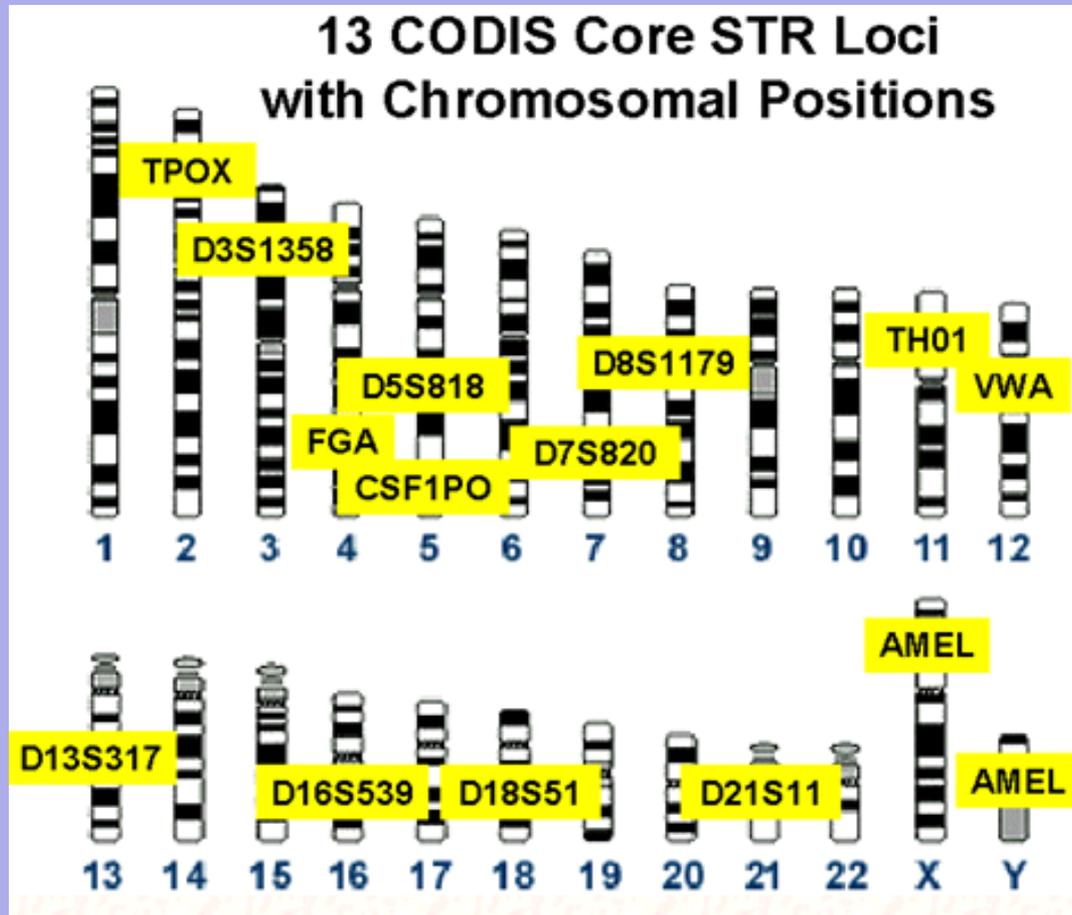
Received 25 May 2005; accepted 26 May 2005

Available online 5 July 2005

Lo standard degli Stati Uniti



CODIS



Decisioni al meeting di Glasgow del 4-5 aprile 2005

EDNAP – ENFSI

SCOPO: facilitare l'analisi di campioni parzialmente degradati.

- . Mini STR debbono essere adottati per incrementare la robustezza e la sensibilità dell'analisi;
- . I loci usati negli attuali database saranno convertiti in mini-STR;
- . Si raccomanda l'introduzione di D10S1248, D14S1434 e D22S1045;
- . Altri loci da introdurre saranno D12S391, D1S1656 e TPOX;
- .

Decisioni al meeting di Glasgow del 4-5 aprile 2005

EDNAP – ENFSI

Ruolo degli SNP – per l'analisi di campioni particolari, come ossa, specialmente nei disastri di massa, quindi indipendentemente dalle banche dati del DNA.

Characterization of 26 New miniSTR Loci

Carolyn R. Hill, Michael D. Coble,* and John M. Butler

National Institute of Standards and Technology, Biochemical Science Division, Gaithersburg, MD 20899-8311

*Current address: Armed Forces DNA Identification Laboratory, Research Section, Rockville, MD 20850

<u>Locus Name</u>	<u>GenBank (repeat #)</u>	<u>Chromosomal Position</u>	<u>Location</u>	<u>Observed Size (bp)</u>	<u>Allele Range</u>	<u>Repeat Motif</u>
D1GATA113	Z97987 (11)	Chr 1 7.377 Mb	1p36.23	81 - 105	7 - 13	GATA
D1S1627	AC093119 (13)	Chr 1 106.676 Mb	1p21.1	81 - 100	10 - 16	ATT
D1S1677 (NC02)	AL513307 (15)	Chr 1 160.747 Mb	1q23.3	81 - 117	9 - 18	TTCC
D2S441 (NC02)	AC079112 (12)	Chr 2 68.214 Mb	2p14	78 - 110	9 - 17	TCTA
D2S1776	AC009475 (11)	Chr 2 169.471 Mb	2q24.3	127 - 161	7 - 15	AGAT
D3S3053	AC069259 (9)	Chr 3 173.234 Mb	3q26.31	84 - 108	7 - 13	TATC
D3S4529	AC117452 (13)	Chr 3 85.935 Mb	3p12.1	111 - 139	13 - 20	ATYT
D4S2364 (NC02)	AC022317 (9)	Chr 4 93.976 Mb	4q22.3	67 - 83	8 - 12	GRAT
D4S2408	AC110763 (9)	Chr 4 30.981 Mb	4p15.1	85 - 109	7 - 13	ATCT
D5S2500	AC008791 (17)	Chr 5 58.735 Mb	5q11.2	85 - 126	14 - 24	GRYW
D6S474	AL357514 (17)	Chr 6 112.986 Mb	6q21	107 - 136	10 - 17	[AGAT][GATA]
D6S1017	AL035588 (10)	Chr 6 41.785 Mb	6p21.1	81 - 110	6 - 13	ATCC
D6S1115	AC090739 (9)	Chr 8 42.656 Mb	8p11.21	63 - 96	9 - 20	ATT
D6S1122	AL161789 (12)	Chr 9 76.918 Mb	9q21.2	93 - 125	9 - 17	TAGA
D6S2157	AL162417 (10)	Chr 9 133.065 Mb	9q34.2	71 - 107	7 - 19	ATA
D10S1248 (NC01)	AL391869 (13)	Chr 10 130.567 Mb	10q26.3	79 - 123	8 - 19	GGAA
D10S1435	AL354747 (11)	Chr 10 2.233 Mb	10p15.3	82 - 139	5 - 19	TATC
D11S4463	AP002806 (14)	Chr 11 130.338 Mb	11q25	88 - 116	10 - 17	TATC
D12ATA63	AC009771 (13)	Chr 12 106.825 Mb	12q23.3	76 - 106	9 - 19	YAA
D14S1434 (NC01)	AL121612 (13)	Chr 14 93.298 Mb	14q32.13	70 - 98	13 - 20	CTRT
D17S974	AC034303 (10)	Chr 17 10.459 Mb	17p13.1	95 - 124	5 - 12	CTAT
D17S1301	AC016888 (12)	Chr 17 70.193 Mb	17q25.1	114 - 139	9 - 15	AGAT
D18S853	AP005130 (11)	Chr 18 3.981 Mb	18p11.31	82 - 104	9 - 16	ATA
D20S482	AL121781 (14)	Chr 20 4.454 Mb	20p13	85 - 126	9 - 19	AGAT
D20S1082	AL158015 (14)	Chr 20 53.299 Mb	20q13.2	73 - 101	8 - 17	ATA
D22S1045 (NC01)	AL022314 (17)	Chr 22 35.779 Mb	22q12.3	82 - 115	8 - 19	ATT

IL PROFILO GENETICO

E' MANEGGEVOLE E DI FACILE LETTURA

E' composto da una serie di numeri, accoppiati ad una sigla che indica la posizione sul DNA

N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	11-11	9-10	7-10	8-11

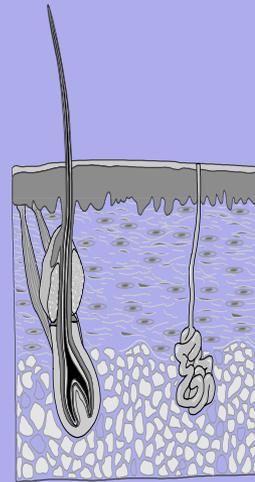
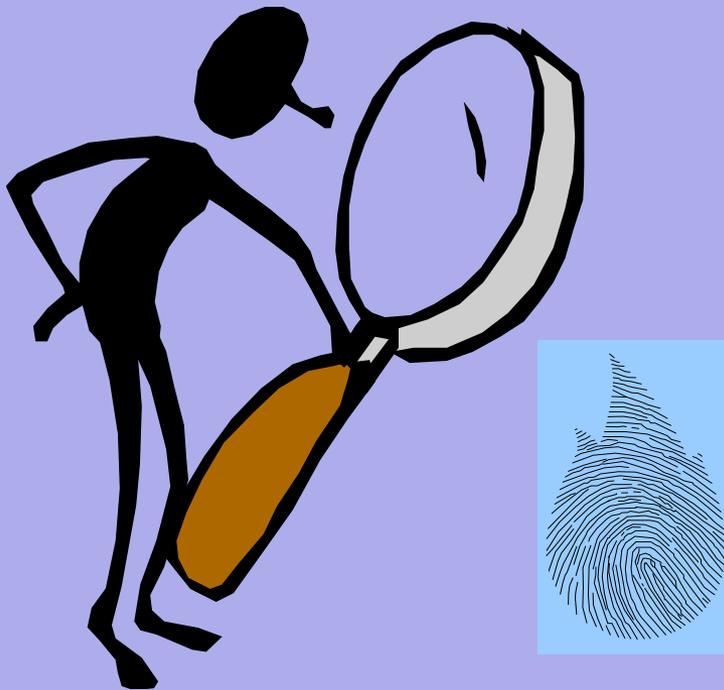
Alcune caratteristiche del D.N.A.

- . Ogni cellula nucleata contiene una molecola di DNA nucleare e molte molecole di DNA mitocondriale;
- . Praticamente tutte le cellule umane sono nucleate e quindi idonee ad ottenere profili di DNA.

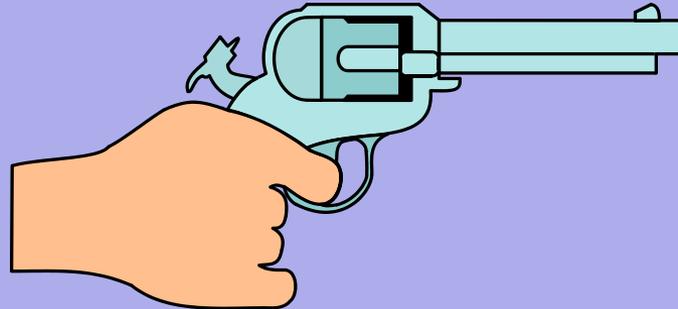


Alcune caratteristiche del D.N.A.

. Praticamente ogni traccia biologica contiene DNA



Low Copy Number



- . Tracce di DNA si trovano dopo che un oggetto è stato toccato o maneggiato da qualcuno;
- Presenza di un basso numero di cellule da analizzare (materiale desquamazione, capelli singoli, ecc.)



Alcune caratteristiche del D.N.A.

- . Il DNA nucleare è identico in tutte le cellule di un organismo: per un soggetto avrò identico profilo genetico analizzando un campione di sangue, di saliva, un capello, una macchia di sperma, ecc.



SENTENZA N. 238 ANNO 1996
Corte Costituzionale
(Sentenza Gregori)

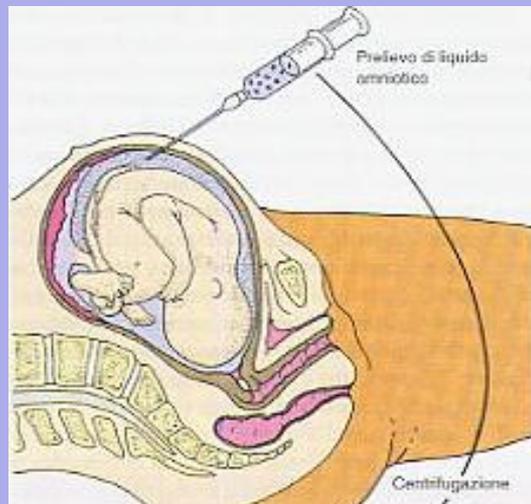
Metodi semplici per acquisire campioni di DNA da volontari



L'individualità del D.N.A.

. Il profilo genetico è una caratteristica che accompagna ogni individuo dall'epoca del concepimento a dopo la morte.

Per es. si possono fare test di paternità in utero o dopo la riesumazione di una salma



L'eredità dei caratteri

- . Il DNA nucleare viene ereditato dai propri genitori; ogni persona possiede il 50% del DNA della propria madre ed il 50% del DNA del proprio padre.



La differenza tra i sessi

Maschio

X - Y

Femmina

X - X

- . Il DNA del cromosoma Y viene ereditato dai maschi solo attraverso la linea paterna.

Ogni uomo possiede il cromosoma Y (e quindi il profilo genetico di questo DNA) del proprio padre biologico.

L'INFORMATIVITA' DEL DNA

- **Caratterizzazione del sesso genetico**

per stabilire se un campione è di un uomo o di una donna

- **Caratterizzazione di autosomi**

il metodo più usato per l'identificazione

- **Caratterizzazione di Y - STR**

lo studio di macchie miste, come nelle violenze sessuali

per

- **Caratterizzazione del DNA mitocondriale**

per campioni molto ridotti, come capelli senza bulbo

I SETTORI DI ATTIVITA' DELLA GENETICA FORENSE

- . Test di paternità- maternità
- . Esami di criminalistica
 - Prevalenza di casi di violenza sessuale (>2 su 3)
 - Match traccia-sospetto
 - Esame del profilo del DNA della vittima
- . Identificazione di massa (mass disaster)
- . Persone scomparse
- . Costruzione di banche dati

Breve storia del DNA forense

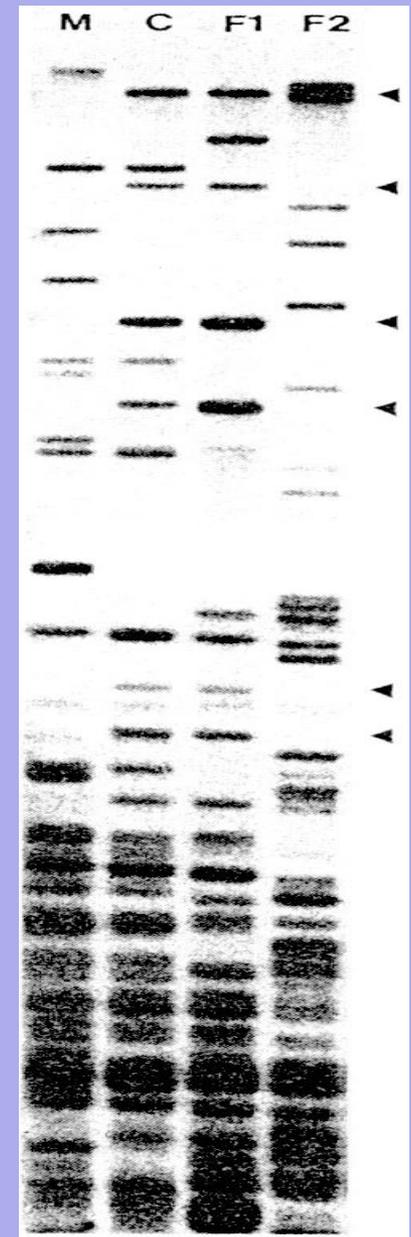
- 1980 - Ray White descrive il primo polimorfismo RFLP marker
- 1985 - Sir Alec Jeffreys scopre multilocus VNTR probes
- 1985 - prima pubblicazione sulla PCR
- 1988 - FBI inizia a lavorare sui casi pratici
- 1991 - prima pubblicazione sulle STR
- 1995 - Forensic Science Service attiva UK DNA database
- 1998 - FBI lancia il database CODIS

ANALISI FINGERPRINT

IL CODICE A BARRE DEI PRODOTTI ALIMENTARI

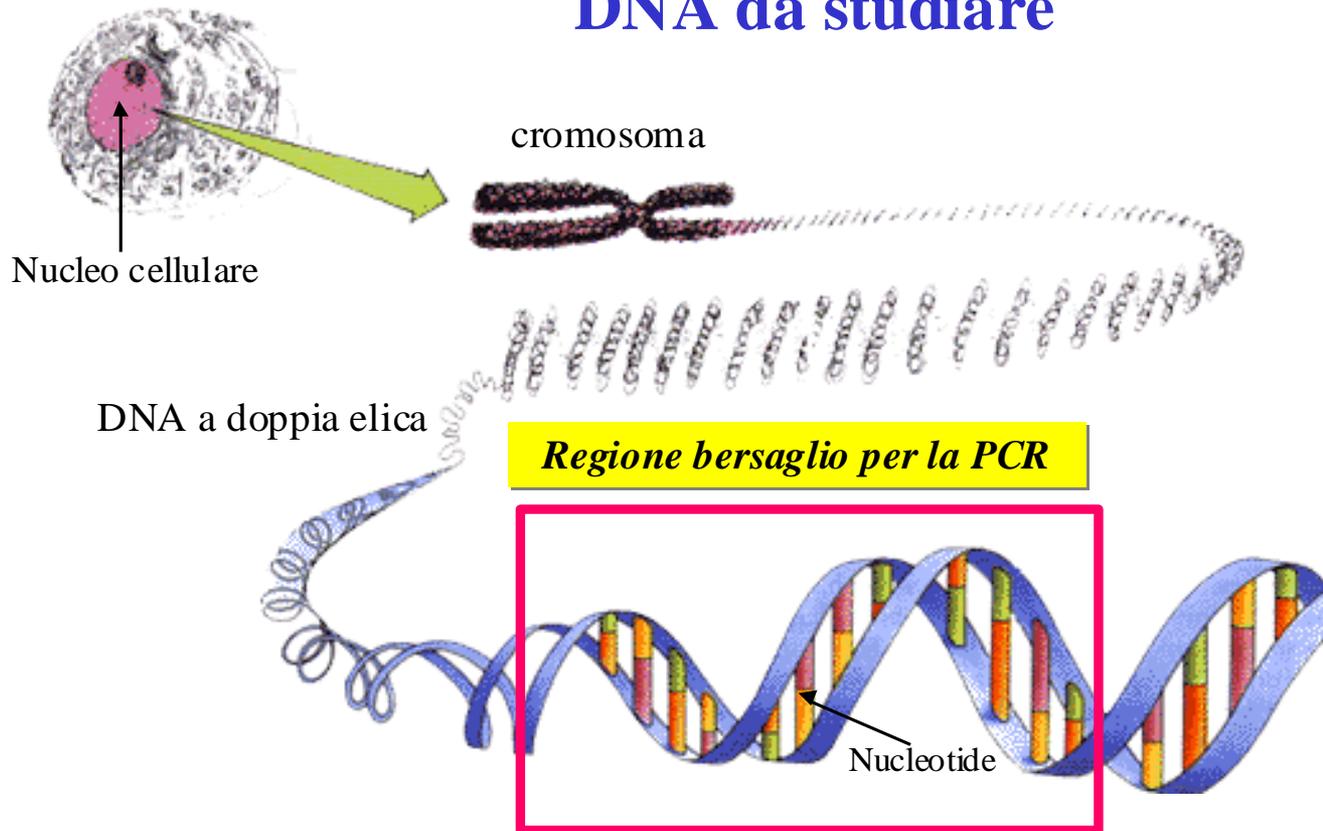
Svantaggi

- . Necessità di molto materiale di partenza**
- . Impiego di sostanze radioattive**
- . Tempi di analisi lunghi**
- . Possibilità di errori interpretativi**



LA REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI

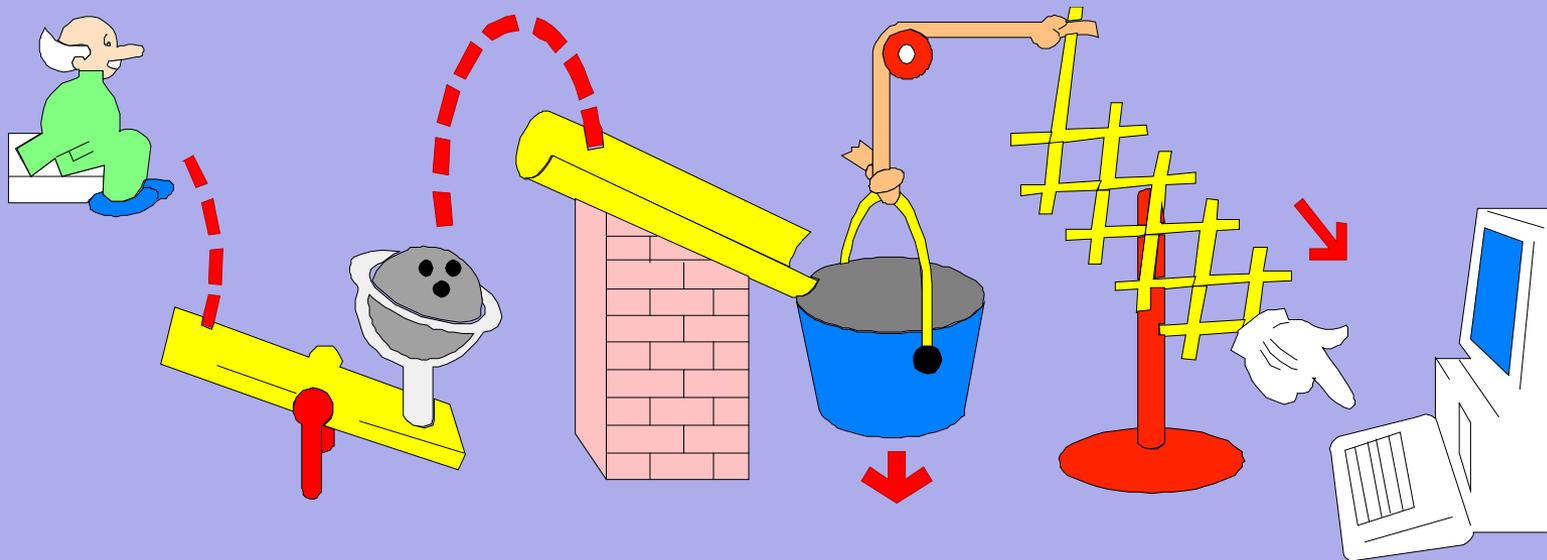
Oggi scegliamo il tratto di
DNA da studiare



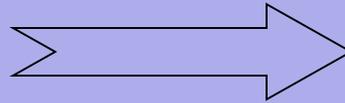
Di cosa parleremo oggi

- . Cenni di biologia e genetica
- . **Analisi del D.N.A.**
- . Repertazione dei materiali biologici
- . Sviluppi probatori in sede giudiziaria

La procedura analitica per l'identificazione genetica

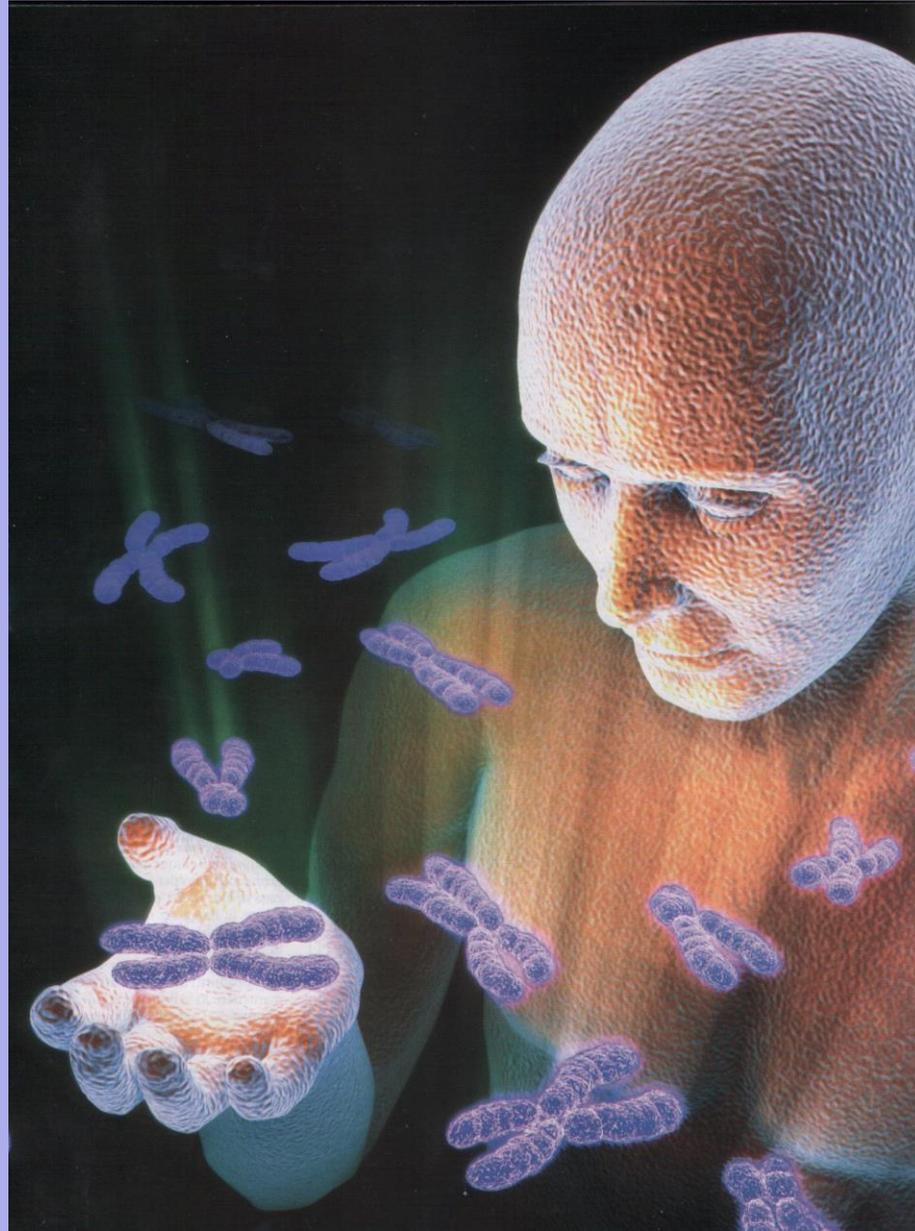


Dalla traccia biologica all'identificazione genetica



profilo del DNA

Biologia molecolare



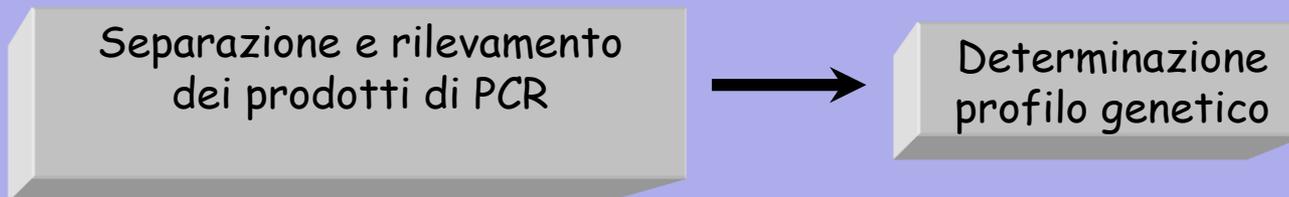
I vari step per le analisi di genetica forense

Campione ottenuto per un'analisi di paternità o repertato sulla scena del crimine

Ricavare il DNA



Analizzarlo



Valutare i risultati



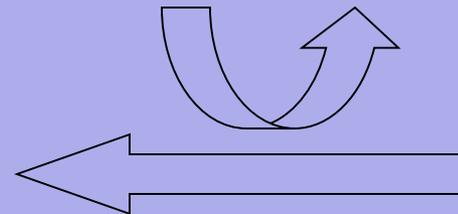
UNA SCOPERTA RIVOLUZIONARIA

**LA REAZIONE A CATENA DELLA
POLIMERASI**

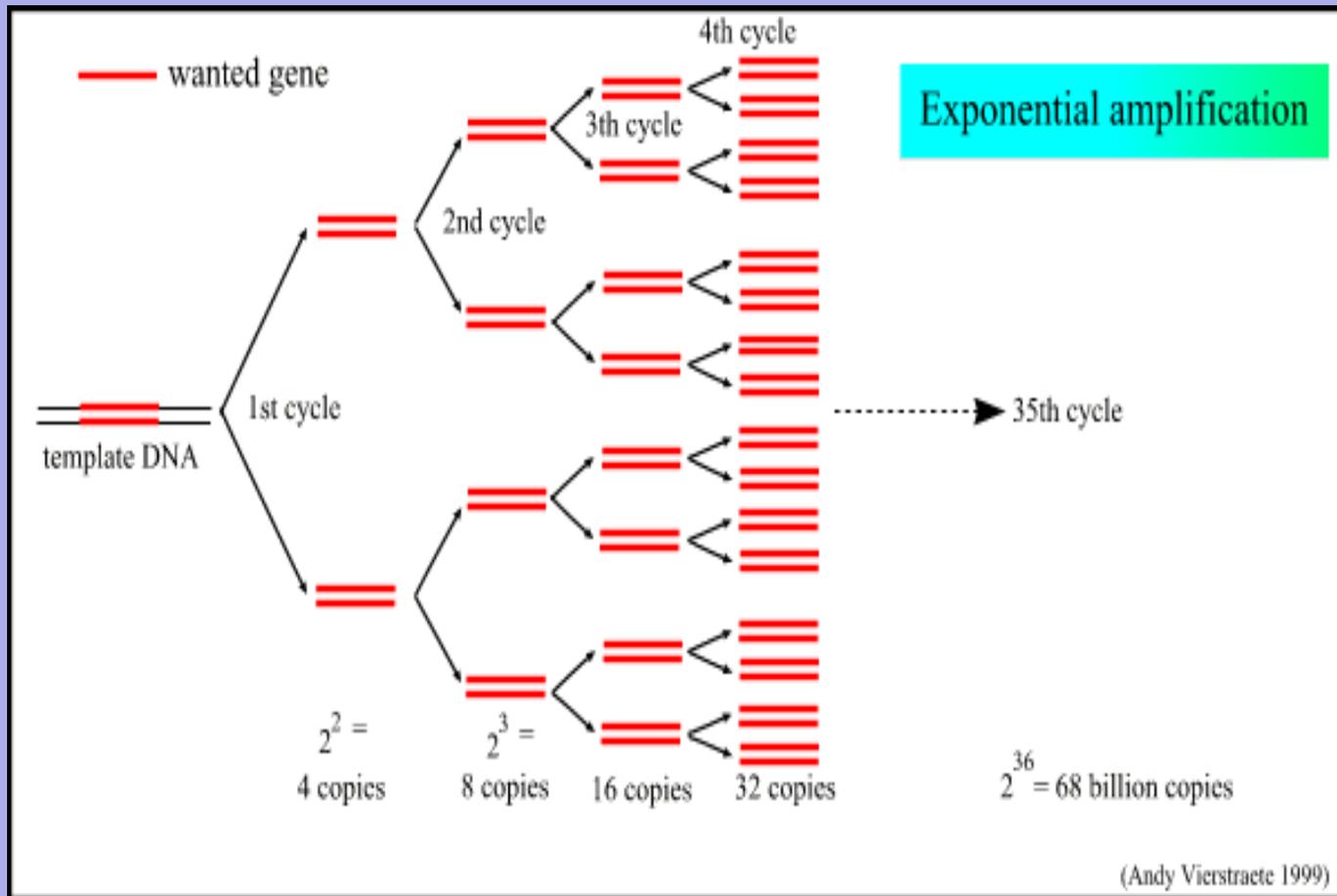
(Mullis 1985)

**E' POSSIBILE SINTETIZZARE IN UNA
PROVETTA MOLTO MATERIALE
BIOLOGICO DI PARTENZA**

REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI



REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI



$$2^n$$

usando 30 cicli di PCR

n = 30 con 100% di efficienza

si ottiene più di 1 miliardo di copie

del frammento di DNA di partenza

REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI NELLA GENETICA FORENSE

Vantaggi

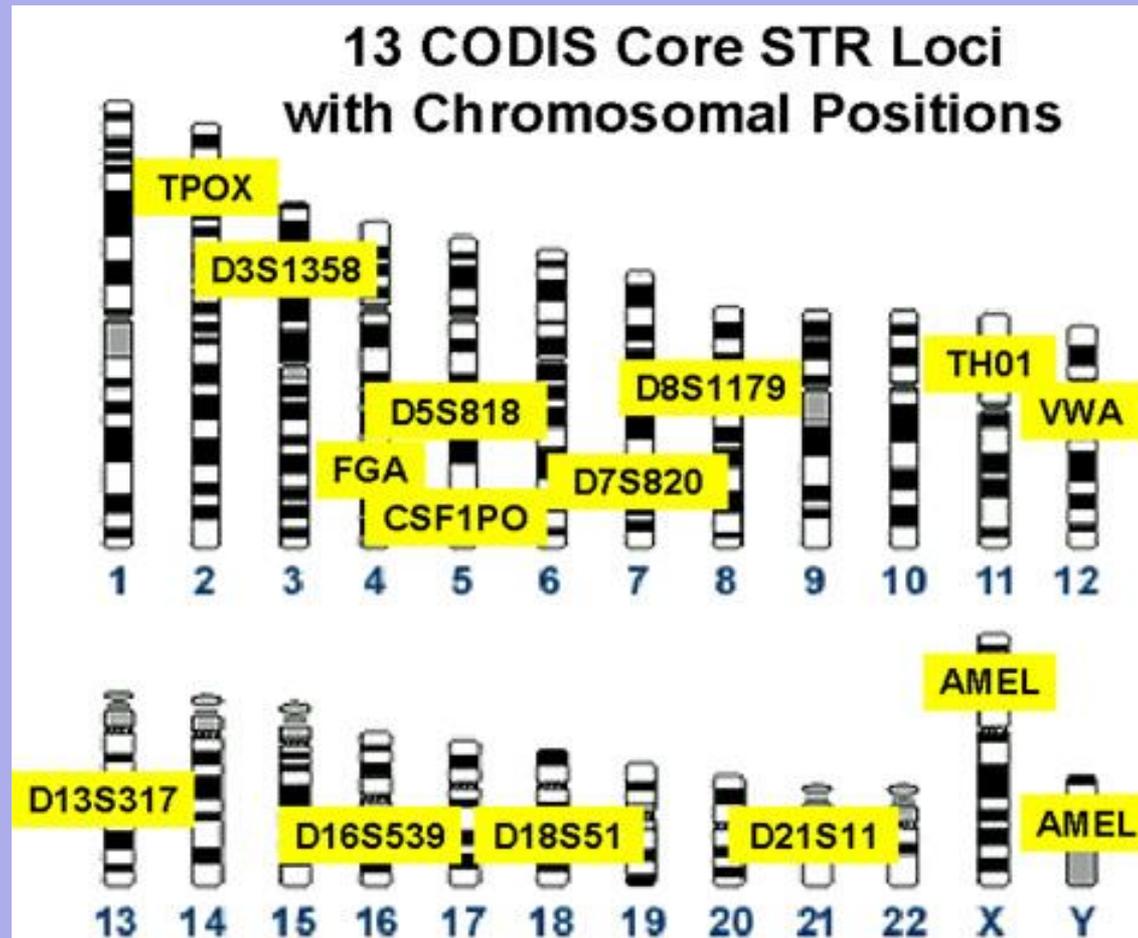
- . **Sufficiente pochissimo materiale biologico di partenza
(in teoria anche una sola cellula)**
- . **Non si utilizzano sostanze radioattive per le analisi**
- . **Tempi di risposta rapidi**
- . **Risultati facilmente interpretabili**
- . **Facile archiviazione dei profili per la costruzione di banche dati**
- . **Statistica relativamente semplice**
- . **Costi contenuti**

REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI NELLA GENETICA FORENSE

Svantaggi

- . Possibilità di inquinare i campioni biologici con DNA estraneo (di testimoni, inquirenti, analisti, ect.)**
- . Trattandosi di una reazione enzimatica, campioni biologici contaminati possono fallire alle analisi**
- . Necessità di laboratori specializzati con particolari condizioni di sicurezza**

Quali tratti del DNA studiare con la PCR?



L'FBI ha selezionato per il sistema CODIS
14 regioni, una per il sesso genetico

COME POSSIAMO VEDERE IL DNA?

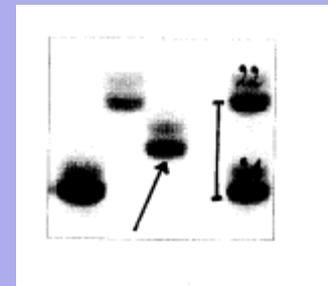
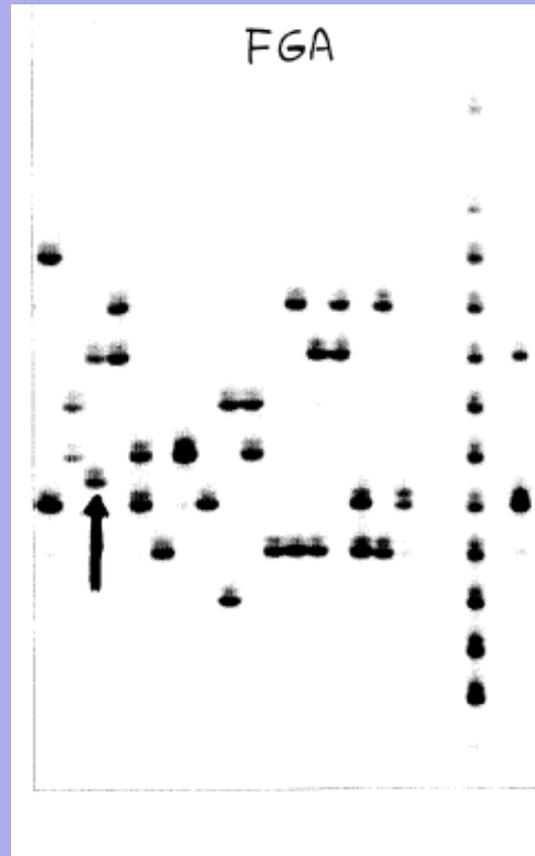
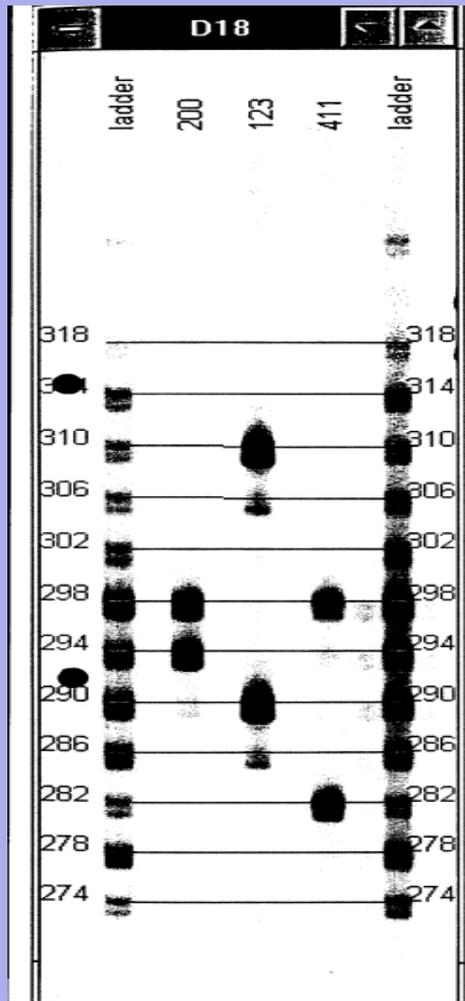


Elettroforesi su gel di poliacrilamide

Il sequenziatore IR² LICOR® 4200

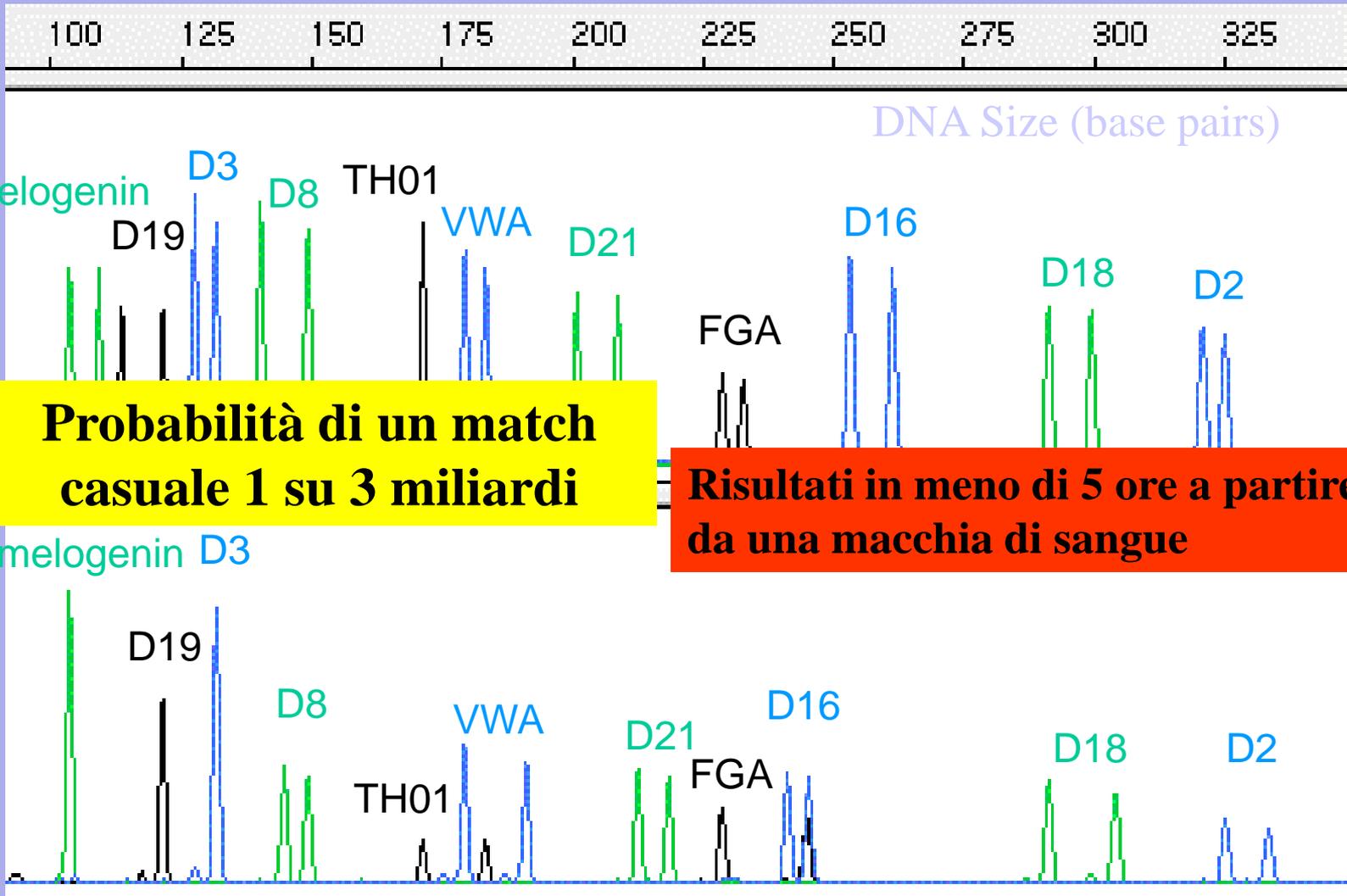


Sistemi di analisi MULTIPLEX a bande



Sistemi di analisi MULTIPLEX a picchi

AmpFlSTR® SGM Plus™ kit



Probabilità di un match casuale 1 su 3 miliardi

Risultati in meno di 5 ore a partire da una macchia di sangue

Analisi simultanea di 10 sistemi polimorfici

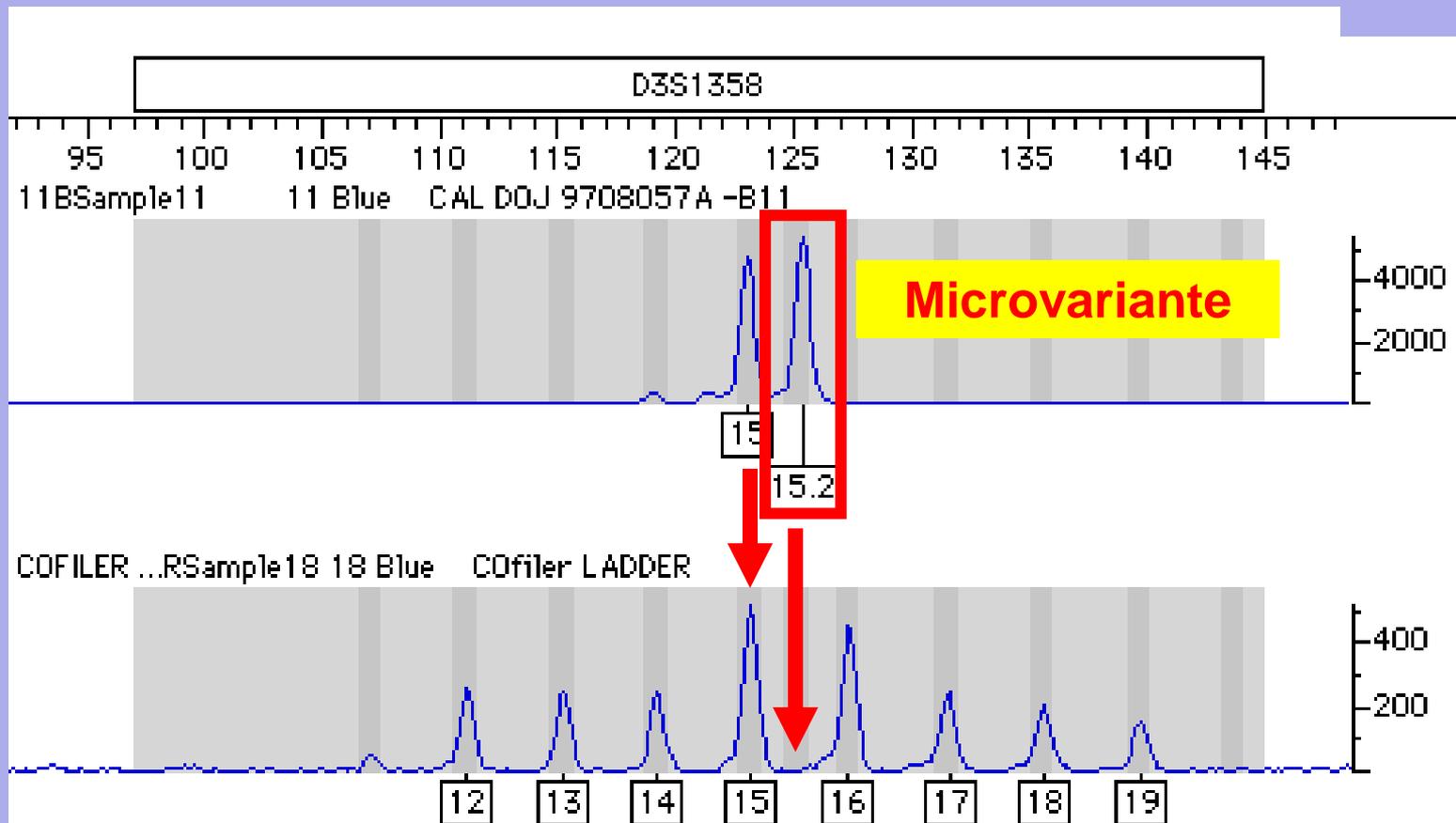
Due individui differenti



Multiplex PCR

- **Più di 10 Markers possono essere copiati in una volta**
- **Sensibilità a livelli di meno di 1 ng di DNA**
- **Differenti colori fluorescenti sono usati per distinguere alleli STR che si sovrappongono in lunghezza.**

La classificazione delle singole forme avviene mediante confronto con una scala di alleli noti



LA VALUTAZIONE DEL DATO DI LABORATORIO

PROFILO GENETICO ⇒ ASSOCIAZIONE

A chi appartiene la traccia?

Con l'esame del DNA vengono determinati i profili genetici delle tracce e dei soggetti coinvolti nell'episodio.

Valutazione del profilo genetico. Possiamo sapere se si tratta del sangue di un uomo o di una donna!

La traccia viene poi comparata con quelle della vittima, degli eventuali testimoni, degli inquirenti.

N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
vittima	X-Y	14-15	16-17	19-20	8-9	28-28	9-10	9-9	8-9	6-6
sospetto	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
testimone	X-Y	14-17	16-17	19-20	8-11	29-29	11-11	11-12	6-7	6-11
inquirente	X-X	15-18	15-16	24-25	11-12	29-32	12-13	12-13	9-11	6-11

ASSOCIAZIONE

Se non vi sono errori nella tipizzazione, se quindi possiamo essere certi del risultato analitico ed escludere errori nella repertazione, nel campionamento, nell'etichettatura, nelle performance del laboratorio, i profili possono fornire dei risultati concreti:

Incompatibilità tra uno o più sistemi → ESCLUSIONE

N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
vittima	X-Y	14-15	16-17	19-20	8-9	28-28	9-10	9-9	8-9	6-6
sospetto	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
testimone	X-Y	14-17	16-17	19-20	8-11	29-29	11-11	11-12	6-7	6-11
inquirente	X-X	15-18	15-16	24-25	11-12	29-32	12-13	12-13	9-11	6-11

ASSOCIAZIONE

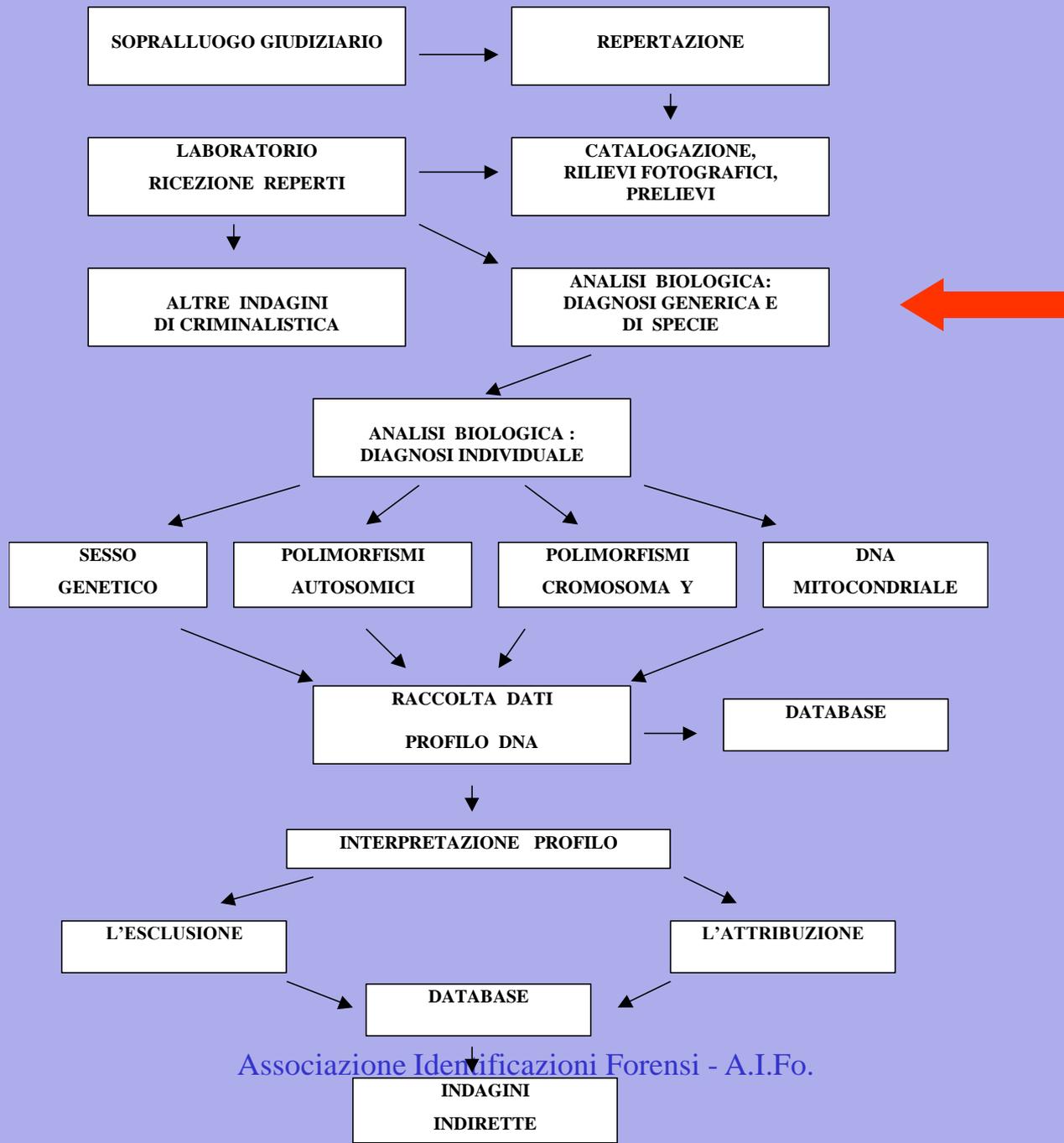
Compatibilità di tutti i sistemi →
match → giudizio di **ATTRIBUZIONE?**

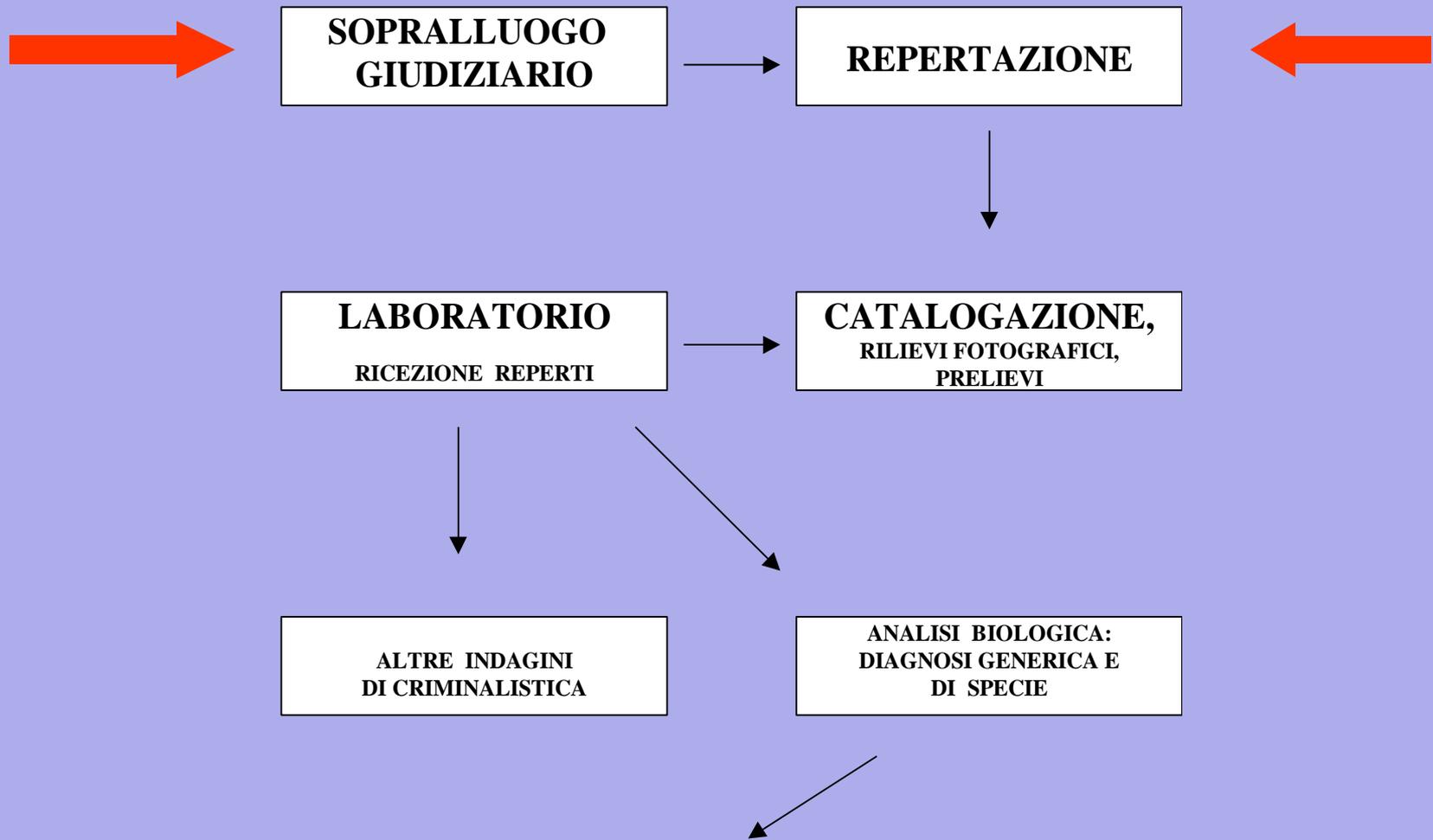
N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
vittima	X-Y	14-15	16-17	19-20	8-9	28-28	9-10	9-9	8-9	6-6
sospetto	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
testimone	X-Y	14-17	16-17	19-20	8-11	29-29	11-11	11-12	6-7	6-11
inquirente	X-X	15-18	15-16	24-25	11-12	29-32	12-13	12-13	9-11	6-11

Ne riparlamo tra un po'...

Di cosa parleremo oggi

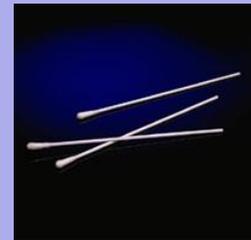
- . Cenni di biologia e genetica
- . Analisi del D.N.A.
- . **Repertazione dei materiali biologici**
- . Sviluppi probatori in sede giudiziaria







IL SOPRALLUOGO GIUDIZIARIO



sapere cosa repertare e come

MODALITA' DI CARATTERE GENERALE

- . usare sempre guanti sterili durante la repertazione;
- . indossare abbigliamento idoneo sterile (tute, calzari, ect.);
- . utilizzare solo materiale sterile usa e getta oppure pulire con alcool le superfici degli strumenti prima e dopo l'uso;
- . repertare diversi campioni sul luogo del sopralluogo, anche se apparentemente appaiono identici;
- . etichettare ogni reperto e documentare con fotografie il luogo del prelevamento;

MODALITA' DI CARATTERE GENERALE

- . cercare di non diluire eccessivamente la traccia;
- . qualunque campione umido deve essere fatto asciugare all'aria prima di essere inserito nei contenitori, meglio se di carta, per evitare la formazione di muffe;
- . in base al tipo di analisi che dovrà essere effettuato, prelevare se possibile un campione di sangue o capelli o saliva da persone offese o cadaveri;
- . AFFIDARSI A PERSONALE SPECIALIZZATO NEL SOPRALLUOGO.

CONSERVAZIONE

- . Il DNA è materiale biologico e quindi soggetto a naturale degradazione;
- . Il DNA teme in particolare UMIDITA' e ALTE TEMPERATURE;
- . Assicurarsi che i campioni siano asciutti. Possono essere quindi conservati in frigorifero a $+4^{\circ}\text{C}$ o 20°C ;
- . Il tempo di conservazione può variare molto (da pochi mesi ad alcuni anni), a seconda del tipo di traccia e delle modalità di raccolta.

Di cosa parleremo oggi

- . Cenni di biologia e genetica
- . Analisi del D.N.A.
- . Repertazione dei materiali biologici
- . **Sviluppi probatori in sede giudiziaria**

COME INTERPRETARE *LA PROVA D.N.A.*

In generale

COME INTERPRETARE
L'EVIDENZA SCIENTIFICA

TRE METODI PER VALUTARE L'EVIDENZA SCIENTIFICA

- . Approccio intuitivo: basato sulla rarità di un carattere o di un profilo genetico;
- . Approccio logico: basato sulla valutazione di ipotesi contrapposte;
- . Approccio probabilistico: basato sulla legge di Bayes.

TRE METODI PER VALUTARE L'EVIDENZA SCIENTIFICA

- . Approccio intuitivo: basato sulla rarità di un carattere o di un profilo genetico;
il più usato in Italia
- . Approccio logico: basato sulla valutazione di ipotesi contrapposte;
- . Approccio probabilistico: basato sulla legge di Bayes.

IDENTITA'



DIVERSITA'

LA CAPACITA' INDIVIDUALIZZANTE

CHI HA LASCIATO QUELLA
MACCHIA?



USIAMO UNA CORRETTA
INFORMAZIONE SCIENTIFICA

IDENTIFICAZIONE o INDIVIDUALIZZAZIONE

**SI BASA SULLA RARITA' DI UN
CARATTERE**

Esempio

**POSSIAMO DIRE SE SONO MAI
ESISTITI DUE FIOCCHI DI NEVE
IDENTICI TRA LORO?**

QUALCHE IDEA...

**Dal periodo giurassico ad oggi (130 milioni di anni)
si stima che siano caduti 3×10^{31} fiocchi di neve**

30.000.000.000.000.000.000.000.000.000.000

**NUMERO MOLTO ALTO MA CHE NON CI DA' DATI
SUFFICIENTI PER RISPONDERE AL QUESITO**

**“SONO MAI ESISTITI DUE FIOCCHI DI NEVE
UGUALI?”**

**NON HO INFATTI LA POSSIBILITA' DI
ESAMINARE TUTTI I FIOCCHI DI NEVE CADUTI
FINO AD OGGI**

UNA CORRETTA INFORMAZIONE SCIENTIFICA

**Il numero di molecole d'acqua in un tipico fiocco di neve
è circa $10^{15} = 1.000.000.000.000.000$**

**Il numero di molecole può quindi combinarsi in
(1.000.000.000.000.000) $1.000.000.000.000.000$ modi diversi**

numero virtualmente impossibile da immaginare

**... NE SEGUE LA RISPOSTA
AL QUESITO**

**“NON SONO MAI ESISTITI DUE
FIOCCHI DI NEVE IDENTICI,
AL DI LA’ DI OGNI
RAGIONEVOLE DUBBIO”**

CONCETTO DI POLIMORFISMO

Il termine deriva dal greco e significa “molte forme”

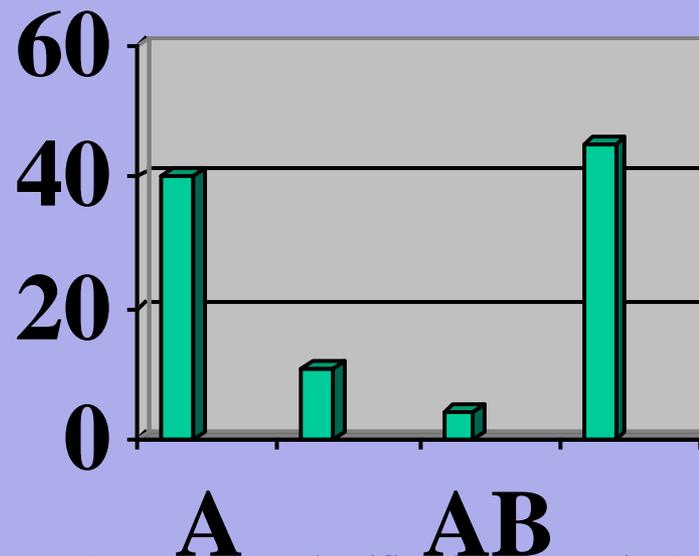


Il DNA presenta un elevato polimorfismo, cioè esiste in molte forme alternative possibili

Se un carattere esiste in più forme alternative, avrà un forte potere discriminante

**UN SISTEMA POCO POLIMORFO
POSSIEDE POCHE FORME ALTERNATIVE POSSIBILI
SCARSO POTERE INDIVIDUALIZZANTE**

Il sistema sanguigno AB0



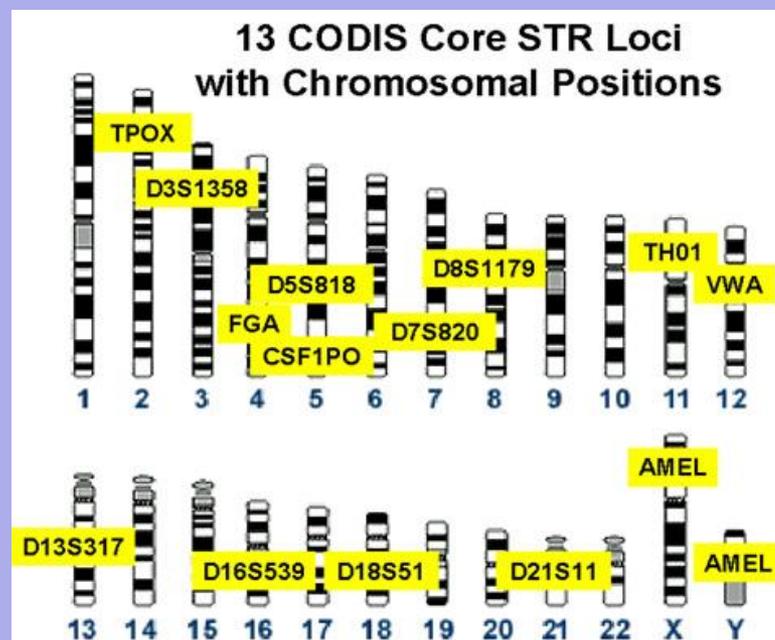
Polimorfismo del DNA D2S344

MOLTE FORME ALTERNATIVE POSSIBILI
ALTO POTERE INDIVIDUALIZZANTE

ESAME DI MOLTI SISTEMI DEL DNA

regola del prodotto

STABILIRE LA FREQUENZA DEL PROFILO
GENETICO NELLA POPOLAZIONE



LA BIOSTATISTICA

L'esame di 13 sistemi del DNA su una traccia fornisce dei valori di frequenza inferiori a 10^{-12} diffusione del profilo genetico nella popolazione

1 su 1.000.000.000.000 persone

L'eventualità di trovare due profili genetici identici per solo effetto del caso è talmente bassa, da farla ritenere praticamente zero.

Sia trovato un “match” tra il profilo di una traccia di sangue e quello del sospettato.

N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
TRACCIA DI SANGUE										
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
SOSPETTATO										
A7/2	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	30-31	11-11	9-10	7-10	8-11
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Freq.	0,2	0,05	0,1	0,3	0,2	0,1	0,14	0,3	0,1	0,2
Frequenza totale = $0,2 \times 0,05 \times 0,1 \times 0,3 \times 0,2 \times 0,1 \times 0,14 \times 0,3 \times 0,1 \times 0,2 = 0,0000000054$ <div style="text-align: right;">cioè circa 1 su 200 milioni</div>										

Calcoliamo la frequenza di quel profilo genetico nella popolazione generale.

IN GENETICA FORENSE

**SE TROVO DUE PROFILI GENETICI,
MOLTO RARI, SOVRAPPONIBILI
TRA LORO POSSO, PER INDUZIONE,
“ARGUIRE” CHE PROVENGANO DA
UN UNICO INDIVIDUO, AL DI LA’ DI
OGNI RAGIONEVOLE DUBBIO**

ECCEZIONE !

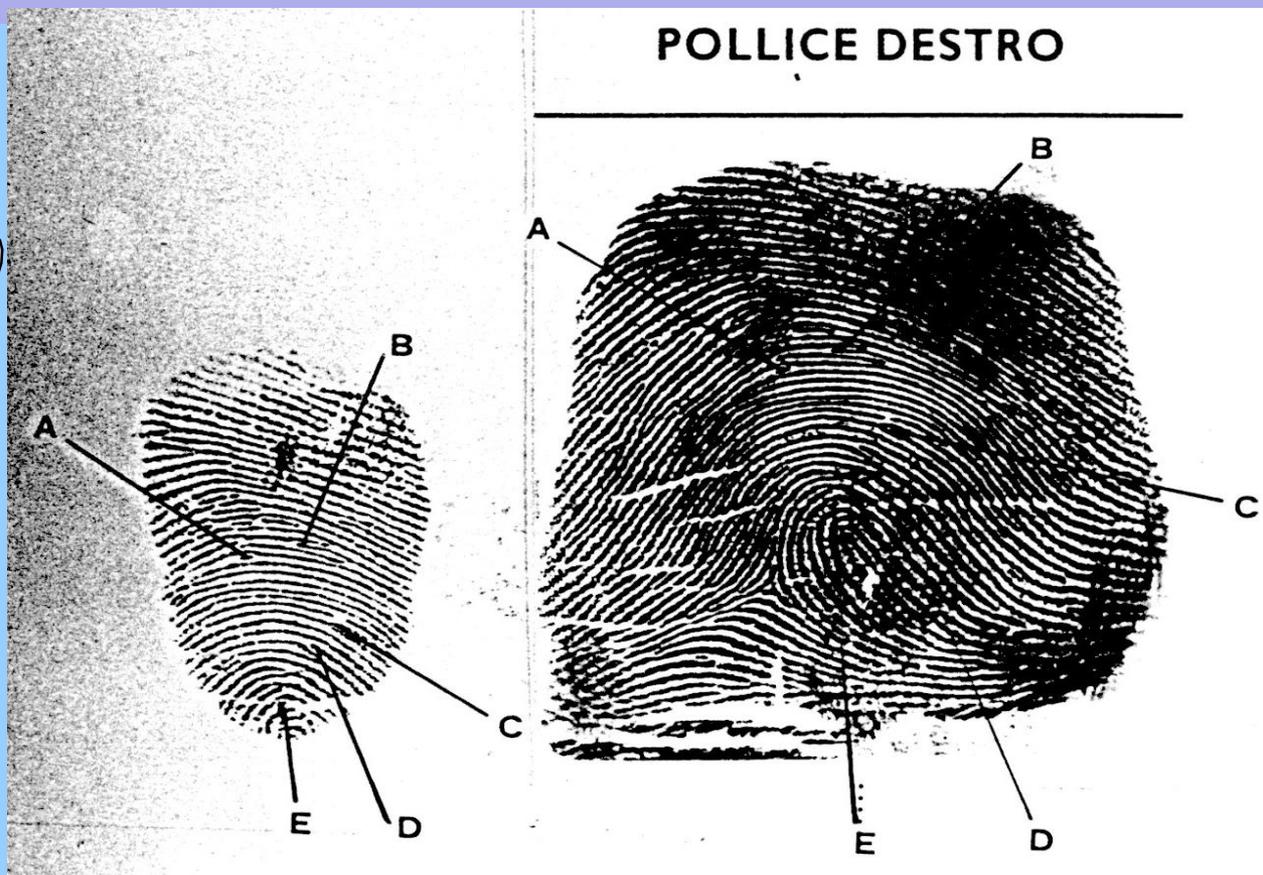
Gemelli monozigoti hanno
identico profilo genetico

Impronte digitali

Disegni lasciati dalle creste papillari delle dita

Carattere fenotipico invariabile (fattori genetici ed ambientali)

Gemelli monozigoti hanno diverse impronte digitali



TRE METODI PER VALUTARE L'EVIDENZA SCIENTIFICA

- . Approccio intuitivo: basato sulla rarità di un carattere o di un profilo genetico;
- . Approccio logico: basato sulla valutazione di ipotesi contrapposte;
un metodo obiettivo per accusa e difesa
- . Approccio probabilistico: basato sulla legge di Bayes.

**Ipotesi differenti vengono comparate
dal punto di vista matematico**

PROVA



***Likelihood ratio* → rapporto di verosomiglianza**

$$\text{LR} = \frac{\text{ipotesi dell'accusa}}{\text{ipotesi della difesa}}$$

Il rapporto di verosomiglianza

likelihood ratio

$$\mathbf{LR} = \frac{\mathbf{\text{il sospetto ha lasciato la traccia sulla scena del delitto}}}{\mathbf{\text{qualcun altro che non il sospettato ha lasciato la traccia}}}$$

Esempio di uso del rapporto di verosomiglianza

Sia trovato un “match” tra il profilo di una traccia di sangue e quello del sospettato, Sig. Verdi.

Il valore di LR risulti 300.

Ciò può essere così interpretato:

l'ipotesi che la compatibilità tra i profili genetici, sia dovuta alla provenienza del sangue dal Sig. Verdi è 300 volte più probabile rispetto allo scenario opposto, cioè che il sangue origini da un altro individuo non correlato al Sig. Verdi.

TRE METODI PER VALUTARE L'EVIDENZA SCIENTIFICA

- . Approccio intuitivo: basato sulla rarità di un carattere o di un profilo genetico;
- . Approccio logico: basato sulla valutazione di ipotesi contrapposte;
un metodo obiettivo per accusa e difesa
- . Approccio probabilistico: legge di Bayes;
occorre valutare la prova dal punto di vista matematico anche prima del test del DNA

PROBABILITA'

$$\text{Pr}_{\text{TOTALE}} = \text{evidenza scientifica} \times \text{Pr}_{\text{PRIORI}}$$

Il punto di vista della Corte

OBIETTIVO: valutare la colpevolezza di un imputato prima e dopo che venga introdotta la “prova DNA”;

Gli organi giudicanti devono attribuire una probabilità variabile di colpevolezza, in base agli elementi che emergono nel dibattimento, prima della testimonianza dell'esperto forense.

Definiamo questa probabilità come **probabilità a priori**

Il punto di vista dell'esperto forense

OBIETTIVO: dare elementi utili alla Corte, basati su evidenze scientifiche, perché essa possa obiettivamente decidere sulla colpevolezza dell'imputato.

La “prova DNA” viene valutata come rapporto di verosomiglianza LR.

LA PROBABILITA' TOTALE

Le due informazioni si uniscono per dare il valore finale
di PROBABILITA'

$$\text{Pr}_{\text{posteriori}} = \text{LR} \times \text{Pr}_{\text{priori}}$$

$\text{Pr}_{\text{posteriori}}$ = il problema della Corte

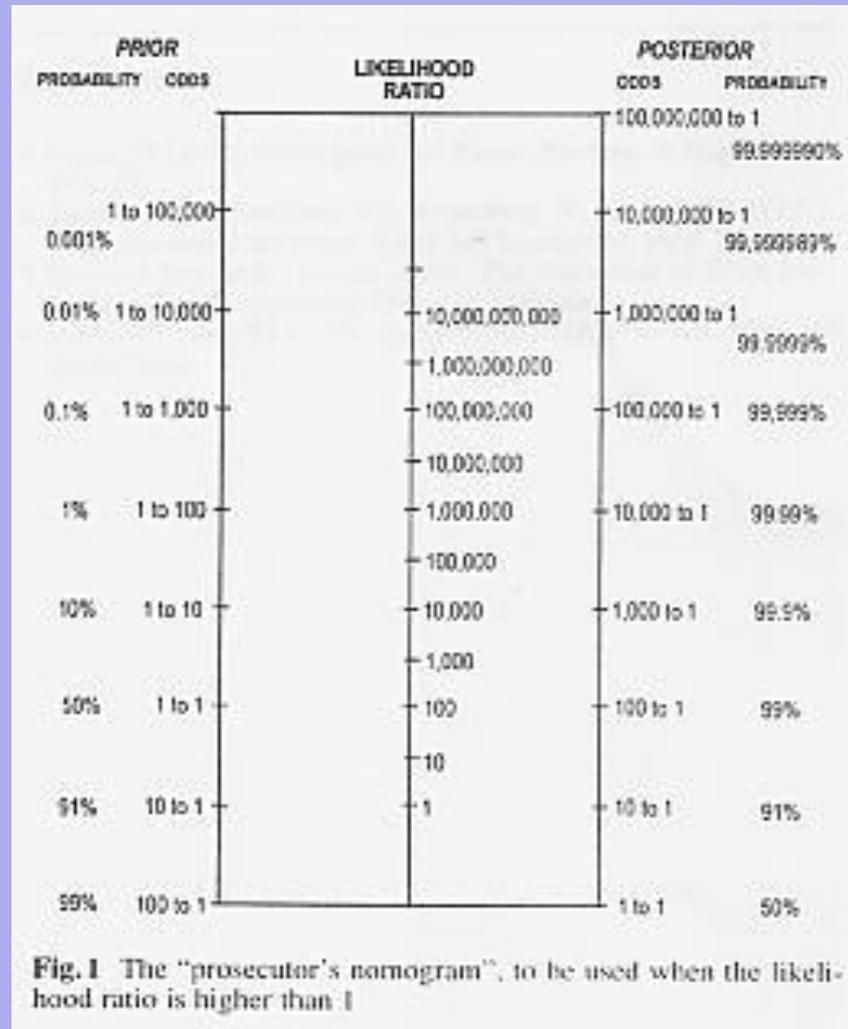
LR = termine che deve valutare l'esperto forense

$\text{Pr}_{\text{priori}}$ = valore che deve essere fornito dalla Corte

Il normogramma dell'accusa

Prove positive per un match

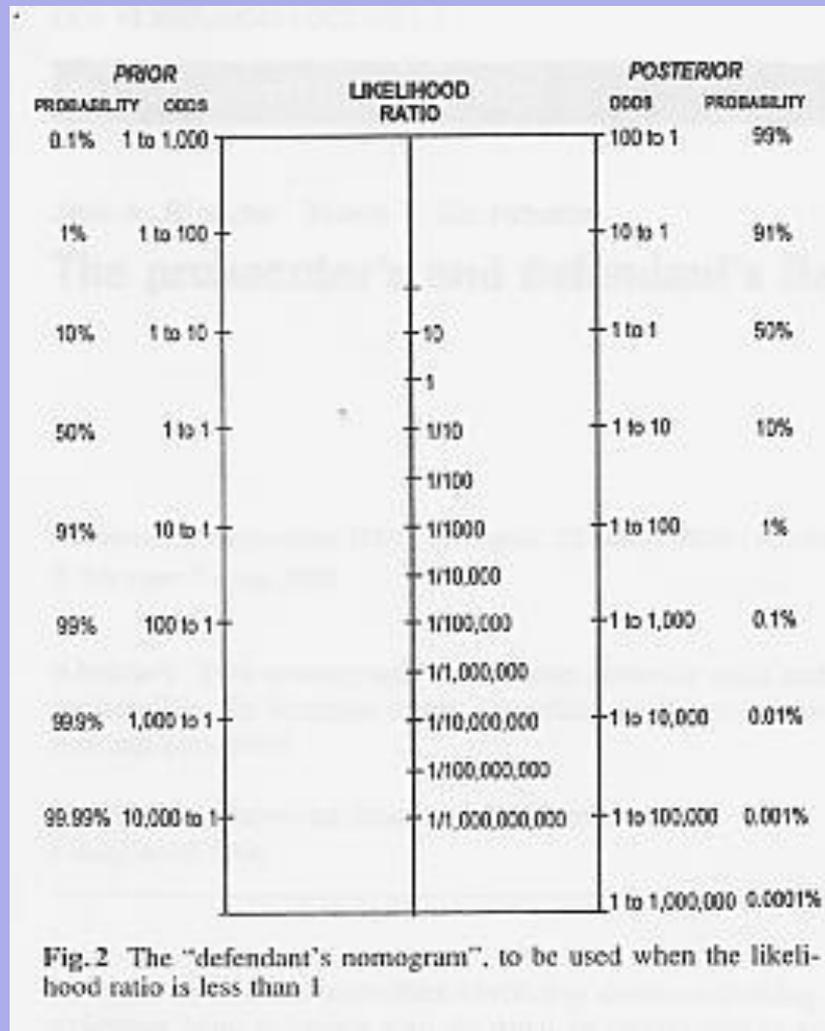
Riancho JA and Zarrabeitia MT, *The prosecutor's and defendant's Bayesian nomograms.*
Int J Leg Med 2002;116:312-313.



Il normogramma della difesa

Prove negative per un match

Riancho JA and Zarrabeitia MT, *The prosecutor's and defendant's Bayesian nomograms.*
Int J Leg Med 2002;116:312-313.



Esempio di uso del normogramma

Sia stato determinato match tra una traccia ed il DNA di un sospetto.

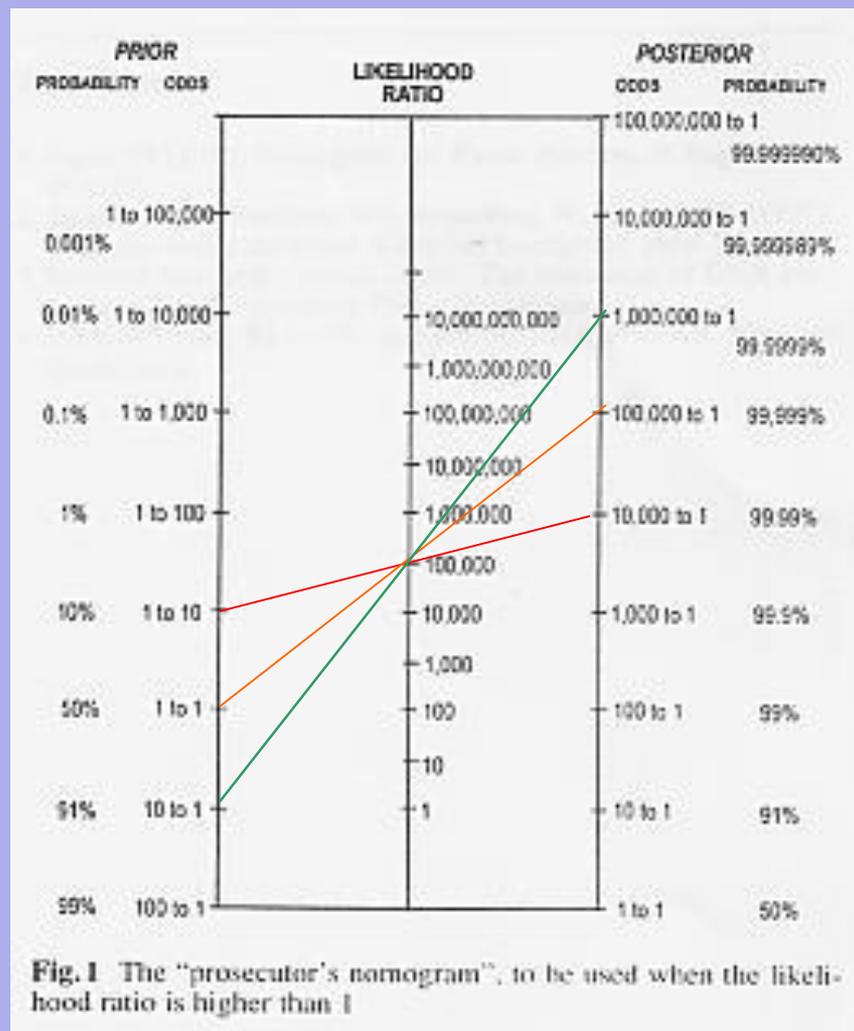
Il valore trovato dall'esperto forense risulta pari a **LR = 100.000**

Qual è la probabilità che la traccia venga da quella persona, impiegando varie probabilità a priori, fornite dal Giudice?

10% = 10.000 a 1 (99,99%)

50% = 100.000 a 1 (99,999%)

90% = 1.000.000 a 1 (99,9999%)



Predicati verbali

Likelihood ratio

da 1 a 10

da 10 a 100

da 100 a 1000

più di 1000

Equivalente verbale

sostegno limitato

sostegno moderato

sostegno forte

sostegno molto forte

L'FBI ha tentato di ovviare al problema di presentare la statistica del DNA alla giuria adottando la regola per la quale “una positiva identificazione si realizza quando la frequenza del profilo eccede 260 miliardi a 1”.

A questo livello le odds contro un simile match trovate da qualunque altra parte negli USA sono 1000 a 1.

APPENDICE

ancora qualche informazione

Complicazioni delle analisi forensi

Tracce ridotte - L'esame di piccole porzioni di materiale può produrre risultati negativi.

Campioni degradati - il DNA è soggetto a degradazione, come tutti i materiali biologici.

Tracce miste - quando campioni di più soggetti sono mescolati tra loro le analisi risultano più complesse.

Soggetti imparentati - soggetti correlati ad un sospetto condividono una maggior proporzione di DNA.

La valutazione della prova DNA nel Regno Unito

L'esperto può esprimere solo opinioni in materia della propria specializzazione (p.es. frequenza di occorrenza di un certo tratto nella popolazione in generale).

Non devono esprimere alcuna opinione sul *fact in issue* (fatto in questione).

Un esempio è chiedere se l'accusato fosse o no presente sulla scena del crimine, in base alla diffusione del profilo.

Un altro errore comune è non tenere di conto l'esistenza di soggetti correlati. In *R v Watters* (2000) All ER(D) 1469

l'imputato era accusato di aver commesso 5 furti con scasso, nei quali era stato stabilito match con una frequenza del profilo di 1 su 86 milioni. L'esistenza di due fratelli dell'accusato portò il valore di LR a posteriori di 1 su 267. In primo grado l'imputato fu condannato, ma la Corte d'Appello annullò la sentenza.

La valutazione della prova DNA nelle Corti americane

Maggiore importanza all'affidabilità del test.

Applicazione costante dei principi promossi dal caso Daubert (standard, protocolli, pubblicazioni, valore dell'esperto, stima degli errori, ecc.)

Le Corti americane tendono a vedere il test del DNA come infallibile, a meno che non sia dimostrato un errore nella repertazione o nella procedura d'analisi. In una Corte d'Appello il giudice semplicemente arguiva che “l'imputato era stato inchiodato dal suo DNA”: non vi era possibilità di alcun dibattito statistico.

Banche dati del DNA

Sono archiviati i profili genetici di autori di reato e talvolta dei soggetti coinvolti in un crimine e degli investigatori. Sono quindi possibili comparazioni successive con tracce biologiche rinvenute sul luogo di un delitto.

Tramite la rete di Polizie Europee (ENFSI) sono possibili controlli incrociati.



La situazione Europea

Banche dati del DNA, appoggiate da legislazioni specifiche, sono **attive in:**

Regno Unito

Paesi Bassi

Germania

Austria

Svizzera

Norvegia

Belgio

CHI E' IL GENETISTA FORENSE

Colui che fornisce alla giustizia gli elementi obiettivi per decidere su fatti importanti, come l'attribuzione o l'esclusione di una paternità, oppure per stabilire la precisa identità di una persona, sulla base delle analisi del DNA.

Spetterà comunque al giudice l'onere della decisione sulla colpevolezza dell'imputato o sulla attribuzione di una paternità biologica.

La “prova DNA” porterà un contributo, spesso molto forte, ma da valutarsi insieme alle altre evidenze probatorie.



FINE



Il profilo genetico è una caratteristica individuale.

Da un test del DNA può emergere:

COMPATIBILITA'
GENETICA



Individuazione del soggetto donatore
di una traccia;

Conferma di un legame biologico di
parentela.

INCOMPATIBILITA'
GENETICA



Esclusione che una traccia provenga
da quel donatore;

Negazione del legame biologico di
parentela.

IL TEST DEL DNA **NON** E' UN ESAME DI ROUTINE

La *genetica forense* è una materia complessa.

Le *eccezionalità* sono in realtà piuttosto comuni. Ogni test è unico!

La figura del *genetista forense* condensa conoscenze di biologia, criminalistica, genetica, medicina legale e statistica.

Applicazioni di genetica forense

marginii di errore e limiti delle analisi del DNA

Identificazione della natura e dell'origine di un campione

Applicazioni pratiche del test del DNA

Analisi su oggetti toccati

Le analisi su DNA degradato

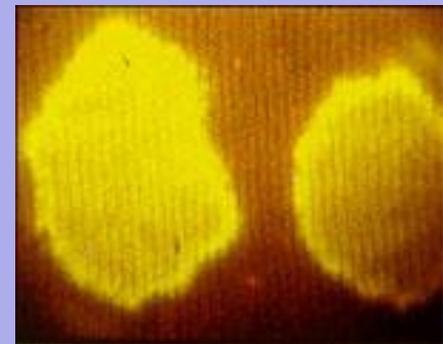
EMOGENETICA CLASSICA

Identificare il tipo di campione biologico

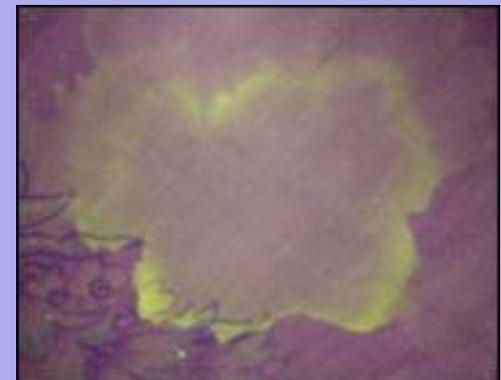
Illuminatori a diverse lunghezze d'onda



Saliva



Sperma



Diagnosi generica – i test di orientamento

Suggeriscono la presenza di un certo tipo di campione biologico

Test al luminol per sostanza ematica



Falsi positivi

Detergenti

Tensioattivi

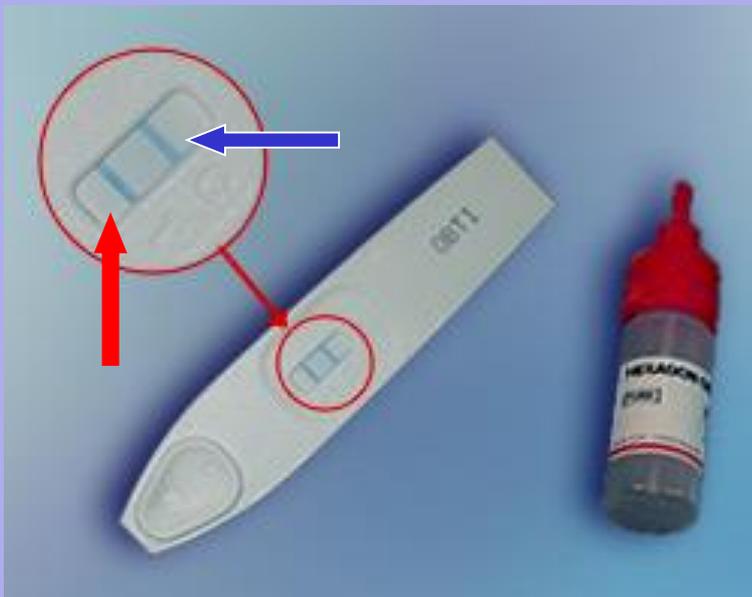
Vernici

Succhi di frutta

Diagnosi generica e di specie

Occorrono metodi specifici per identificare una certa sostanza.

Test OBTI per sostanza ematica



Falsi positivi

Emoglobina di

altri primati

Applicazioni di genetica forense

marginii di errore e limiti delle analisi del DNA

Identificazione della natura e dell'origine di un campione

Applicazioni pratiche del test del DNA

Analisi su oggetti toccati

Le analisi su DNA degradato

DNA usato in casi forensi

- **Test di paternità/maternità o parentela**
- **Esami di criminalistica**
 - Analisi di tracce e confronto con sospetti donatori (vittima, indagati, testimoni, investigatori, ecc.)
 - In casi di violenza sessuale (>2 su 3)
 - Ricostruzione ipotetica delle dinamiche di un fatto
 - Esami indiretti (ricerca in database, confronto con parenti)
- **Identificazione in disastri di massa**
- **Identificazione di persone scomparse**
- **Costruzione di banche dati del DNA**

Test di paternità/maternità o parentela

Il profilo genetico è costante per ogni individuo dall'epoca del concepimento a dopo la morte. Per esempio:

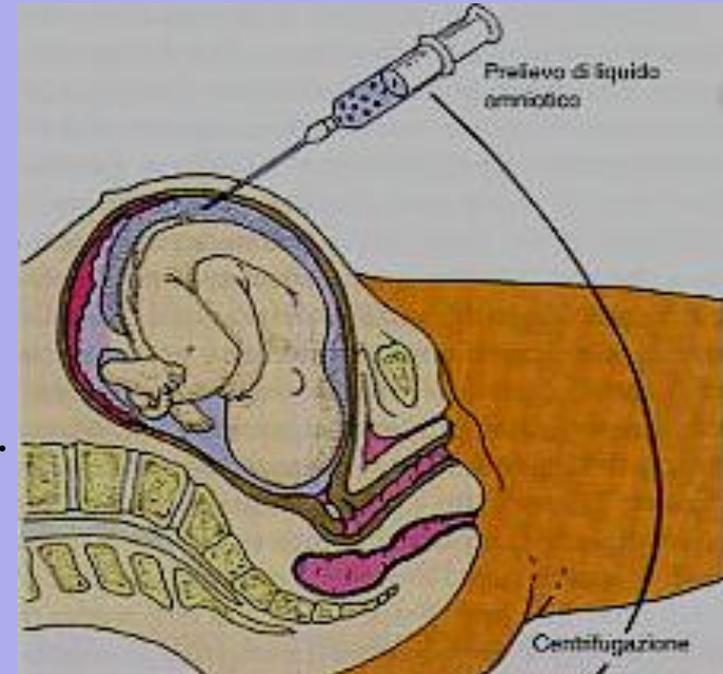
Si potrebbero fare test di paternità in utero.

Ma ciò è oggi vietato!

*Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato,
le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano:
accordo 15-07-2004*

“Linee-guida per le attività di genetica medica”

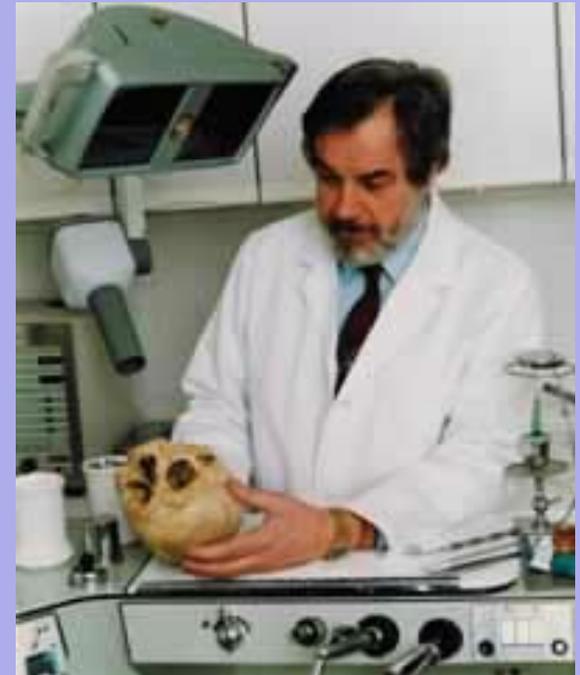
Non deve essere accolta “la richiesta da parte dei genitori di un test genetico sul feto al fine di accertare una condizione non specificamente collegata alla diagnosi di malattia (es. sesso, paternità, ecc.)”.



Test di paternità/maternità o parentela

Il profilo genetico è costante per ogni individuo dall'epoca del concepimento a dopo la morte. Per esempio:

Si possono eseguire accertamenti di parentela, tipicamente paternità/maternità, esaminando campioni provenienti da esumazioni, anche a distanza di molti anni, se non troppo degradati.



PERCHE' NEI TEST DI PATERNITA' 13-15 MARCATORI AUTOSOMICI SONO RITENUTI SUFFICIENTI?

SISTEMA	Figlio	Madre	Padre
D8S1179	12, 15	12, 14	13, 15
D21S11	29 , 29	29, 30	29, 33
D7S820	9 , 12	10, 12	9, 11
CSF1PO	10, 12	10, 13	12, 14
D3S1358	13, 16	13, 18	15, 16
TH01	6 , 6	6, 6	6, 9
D13S317	13 , 14	11, 14	11, 13
D16S539	11 , 11	11, 13	9, 11
VWA	17, 18	17, 17	17, 18
TPOX	8 , 8	7, 8	8, 10
D18S51	16 , 17	16, 17	14, 16
D5S818	11 , 13	12, 13	11, 13
FGA	21, 26	21, 25	24, 26

Rapporto costo-beneficio

Esaminando 13 marcatori del DNA la probabilità *a priori*, cioè prima di eseguire il test, di escludere un uomo falsamente accusato della paternità è superiore al 99,999%

Esami di criminalistica

CON IL DNA SI PUO' PROVARE L'INNOCENZA
DI UNA PERSONA!



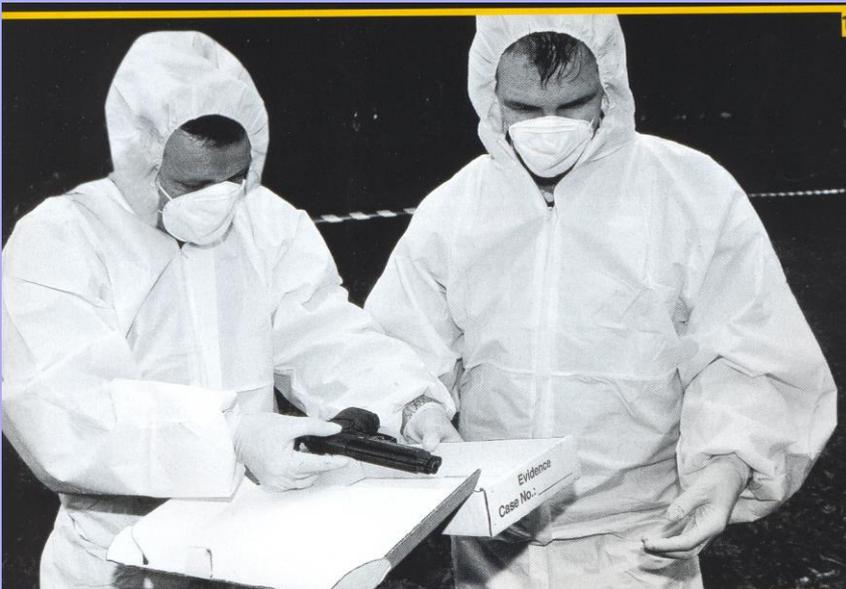
The screenshot shows the Innocence Project website. At the top, the text "Innocence Project" is displayed in white on a black background, with a DNA gel electrophoresis image below it. A navigation bar contains links for "About Us", "Case Profiles", "Causes and Remedies", "Support Us", "Policy", "Press", and "Links". Below the navigation bar, there are four portrait photos of individuals. The first photo is a large portrait of Anthony Hicks. To its right are three smaller photos of other individuals. Below the photos, a profile for Anthony Hicks is shown with the following details:

Anthony Hicks	
Year of Incident: 1990	
Jurisdiction: Wisconsin	
Sentence: 20 years	
Year of Exoneration: 1997	
Sentence Served: 5 years	
	January 25, 2007
	193 EXONERATED

Esami di criminalistica

Il profilo genetico può dirci se un soggetto ha lasciato parte di sé su un oggetto o se è probabile che sia passato da un certo posto.

E' fondamentale che il sopralluogo giudiziario sia compiuto con le dovute cautele per evitare contaminazioni.



La repertazione e conservazione del reperto è fondamentale per ottenere risultati attendibili dalle analisi del DNA.

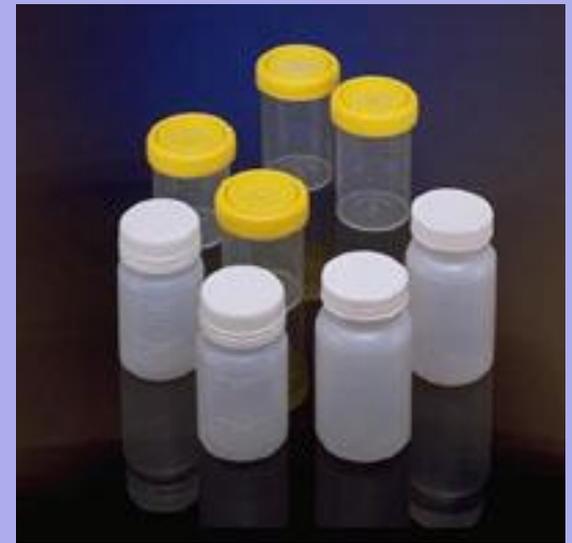
Impiego di materiale dedicato per la repertazione e conservazione del campione biologico



Sistemi di protezione



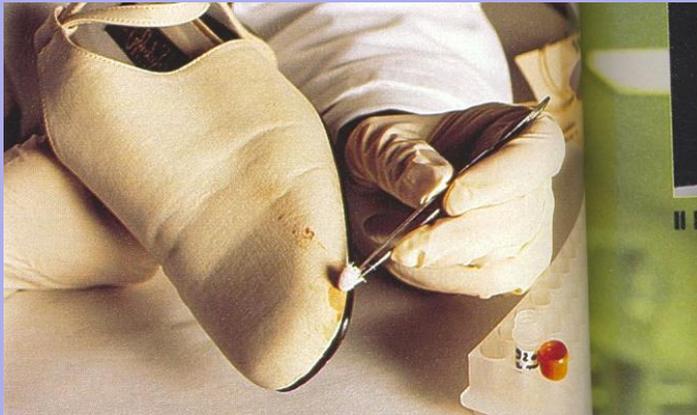
Tamponi sterili



Contenitori idonei

Esami di criminalistica

E' sufficiente una piccola parte del campione per le analisi



Molto spesso è quindi possibile compiere accertamenti ripetibili
(art. 359 c.p.p. e art. 327 bis c.p.p.).

PERCHE' IN CRIMINALISTICA 13-15 MARCATORI AUTOSOMICI SONO RITENUTI SUFFICIENTI?

	D8	D21	D7	CSF	D3	TH01	D13	D16	vWA	TPO	D18	D5	FGA
Cam	13, 14	29, 30	10, 11	11, 12	15, 16	6, 7	11, 12	11, 12	16, 17	8, 8	12, 14	11, 12	21, 22
Freq	13%	11%	12%	20%	13%	13%	18%	17%	12%	28%	5%	22%	6%

Frequenza del profilo stimata in una popolazione italiana

1 su 200.000.000.000

La probabilità di discriminare *a priori* un soggetto falsamente accusato di aver lasciato quella traccia è > 99,999%

IN CRIMINALISTICA E' MOLTO UTILE
STUDIARE ALCUNE CARATTERISTICHE DEL DNA

Il cromosoma Y

UOMO X, Y

DONNA X, X



L'esame del profilo del cromosoma Y può essere molto utile quando ci sono tracce miste donna-uomo.

L'esame Y-STR favorisce l'identificazione del profilo genetico maschile nei casi di violenza sessuale

Campione	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	Amelogenina
Traccia	10, 13, 14, 15	29, 30, 32	8, 10, 11, 12	10, 11, 12	15, 16, 17	6, 7, 9	X-Y
Vittima	10, 13	29, 30	8, 11	10, 12	16, 17	7, 9	X-X
Sospetto	14, 15	29, 32	10, 12	11, 11	15, 16	6, 9	X-Y

Campione	DYS391	DYS389-I	DYS439	DYS389-II	DYS438	DYS437
Traccia	10	14	11	31	10	14
Vittima	-	-	-	-	-	-
sospetto	10	14	11	31	10	14

Tuttavia...

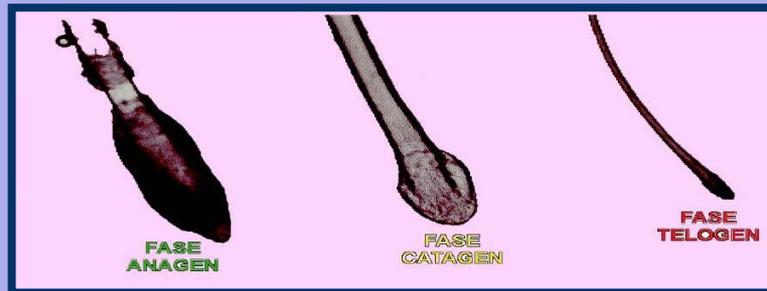
- Uomini discendenti da uno stesso padre non possono essere discriminati tra loro con l'esame del cromosoma Y;
- Ci sono pochissimi dati di popolazione sui marcatori del cromosoma Y.

Utile per le esclusioni, ma bassa la probabilità di match

IN CRIMINALISTICA E' MOLTO UTILE
STUDIARE ALCUNE CARATTERISTICHE DEL DNA

DNA mitocondriale

cellule prive
di nucleo



DNA nucleare scarso
e/o degradato



Tuttavia...

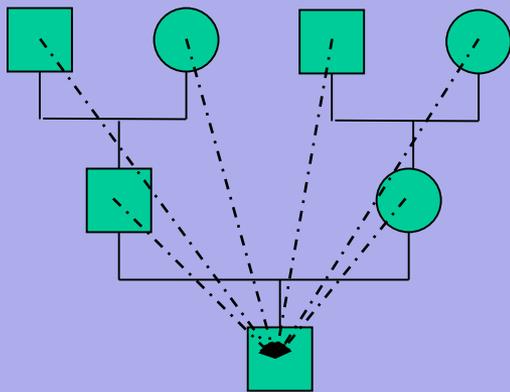
- Tutti i soggetti imparentati per via materna hanno lo stesso DNA mitocondriale;
- Ci sono pochissimi dati di popolazione sul DNA mitocondriale.

Utile per le esclusioni, ma bassa la probabilità di match

IN CRIMINALISTICA E' MOLTO UTILE
STUDIARE ALCUNE CARATTERISTICHE DEL DNA

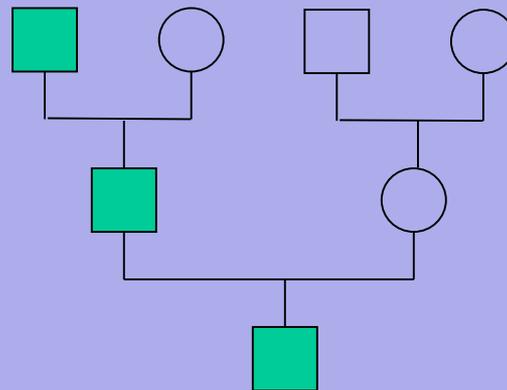
L'EREDITARIETA'

Marcatori autosomici

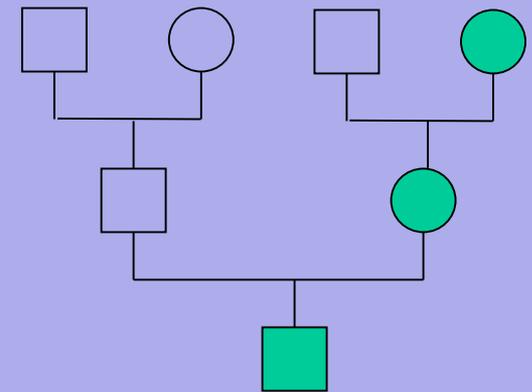


Autosomici
(trasmessi in parte da tutti
gli antenati)

Marcatori parentali



Cromosoma Y
(trasmesso intero,
ma solo tra maschi)



DNA mitocondriale
(trasmesso intero,
ma solo dalle femmine)

Y-STR utili nei casi di persone scomparse

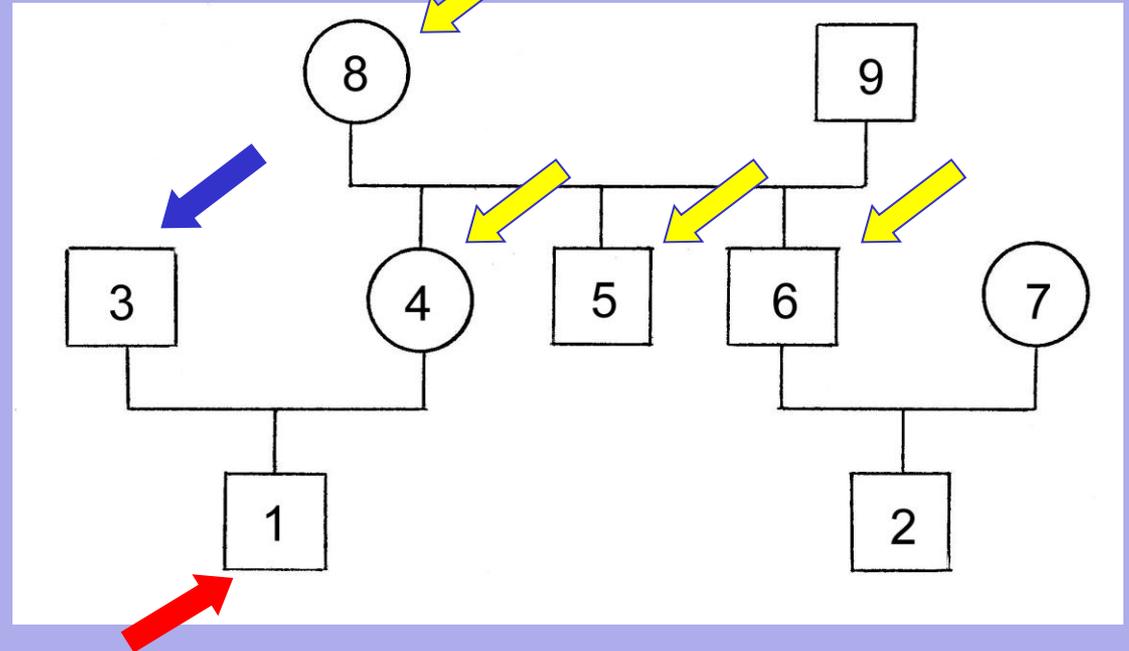


?

**Cugino terzo
paterno**

Accertamenti indiretti

Acquisire informazioni sul DNA attraverso parenti del sospetto



 **Cromosoma Y**

 **DNA mitocondriale**

CHE COSA **NON** PUO' DIRE IL TEST DEL DNA

- i tempi e modi di deposizione della traccia biologica

A + B: traccia mista



Quando e come si è formata la traccia?

Tre giorni fa, ieri, stamani?

Prima A e poi B?

Prima B e poi A?

Contemporaneamente?

Applicazioni di genetica forense

marginii di errore e limiti delle analisi del DNA

Identificazione della natura e dell'origine di un campione

Applicazioni pratiche del test del DNA

Analisi su oggetti toccati

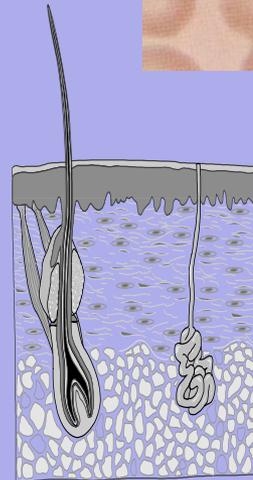
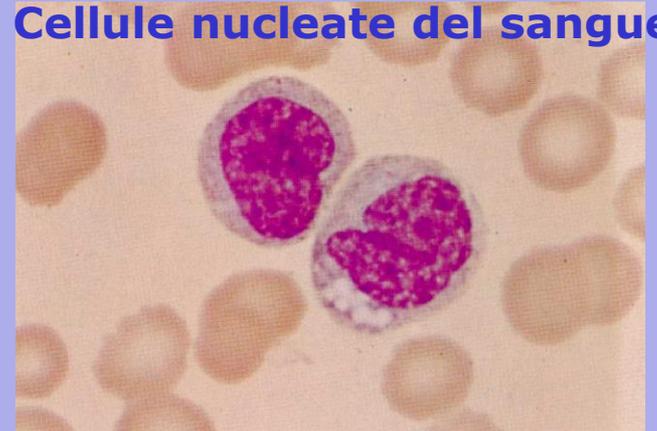
Le analisi su DNA degradato

Campioni biologici ordinari

Si può trovare DNA praticamente in tutti i materiali biologici



Cellule nucleate del sangue

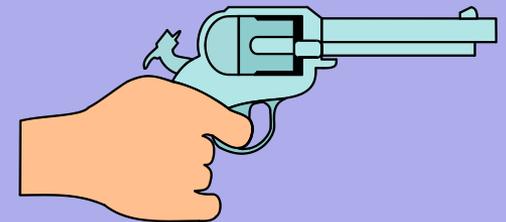


Altri oggetti potenziali fonti di DNA

DNA per contatto = da poche a 50 cellule



- Impronte digitali;
- colletti di camicie, maglie, indumenti in genere;
- passamontagna, caschi da moto;
- orologi, anelli, stanghette di occhiali;
- oggetti impugnati, matite, penne, armi bianche, armi da fuoco ecc.



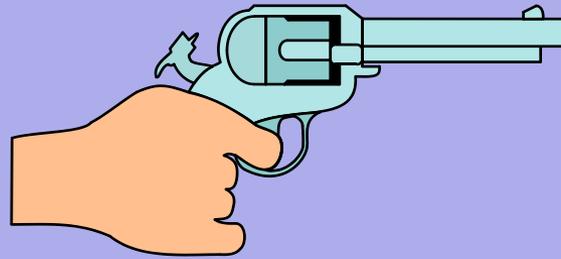
Le analisi con basso numero di copie di DNA (Low Copy Number - LCN) sono difficili

Si tratta quasi sempre di accertamenti irripetibili
(art. 360 c.p.p. ed art. 391 decies c.p.p.).

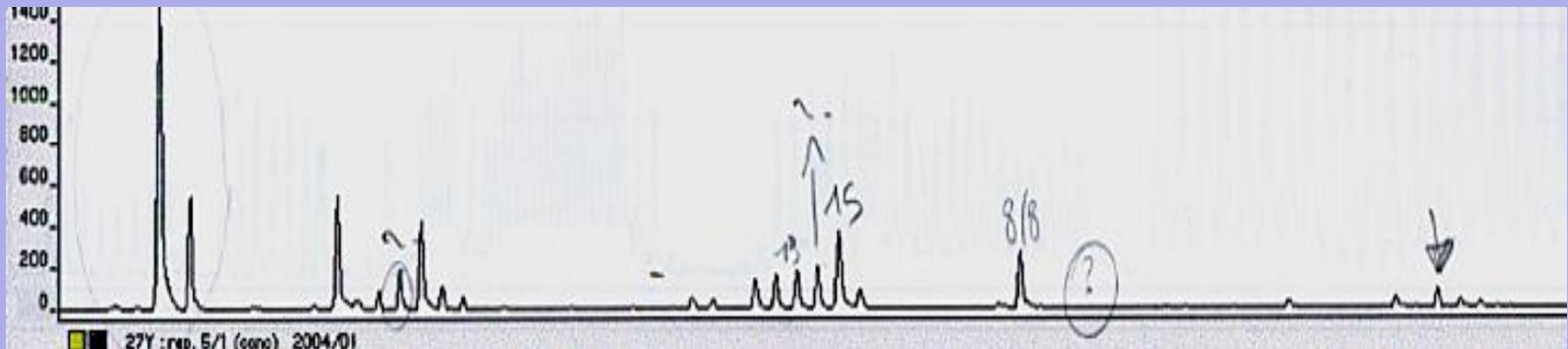
LCN ha diversi limiti, specialmente quando non si possono effettuare ripetizioni dell'esame (tracce esigue), per verificare la riproducibilità dei risultati.

Il danneggiamento del DNA può simulare l'effetto LCN.

Profili con basso numero di copie di DNA (Low Copy Number - LCN)



Chi ha impugnato l'arma del delitto?



Profili complessi da interpretare!

Esistono differenti tipi di donatori

La capacità di lasciare tracce biologiche su un oggetto toccato è donatore-dipendente

Buoni donatori - lasciano molte cellule quando toccano un oggetto.

Cattivi donatori - lasciano poche cellule quando toccano un oggetto.

Applicazioni di genetica forense

marginii di errore e limiti delle analisi del DNA

Identificazione della natura e dell'origine di un campione

Applicazioni pratiche del test del DNA

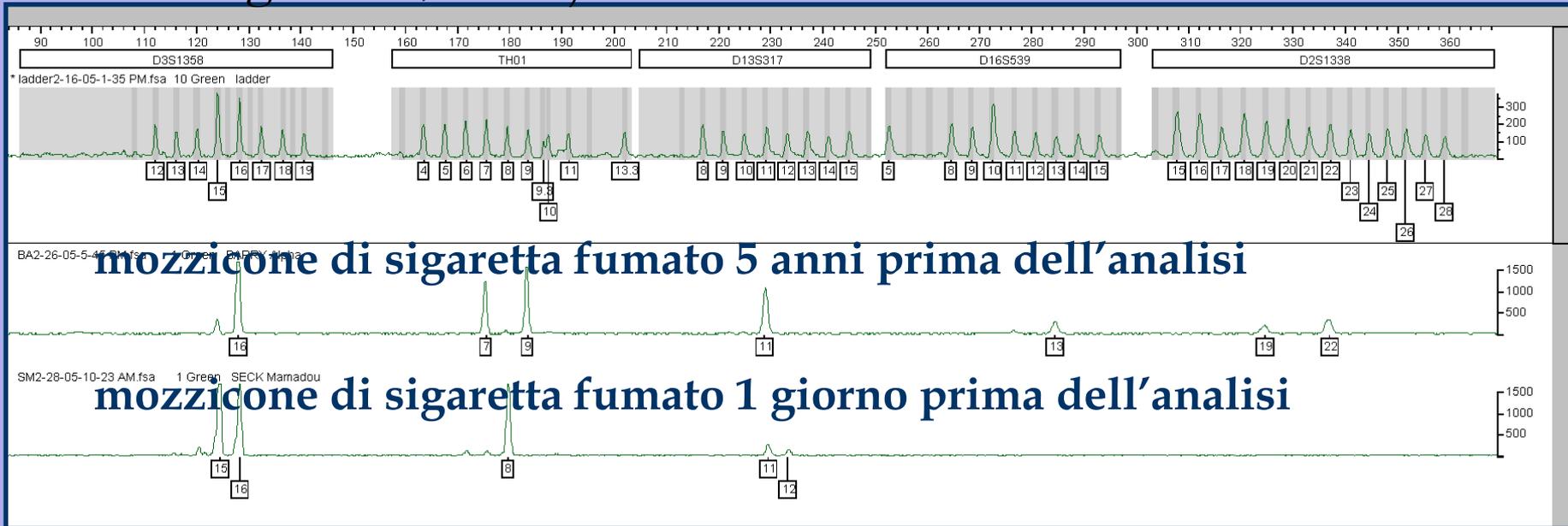
Analisi su oggetti toccati

Le analisi su DNA degradato

La degradazione

La qualità di un profilo genetico dipende dal grado di integrità delle molecole di DNA.

La degradazione del DNA dipende dal tempo, ma soprattutto dalle condizioni di conservazione del reperto (temperatura, umidità, azione di microorganismi, etc...)



Degradazione

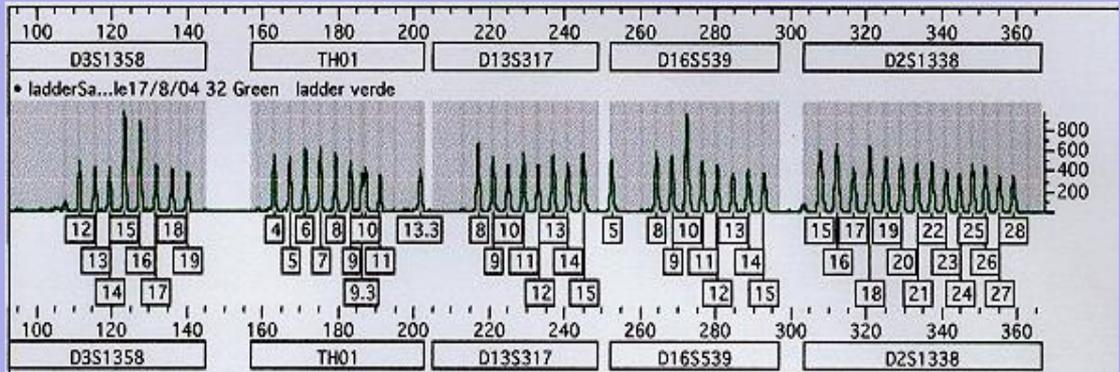
4 diverse analisi dello stesso campione

↓ Alleli aggiuntivi

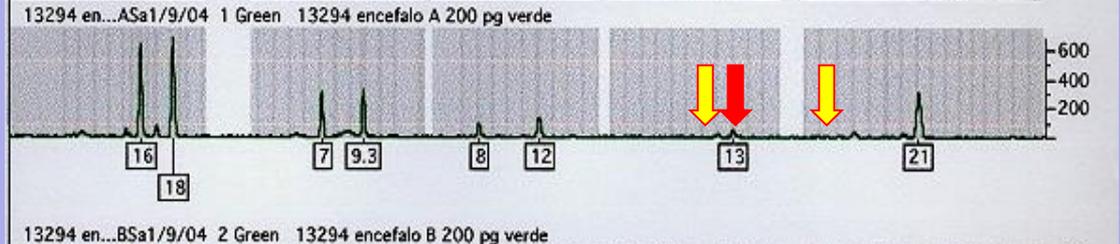
↓ Alleli mancanti

A, B e C: campioni degradati artificialmente

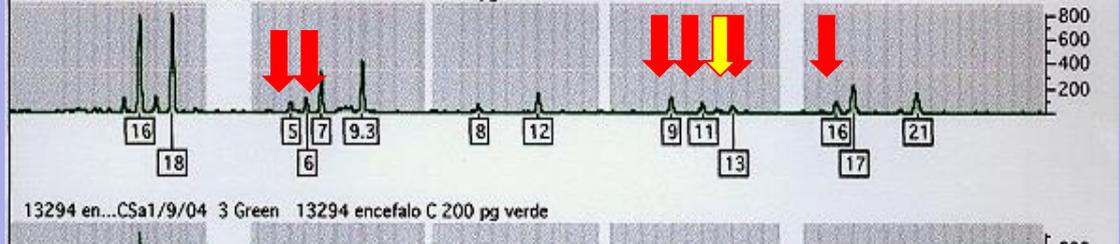
A



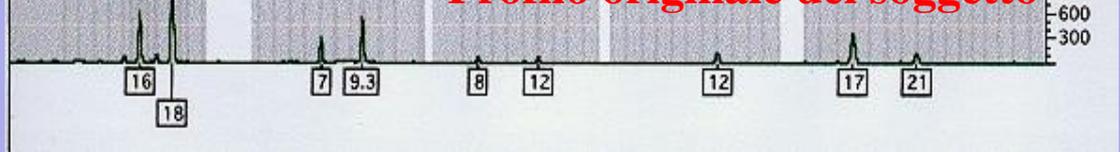
B



C



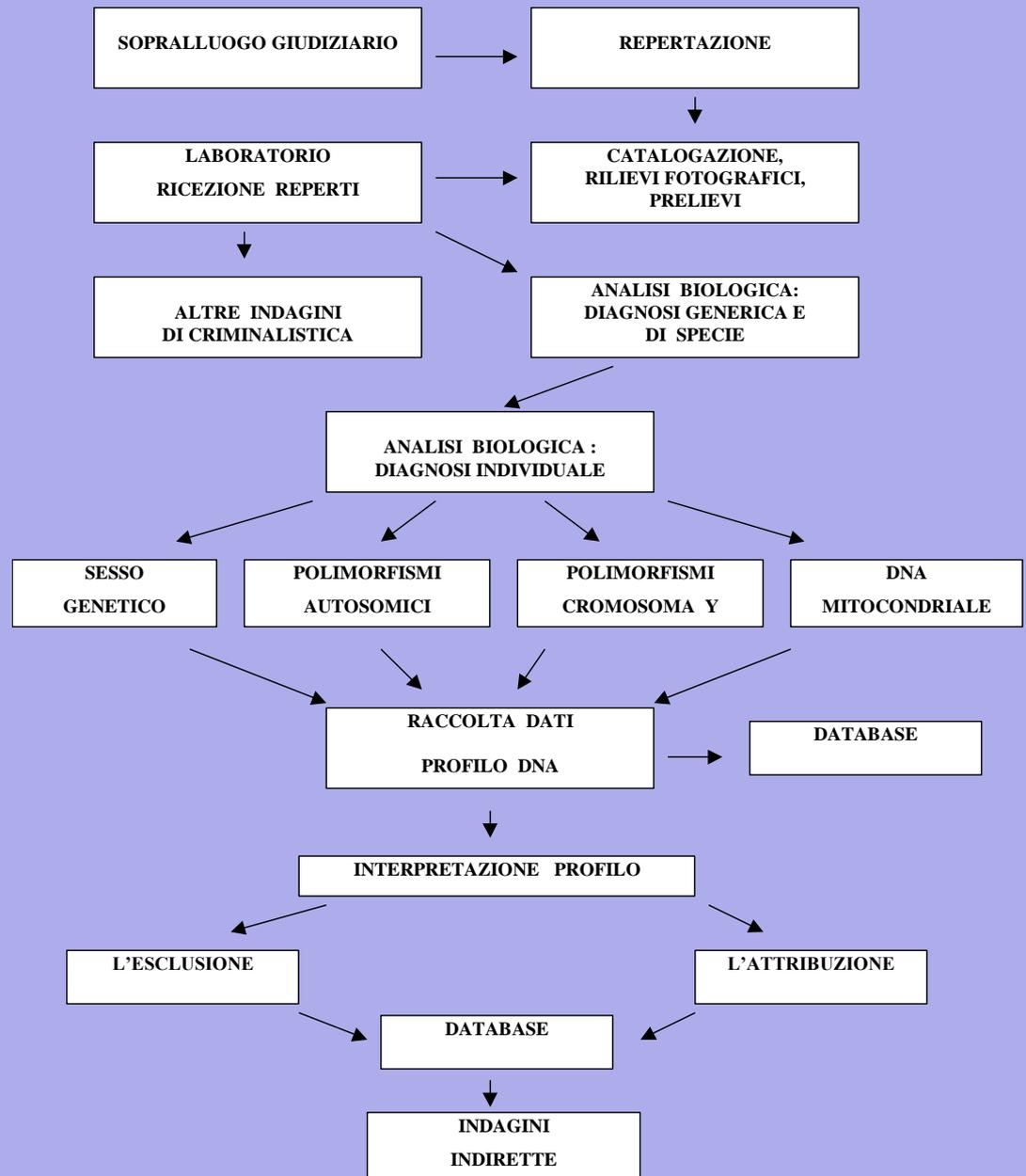
D



Profilo originale del soggetto

Gli errori

Il miraggio della prova assoluta non esiste: è indispensabile mettere in conto la possibilità di un errore umano.



I limiti del test del DNA

Gemelli identici non possono essere distinti con il DNA.

Campioni degradati e/o contaminati, tracce miste eccessivamente complesse possono fornire risultati non interpretabili.

Il test del DNA è quasi sempre un esame comparativo.

ATTENZIONE: il campione biologico si può facilmente trasportare da un luogo all'altro.

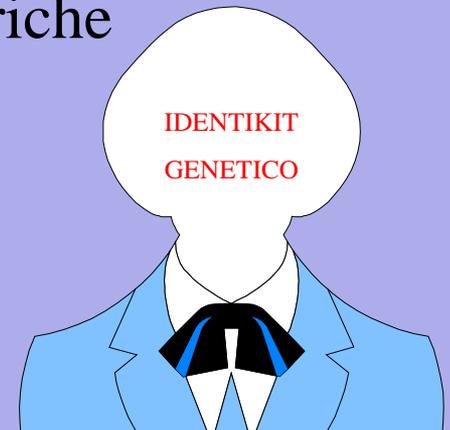
CHE COSA PUO' DIRE *A PRIORI* IL TEST DEL DNA?

OGGI

Il sesso dell'individuo che ha depositato la traccia biologica

DOMANI (**FORSE...**)

- informazioni riguardo alle origini etniche di chi ha depositato la traccia biologica
- informazioni sulle caratteristiche antropometriche di chi ha depositato la traccia biologica



Altre curiosità...



N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	11-11	9-10	7-10	8-11

I costi

Il costo dei prodotti di laboratorio per ottenere un profilo genetico da un campione “ordinario” è intorno ai 30 €.

I maggiori costi di una consulenza genetico-forense sono dovuti alle altre attività e al tempo richiesto al consulente.



N°	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	10-10	11-11	9-10	7-10	8-11

I tempi

Possono essere necessari diversi giorni per analizzare un solo campione, se particolarmente contaminato e/o degradato.

Ma il profilo genetico da un campione “ordinario” può essere ottenuto in tempi molto rapidi, circa 4 ore.

Costi contenuti e tempi rapidi favoriscono la realizzazione delle banche dati forensi del DNA

Anno di attivazione	Nazione
1995	Inghilterra
1996	Irlanda del Nord, Scozia
1997	Paesi Bassi, Austria
1998	Germania, Slovenia
1999	Finlandia, Norvegia
2000	Danimarca, Svizzera, Svezia, Croazia, Bulgaria
2001	Francia, Repubblica Ceca
2002	Belgio, Estonia, Lituania, Slovacchia
2003	Ungheria, Lettonia
in preparazione Polonia, Portogallo, Spagna, Grecia, Irlanda, ex Jugoslavia, Italia	