

# **Corso di Laurea Specialistica in Biotechnologie Mediche**

**GENETICA FORENSE E DI POPOLAZIONI**

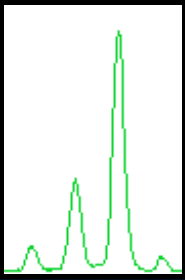
**Anno Accademico 2009-20010**

**Docenti: Maurizio Genuardi**

**Ugo Ricci**

# Tipi di STR

dinucleotidi

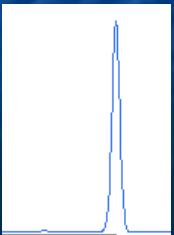


Alte stutter



Basse stutter

tetranucleotidi



- Dinucleotide (CA)(CA)(CA)(CA)
- Trinucleotide (GCC)(GCC)(GCC)
- Tetranucleotide (AATG)(AATG)(AATG)
- Pentanucleotide (AGAAA)(AGAAA)
- Hexanucleotide (AGTACA)(AGTACA)

In genetica forense si utilizzano quasi tutti tetranucleotidi.

## Categorie di marcatori STR

Categoria	Esempio di sequenza ripetuta	13 CODIS Loci
<b>Ripetizioni semplici</b> – contiene unità di identica lunghezza e sequenza	(GATA)(GATA)(GATA)	TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317, D16S539
<b>Ripetizioni semplici con alleli non consenso</b> (p. es., TH01 9.3)	(GATA)(GAT-)(GATA)	TH01, D18S51, D7S820
<b>Ripetizioni composte</b> – comprende due o più ripetizioni semplici adiacenti	(GATA)(GATA)(GACA)	VWA, FGA, D3S1358, D8S1179
<b>Ripetizioni complesse</b> – contiene diversi blocchi ripetuti di lunghezza variabile	(GATA)(GACA)(CA)(CATA)	D21S11



# Microsatelliti e patologie genetiche

## Corea di Huntington

**Sintomi:** una malattia genetica degenerativa ereditaria che colpisce il sistema nervoso.

**Microsatelliti coinvolti:** ripetizione **CAG** nel primo esone del gene HD (cromosoma 4).

Geni normali contengono da 6 a 35 ripetizioni; geni alterati variano da 36 a 121 ripetizioni.

Il microsatellite aggiunge una stringa di aminoacidi glutamina alla proteina **Huntingtina**.

## Fragile X

**Sintomi:** La Sindrome dell' X-Fragile (FraX) è la causa di ritardo mentale ereditario più frequente. Circa 1:4000 maschi nella popolazione generale sono affetti dalla sindrome. La malattia è dovuta all'alterazione (mutazione) di un gene situato sul cromosoma X.

**Microsatelliti coinvolti:** ripetizione **CGG** nel gene FMR1 (cromosoma X).

Geni normali hanno da 6 a 53 ripetizioni; geni alterati variano da 60 a 200 (premutazione) o sopra le 200 (mutazione completa).

## Distrofia miotonica

**Sintomi:** La distrofia miotonica è la forma più frequente di distrofia nell'adulto, anche se a volte esordisce nell'infanzia. La malattia è caratterizzata da perdita progressiva della forza muscolare e da miotonia.

**Microsatelliti coinvolti:** ripetizione **CTG** in una regione non codificante del gene DMPK (cromosoma 19).

Geni normali hanno da 5 a 37 ripetizioni; geni alterati variano da 50 a 1000 copie.

## Microsatelliti e genetica forense

Gli STR usati in genetica forense non danno alcuna informazione riguardo a malattie genetiche, né a predisposizione all'insorgenza di patologie.

Se un marcatore correla in qualche modo con caratteristiche cliniche, non viene più usato in genetica forense.

Int J Legal Med (2005) 119: 179–180  
DOI 10.1007/s00414-005-0525-0

### LETTER TO THE EDITOR

Reinhard Szibor · Sandra Hering · Jeanett Edelmann

**The HumARA genotype is linked to spinal and bulbar muscular dystrophy and some further disease risks and should no longer be used as a DNA marker for forensic purposes**

# Short Tandem Repeats

## ■ Vantaggi

- possibilità di analizzare tracce degradate perchè gli ampliconi prodotti sono di basso peso molecolare (100-350 bp);
- possibilità di allestire sistemi multiplex per l'analisi contemporanea di più STR;
- facile classificabilità;
- possibilità di gestire le informazioni in banche dati;
- disponibilità di kit commerciali.

VNTR      ➡      STR      ➡      miniSTR

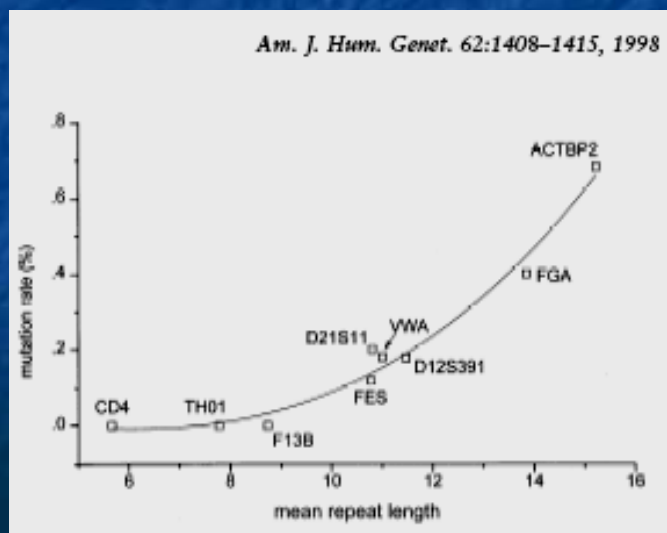
—————→  
Probabilità di ottenere un profilo riproducibile



# Mutazioni loci STR

## Hanno influenza nei test di paternità

- Le mutazioni avvengono e necessitano di essere considerate
- Circa 1 su 1.000 meiosi ( $7 \times 10^{-3}$ ) (Brinkmann et al. 1998)
- Mutazioni paterne in genere più alte delle materne
- TH01, TPOX e D16S539 hanno livelli più contenuti e ciò correla con un numero contenuto di ripetizioni ( $\leq 9$ );
- VWA, FGA e D18S51 hanno livelli più alti e ciò correla con un numero elevato di ripetizioni ( $\geq 10$ );
- Alleli con unità irregolari tuttavia mutano meno degli altri.



Number of Meioses and Mutations, Compared with the Mutation Rate and the Heterozygosity Rate of the Nine STR Loci

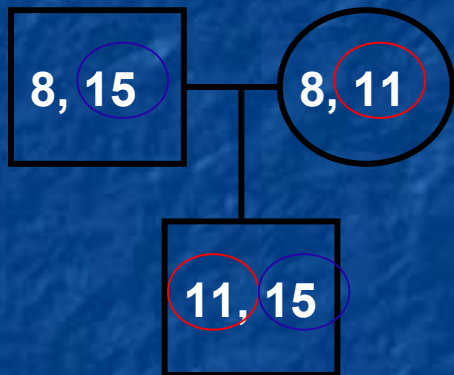
Locus	Mean Length <sup>a</sup>	No. of Meioses <sup>b</sup>	No. of Mutations	Mutation Rate (%)	Heterozygosity Rate <sup>c</sup>
CD4	5.66	969	0	.0	.67
F13B	8.74	1,033	0	.0	.67
TH01	7.78	2,008	0	.0	.78
FES	10.79	850	1	.117	.65
VWA	10.8	2,013	4	.199	.81
D12S391	11.47	562	1	.178	.87
D21S11	11.0	557	1	.18	.86
FGA	13.84	1,246	5	.401	.86
ACTBP2	15.21	1,608	11	.684	.93

<sup>a</sup> The geometric mean of the number of uninterrupted repeats in the variable stretch.

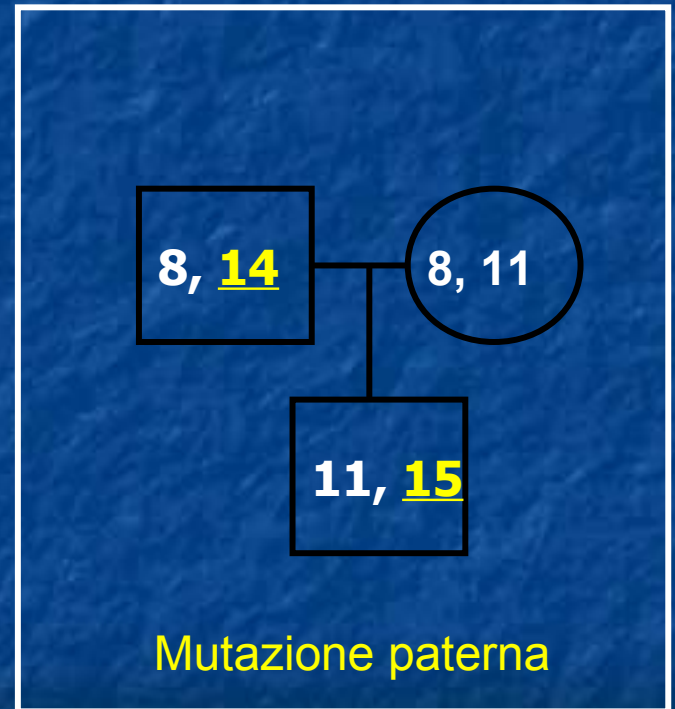
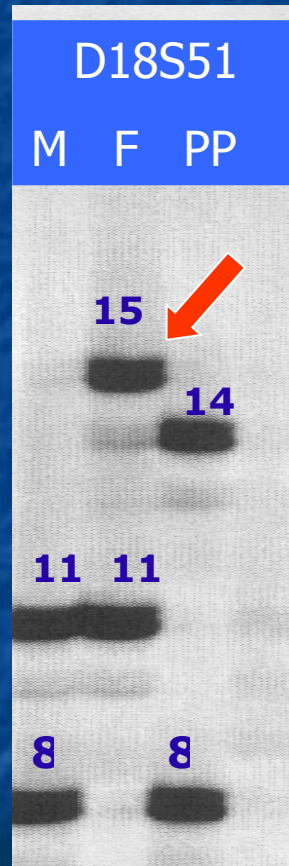
<sup>b</sup> Total paternal and maternal allelic transfers.

<sup>c</sup> With regard to the German population sample in this study.

# Mutazione osservata in una triade familiare



Normale trasmissione di alleli  
(Nessuna mutazione)



Mutazione paterna



# Modello per le mutazioni

## Probabilità di mutazione relativa



## Modello ipotizzato:

$$\mu_s = \mu / 2 \quad \text{se } s = \pm 1$$

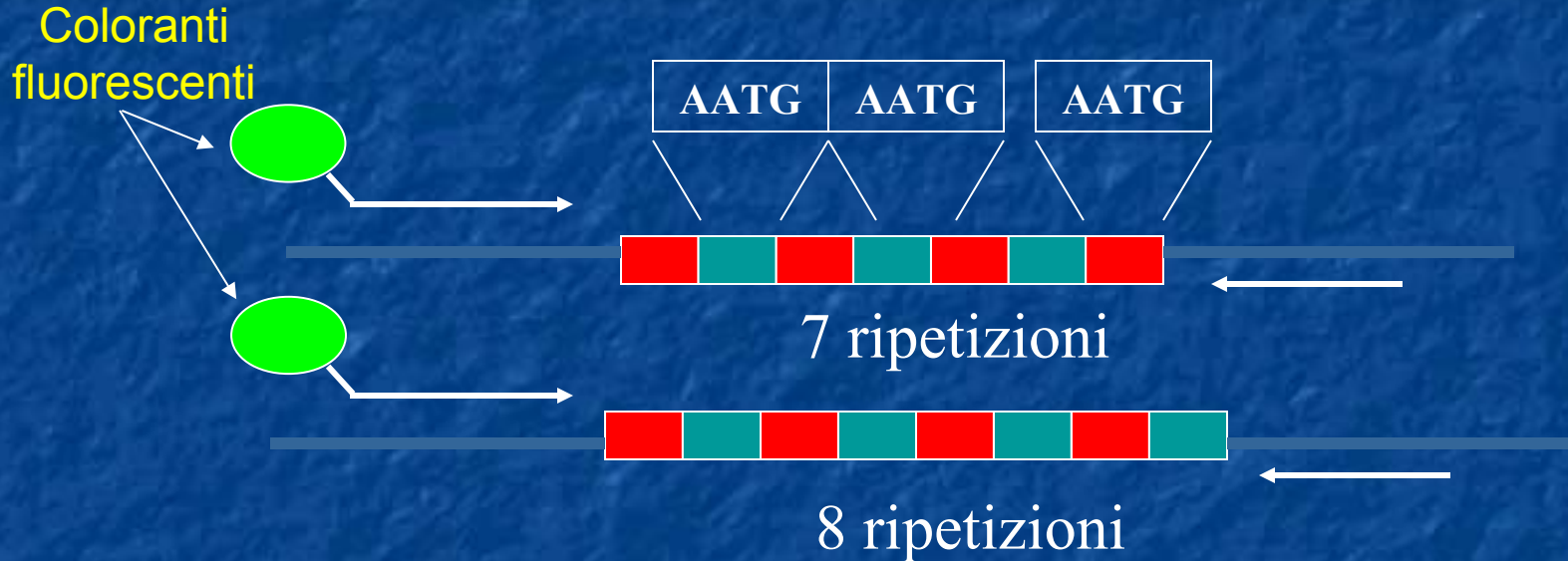
$$\mu_s = \mu / 20 \quad \text{se } s = \pm 2$$

etc.

dove  $\mu$  = rapporto di mutazione totale.

**50% delle mutazioni incrementa di uno step**  
**50% delle mutazioni decrementa di uno step**  
**5% incrementa di due step**  
**5% decrementa di due step**  
**0.5% incrementa di tre step**  
**0.5% decrementa di tre step**  
**... etc.**

# Polimorfismi di lunghezza



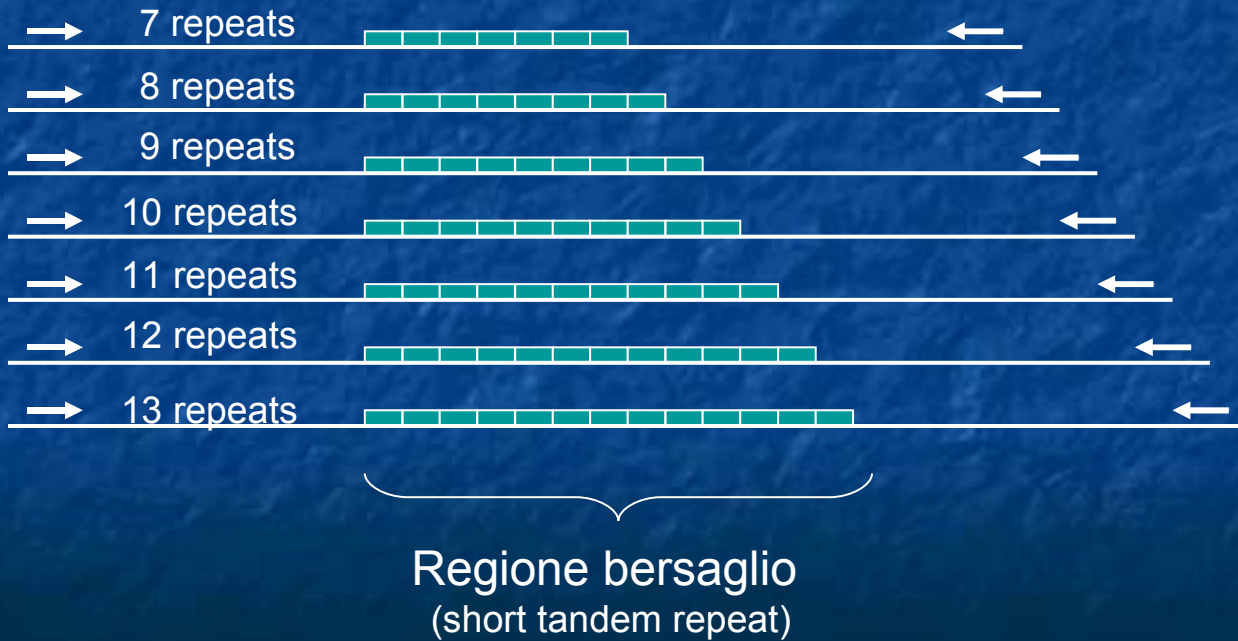
La regione ripetuta è variabile tra campioni mentre le regioni fiancheggianti ove si legano i primer sono costanti.

**La posizione del primer determina la lunghezza del frammento di amplificazione!**

# Microsatelliti o Short Tandem Repeat (STR)

TCCCAAGCTCTTCCTCCTTCCCTAGATCAATACAGACAGAAGACA  
GGTG**GATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATA**  
**TAGATAGATA**TCATTGAAAGACAAAACAGAGATGGATGATAGAT  
ACATGCTTACAGATGCACAC

**= 12 GATA repeats (classificazione allele 12)**





# Nomenclatura per i microsatelliti

Nell'ottobre 1994, la DNA Commission of the International Society of Forensic Haemogenetics (ISFH) raccomandò l'attuale classificazione degli STR.

*Bar, W., Brinkmann, B., Lincoln, P., Mayr, W.R. and Rossi, U. (1994) DNA recommendations-1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) systems. Int. J. Leg. Med. 107: 159-160.*

Ciascun allele viene quindi indicato in base al numero di sequenze ripetute che contiene.

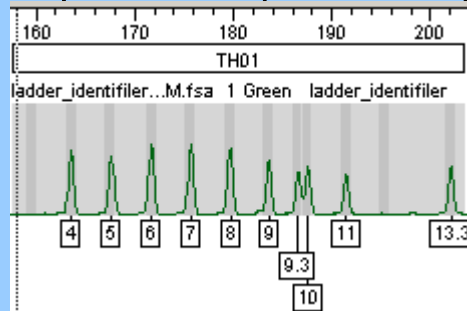
<b>Allele (Repeat #)</b>	<b>Set 1</b>	<b>Set 2</b>	<b>Set 3</b>	<b>Struttura del repeat</b>
<b>7</b>	<b>206 bp</b>	<b>138 bp</b>	<b>222 bp</b>	<b>[ATTT]7</b>
<b>8</b>	<b>210 bp</b>	<b>142 bp</b>	<b>226 bp</b>	<b>[ATTT]8</b>
<b>9</b>	<b>214 bp</b>	<b>146 bp</b>	<b>230 bp</b>	<b>[ATTT]9</b>
<b>10</b>	<b>218 bp</b>	<b>150 bp</b>	<b>234 bp</b>	<b>[ATTT]10</b>

# Nomenclatura per i microsatelliti

Quando un allele non è conforme al motivo ripetuto standard del sistema esso deve essere indicato dal numero delle ripetizioni complete e dal numero delle paia di basi della ripetizione parziale, separata da un punto decimale.

Allele (Repeat #)	Set 1, 4	Set 2	Set 3	Set 5	Set 6	Struttura del repeat
9	195 bp	170 bp	254 bp	184 bp	176 bp	

La ISFH raccomanda inoltre l'uso di scale alleliche (ladder) contenenti i più comuni alleli nella popolazione, stabiliti in base alle dimensioni ed alla sequenza.



# Artefatti biologici dei microsatelliti

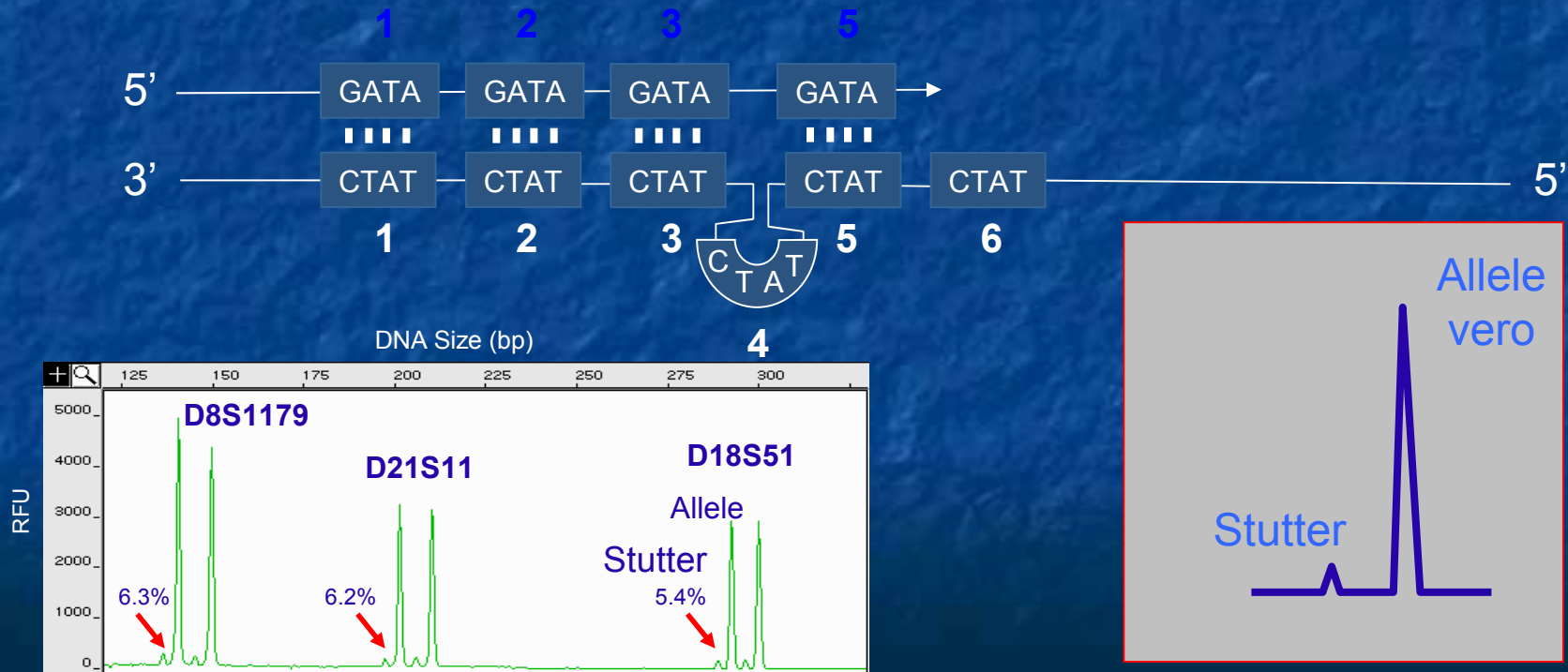
- Prodotti stutter
- Alleli spuri
- Allele e locus drop-out (ADO)
- Sbilanciamento dei picchi



# Artefatti biologici dei microsatelliti

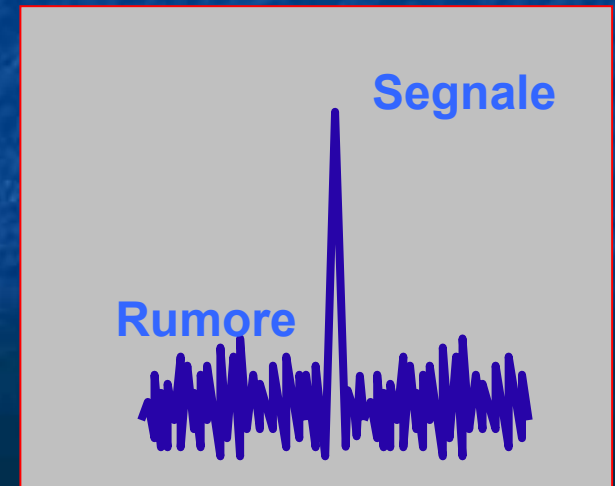
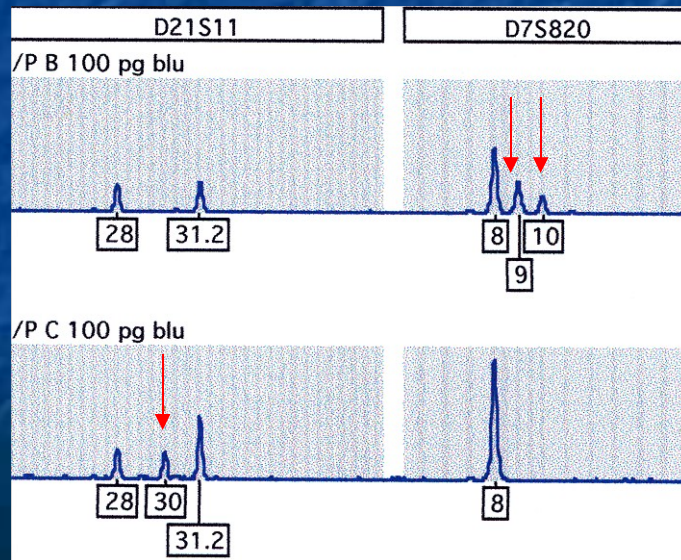
- Prodotti stutter – sono prodotti allelici di una ripetizione più corta dell'allele di riferimento, dovuti a slippage della polimerasi durante l'amplificazione. Nelle normali condizioni di PCR (28 cicli) l'area del picco della stutter non supera il 15% dell'area del picco di riferimento.

## Meccanismo per la formazione di stutter



# Artefatti biologici dei microsatelliti

- Alleli spuri – sono alleli accessori che di solito dipendono dalla contaminazione del reperto e/o da inquinamento dei reattivi, da fenomeni elettrici o da errori della Polimerasi. Possono essere svelati da una successiva riamplicazione del campione poichè un allele spurio ha una probabilità non superiore allo 0,3% di essere amplificato in successivi esperimenti.



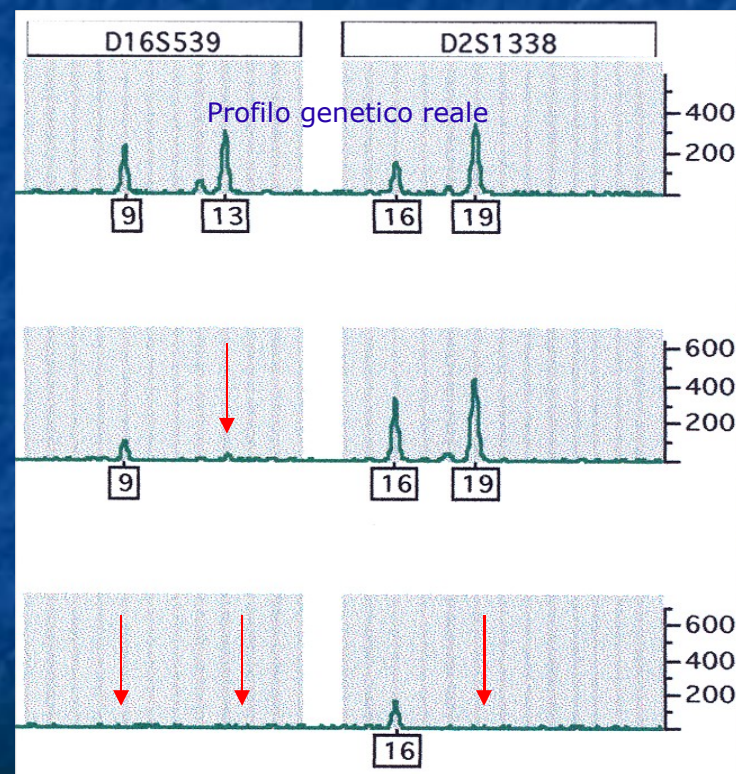
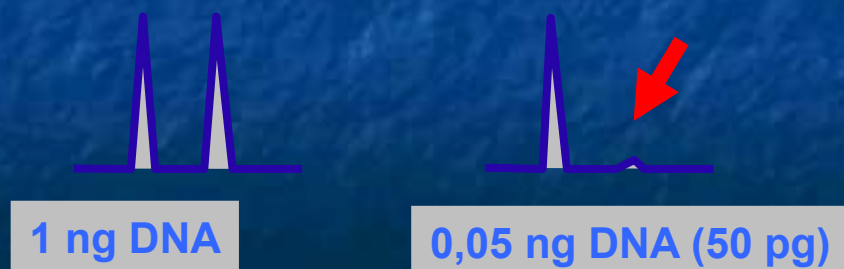


# Artefatti biologici dei microsatelliti

Allele e locus drop-out (ADO)– il fenomeno consiste nella perdita di alleli o di loci durante l'amplificazione poichè vi è la tendenza ad amplificare preferenzialmente alleli e loci a più basso peso molecolare.

Aumenta al diminuire della quantità di DNA iniziale e può anche essere dovuto:

- 1) alla degradazione del DNA che rende la PCR refrattaria a rompere i legami in entrambi i filamenti
- 2) ADO risulta dall'inaccessibilità del DNA template a causa delle condizioni imperfette di PCR o dall'incompleta lisi cellulare (Piyamongkol W. et al. Mol Hum Reprod 2003, 9; 7:411-420)





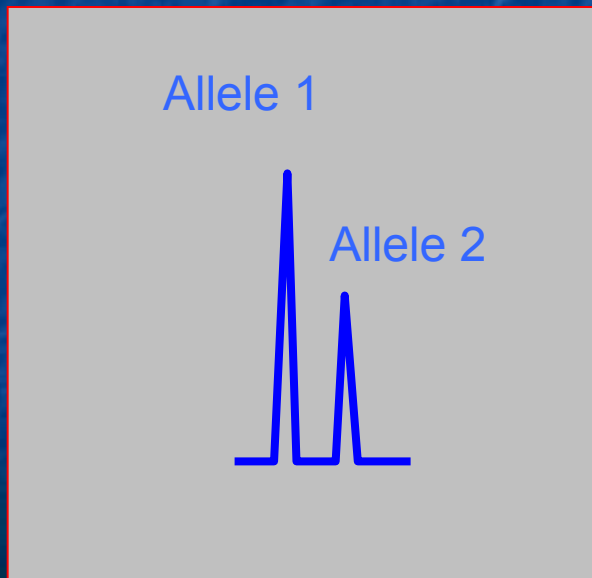
## Artefatti biologici dei microsatelliti

- Sbilanciamento dei picchi- si intende una asimmetria dei picchi degli eterozigoti che trova origine nelle stesse alterazioni della cinetica di amplificazione che determina il fenomeno del drop-out:

$(\Phi_a - \Phi_b) / \Phi_a \geq 0,2$  dove

$\Phi_a$  = area del picco più grande

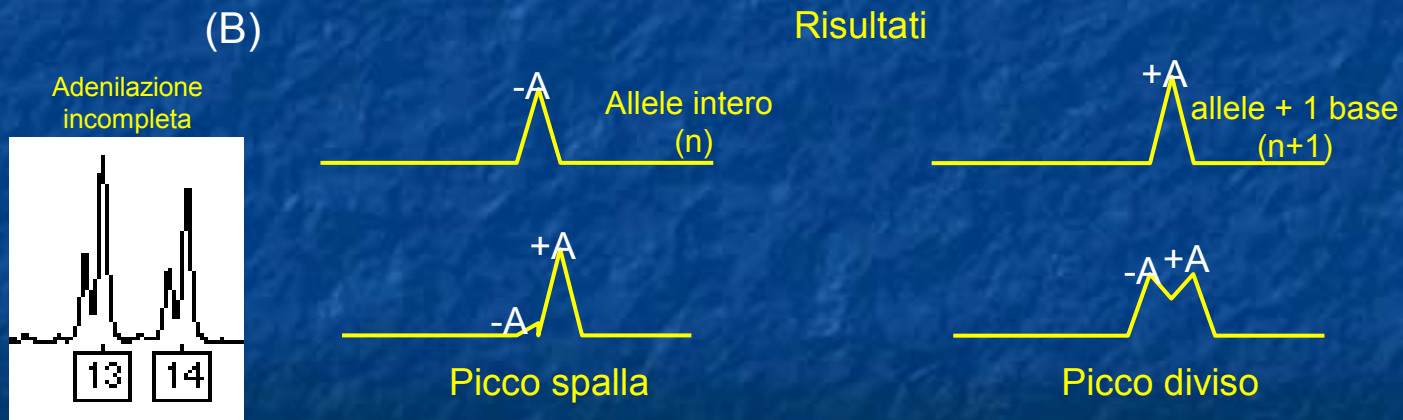
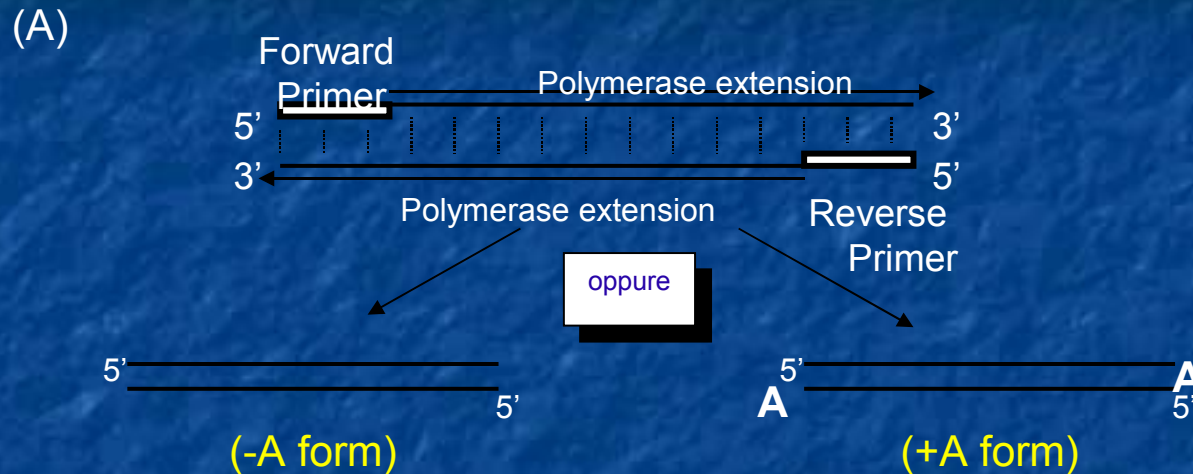
$\Phi_b$  = area del picco più piccolo



Aumenta al diminuire della quantità di DNA iniziale

# Addizione nucleotidica non influenzata dal template

Le DNA polimerasi usate nella PCR aggiungono spesso un extra nucleotide (quasi sempre una adenosina) al terminale 3' del prodotto di PCR.



D8S1179

Con una estensione finale di circa 60' nella PCR si promuove la forma +A, con migliore individuazione dei picchi.

# Possibili difficoltà interpretative per alleli che si differenziano per una sola base di lunghezza

Locus TH01

allele 9.3 freq. 25%

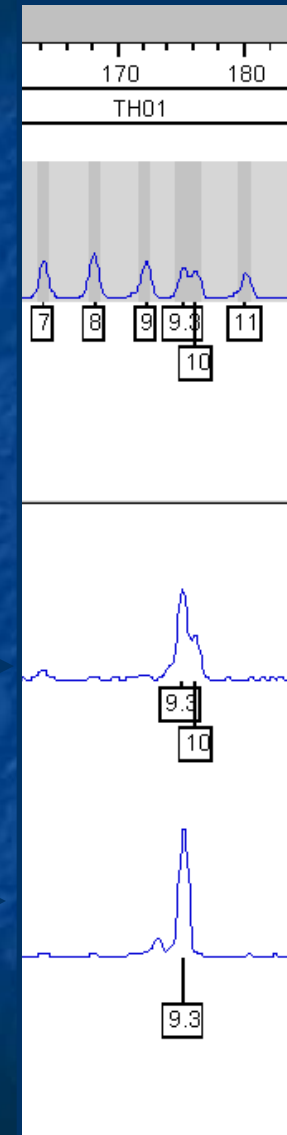
allele 10 freq. 3%

1 sola base di differenza tra i due alleli

Identità di genotipi  
o sdoppiamento del  
picco allelico in B?

Traccia B

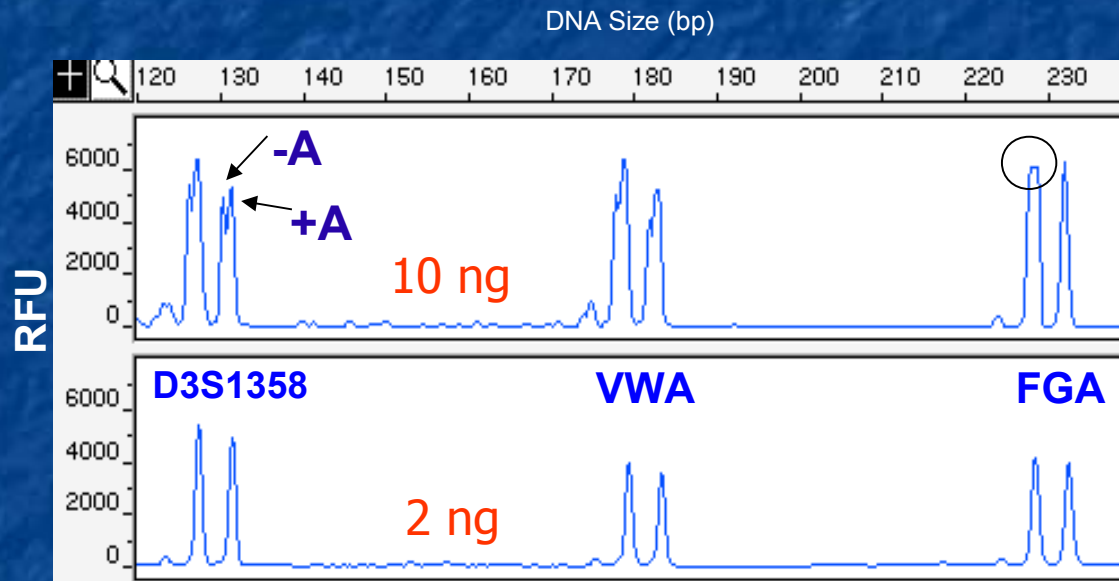
Traccia A





# Conduzione della PCR

## Addizione nucleotidica non influenzata dal template e quantità di DNA iniziale



Un aumento della quantità di DNA template nella reazione iniziale incrementa l'adenilazione incompleta.

**Polimorfismi del cromosoma Y**

**DNA mitocondriale**

**Polimorfismi del cromosoma X**

## Ruolo degli X-STR nelle applicazioni forensi

- test di paternità in cui siano coinvolti consanguinei
- test di maternità in alternativa al mtDNA
- test di paternità deficitari (motherless)



# IL CROMOSOMA X

Table 1 Characteristics of ChrX STRs used in forensic practice

STR (synonym)	Localisation		MEC(II)	Het <sup>d</sup>	MEC(IV)	PD (V)	PD (VI)	Reference <sup>e</sup>
	Genetic (cM) <sup>a</sup>	RH (bin)						
DXS6857 (GATA137B03)	4.39	-	0.668	0.769	0.471	0.838	0.671	[21, 31]
DXS9895 (GATA124B04)	8.76	5	0.694	0.704	0.554	0.886	0.741	[31]
DXS8378 (GATA119B07)	-	5	0.658	0.714	0.532	0.868	0.719	[31]
DXS9902 (GATA175D03)	22.04	5	0.636	0.703	0.490	0.842	0.695	[31]
DXS7132 (GATA72B05)	83.30	16	0.687	0.883	0.557	0.883	0.731	[31]
AEA <sup>a</sup>	87.6-95.1 <sup>b</sup>	16	0.893	0.857	0.904	0.900	0.901	[13, 14, 20, 31, 32, 33]
DXS6800 (GATA31D10)	93.17	16	0.690	0.694	0.548	0.868	0.729	[31]
DXS9198 (GATA120C01)	-	16	0.741	0.745	0.516	0.903	0.769	[22, 31]
DXS6789 (GATA31F01)	103.56	20	0.762	0.746	0.564	0.893	0.741	[24, 31]
DXS101 <sup>a</sup>	-	19	0.78	0.885	0.794	0.978	0.889	[23, 31]
DXS7424 (GAT5)	-	19	0.764	0.836	0.639	0.928	0.794	[25, 31]
DXS7133 (GATA81B07)	-	20	0.575	0.658	0.422	0.800	0.635	[31]
GATA172D05	116.17	20	0.775	0.804	0.654	0.935	0.808	[31]
HPRTB	150.3-183.8 <sup>c</sup>	22-24	0.737	0.919	0.610	0.919	0.779	[20, 31, 34, 35, 36, 37]
DXS7423	-	27	0.688	0.734	0.548	0.884	0.734	[31]
DXS8377 <sup>a</sup>	-	27	0.916	0.922	0.855	0.989	0.924	[31]
DXS11001	-	27	-	-	-	-	-	[38]

Genetic localisations were obtained from the Marshfield (or NCBI) database

RH mapping data are from own investigations using the Stanford G3 DNA panel

<sup>a</sup> Trinucleotide repeat

<sup>b</sup> Distance from the Xp telomere

<sup>c</sup> From NCBI database

<sup>d</sup> Expected heterozygosity [15]

<sup>e</sup> References [21, 22, 23, 24, 31, 37] contain relevant allele or haplotype frequency data

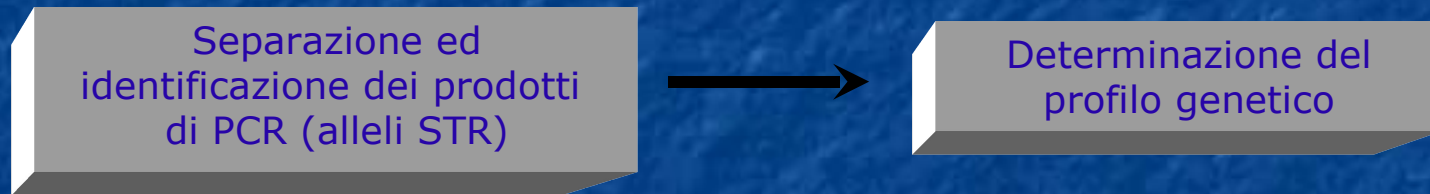
For the definition of mean exclusion chance (MEC) and power of discrimination (PD): see Table 2.

Campioni ottenuti dalla  
scena del crimine o per un  
test di paternità

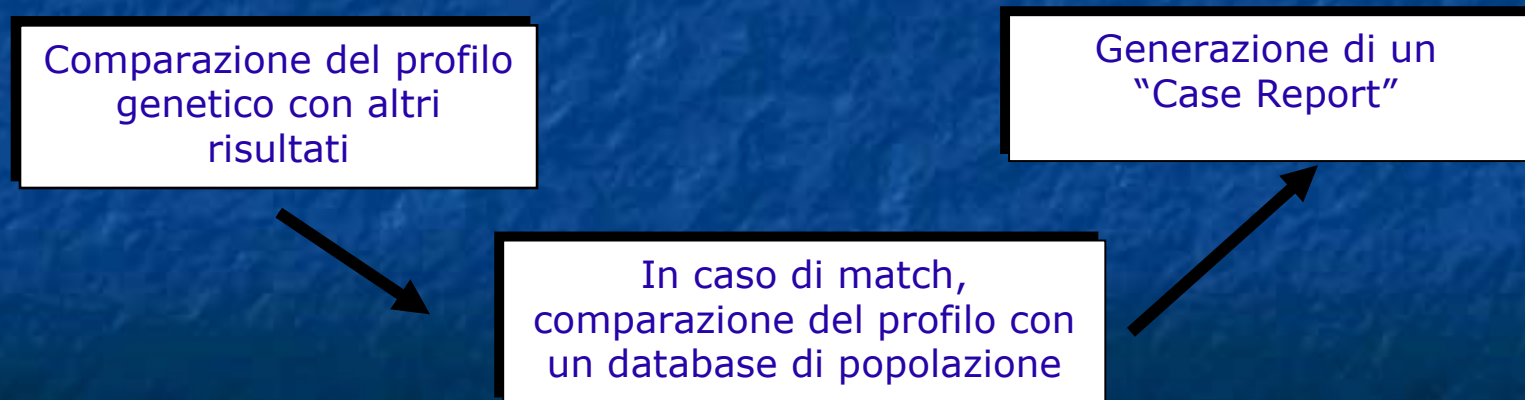
## Biologia



## Tecnologia

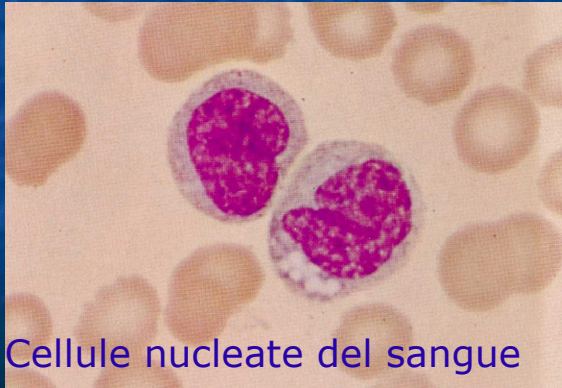


## Genetica



# Materiali biologici analizzabili

- Sangue
- Liquido seminale
- Saliva
- Urina
- Capelli
- Denti
- Ossa
- Tessuti



Cellule nucleate del sangue



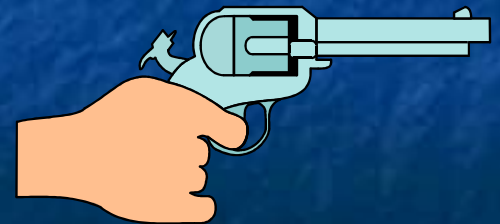
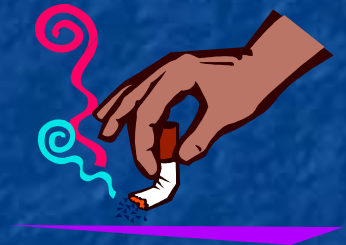
## Macchia di sangue

**E' richiesta solo  
una piccola parte  
di sangue per un  
profilo del DNA**

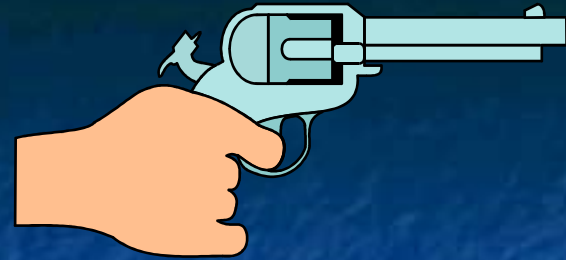


# Oggetti toccati

- 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.



## DNA con basso numero di copie (Low Copy Number)



Tracce di DNA si trovano dopo che un oggetto è stato toccato o maneggiato da qualcuno, che ha lasciato proprie cellule per contatto.

Definizione suggerita da Gill et al. (Forensic Sci Int 2000;112:17-40)  
"Tipizzazione di campioni contenenti meno di 100 pg di template DNA."

Definizione suggerita da Budowle et al. (Twelfth International Symposium on Human identification 2001):  
"L'analisi di ogni risultato sotto la soglia stocastica per una normale interpretazione."

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

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.



# IL LABORATORIO

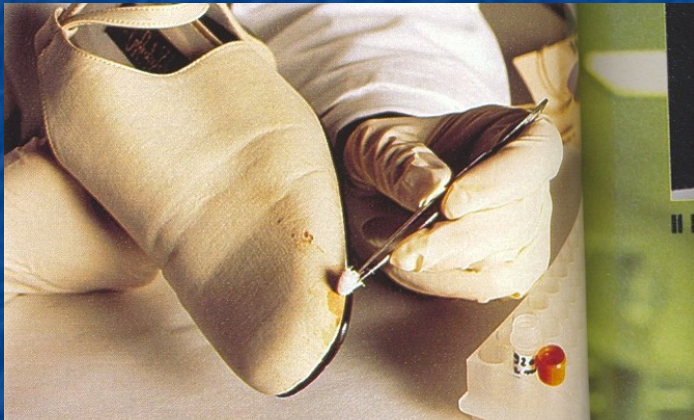
estrazione di DNA da campioni consistenti

Si utilizzano metodi ordinari di biologia molecolare per ricavare il DNA da campioni come sangue, saliva, ecc.



# Estrazione di DNA da campioni forensi

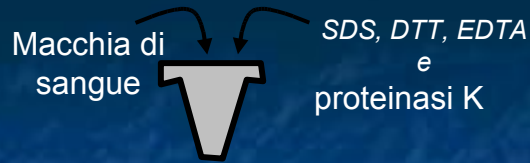
E' sufficiente una piccola parte del campione per le analisi



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



## ESTRAZIONE ORGANICA



INCUBAZIONE (56 °C)



VORTEX



Fase acquosa in nuovo tubo



Concentrazione del campione  
(Centricon/Microcon-100 o  
precipitazione in etanolo)



QUANTIFICAZIONE

**PCR**

## ESTRAZIONE CON RESINE



INCUBAZIONE (ambiente)



RIMOZIONE supernatante



INCUBAZIONE (56°C)

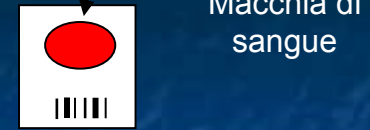
INCUBAZIONE (100°C)



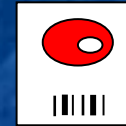
QUANTIFICAZIONE

**PCR**

## ESTRAZIONE DA SPOT



SPOT



Lavaggio con buffer

RIMOZIONE supernatante



QUANTIFICAZIONE OMESSA  
CON CAMPIONI UNIFORMI

**PCR**



# Quantificazione

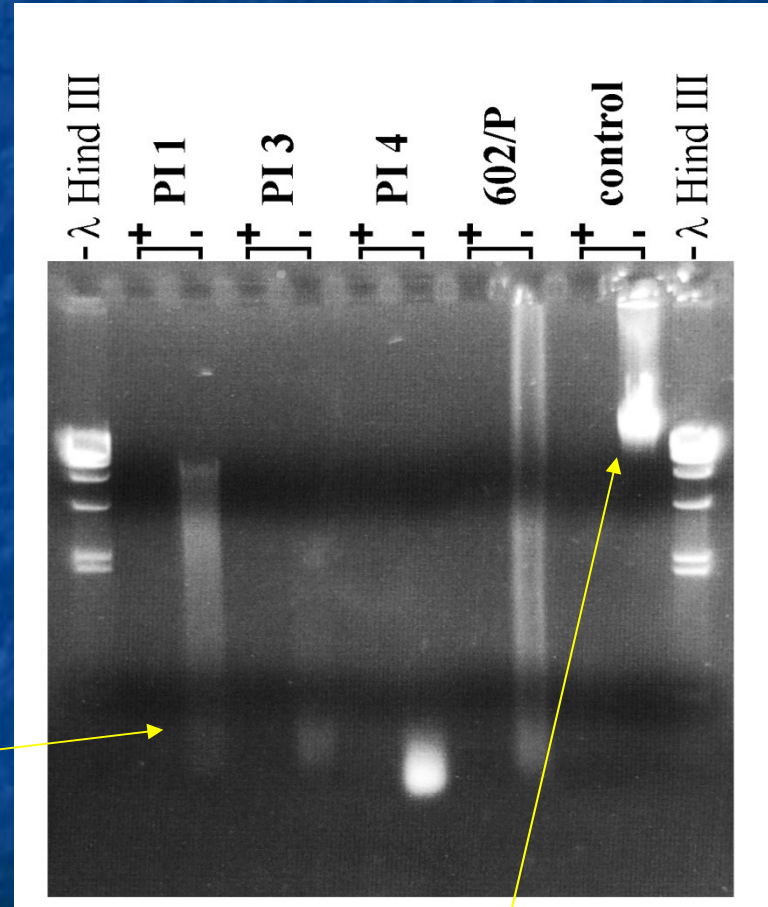
- Spettrofotometro – lettura a 260 nm: utile solo per DNA non degradato, estratto da sangue e tessuti.  
Non specifico per materiale umano e per il DNA;
- Elettroforesi in agarosio – non specifico per DNA umano
- Metodo degli spot in agarosio - non specifico per DNA umano
- Slot-blot hybridization – specifico per ciascuna specie e sensibile, ma impegnativo in termini di tempo
- Real time PCR – specifico per DNA umano, molto sensibile e rapido.

## Metodo con agarosio

permette di valutare anche l'integrità del campione: non utilizzabile per campioni con poco DNA

- Elettroforesi in gel di agarosio di estratti da campioni forensi comparati con marcatori di peso molecolare noto

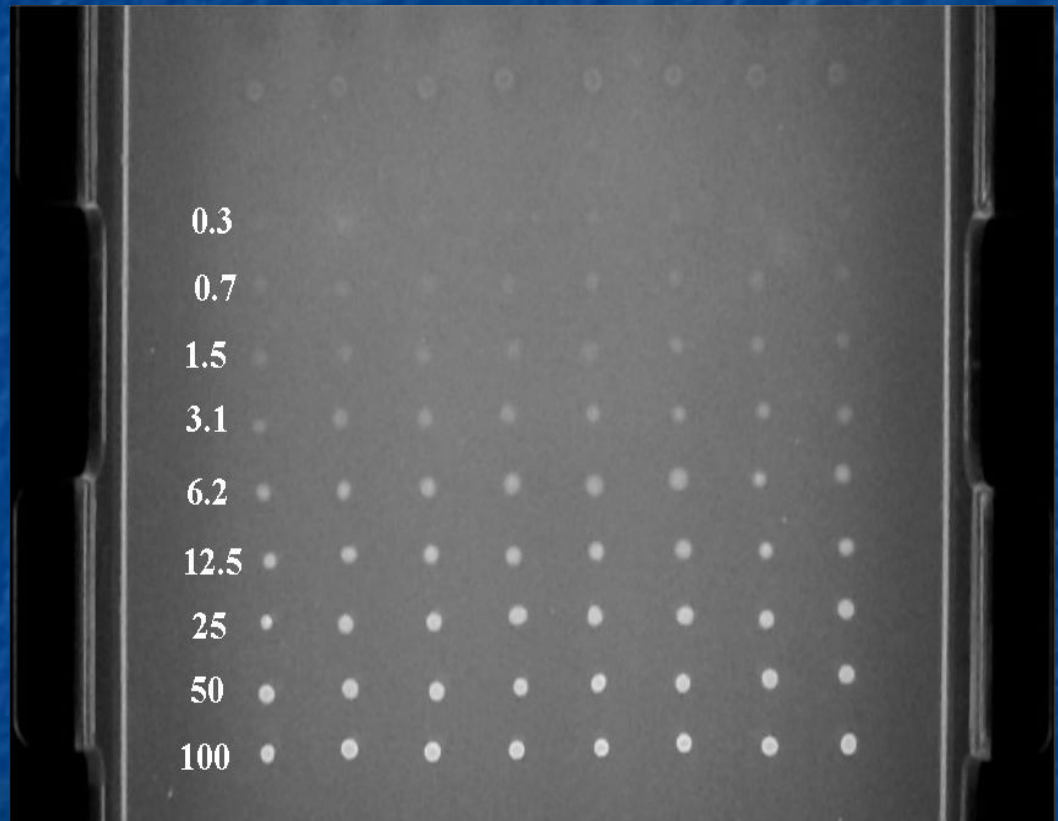
Gli *smear* indicano la frammentazione del DNA



DNA ad alto peso molecolare in unica banda

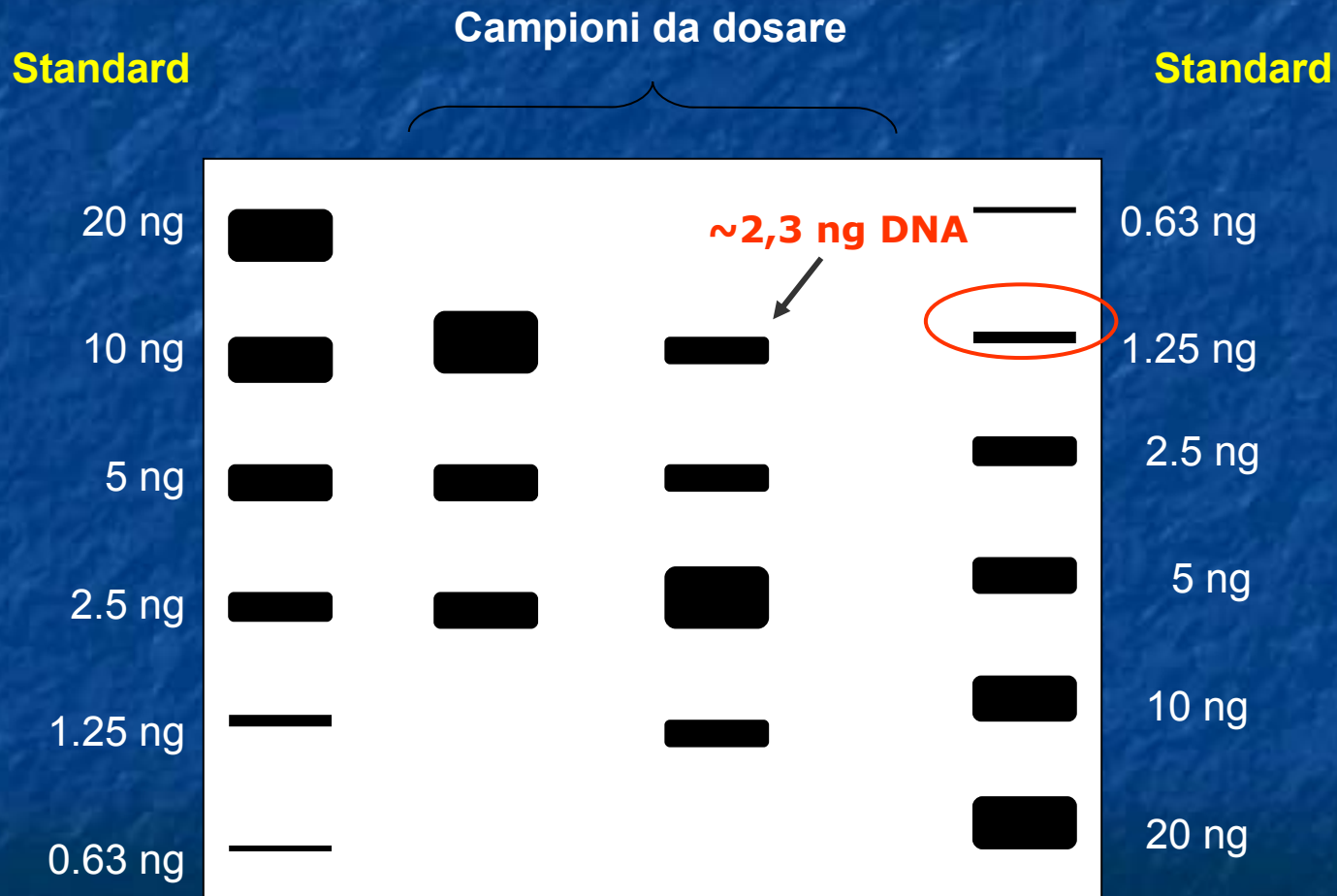
# Metodo degli spot in agarosio

- Buona regressione lineare solo nel range tra 50-12,5 ng
- I campioni vengono quantificati mediante comparazione con standard di DNA diluiti a varie concentrazioni



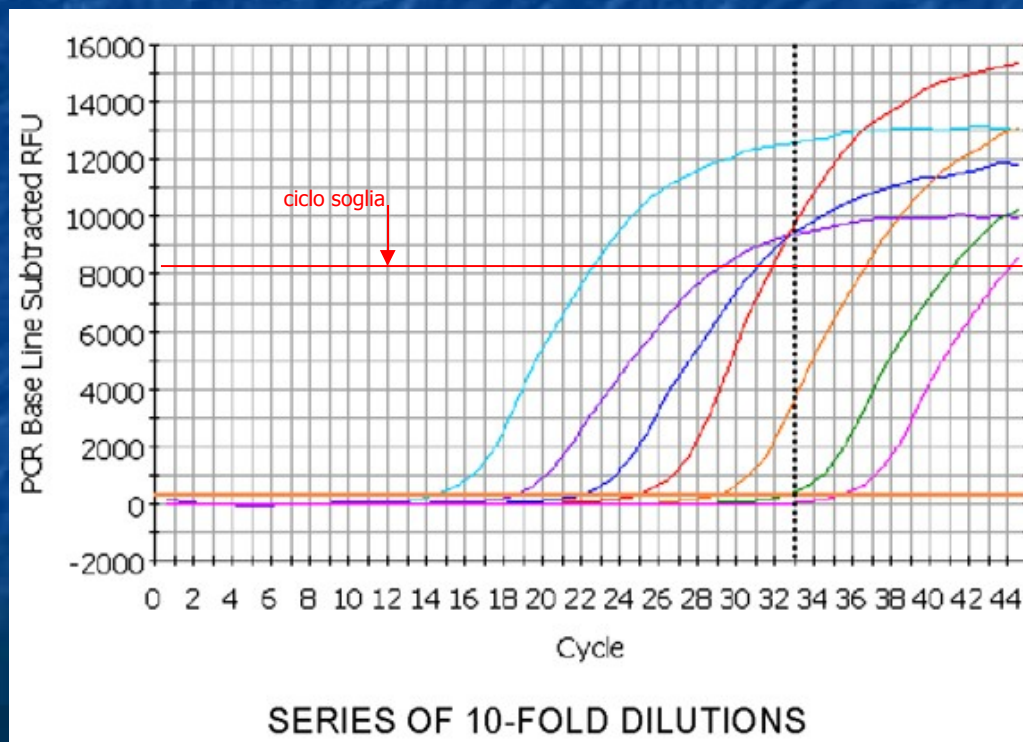


# Slot – Blot Hybridization



# Real Time PCR

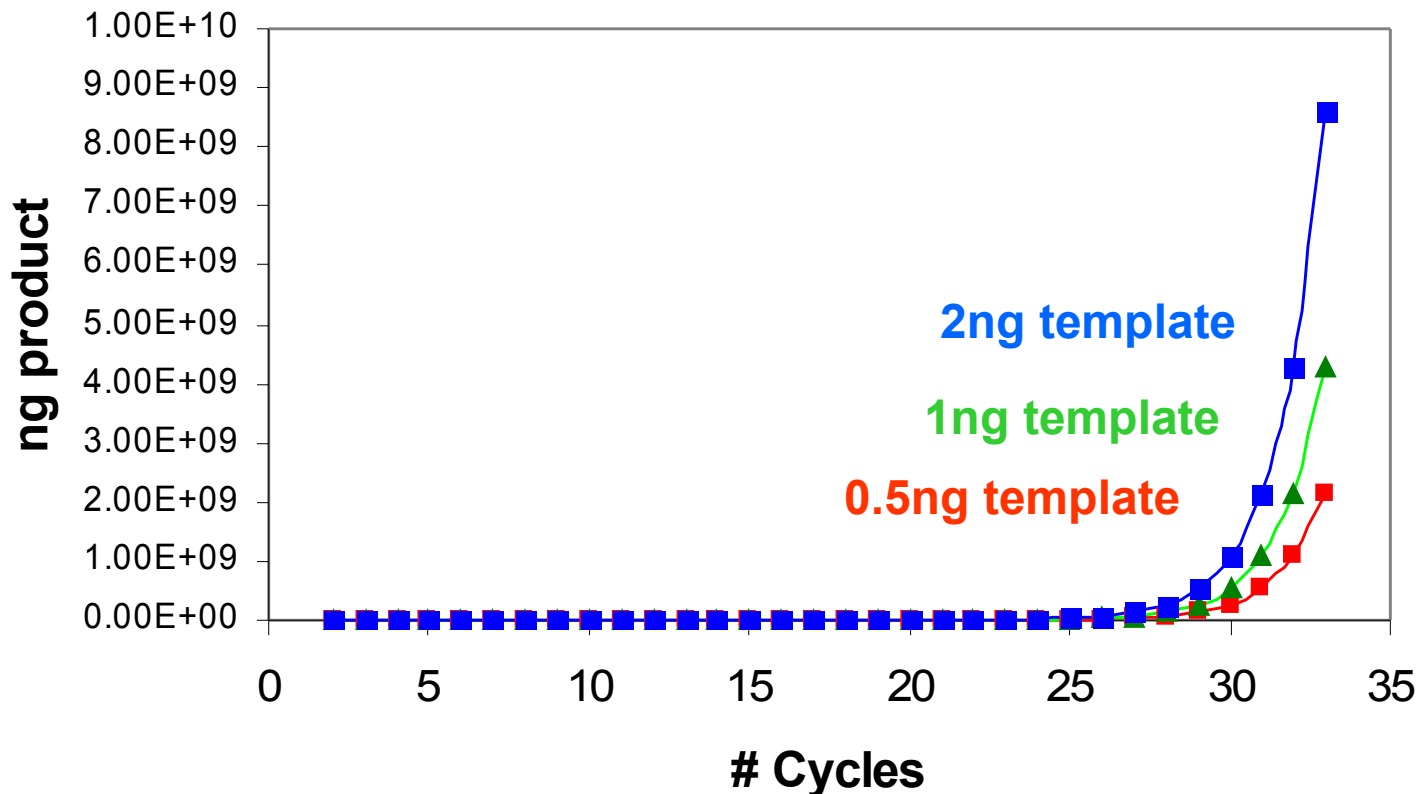
- La quantificazione del DNA si basa sul numero di cicli richiesti per raggiungere un valore soglia  $C_t$ .
- Maggiore la quantità di template DNA, prima si raggiunge il ciclo soglia.



# La quantità di prodotto di PCR è proporzionale alla quantità di DNA iniziale

Durante l'espansione esponenziale della PCR la quantità di prodotto è proporzionale alla quantità di template.

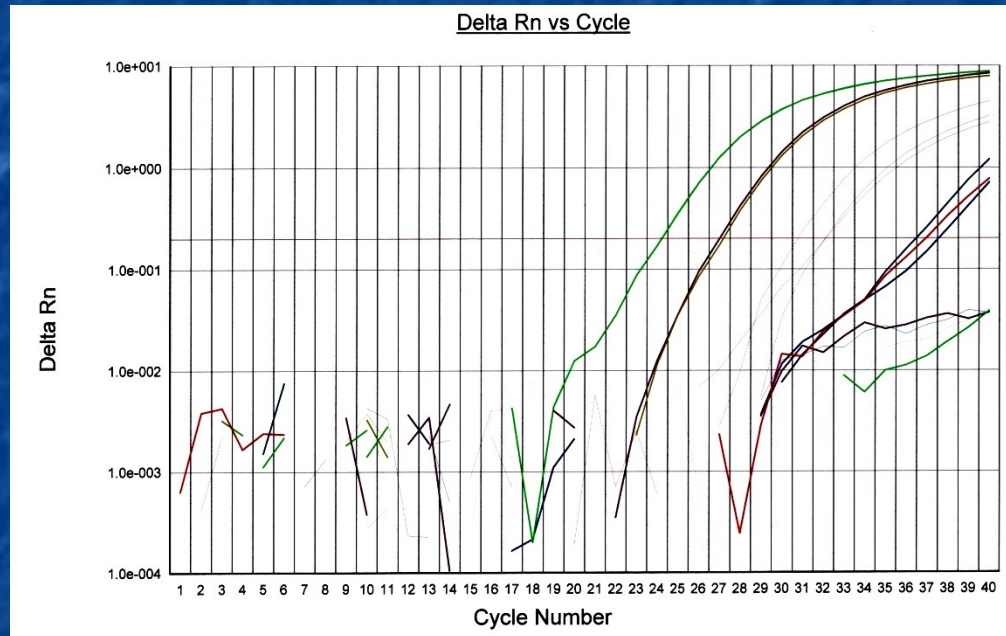
## Exponential PCR





# Grafico di amplificazione di campioni forensi utilizzando il sistema Quantifiler

In Real-time si possono dosare quantità inferiori a 23 pg/uL di DNA genomico umano (4 cellule).  
Risultati variabili in condizioni di basso numero di copie di DNA, per fluttuazioni casuali nel campionamento.

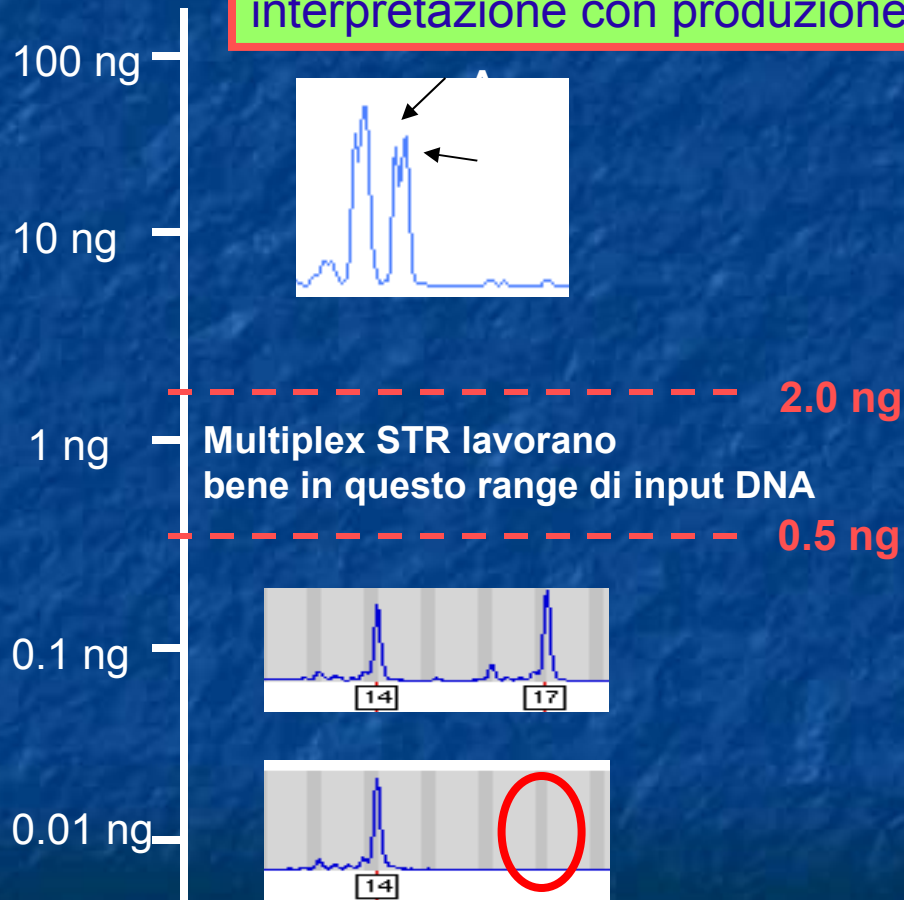


In base ai risultati di una Real-time si può decidere come settare una reazione di PCR o se è necessario purificare ulteriormente i campioni di DNA in presenza di inibitori.

# Importanza della quantificazione del DNA (prima di una multiplex PCR)

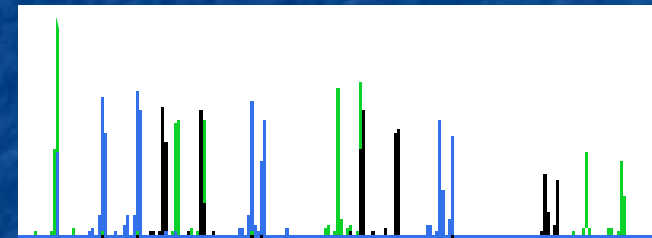
**DNA** (log scala)

Alti livelli di DNA creano problemi di interpretazione con produzione di artefatti



Troppo DNA

- Picchi fuori scala
- Picchi accessori (+/-A)
- Sbilanciamento tra loci

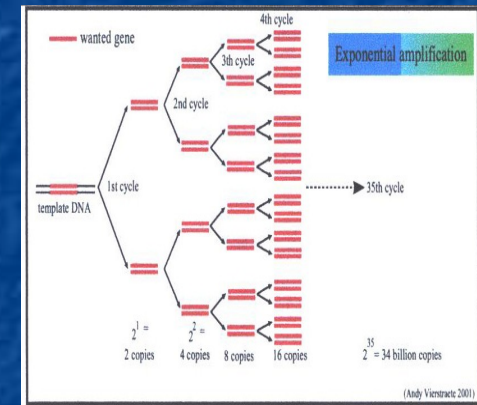
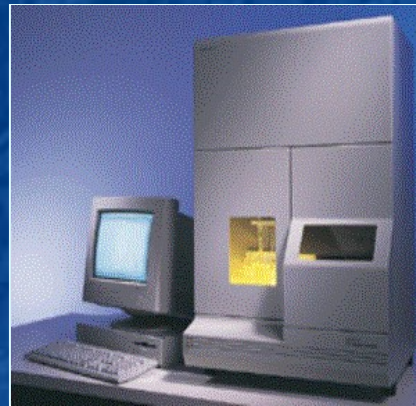
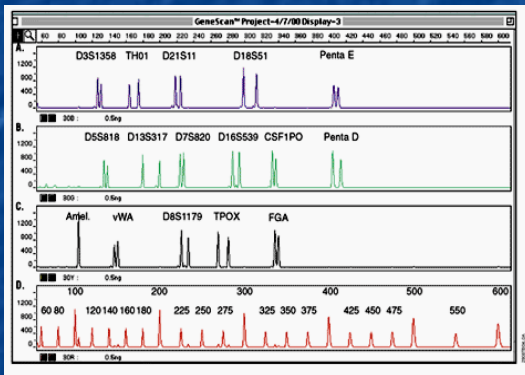
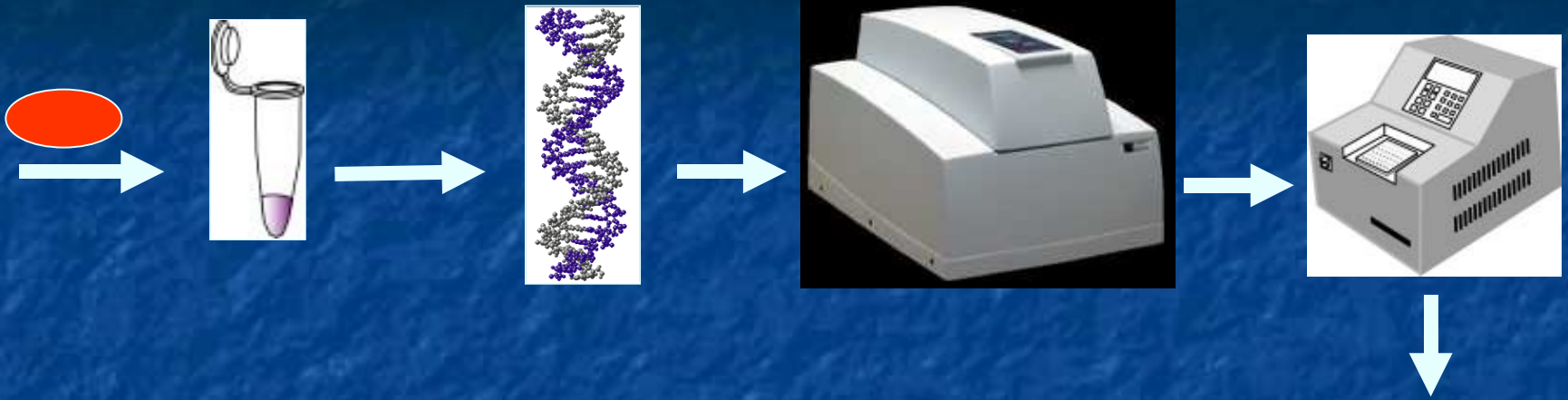


Troppo poco DNA

- Sbilanciamento degli eterozigoti
- Allele drop-out
- Sbilanciamento tra loci

L'effetto stocastico quando si amplificano bassi livelli di DNA produce allele dropout

# Tipizzazione del DNA con PCR





# PCR

## ■ Vantaggi

- possibilità di analizzare tracce molto ridotte;
- si può usare DNA degradato;
- contaminanti come funghi e batteri non si amplificheranno perchè i primer sono specifici per il DNA umano;
- non necessità di sostanze radioattive;
- tempi di analisi molto rapidi;
- si possono analizzare contemporaneamente molti loci polimorfici ben caratterizzati;
- disponibilità di kit commerciali.

# PCR

## ■ Svantaggi

- suscettibile di errori a causa di contaminazioni. Necessario accurato controllo di tutte le fasi pre e post PCR;
- numero di alleli più contenuto rispetto agli RFLP. Molti loci debbono essere usati per discriminare un individuo;
- l'amplificazione può fallire a causa di mutazioni nelle regioni di legame dei primer;
- il DNA bersaglio può non amplificare a causa di inibitori della PCR nel DNA estratto.

# I controlli della PCR

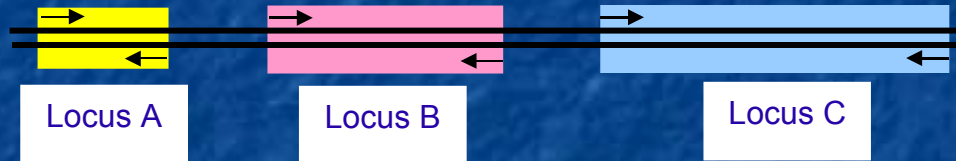
- Controllo negativo di estrazione – si tratta di un campione che ha seguito l'intero passaggio delle fasi di estrazione e contiene tutti i reattivi (buffer, proteinasi K, DTT, SDS, ecc.), ma non DNA;
- Controllo negativo di PCR – si tratta di un campione che contiene tutti i reagenti della PCR (dNTP, buffer,  $Mg^{+2}$  ecc.), ma che contiene al posto del DNA acqua bidistillata;
- Controllo positivo di PCR – campione che contiene un DNA di cui è noto l'esatto profilo genetico per quei marcatori che si sta analizzando.

**TUTTI QUESTI CAMPIONI DEVONO ESSERE AMPLIFICATI IN PCR ED ANALIZZATI INSIEME AI CAMPIONI DA ESAMINARE**

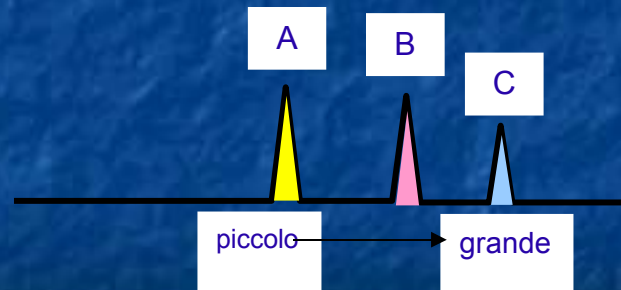


# Multiplex PCR

(A) Simultanea amplificazione di tre STR in un DNA template

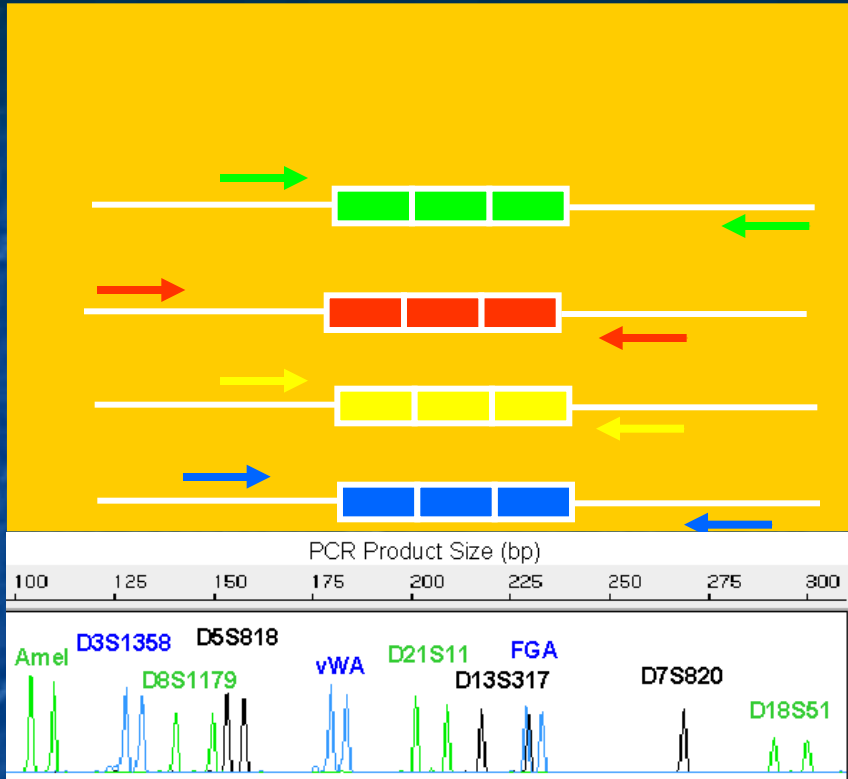


(B) Risoluzione dei prodotti di PCR con metodi di separazione basati sulle dimensioni



# Multiplex PCR

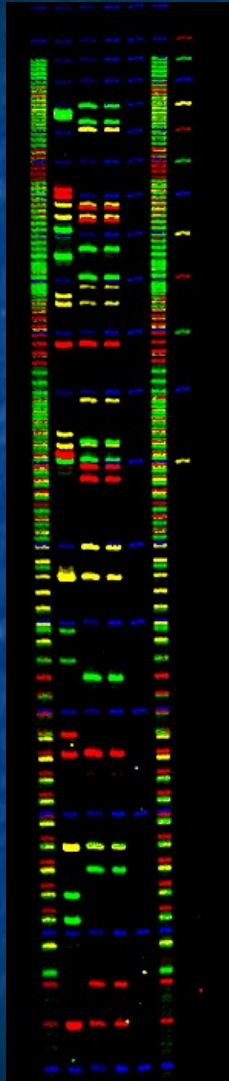
- Primer compatibili sono la chiave per realizzare una multiplex PCR
- STR kit sono disponibili in commercio
- 15 o più loci possono essere amplificati contemporaneamente



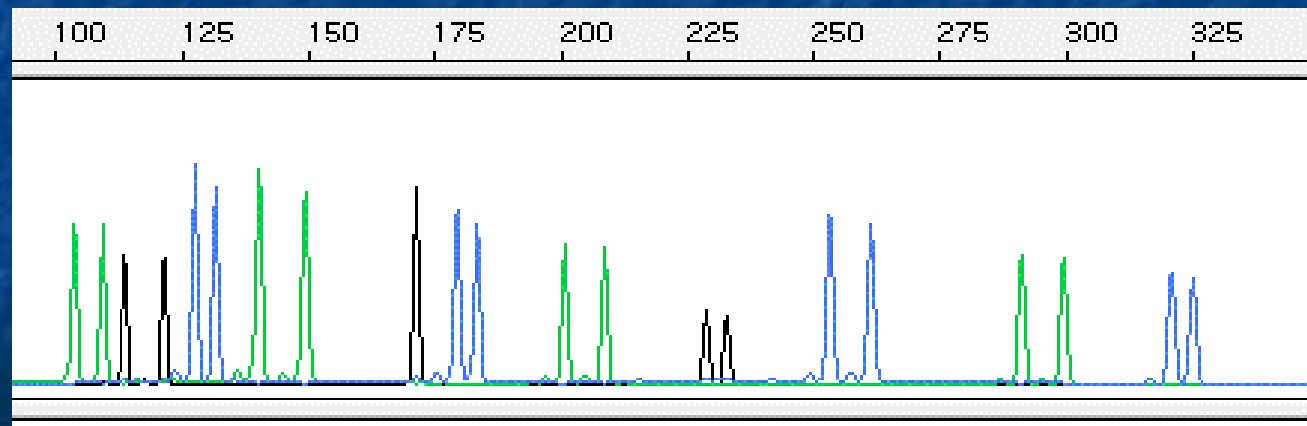
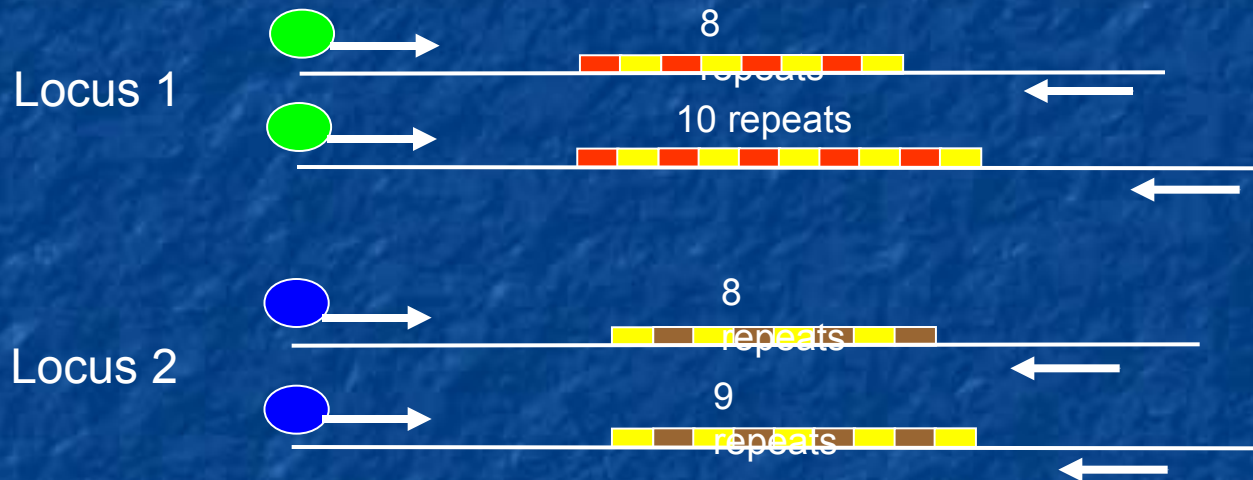
## Vantaggi di Multiplex PCR

- Aumento di informazioni ottenute nello stesso tempo (aumentato PD)
- Meno lavoro per ottenere un risultato
- Meno DNA template richiesto
- Maggiore controllo di eventuali contaminazioni

La PCR è usata per amplificare regioni STR e marcare gli ampliconi con coloranti fluorescenti usando primer locus specifici



Gel

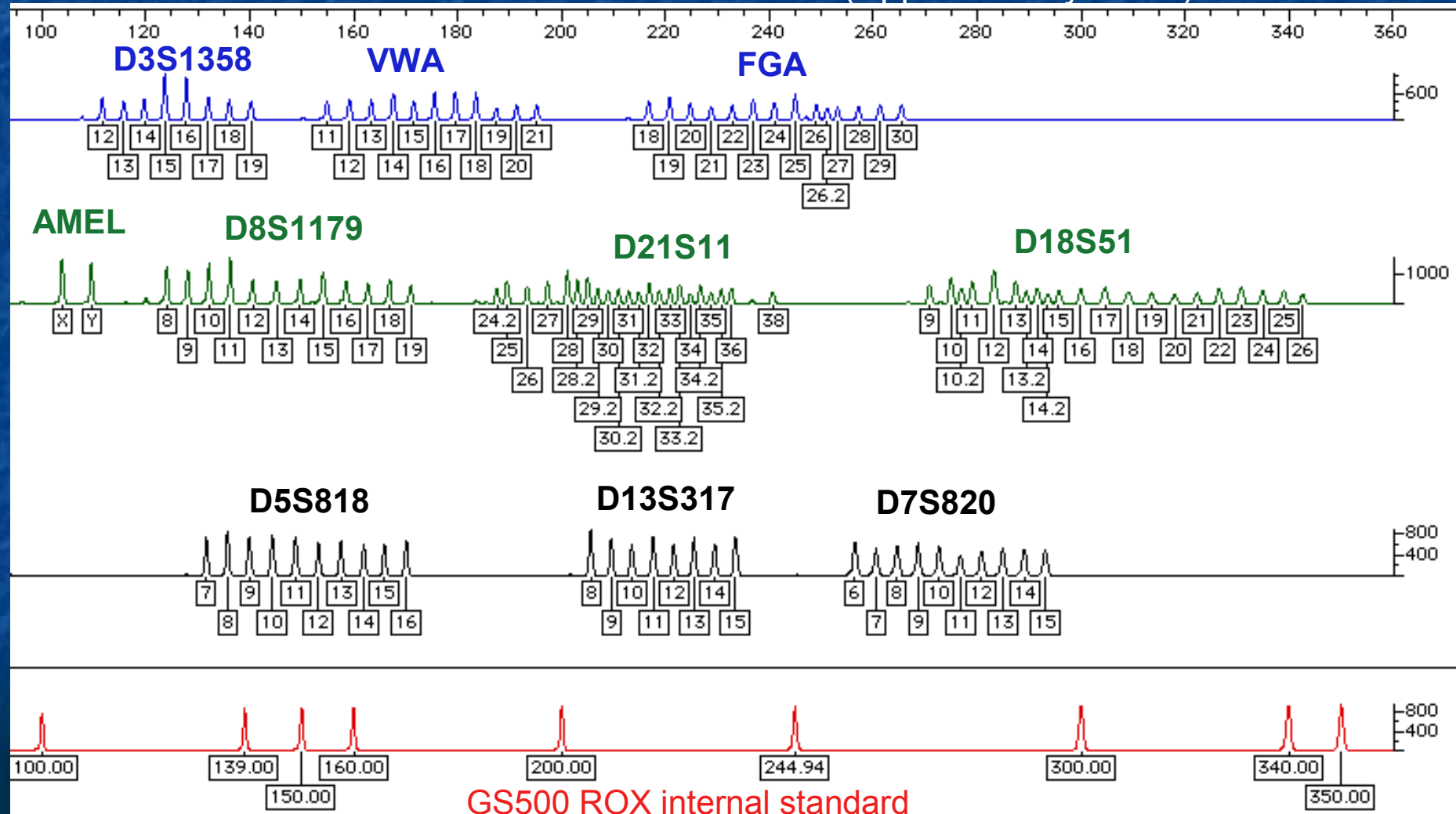


Elettroferogramma capillare



Scale alleliche vengono vendute nei Kit per consentire l'individuazione esatta dei genotipi

Profiler Plus kit allelic ladders (Applied Biosystems)



# **GENETICA FORENSE**

**Le indagini di paternità/maternità**

**Le indagini di criminalistica**

**La ricerca di persone scomparse**

**I database del DNA**

**Le analisi su DNA non umano**

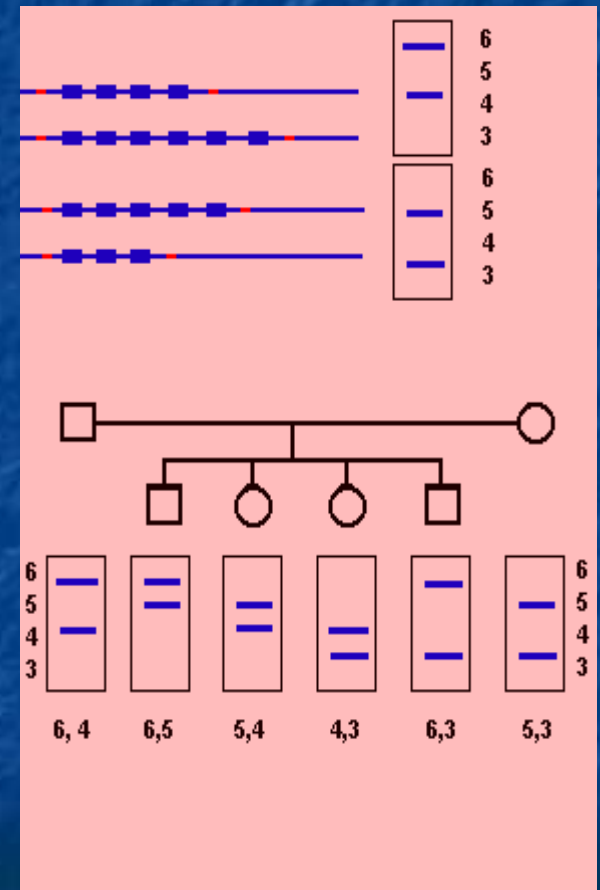
# INDAGINI DI PATERNITA'

## PRINCIPIO DEL METODO

Poiché ognuno di noi eredita metà corredo genetico dalla madre e metà dal padre, è possibile risalire all'esatto legame di filiazione dall'analisi del DNA.

I test di paternità si possono eseguire avendo a disposizione materiale biologico del figlio/a e del presunto padre, anche se defunto, oppure di soggetti ad esso correlati (*esami indiretti*).

La presenza della madre non è indispensabile, ma preferibile perché i *motherless* forniscono, in caso di compatibilità, risultati statisticamente meno probanti, a parità di marcatori esaminati.





# I risultati possibili nelle indagini di paternità

## La compatibilità genetica

- Quando il padre presunto presenta almeno un carattere genetico identico al figlio/a, una volta sottratto da questo il carattere genetico di necessaria origine materna.

Sistema	Padre presunto	Figlio	Madre
D8S1179	11, <b>12</b>	*12, 13	13, 14

## La incompatibilità genetica

- Quando il padre presunto non possiede nel proprio genotipo alcun allele a comune con il figlio/a.

Sistema	Padre presunto	Figlio	Madre
D8S1179	10, 11	*12, 13	13, 14

\* Allele di necessaria provenienza paterna

# La verifica delle ipotesi rilevanti: l'indice di paternità

Il metodo più usato per pesare la prova riguardo ad una paternità consiste nel mettere in rapporto la frequenza con cui il padre presunto può produrre uno spermio recante l'appropriato allele di origine paterna e la frequenza con cui uno spermio recante il medesimo allele può essere prodotto da un uomo preso a caso.

$$PI = \frac{X}{Y}$$

Dove

X = probabilità che ha il padre presunto di trasmettere l'allele presente nel figlio

Y = probabilità che ha un uomo sconosciuto di trasmettere l'allele presente nel figlio

# Il giudizio

## DALLE INCOMPATIBILITA' ALL'ESCLUSIONE DI PATERNITA'

Le esclusioni devono essere confermate almeno per tre marcatori genetici.

L'esclusione è un dato certo, al netto di errori di laboratorio (p.es. scambio di campioni prima o dopo l'analisi, errori nella classificazione ecc.). L'errore si può stimare nell'effettiva occorrenza di tre eventi di mutazioni, nell'ordine di  $< 10^{-9}$ .

## DALLE COMPATIBILITA' ALL'ATTRIBUZIONE DI PATERNITA'

In Italia non vi è un limite di legge superato il quale un test di paternità che dimostri compatibilità possa affermare automaticamente l'attribuzione. Una Raccomandazione GeFI indica di presentare la notazione in termine numerico, senza espressione percentuale, per non enfatizzare il risultato di laboratorio.

Legislazione della Germania ( $>0,9972$ )

Legislazione dei Paesi Bassi ( $>0,9990$ )



# Le mutazioni germinali

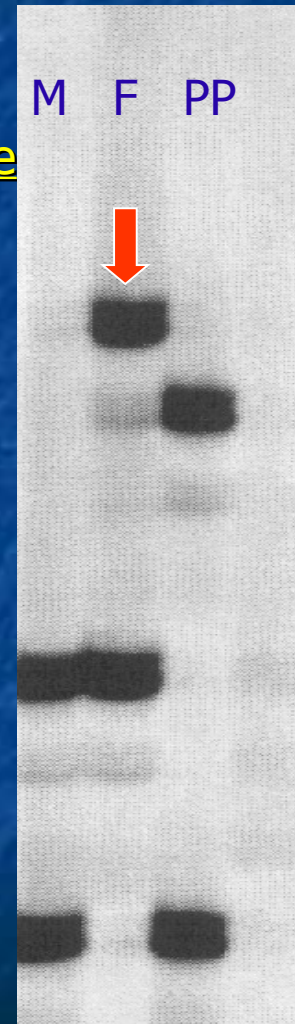
Eventi relativamente frequenti negli STR ( $\sim 1,8 \times 10^{-3}$ )

Variazioni in genere di un repeat per espansioni o contrazioni che producono incompatibilità genetiche. Queste devono essere trattate come basse probabilità di paternità.

Si richiede di analizzare un numero addizionale di polimorfismi ( $>20$ ); se tutti dimostrano compatibilità e se l'incompatibilità osservata è *single-step*, allora si tratta verosimilmente di una mutazione vera.

In letteratura sono descritti casi di doppie e anche triple mutazioni in un singolo test di paternità.

Si tratta probabilmente di vere ESCLUSIONI e l'alto valore di compatibilità osservata è dovuta all'aver esaminato un padre presunto correlato con il padre vero.



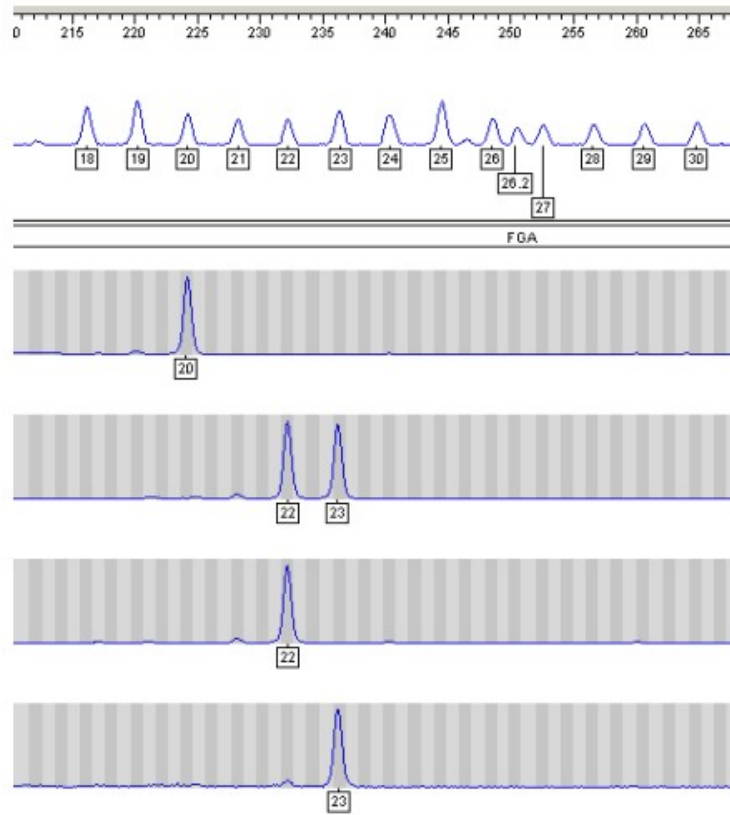
# Un caso vero

## A Single Mutation in the FGA Locus Responsible for False Homozygosities and Discrepancies between Commercial Kits in an Unusual Paternity Test Case

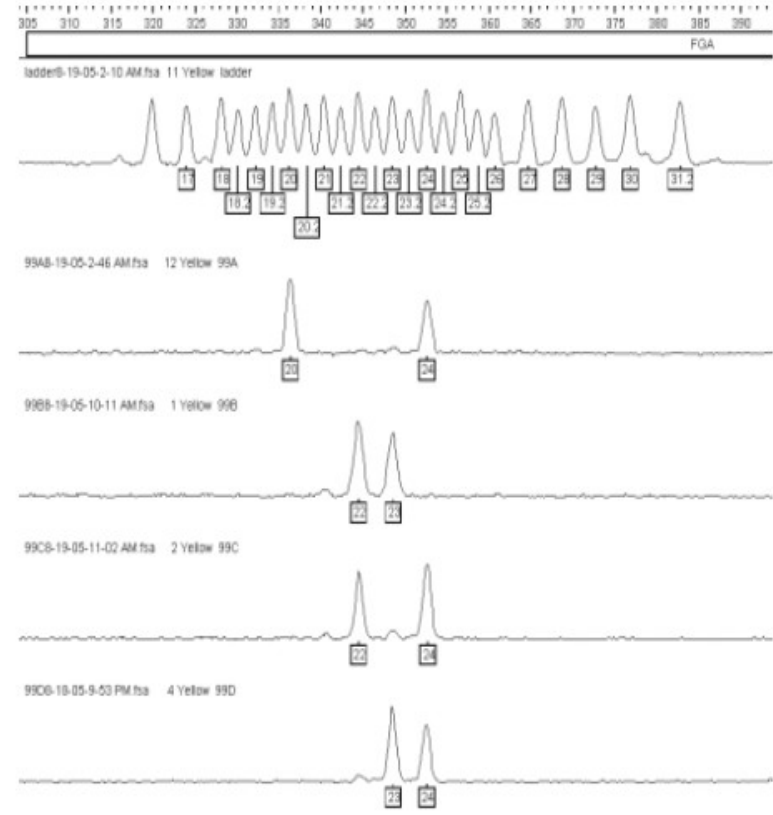
System	Alleged father	Mother	Son	Daughter
TPOX	9, 11	8	8, 11	8, 11
D3S1358	14, 17	14, 17	14	17
FGA	20, 24	22, 23	22, 24	23, 24
CSF1PO	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D5S818	11, 13	11, 12	11, 12	11
D7S820	7, 8	10, 12	7, 12	7, 12
D8S1179	10, 15	11, 13	10, 11	10, 11
TH01	6	9, 9.3	6, 9	<b>9</b>
VWA	16, 17	14, 16	16	16, 17
D13S317	9, 11	12, 13	11, 12	11, 13
D16S539	8, 12	12	8, 12	8, <b>11</b>
D21S11	29, 31.2	29, 30	29, 30	29, 31.2
D18S51	13, 14	13, 16	13	16, <b>18</b>
D2S1538	19, 23	22, 25	19, 22	19, 25
D19S433	14, 15.2	16, 17	15.2, 17	14, 16
Penta D	8, 12	10, 13	10, 12	10, 12
Penta E	14, 15	10, 11	10, 14	11, 15
SE33	18, 19	18, 26.2	18, 19	18, <b>24.2</b>
F13B	8, 10	9, 10	9, 10	10
Paternity index	-	-	$2,6 \times 10^{-10}$	-

# Un caso vero

**A**



**B**

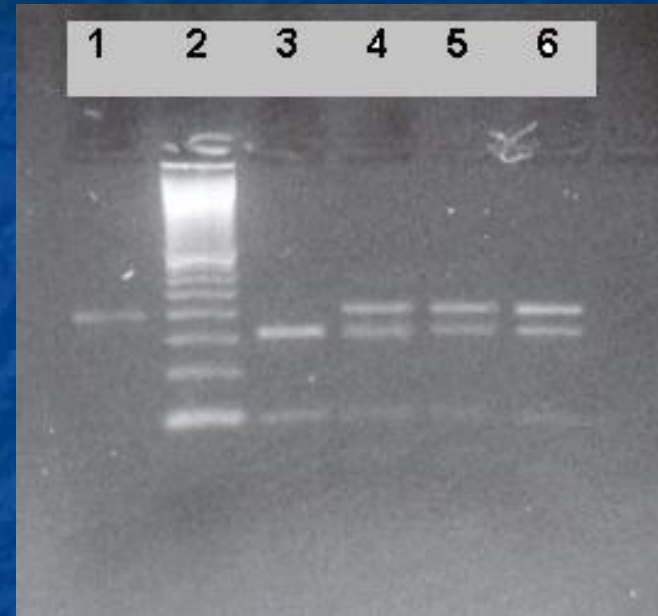
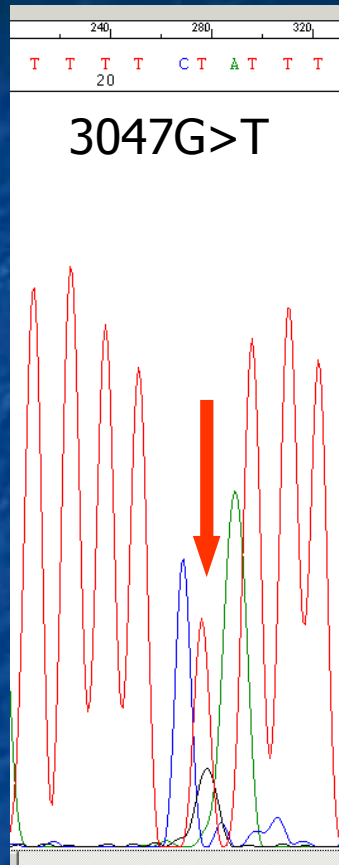




# Un caso vero

2701	acacctttaa tgtggaaatt	aattccaaag ttaaggtttc	aaagttcttc tttcaagaag	ttctatatatt aagatataaa	<b>ctttgggatt</b> gaaaccctaa	<b>actaattg</b> ct tgattaacga
2761	attaggacat taatcctgta	cttaactggc gaattgaccg	attcatggaa taagtacctt	<u>ggctgcaggg</u> ccgacgtccc	<u>cataacatta</u> gtattgtaat	tccaaaagtc aggttttcag
2821	aaatgcccc tttacggggt	taggttttga atccaaaact	actcacagat tgagtgtcta	taaactgtaa atttgacatt	<u>ccaaaataaaa</u> ggttttattt	<u>attaggcata</u> taatccgtat
2881	tttacaagct aaatgttcga	agtttctttc tcaaagaaa	tttctttttt aaagaaaaa	ctcttt <b>cttt</b> gagaaagaaa	<b>cttt</b> ctttct gaaagaaaga	ttctttcttt aagaaagaaa
2941	ctttctttct gaaagaaaga	ttctttcttt aagaaagaaa	ctttctcctt gaaagaggaa	ccttcctttc ggaaggaaa	ttcctttctt aaggaaagaa	ttttgctggc aaaacgaccg
3001	aattacagac <u>ttaatgtctg</u>	aaatcactca <u>tttagtgagt</u>	gcagctactt <u>cgtc</u> gatgaa	caataaccat gttattggta	attttc <b>G</b> att taaaag <b>C</b> taa	tcagaccgtg agtctggcac
3061	ataataccta tattatggat	caaccgagtg gttggctcac	tcagaggatc agtctcctag	tgagaagcag actcttcgtc	aattgaagtc ttaacttcag	ctgaagcgca <u>ga<b>cttcgcgt</b></u>
3121	aagtcataga <u>ttcagtatct</u>	aaaagtacag <u>tttt</u> catgtc	catatccagc gtataggtcg	ttctgcagaa aagacgtctt	aaatgttaga tttacaatct	cctcagttgg cgagtcaacc

# Un caso vero



1 – M prima del taglio

2 – 100 bp

3 – M dopo il taglio

4 – PP dopo il taglio

5 – F1 dopo il taglio

6 – F2 dopo il taglio

↓  
Sito TCGA con TaqI

# INDAGINI DI MATERNITA'

## PRINCIPIO DEL METODO

Poiché ognuno di noi eredita metà corredo genetico dalla madre e metà dal padre, è possibile risalire all'esatto legame di filiazione dall'analisi del DNA.

I test di maternità si possono eseguire avendo a disposizione materiale biologico del figlio/a e della presunta madre, anche se defunta, oppure di soggetti ad essa correlati (*esami indiretti*).

Oltre allo studio del DNA autosomico viene eseguito l'esame del DNA mitocondriale, che deve risultare identico in caso di maternità biologica.



# **GENETICA FORENSE**

**Le indagini di paternità/maternità**

**Le indagini di criminalistica**

**La ricerca di persone scomparse**

**I database del DNA**

**Le analisi su DNA non umano**

# Analisi biologica

**diagnosi generica**

**identifica la natura del campione**

**diagnosi di specie**

**identifica la specie animale di appartenenza**

**diagnosi individuale**

**individua il soggetto da cui il campione biologico deriva**

# INDAGINI DI IDENTIFICAZIONE PERSONALE

## PRINCIPIO DEL METODO

Poiché ognuno di noi è costituito da un insieme di cellule che contengono lo stesso DNA, almeno potenzialmente è possibile stabilire l'appartenenza di un campione biologico ad un soggetto confrontando i profili genetici di un campione-prova con quello di un sospettato.

Sono comparabili tra loro profili autosomici, del cromosoma Y, del cromosoma X e del DNA mitocondriale.

La capacità probatoria di questi sistemi è molto diversa, allo scopo di formulare giudizi di attribuzione; più elevata per formulare giudizi di esclusione.



# I risultati possibili nelle indagini di identificazione personale

## La compatibilità genetica

- Quando il profilo genetico del campione-prova risulta identico a quello del sospettato, per tutti i polimorfismi esaminati.

Campione	D8S1179	TPOX	TH01	CSF1P0
Traccia	11, 12	8, 8	6, 9	10, 10
sospetto	11, 12	8, 8	6, 9	10, 10

## La incompatibilità genetica

- Quando il profilo genetico del campione-prova risulta diverso a quello del sospettato, per uno o più marcatori genetici.

Campione	D8S1179*	TPOX	TH01	CSF1P0*
Traccia	11, 12	8, 8	6, 9	10, 10
sospetto	11, 11	8, 8	6, 9	9, 10

\* Loci incompatibili tra traccia e sospetto

# Le mutazioni somatiche

Eventi estremamente rari avvengono durante lo sviluppo embriogenico, cosicchè due tipi cellulari con differente genotipo possono coesistere e dare un pattern a tre loci.

Non vi sono casi descritti di identificazione personale con mutazioni somatiche nei loci STR comunemente usati nella pratica forense, per i quali vi siano state differenze tra il campione-prova e quello di riferimento.

Variazioni per mutazioni che producono incompatibilità genetiche nel confronto tra due campioni.

Nell'esame del DNA mitocondriale esistono casi di eteroplasmia per cui reperti provenienti da un medesimo soggetto possono avere profili genetici diversi. Per esempio nell'esame di formazioni pilifere sono stati osservati gradi di eteroplasmia in uno stesso fusto.

# Un terzo possibile risultato

- Sia nei test di paternità/maternità che nell'identificazione di tracce esiste la possibilità che il test del DNA non supporti un risultato accettabile.
- Ciò può avvenire per un numero di motivi diversi (scarsità del materiale, contaminazione, inibizione ineliminabile, profili misti troppo complessi ecc.).
- Questo tipo di risultato viene definito:  
**Inconclusivo** – I dati acquisiti dall'esame genetico non forniscono sufficienti evidenze per supportare alcun risultato. Questo risultato potrebbe p.es. emergere se due analisti restano in disaccordo dopo aver esaminato i profili genetici acquisiti da un'analisi, oppure se viene stabilito che il livello di contaminazione dei campioni è superiore ad una certa soglia.



# TRE METODI PER VALUTARE L'EVIDENZA SCIENTIFICA

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

# Approccio intuitivo

Con l'esame del DNA viene determinato il profilo genetico della traccia.

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

# Approccio intuitivo

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 → giudizio di 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



# Approccio intuitivo

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

L'esame di 13 STR su una traccia fornisce dei valori di probabilità di associazione casuale inferiori a  $10^{-12}$ . La diffusione del profilo genetico nella popolazione è circa 1 su 1.000.000.000.000 persone.

La probabilità di trovare due profili genetici identici per solo effetto del caso è intuitivamente molto bassa.

L'unica eccezione sono i gemelli monozigoti.

# La probabilità di associazione casuale *random match*

- Viene determinata utilizzando le frequenze alleliche per ogni polimorfismo ed applicando la legge di Hardy-Weinberg
- Per l'omozigote la frequenza è  $p^2$
- Per l'eterozigote la frequenza è  $2 \times p \times q$

La probabilità di associazione casuale (PM) esprime la rarità di un profilo genetico

# Stima statistica: the "product rule", la regola del prodotto

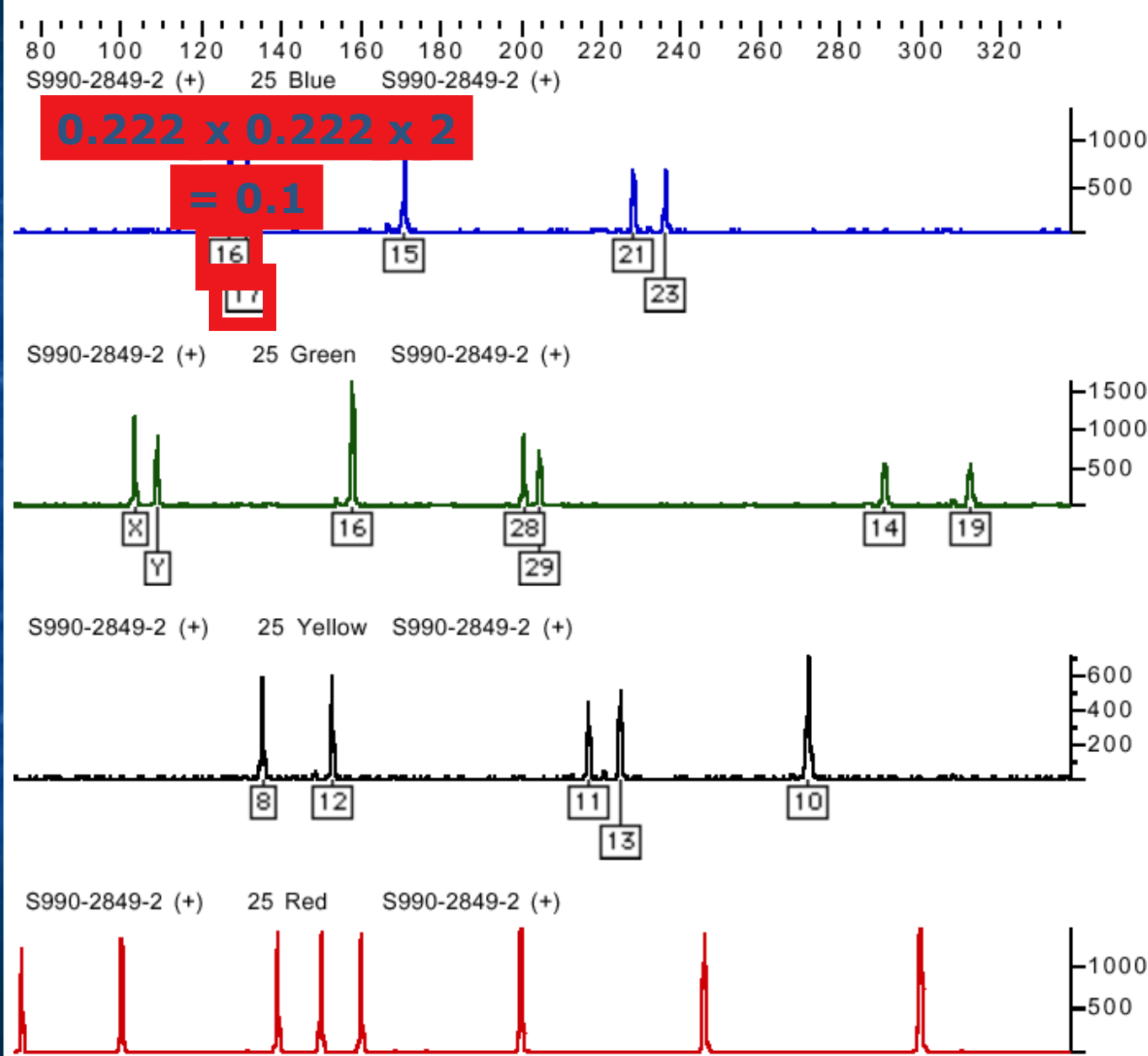
## Allele Frequencies

Locus D3S1358  
Race Caucasian  
(N = 203)

Allele	Frequency
12	0.012
13	0.012
14	0.140
15	0.222
16	0.222
17	0.222
18	0.103
19	0.012

Locus vWA  
Race Caucasian  
(N = 196)

Allele	Frequency
11	0.012
12	0.012
13	0.012
14	0.102
15	0.082





# Stima statistica: the "product rule", la regola del prodotto

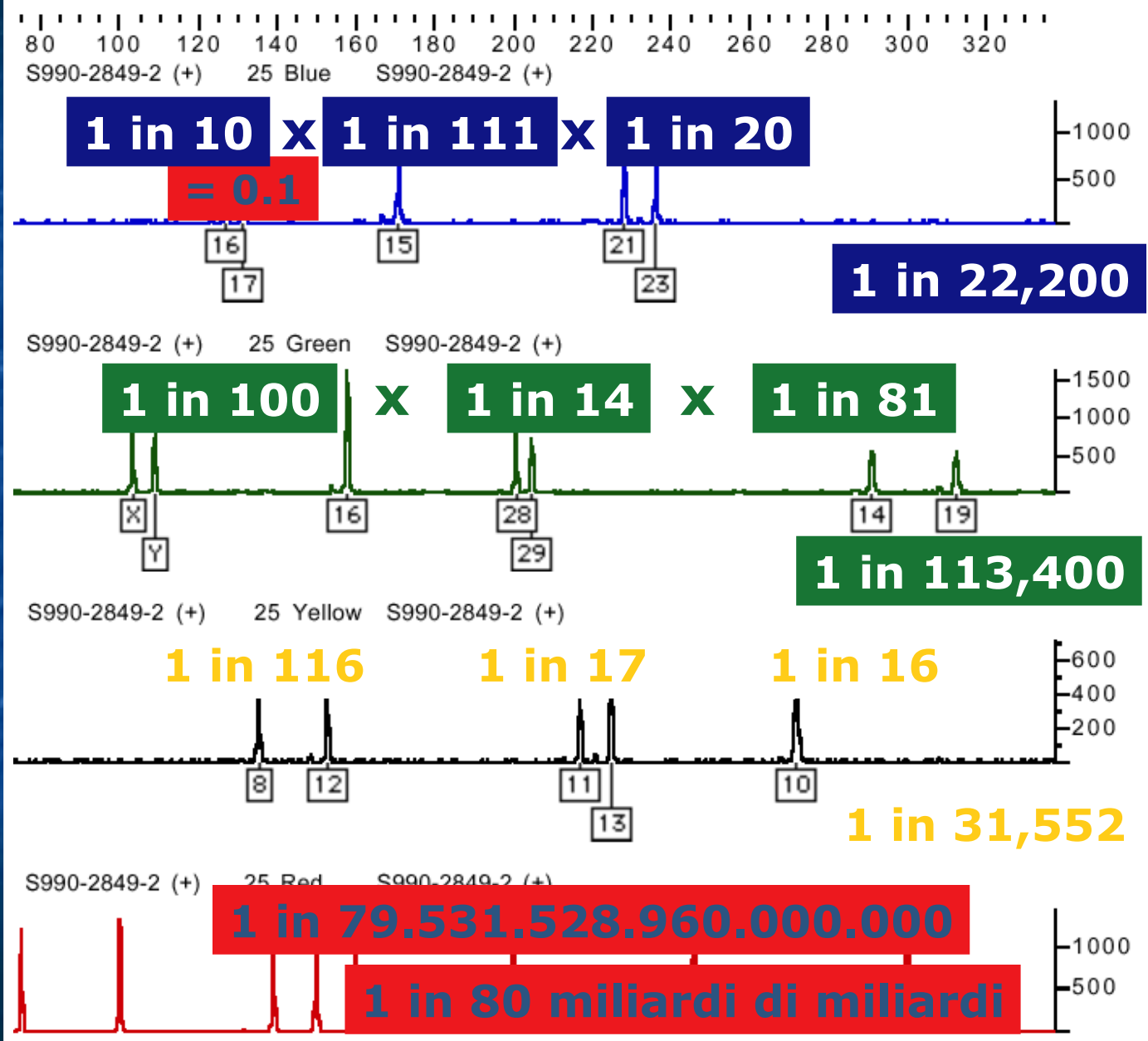
## Allele Frequencies

Locus D3S1358  
Race Caucasian  
(N = 203)

Allele	Frequency
12	0.012
13	0.012
14	0.140
15	0.246
16	0.222
17	0.222
18	0.163
19	0.012

Locus vWA  
Race Caucasian  
(N = 196)

Allele	Frequency
11	0.012
12	0.012
13	0.012
14	0.102
15	0.082



# UN PROFILO FREQUENTE

	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  $> 99,999\%$

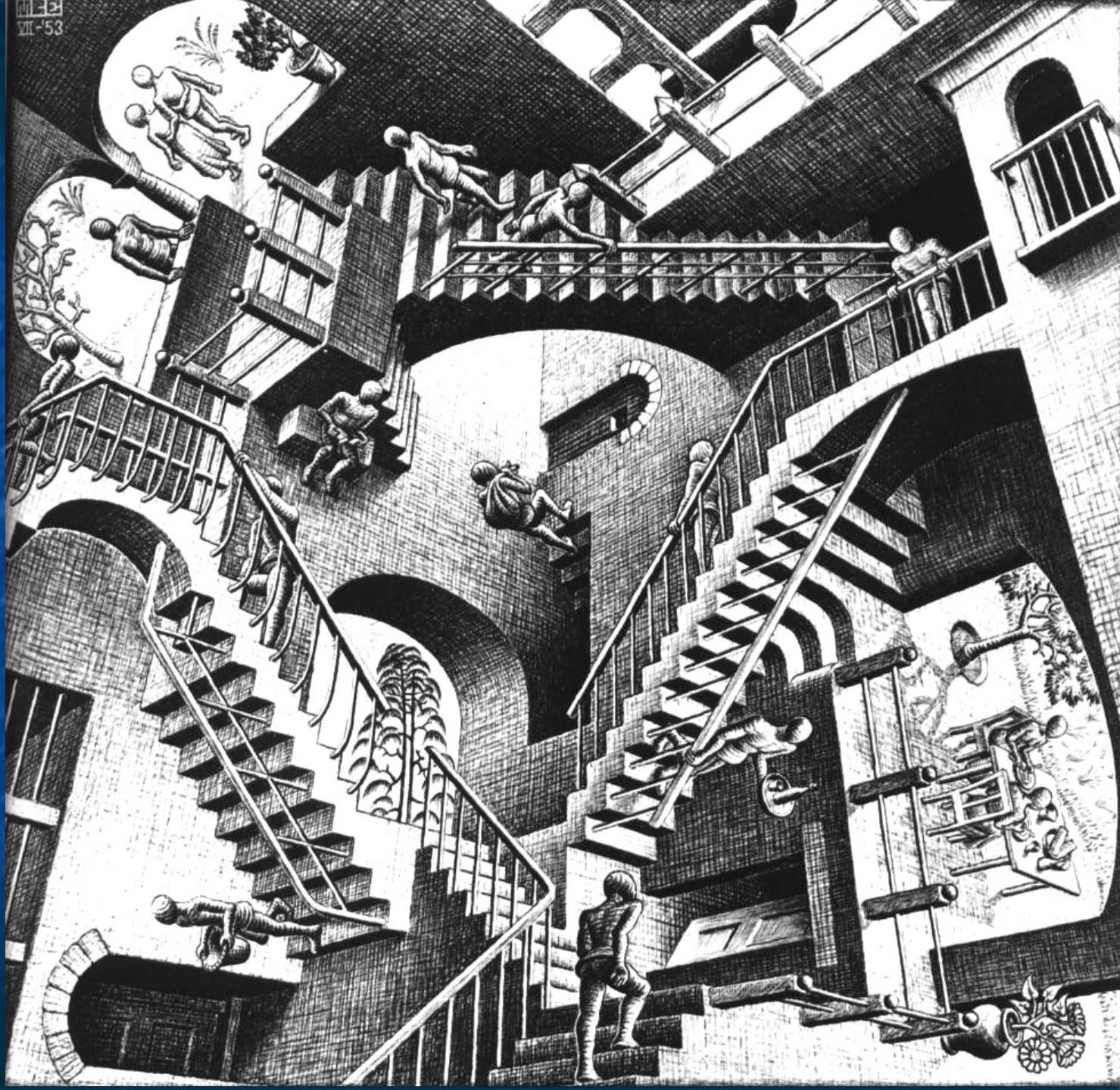
# LA VALUTAZIONE DEI PROFILI GENETICI

Fonte di ambiguità nell'interpretazione di profili STR

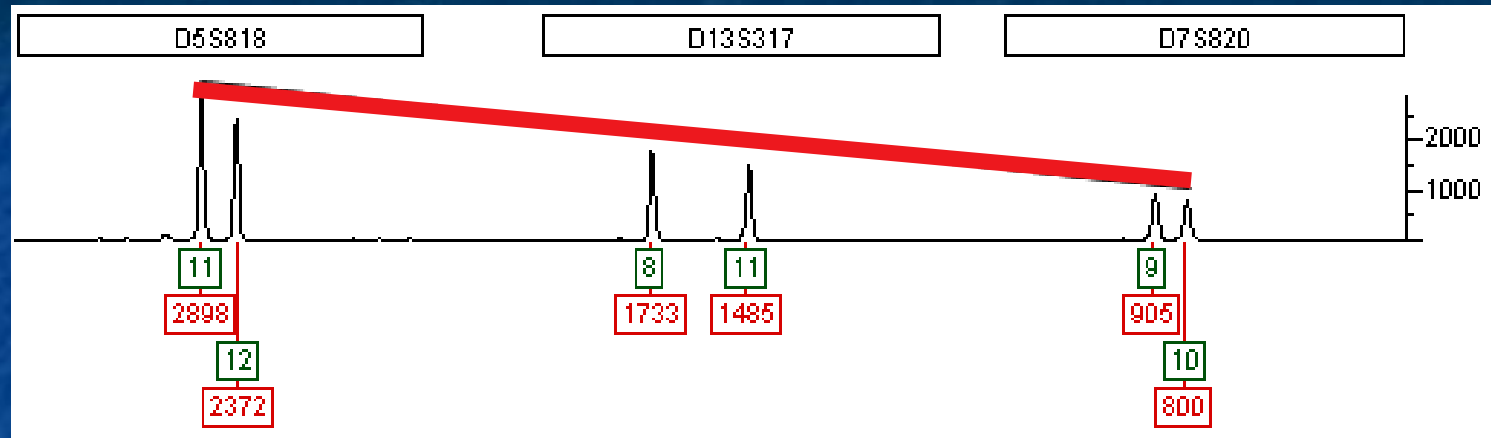
- Degradazione
- Contaminazione
- Allelic dropout
- Falsi picchi
- Tracce miste
- Presenza di soggetti correlati
- Profili con basso numero di copie di template (low copy number)



# *punto di vista*



# Degradazione



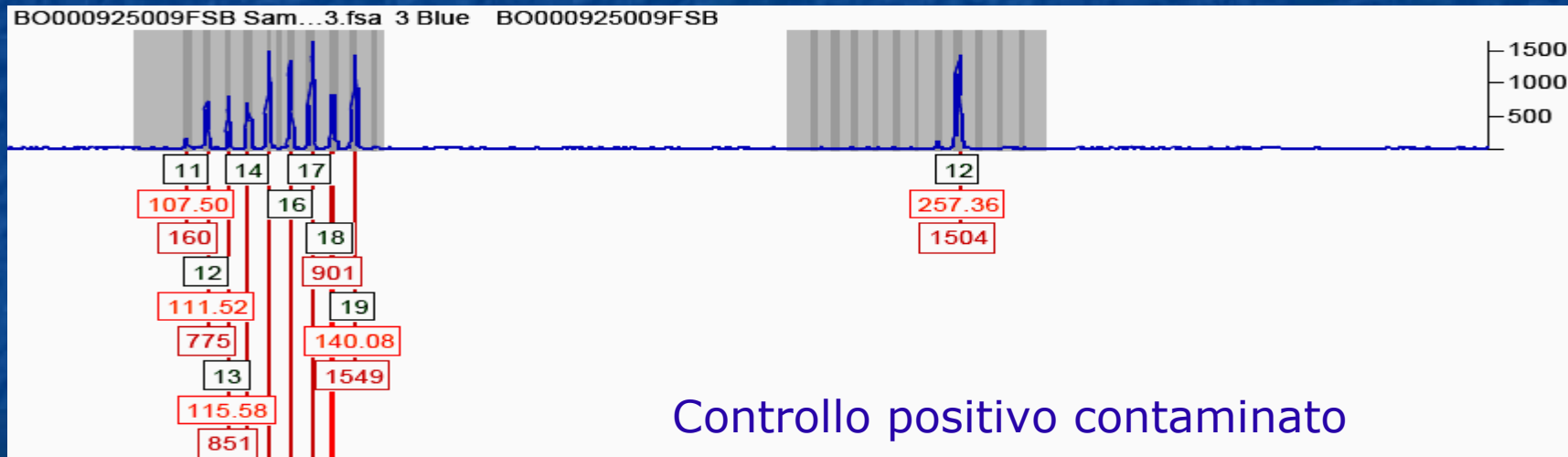
- Si verifica quando i campioni biologici sono esposti a condizioni ambientali avverse:
  - **calore, muffe, luce solare, tempo**
- La degradazione distrugge il DNA a caso
- I marcatori a più alto peso molecolare sono affetti per primi
- Elettroferogrammi classici a discesa
- I picchi sulla destra sono più bassi di quelli a sinistra



# Contaminazione

Può avvenire in una qualunque delle fasi preliminari all'analisi del campione (repertamento, estrazione, amplificazione, iniezione del campione).

Occorre verificare i controlli negativi e positivi, per accertare che tutto sia nella norma.

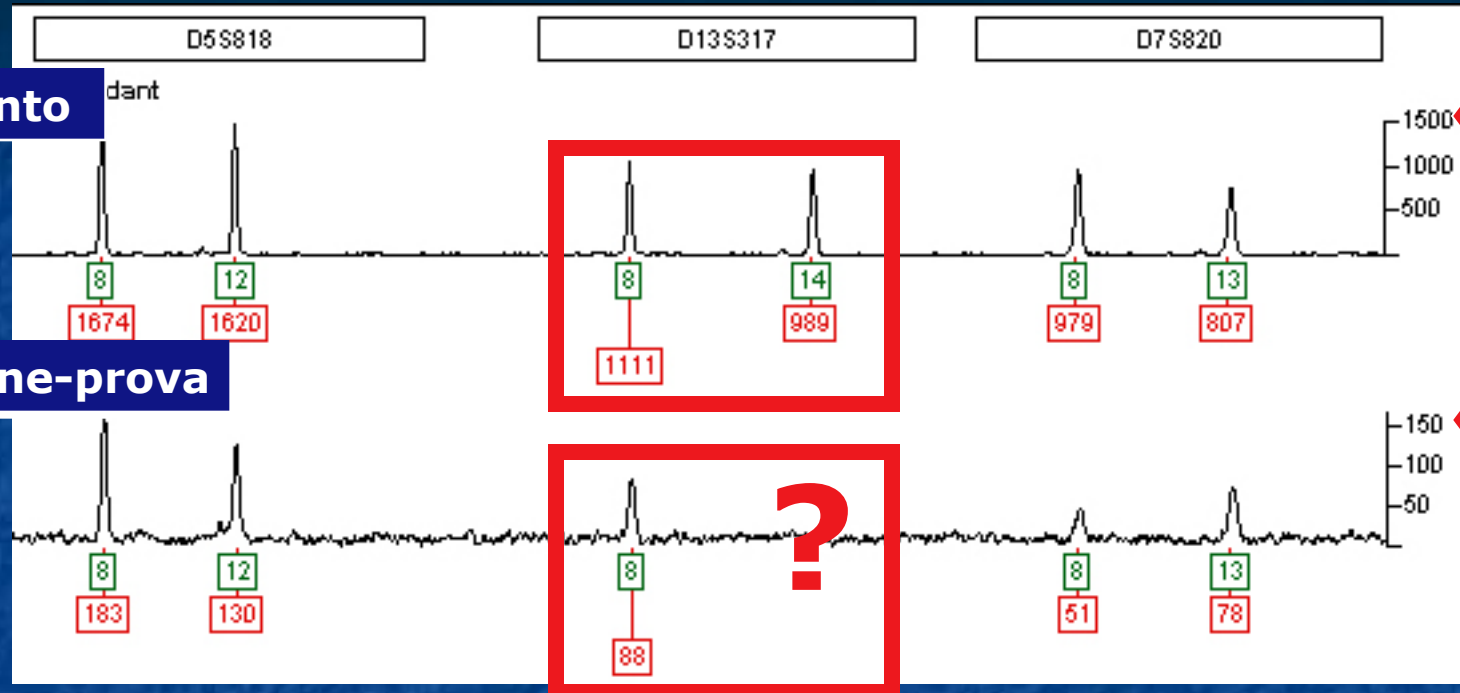




# Allelic Dropout

Riferimento

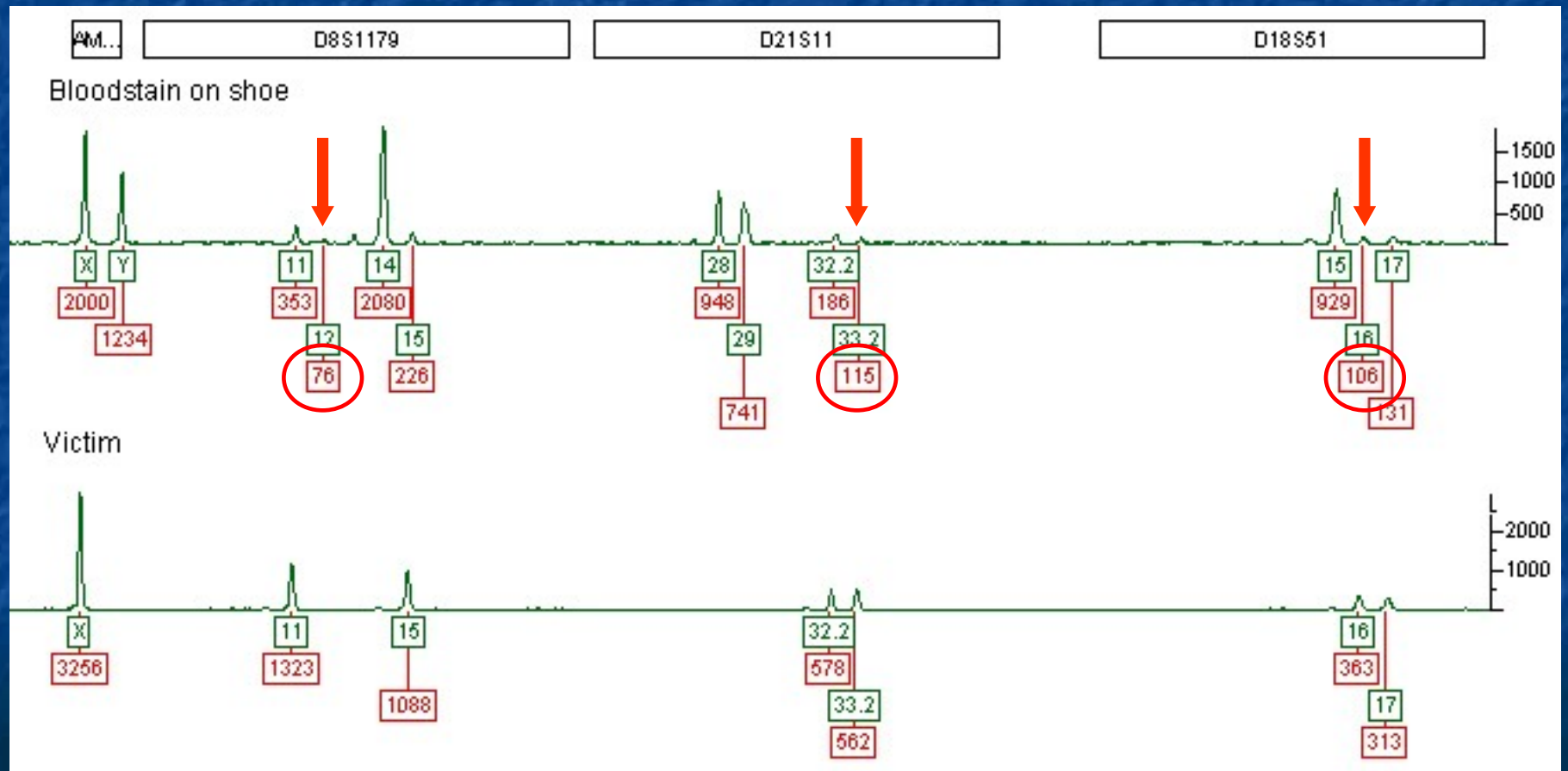
Campione-prova



- I picchi nel campione prova sono molti bassi
  - **Gran parte sotto i 150 rfu**
- I picchi nel campione di riferimento sono alti
  - **Gran parte sopra i 800 rfu**
- Al locus D13S817:
  - **Campione di riferimento: 8, 14**
  - **Campione prova: 8, 8**
- L'allele 14 allele ha *dropped out* o non c'è?

# I profili possono essere di interpretazione soggettiva

Ogni laboratorio usa dei valori soglia per descrivere la presenza di una particolare forma allelica. Per esempio se un laboratorio adotta la soglia di 120 RFU, i seguenti alleli non dovrebbero essere riportati nel profilo genetico sottostante.



# Contaminazione

L'esame di "controlli negativi" in provette sterili senza DNA, condotto a 34 cicli di amplificazione, mostra la presenza di forme alleliche sporadiche, dovute a contaminazione non meglio identificata.

Gill et al. Forensic Sci Int 112, 2000, 17-43.

Table 1

A compilation of spurious alleles found in 30 replicate negative controls (AMPFISTR SGM plus)<sup>a</sup>

Sample	Amelo	D19	D3	D8	THO	VWA	D21	FGA	D16	D18	D2
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	X	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-
10	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	X	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-
17	X	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	X	14	-	14	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	28	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-
21	-	-	-	-	-	-	33.2	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	10	-	-	25 27	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	X	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
28	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	15	-	-	16	-	-	-	-	-
30	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+ ve	X Y	14 15	15 17	11 12	6 7	16 17	28 31.2	23 25	11 13	12 13	17 22
+ ve	-	-	-	-	9,3	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Amelo, amelogenin; THO, HUMTH01; D21, D21S11; D18, D18S51; D8, D8S1179; VWA, HUMVWA31/A; FGA, HUMFGA/FGA; D19, D19S433; D16, D16S539; D2, D2S1338; D3, D3S1179.



# Sensibilità

Il DNA di partenza  
dovrebbe essere tra  
0,5-1,25 ng  
(AmpFISTR® Identifier  
User's Manual)

Diluizioni seriali di  
DNA genomico  
250-12,5 pg

Gill et al. in  
FSI 2000;112:17-40;

Whitaker et al. in  
FSI 2001; 123:215-223

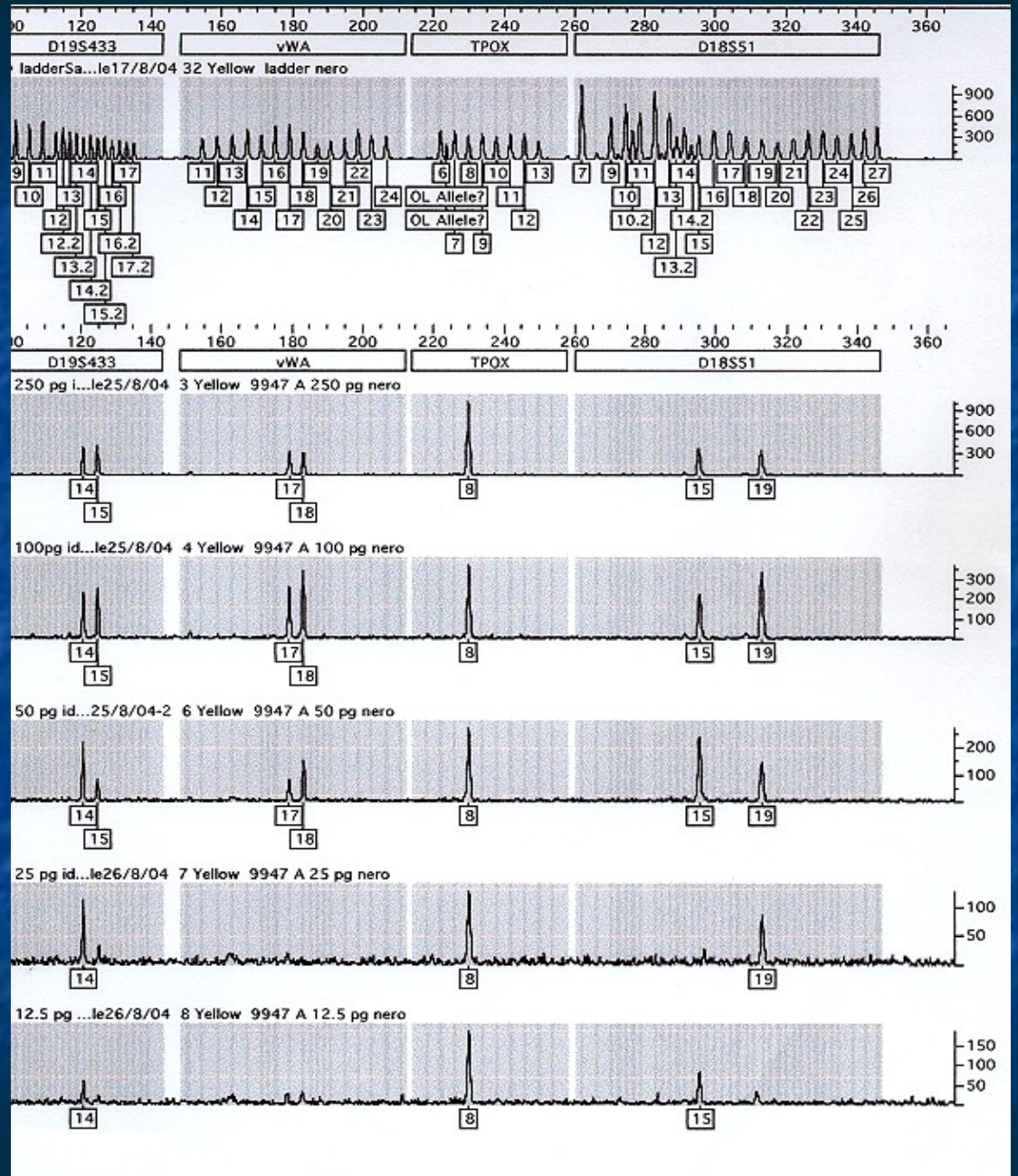
250 pg

100 pg

50 pg

25 pg

12.5 pg





Campione  
degradato

4 diverse PCR  
dello stesso campione

DNA input 200 pg  
(dosato in RealTime)

ADO: D2S1338

Pref Ampl: D3S1358

Spurious: TH01, D16S539

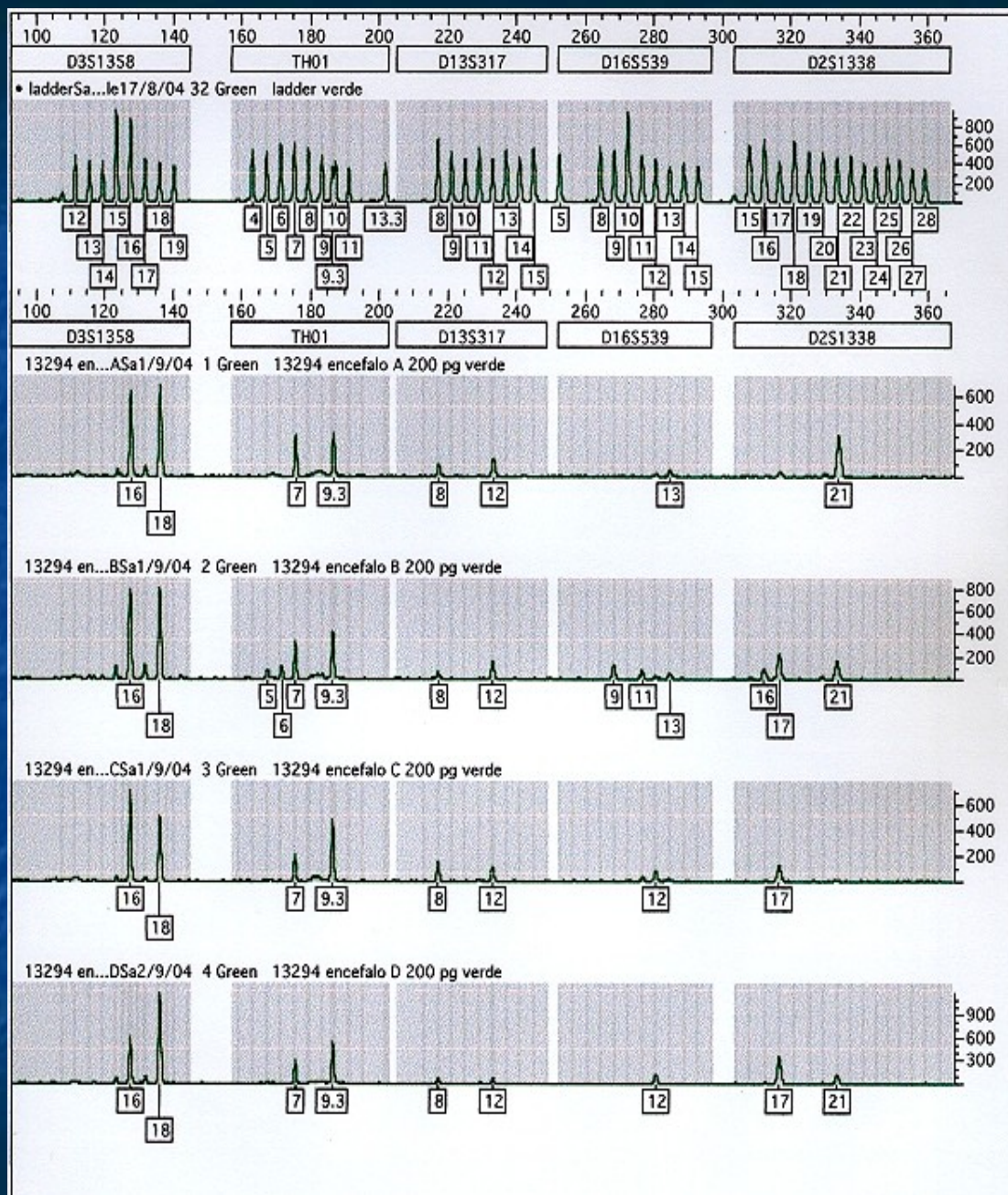
Diversi risultati: D16S539

A

B

C

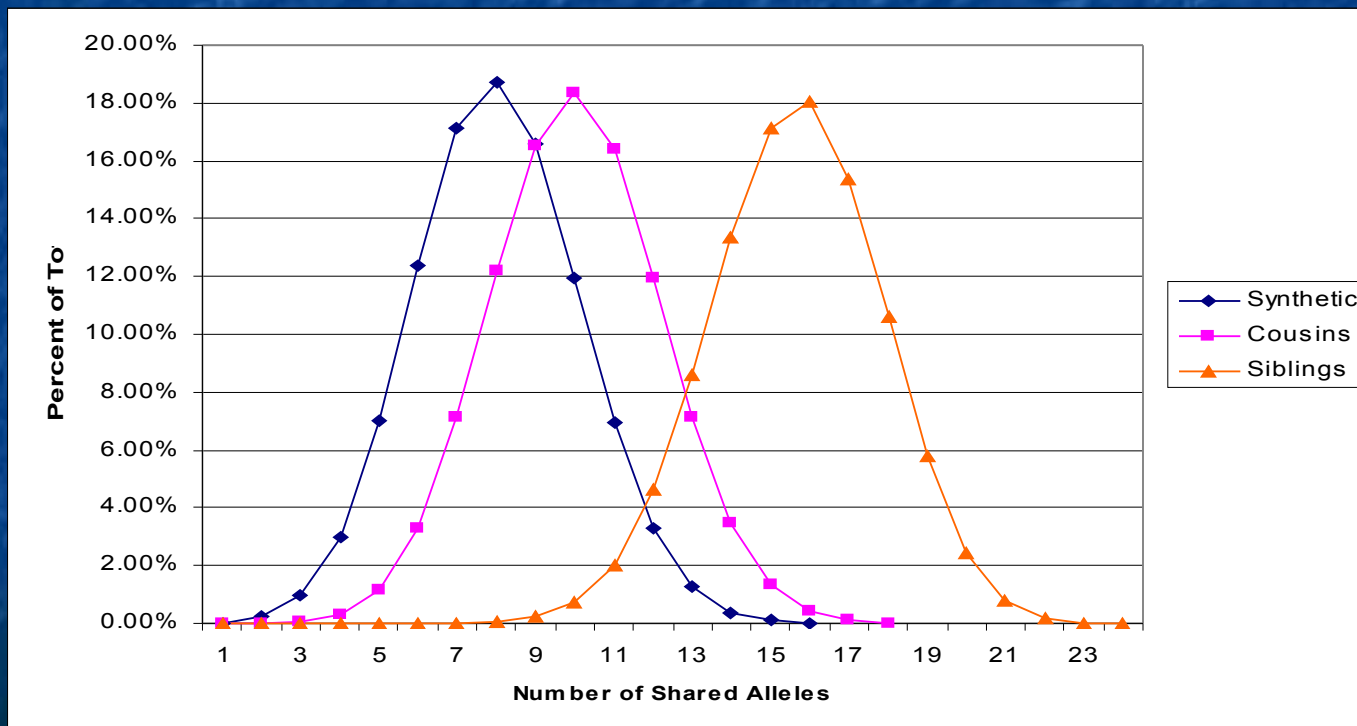
D



# ALCUNE COMPLICAZIONI NELLE ANALISI GENETICO FORENSI

## Presenza di soggetti correlati

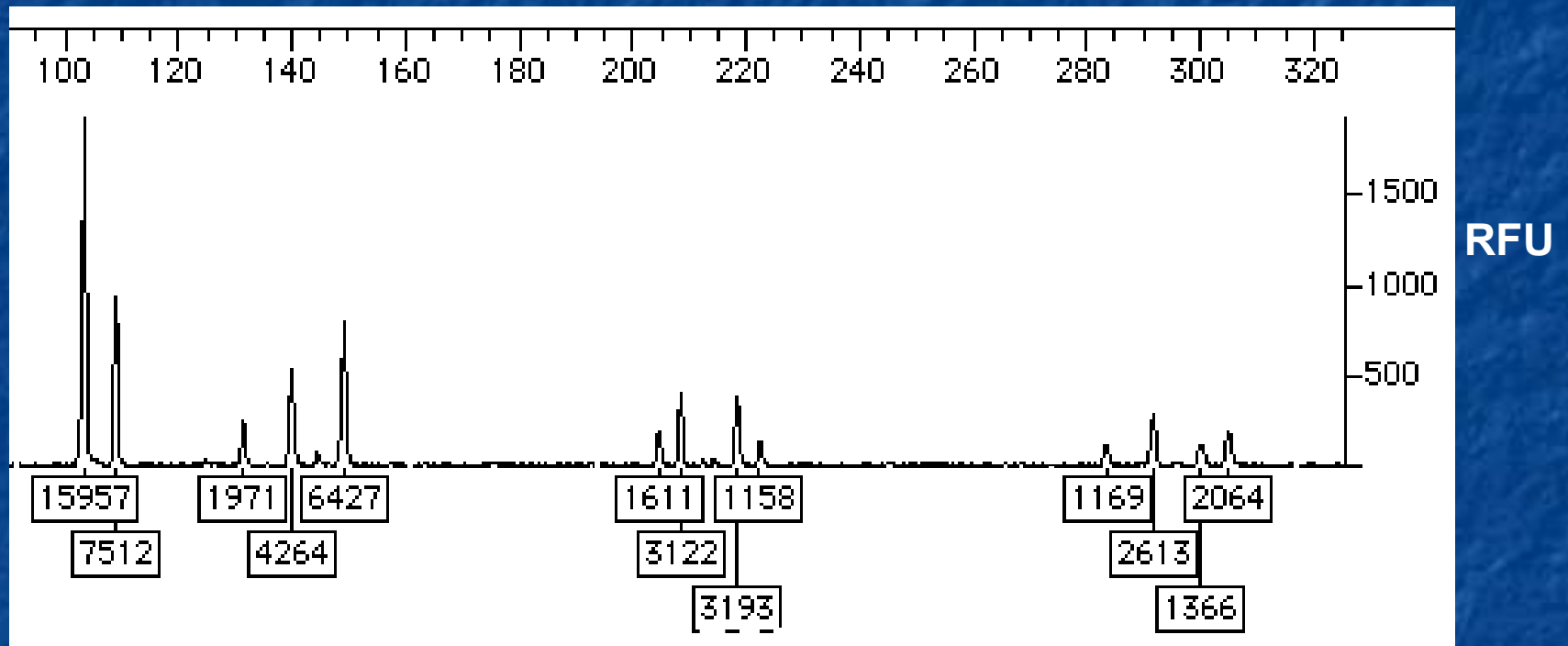
Soggetti correlati hanno maggiori possibilità di condividere un certo numero di alleli a differenti loci. Maggiore è il coefficiente di correlazione tra queste persone, maggiore è il numero di alleli condivisi.





# Tracce miste

DNA Size (bp)



**Amelogenina**  
sbilanciamento  
dei picchi

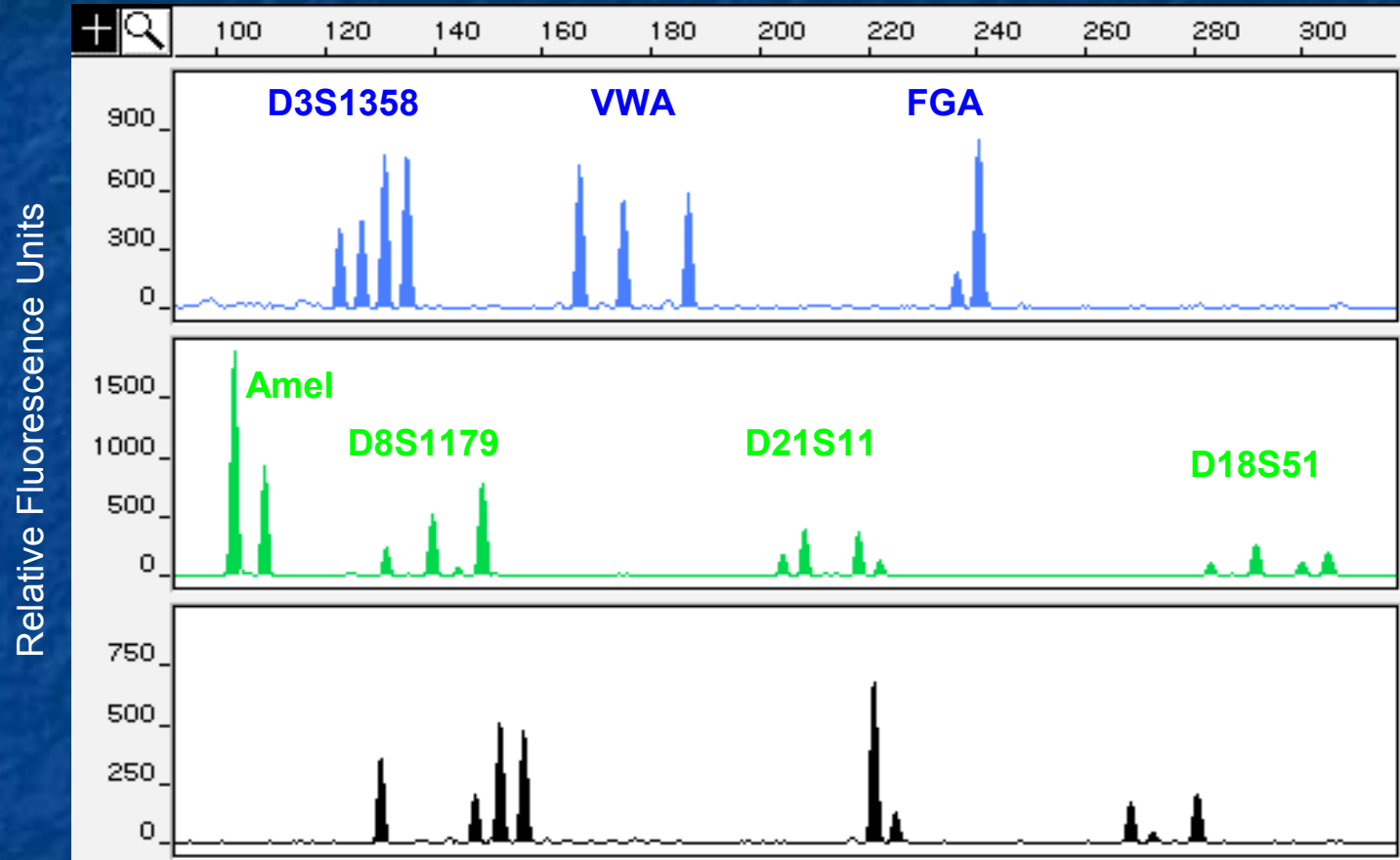
3 picchi  
**D8S1179**

4 picchi  
**D21S11**

4 picchi  
**D18S51**

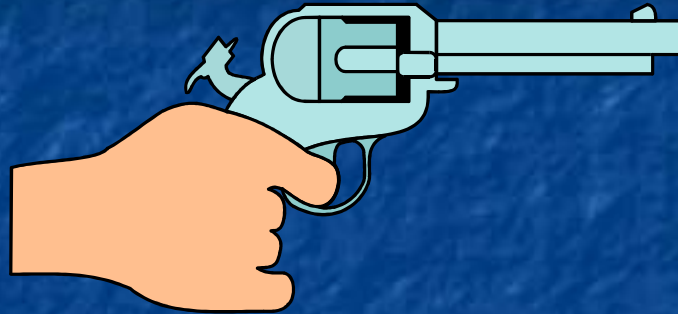
# Tracce miste

DNA Size (bp)



# ALCUNE COMPLICAZIONI NELLE ANALISI GENETICO FORENSI

Profili con basso numero di copie di template  
(low copy number LCN)



Tracce di DNA si trovano dopo che un oggetto è stato toccato o maneggiato da qualcuno, che ha lasciato proprie cellule.





# **GENETICA FORENSE**

**Le indagini di paternità/maternità**

**Le indagini di criminalistica**

**La ricerca di persone scomparse**

**I database del DNA**

**Le analisi su DNA non umano**

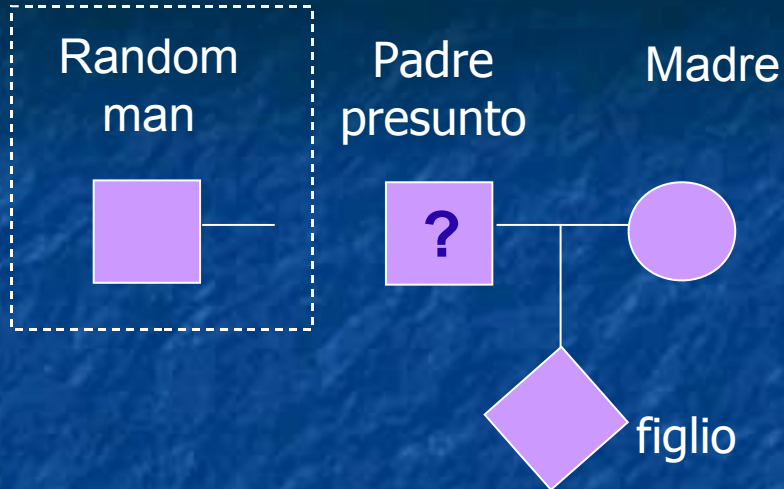
# La ricerca di persone scomparse

Il DNA consente di stabilire l'identità di una persona scomparsa:

- . Esami diretti – confronto tra il DNA della persona scomparsa e materiale biologico di sua certa provenienza (presente su oggetti come pettini, spazzolini da denti, indumenti ecc.)
- . Esami indiretti – si basa sulle regole di trasmissione e sui principi dell'eredità. Viene effettuato il confronto dei profili genetici di parenti biologici della persona scomparsa.

(A)

## Test di paternità



## Regole di trasmissione

- 1) Il figlio ha due alleli per ciascun marcatore autosomico, ereditati uno dalla madre e uno dal padre biologico
- 1) Il figlio, indipendentemente dal sesso, ha l'aplotipo mitocondriale della madre.
- 1) Il figlio, se maschio, possiede l'aplotipo del cromosoma Y del padre.

(B)

## Test di paternità reverse

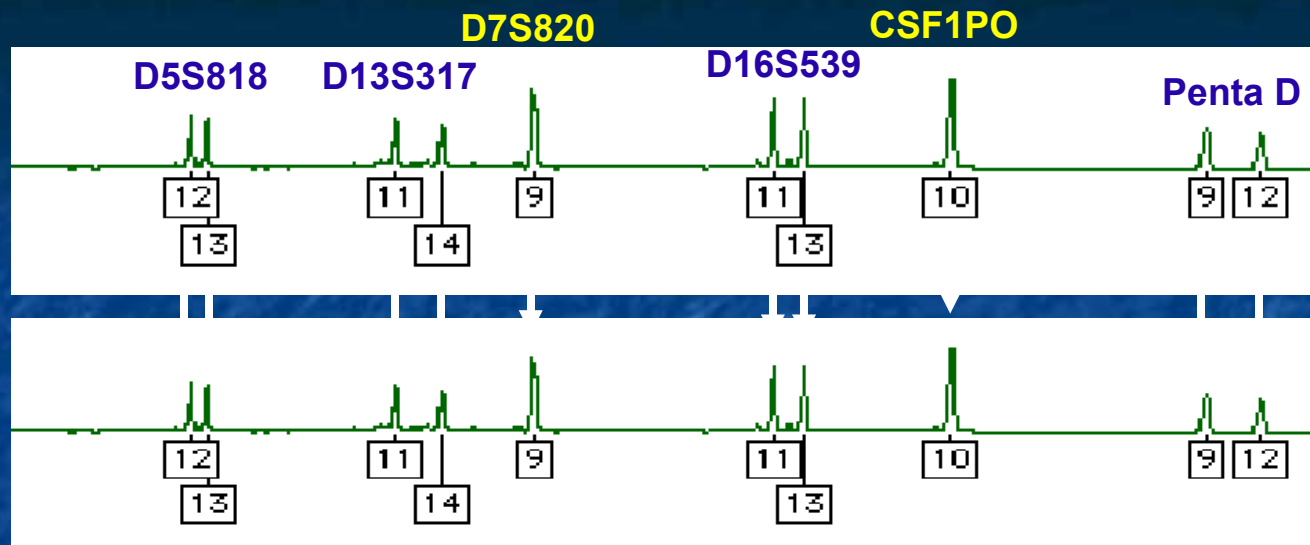




## (A) Comparazione diretta

Profilo del DNA da campione in disastro di massa

Profilo del DNA da un riferimento diretto (spazzolino ritenuto appartenente alla persona scomparsa)



## (B) Analisi indiretta

vittima		D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	CSF1PO	Penta D	
	moglie	11,13	8,12	8,12	8,9	10,12	8,10	moglie
	figlio	11,13	8,14	8,9	9,13	10,10	9,10	figlio
<b>Profilo previsto della vittima</b>		11,? or ?,13	?,14	9,?	?,13	?,10	9,?	<b>vittima (padre)</b>
		12,13	11,14	9,9	11,13	10,10	9,12	<b>Profilo esame diretto</b>

# **GENETICA FORENSE**

**Le indagini di paternità/maternità**

**Le indagini di criminalistica**

**La ricerca di persone scomparse**

**I database del DNA**

**Le analisi su DNA non umano**

# I DATABASE DI DNA

I campioni biologici da cui ricavare i profili genetici custoditi in un database possono provenire da soggetti identificati secondo modalità differenti, come qui di seguito esemplificato:

- campioni biologici ottenuti da criminali condannati per specifici reati di natura violenta (omicidi, violenze sessuali);
- campioni biologici ottenuti da criminali condannati per reati minori, da persone formalmente indagate e da chiunque sia sospettato e acconsenta volontariamente o meno al prelievo;
- campioni biologici di coloro che svolgono funzioni particolari, come gli stessi appartenenti alle forze dell'ordine e il personale medico;
- tracce rinvenute sul luogo di un reato;
- campioni biologici da persone decedute;
- campioni biologici ottenuti dai familiari di soggetti scomparsi.



# I DATABASE DI 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, Croatia, Bulgaria
2001	Francia, Repubblica Ceca
2002	Belgio, Estonia, Lituania, Slovacchia
2003	Ungheria, Lettonia
in preparazione Italia	

# **GENETICA FORENSE**

**Le indagini di paternità/maternità**

**Le indagini di criminalistica**

**La ricerca di persone scomparse**

**I database del DNA**

**Le analisi su DNA non umano**

[J Forensic Sci.](#) 2006 Mar;51(2):274-81.

[Related Articles, Links](#)



## **A proposal for standardization in forensic canine DNA typing: allele nomenclature of six canine-specific STR loci.**

[Hellmann AP](#), [Rohleder U](#), [Eichmann C](#), [Pfeiffer I](#), [Parson W](#), [Schleenbecker U](#).

[Anim Genet.](#) 1997 Aug;28(4):247-52.

[Related Articles, Links](#)

## **Validation of microsatellite markers for routine horse parentage testing.**

[Bowling AT](#), [Eggleston-Stott ML](#), [Byrns G](#), [Clark RS](#), [Dileanis S](#), [Wictum E](#).

Veterinary Genetics Laboratory, University of California, Davis 95616, USA.

[Anal Bioanal Chem.](#) 2003 Aug;376(8):1225-33. Epub 2003 Jun 13.

[Related Articles, Links](#)



## **Development of microsatellite markers in Cannabis sativa for DNA typing and genetic relatedness analyses.**

[Alghanim HJ](#), [Almirall JR](#).



## Il genetista forense

Colui che fornisce al privato o 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.

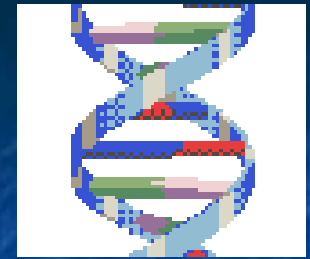


Nelle vicende giudiziarie, sia civili che penali, è sempre il giudice a decidere su un fatto, come l'attribuzione di una paternità o la colpevolezza di un imputato, indipendentemente dai risultati a cui il laboratorio perviene.



Nelle richieste private l'analista si trova a dover fornire all'utente risultati molto importanti, come l'attribuzione di una paternità o l'attribuzione di una traccia ad un individuo.

## Riferimenti web



- Peter de Knijff's Y STR web page:
  - <http://ruly70.medfac.leidenuniv.nl/~fldo/hptekst.html>
- Y STR Haplotype database:
  - <http://ystr.charite.de>
- STRBase
  - <http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase>

