



Corso di Formazione in:

nbg | genetics

# **SCIENZE FORENSI E CRIMINALISTICA: NUOVE TECNICHE DI ANALISI E APPLICAZIONI PRATICHE**

**BOLOGNA, 21-22 novembre 2014**

Camplus Living Bononia – Aula Petronio - Via Sante Vincenzi, 49 – Bologna

## L'attribuzione e il confronto di profili genetici

***Carlo Previderè***

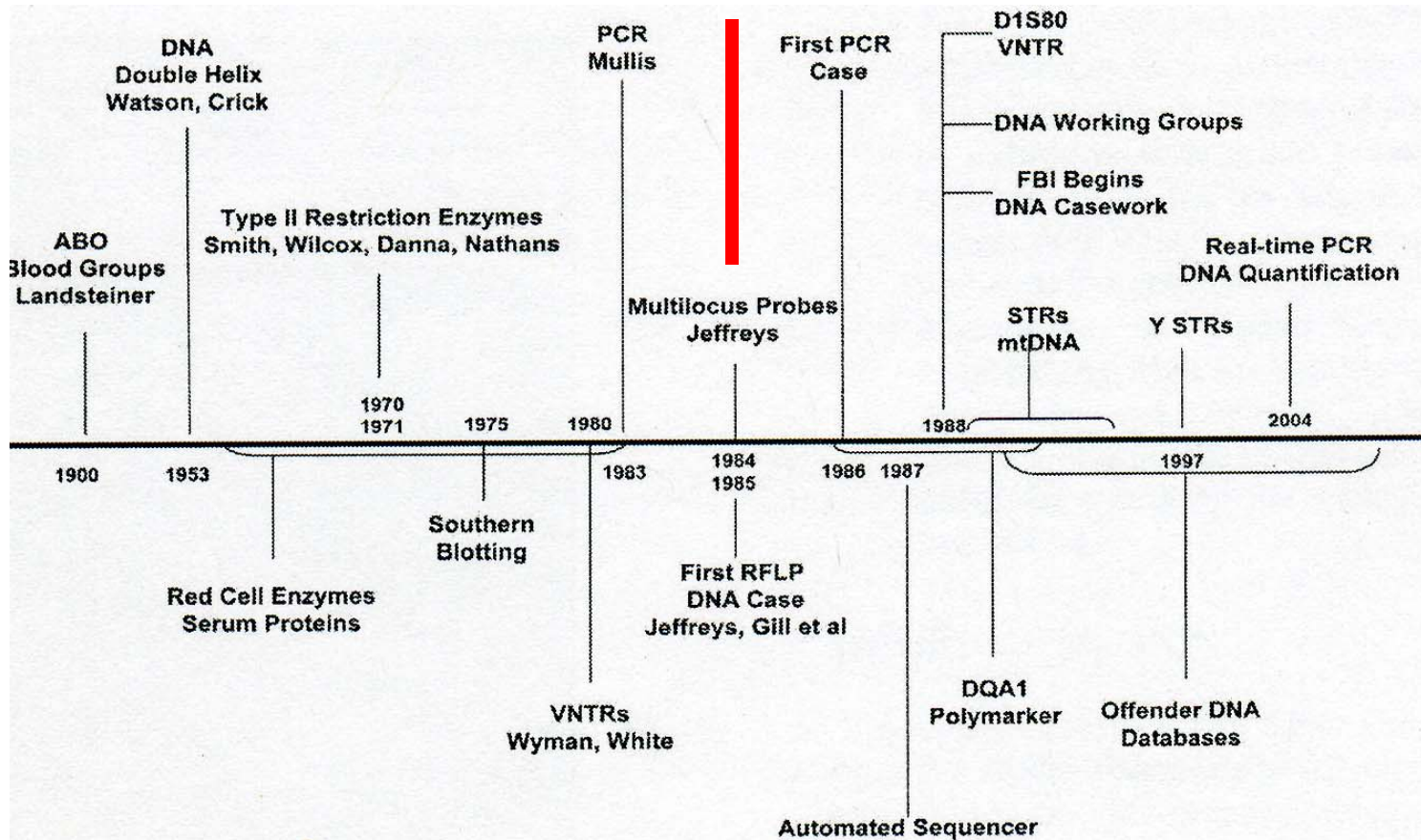
*Dipartimento di Sanità Pubblica,,*

*Medicina Sperimentale e Forense*

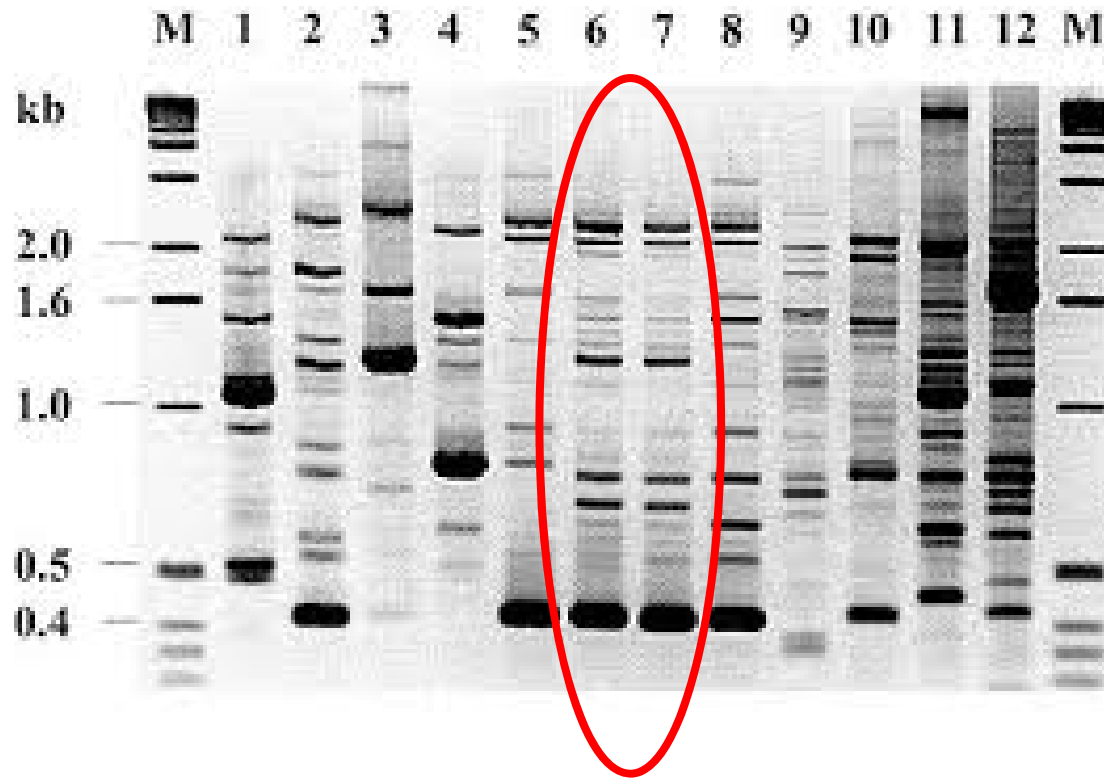
*Sezione di Medicina Legale e Scienze Forensi*

*Università degli Studi di Pavia*

# Il profilo genetico

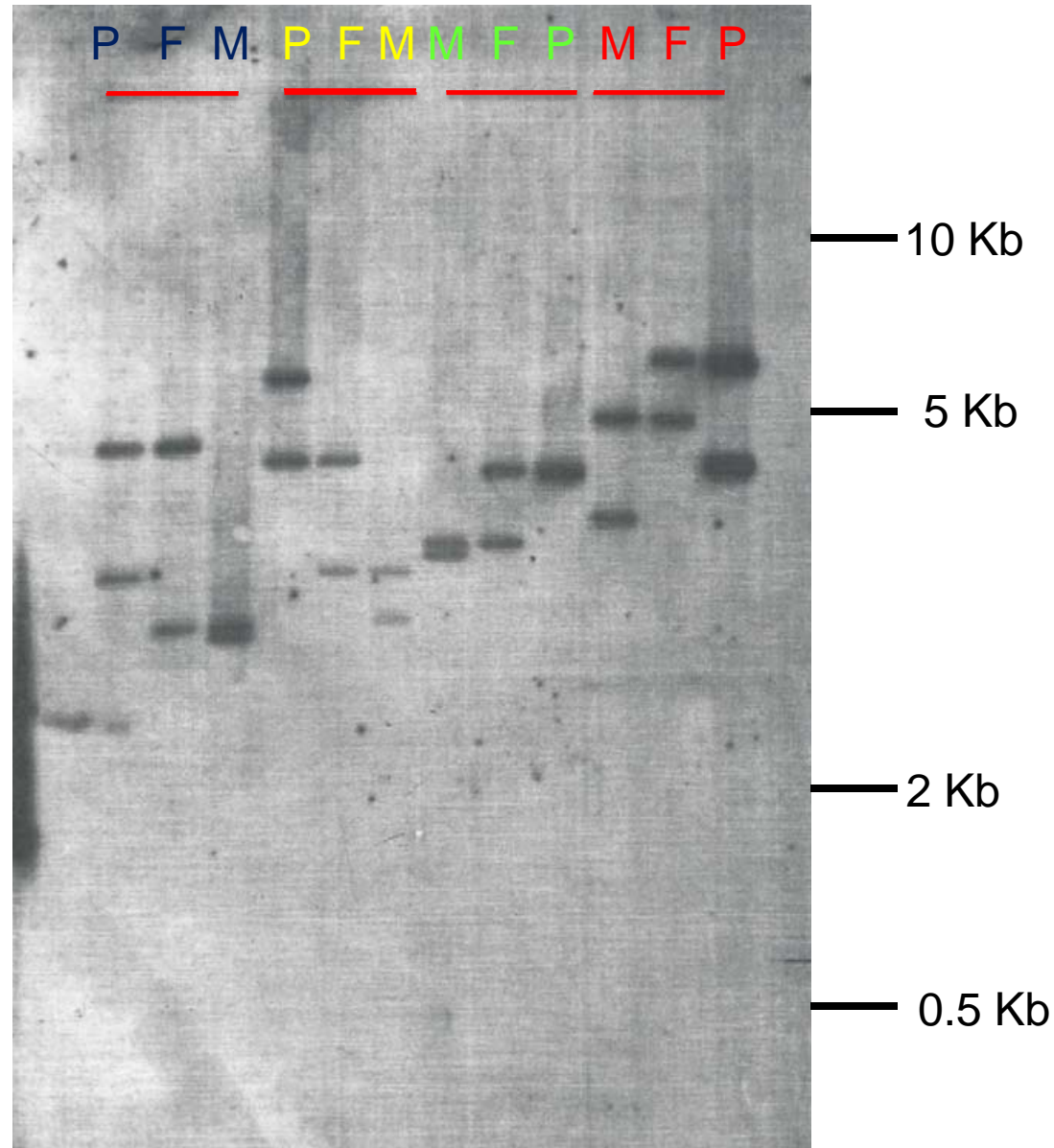


## Il profilo genetico



In che termini rappresentare la compatibilità. Il profilo è uomo specifico?

# Il profilo genetico



Profili genetici  
single locus

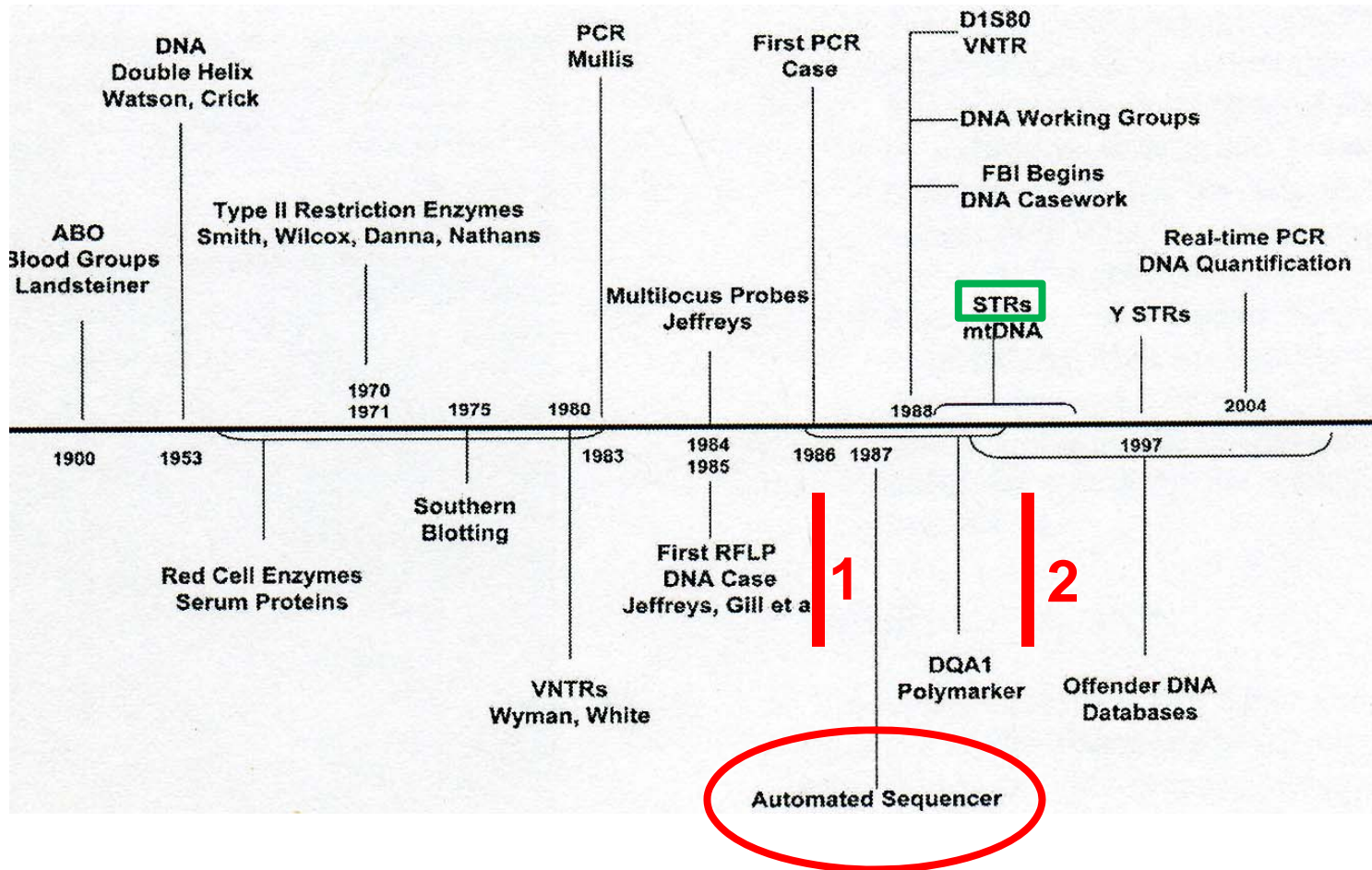
Identificazione  
degli alleli (bins)

Frequenze

Non possibile  
con DNA degradato



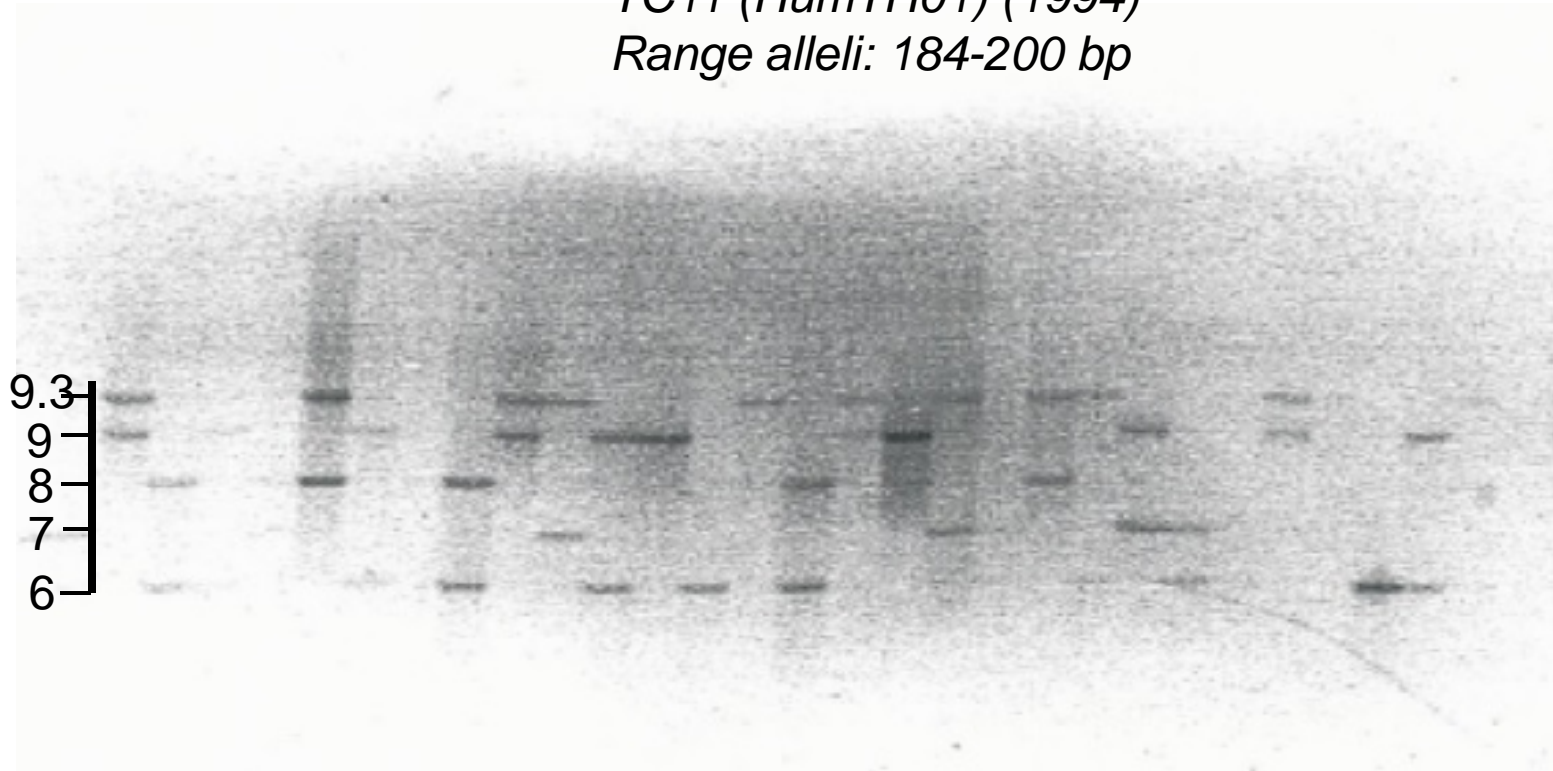
# Il profilo genetico



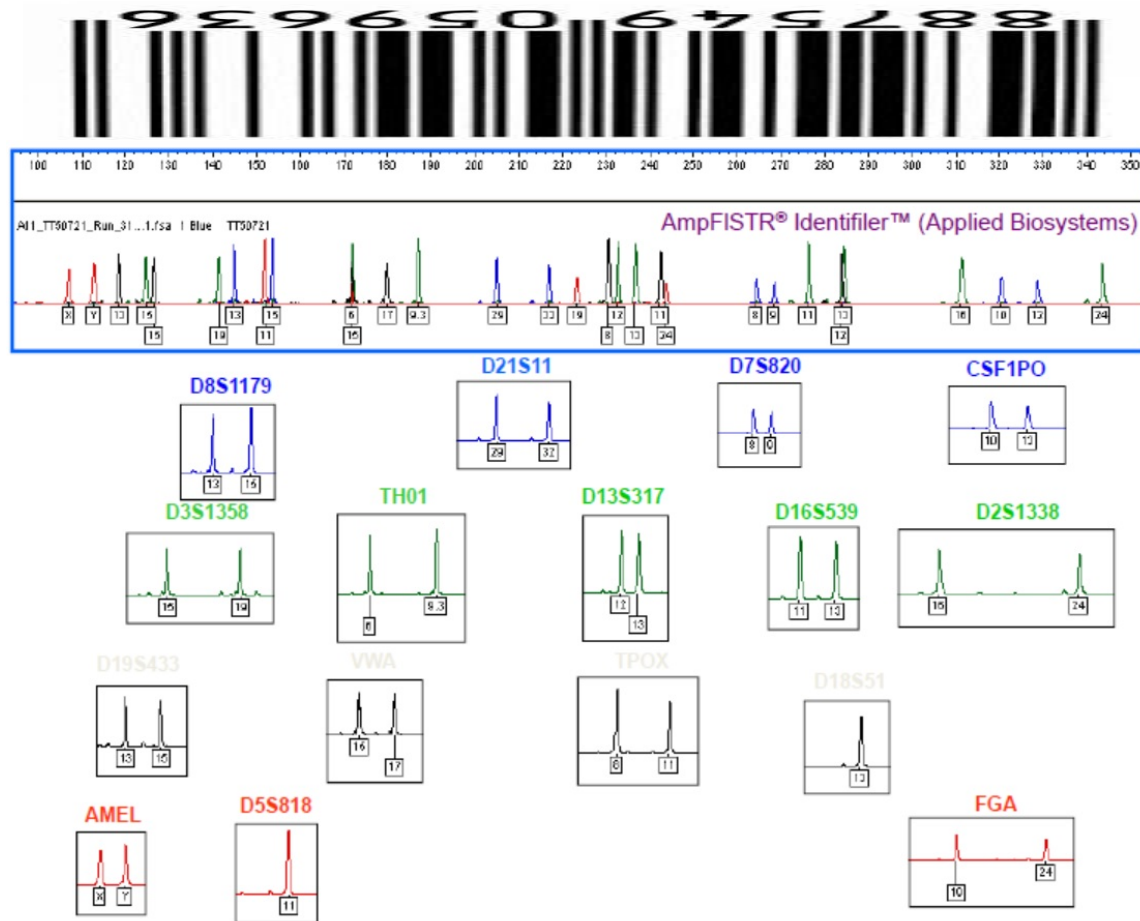
# Il profilo genetico

Marcatori di elezione per l'identificazione forense  
STRs (Short Tandem Repeats)

*TC11 (HumTH01) (1994)*  
*Range alleli: 184-200 bp*



Separazione elettroforetica; sistemi solo in singleplex



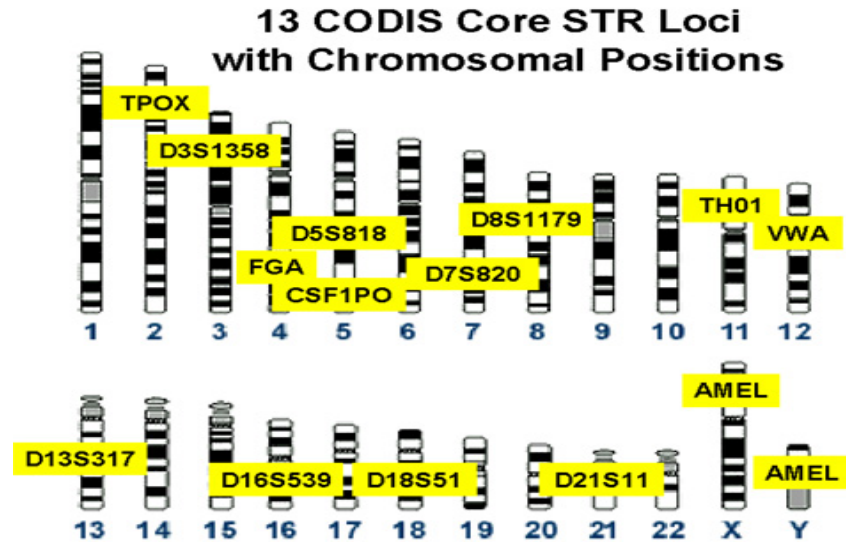
- Separazione elettroforetica ottimale ottenuta con sequenziatore automatico;
- Chiara identificazione degli alleli.
- Sensibilità aumentata di 5 ordini di grandezza rispetto al DNA fingerprinting;
- Possibilità di ottenere il massimo dell'informazione genetica in una singola reazione (PCR multiplex);
- Possibilità di tipizzare anche DNA molto degradato;

# Il profilo genetico standard internazionale

13-17 marcatori genetici  
(microsatelliti o STR) più un  
marcatore genetico per la diagnosi di  
sesso (*amelogenina*)

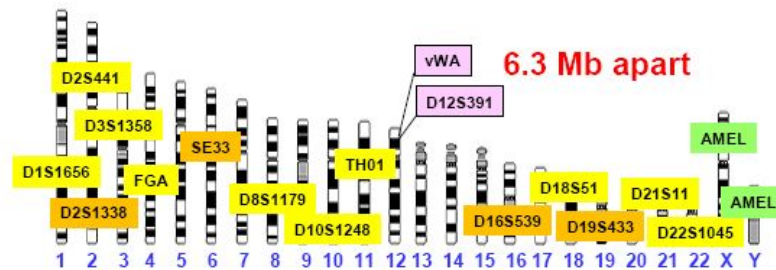
Consente di scambiare profili a  
livello internazionale

Nessun informazione circa lo  
stato di salute del soggetto



## Chromosomal Positions for the European Standard Set

and Other Common STR Markers Used



**European Standard Set** + D16S539, D2S1338, D19S433, SE33

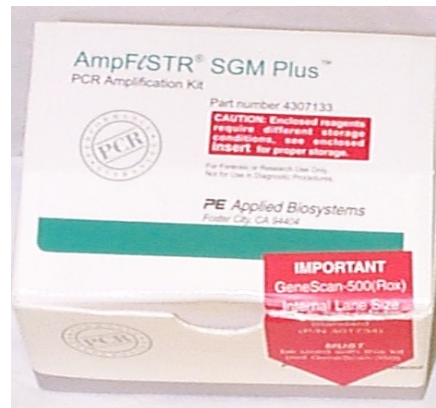


# Il profilo genetico standard internazionale

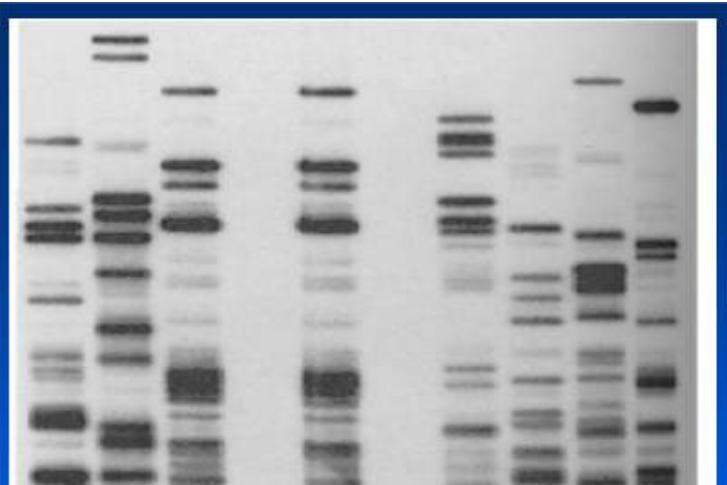
Marcatori genetici selezionati sono affidabili in termini di sensibilità dell'analisi e riproducibilità dei risultati.

Vagliati e approvati da Società Internazionali di Genetica-Forense  
*ISFG* – International Society for Forensic Genetics  
*ENFSI* – European Network of Forensic Sciences Institutes  
*EDNAP* – European DNA Profiling Group

*Sviluppo di kit commerciali*



# Il profilo genetico



Il domestico ha confessato. Vent'anni dopo svelato il caso del delitto dell'Olgiate. E grazie al Dna tornano in scena altri omicidi irrisolti.

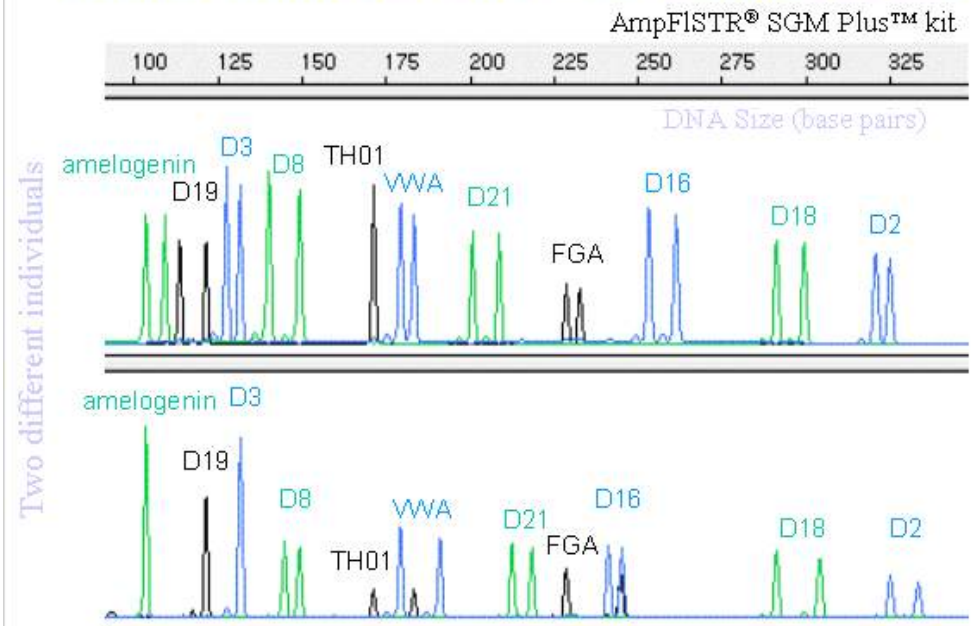


La contessa Alberica Filo della Torre, assassinata il 10 luglio

Vent'anni di indagini non sono bastati a scalfire il mistero concludendosi, alla fine, con la solita frase che sigilla tanti fascicoli stipati nei tribunali italiani: «Mancata identificazione del responsabile dell'omicidio». Il colpo di scena – in perfetta simmetria con un altro celebre “cold case” italiano, il delitto di via Poma – è arrivato qualche giorno fa: a uccidere la contessa Alberica Filo della Torre, la mattina del 10 luglio 1991, secondo la Procura di Roma, è stato il domestico filippino Winston Manuel Reves, entrato e uscito dall'inchiesta più volte in questi anni. Inchiodato dalle prove, il domestico ha confessato in lacrime l'omicidio.

L'uomo lavorò in sostituzione di un'altra persona per circa due mesi nella villa, fino all'aprile di quell'anno. Poi continuò a svolgere dei lavoretti e fu visto nella residenza all'Olgiate fino al giugno successivo. A incastrarlo, in una prova definitiva dal capo dei Ris di Roma Luigi Ripani «devastante», una macchia di sangue sul lenzuolo avvolto attorno al collo della vittima dopo essere stata strangolata e colpita alla testa con uno zoccolo blu. «Una perfetta

## Human Identity Testing with Multiplex STRs



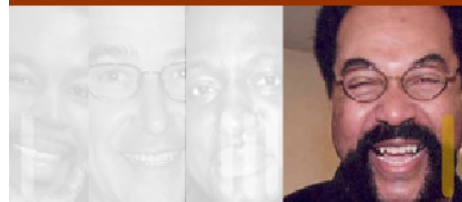
INNOCENCE PROJECT



SEARCH Google™ Custom Search

KNOW THE CASES : UNDERSTAND THE CAUSES : FIX THE SYSTEM

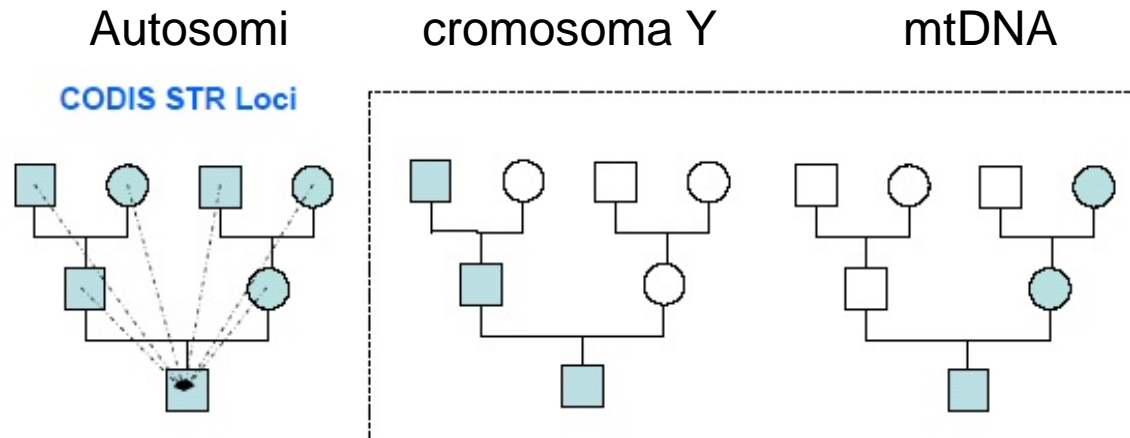
ABOUT : DONATE : NEW



**William Gregory**  
First person to be exonerated by  
DNA testing in Kentucky.

November 20, 2014 : 321 EXONERATED

# Il profilo genetico



# Il profilo genetico

La qualità del profilo genetico risente, fondamentalmente, di due fattori

LA QUALITA' DEL DNA

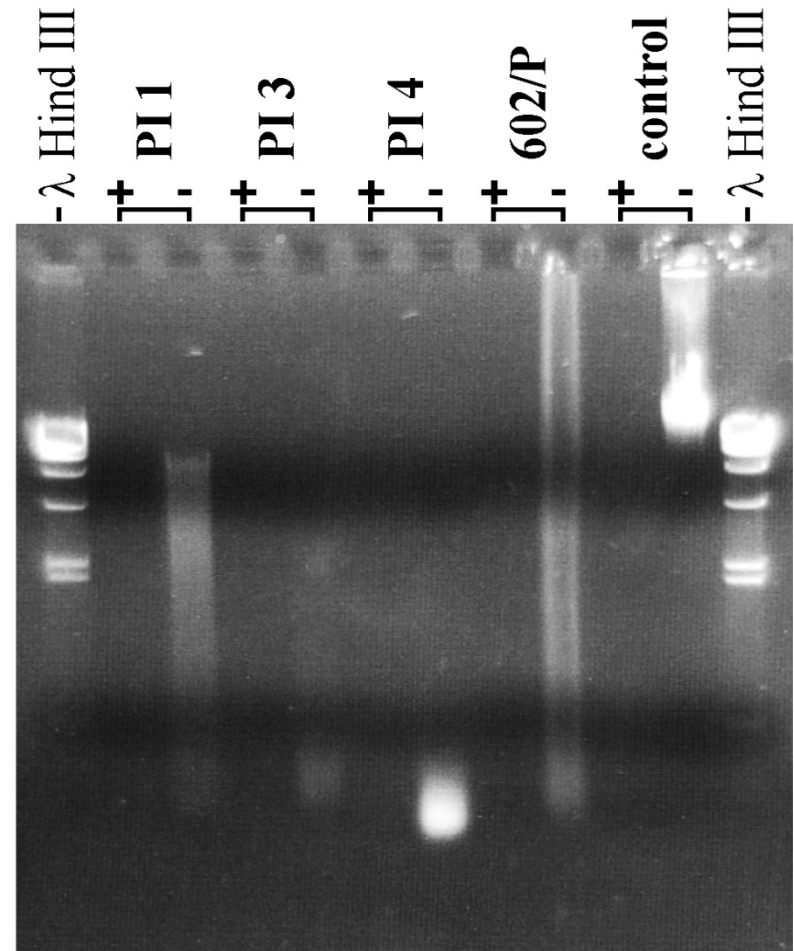
e/o

LA QUANTITA' DEL DNA

# Il profilo genetico

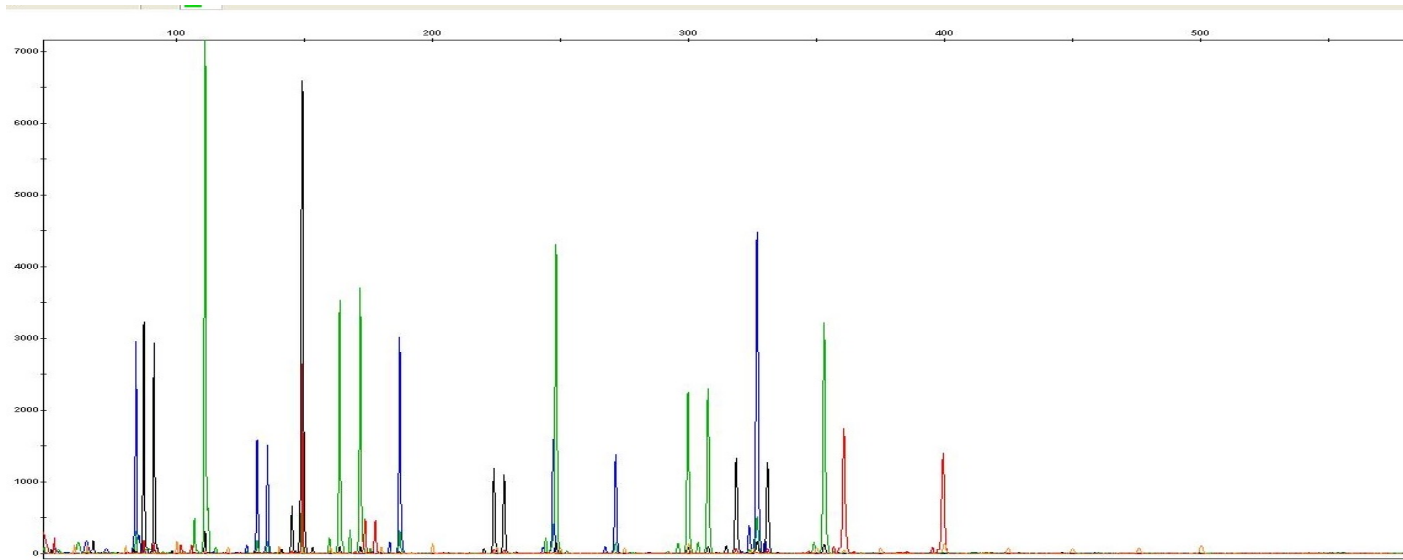
La qualità del DNA, in termini di conservazione della struttura primaria, ha ripercussioni sulla qualità del profilo genetico che si ottiene dal reperto.

Se il campione di DNA è massicciamente degradato è molto difficile ottenere un profilo genetico

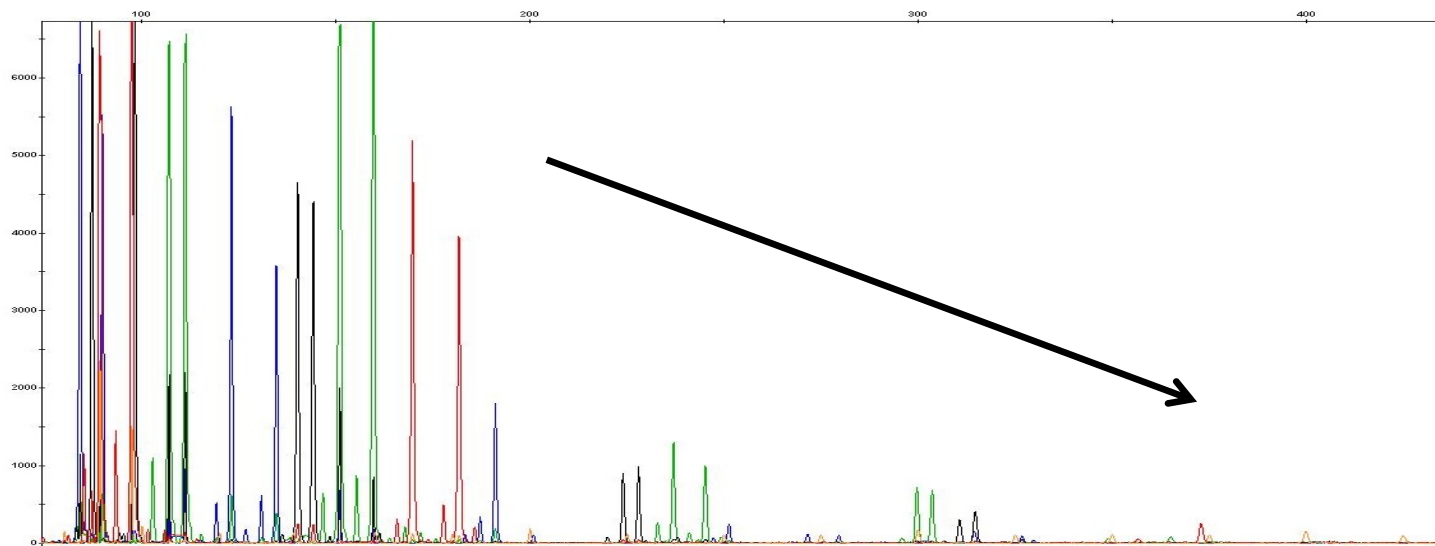




# Il profilo genetico



## DEGRADAZIONE DEL DNA: PROFILO GENETICO PARZIALE



# Il profilo genetico

## Profili genetici LCN (Low Copy Number)

Profili genetici di bassa qualità in cui sono presenti artefatti legati alla bassa quantità di DNA.

Più del 50% delle indagini identificative eseguite attualmente nei laboratori è su oggetti toccati (*touch DNA*).

Molto probabile condizione di LCN-DNA

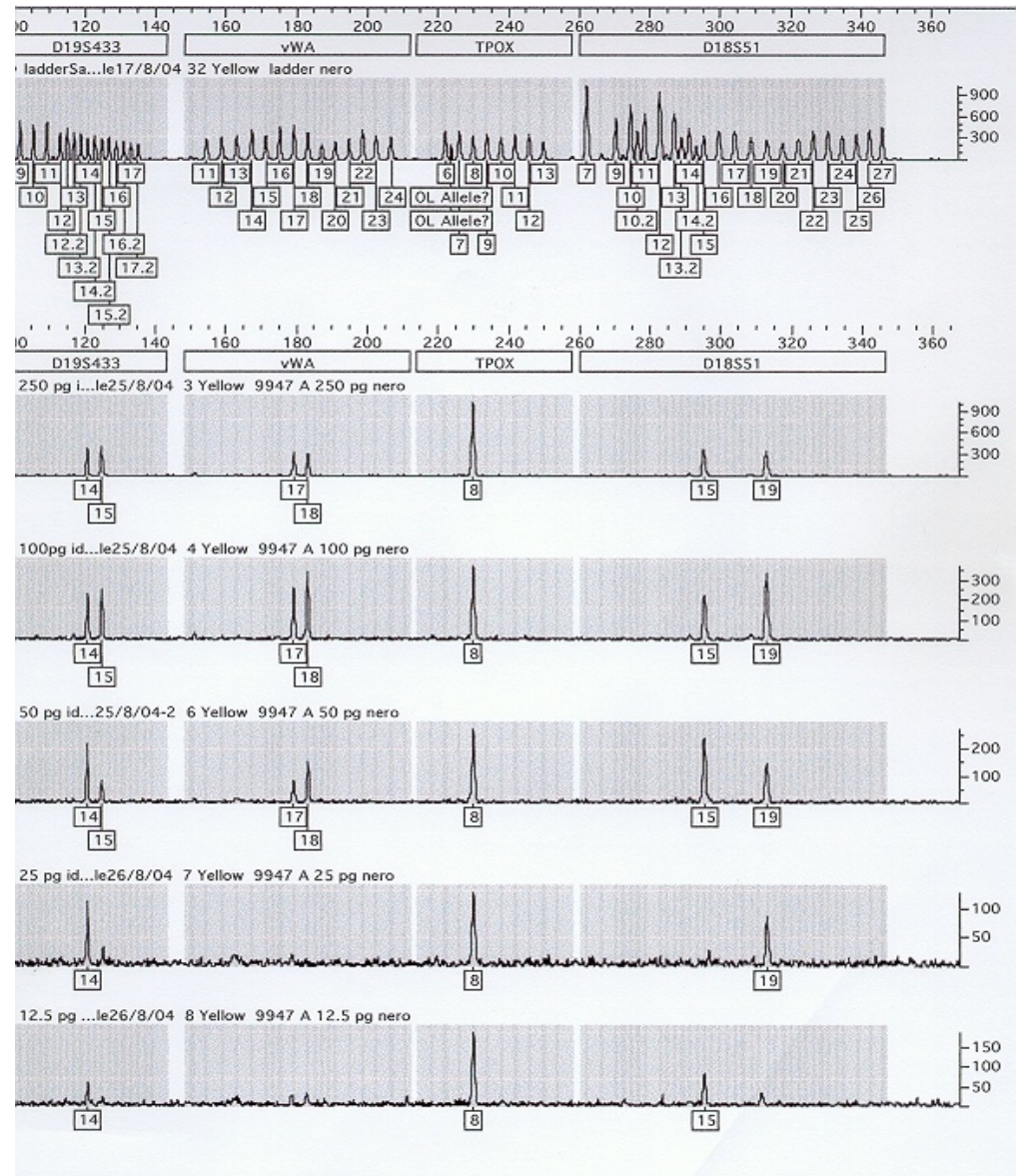
250 pg

100 pg

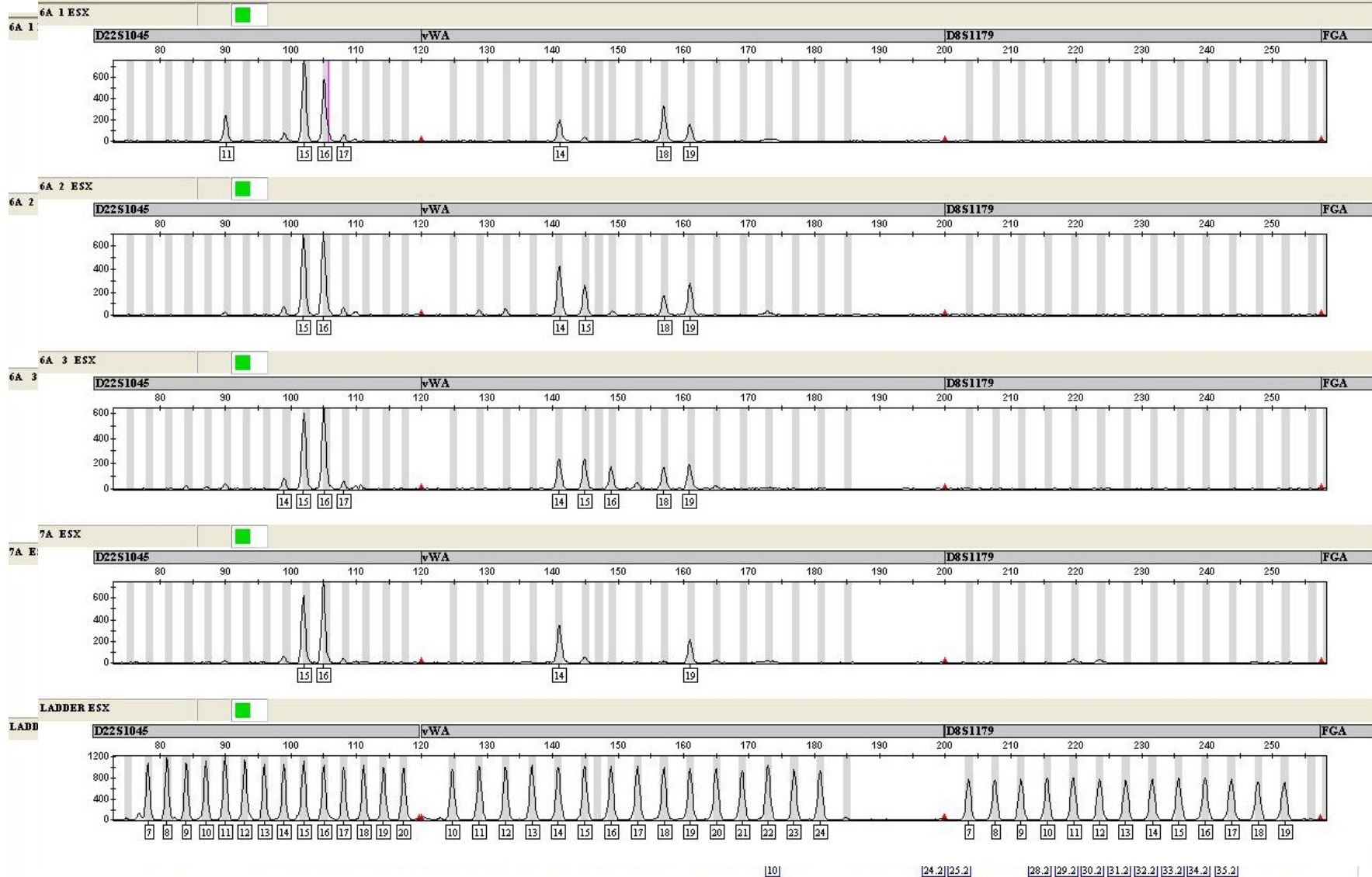
50 pg

25 pg

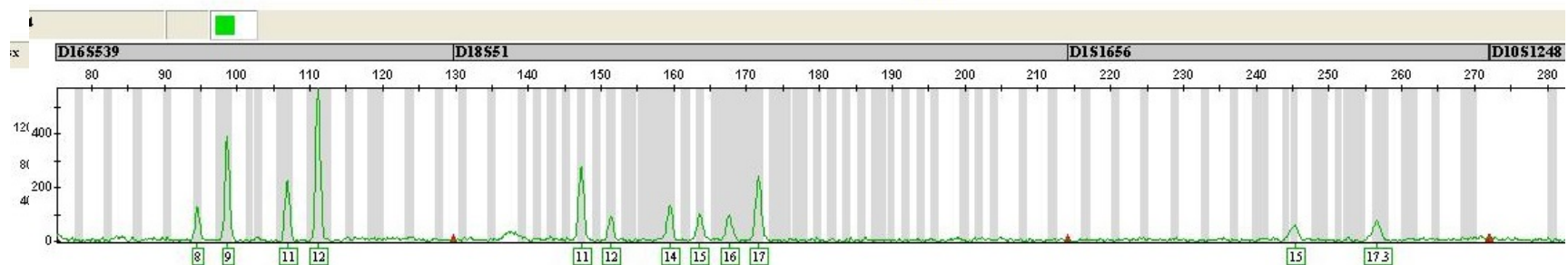
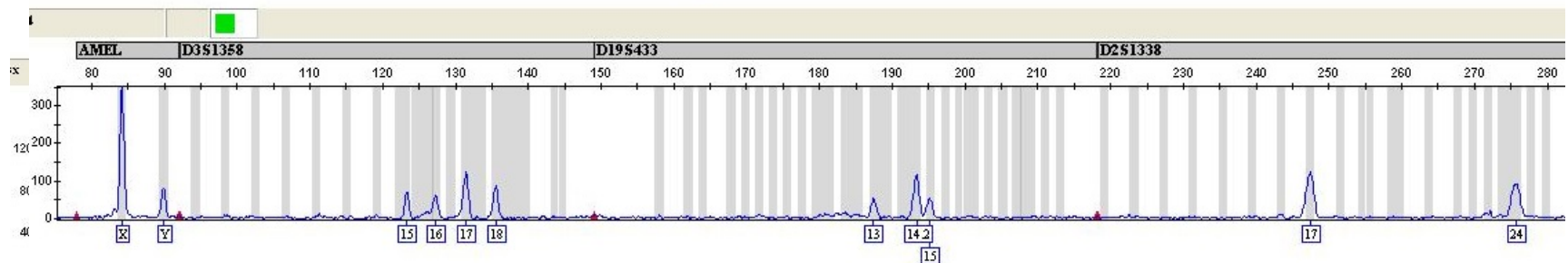
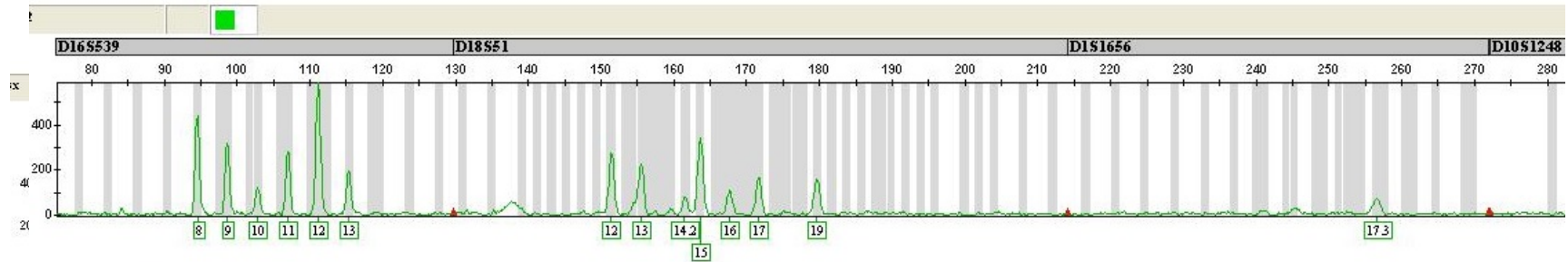
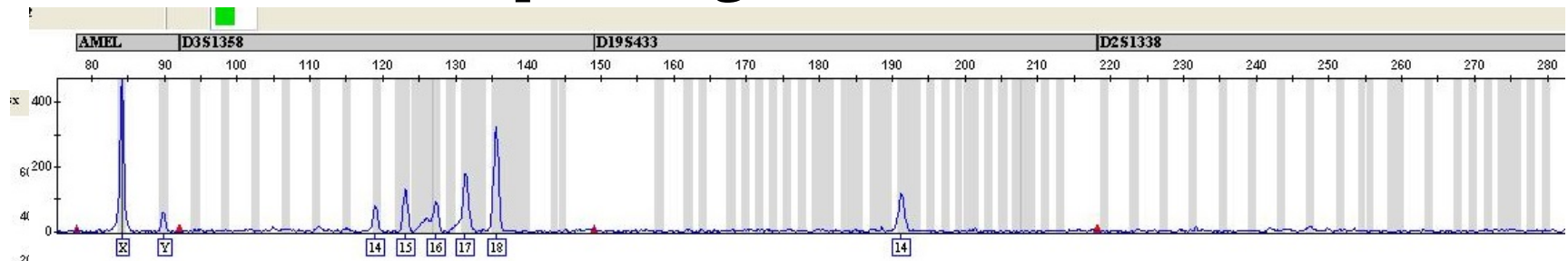
12.5 pg



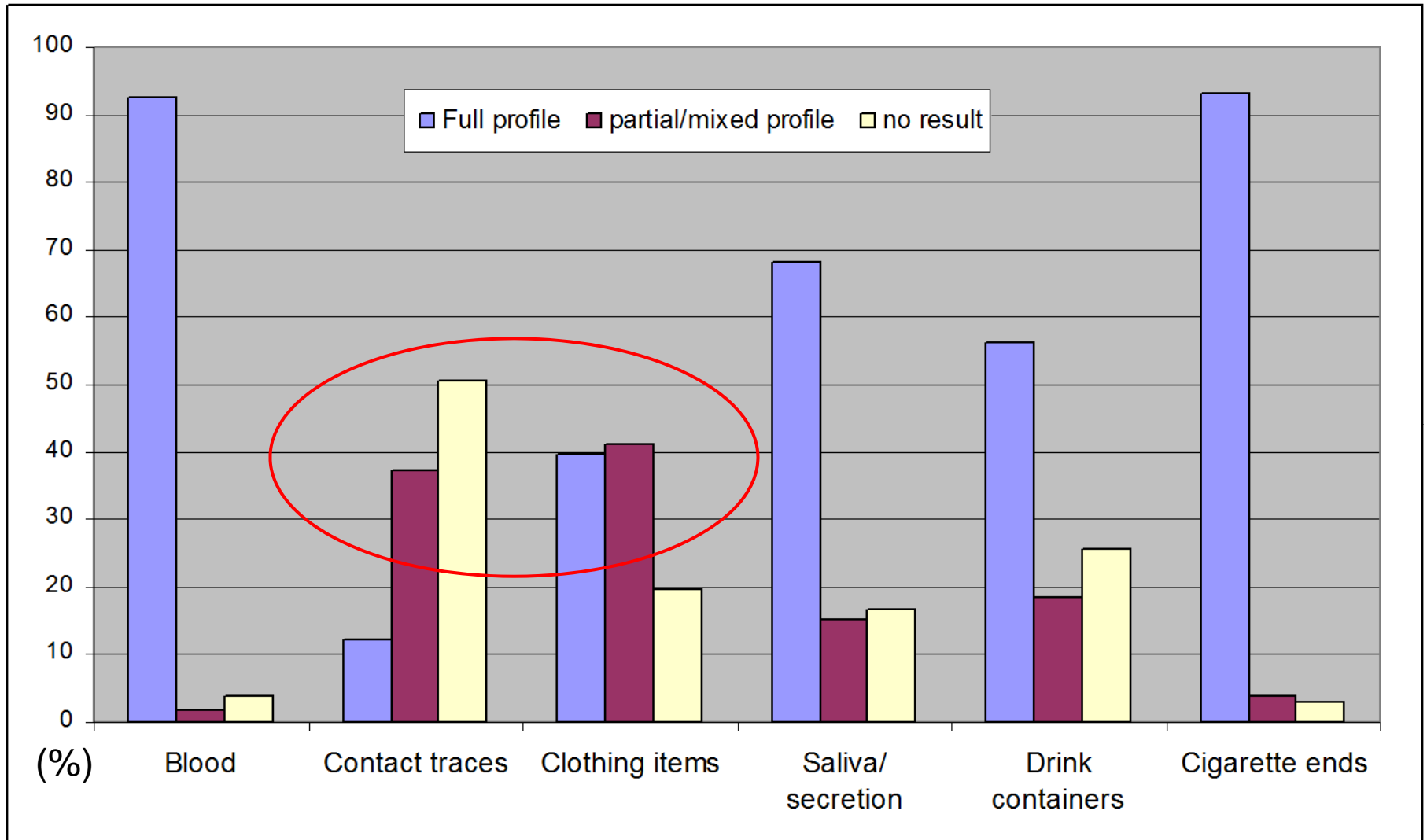
# Il profilo genetico



# Il profilo genetico



# Tipologie di tracce e qualità dei profili genetici

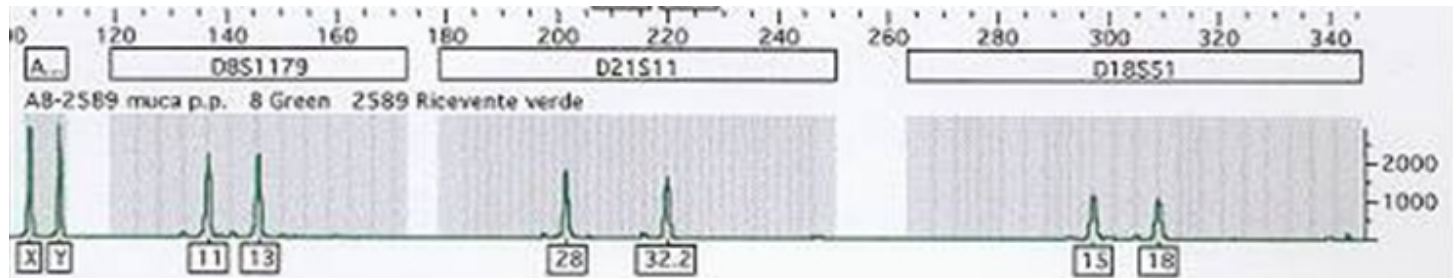




# PROFILI GENETICI COMMISTI

Originati dal contestuale contributo di substrati biologici riferibili a più soggetti

Soggetto 1



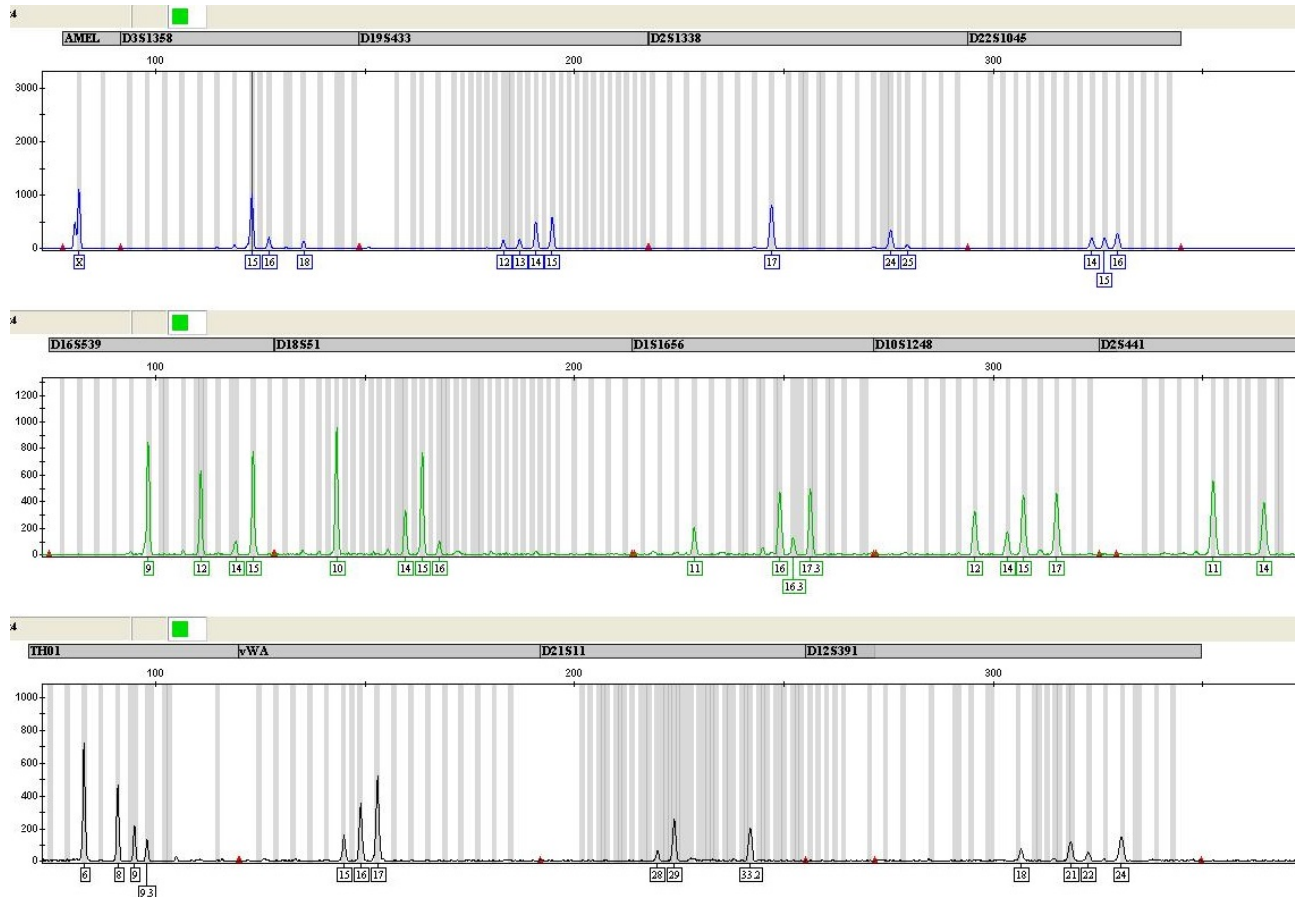
Soggetto 2



Traccia  
mista



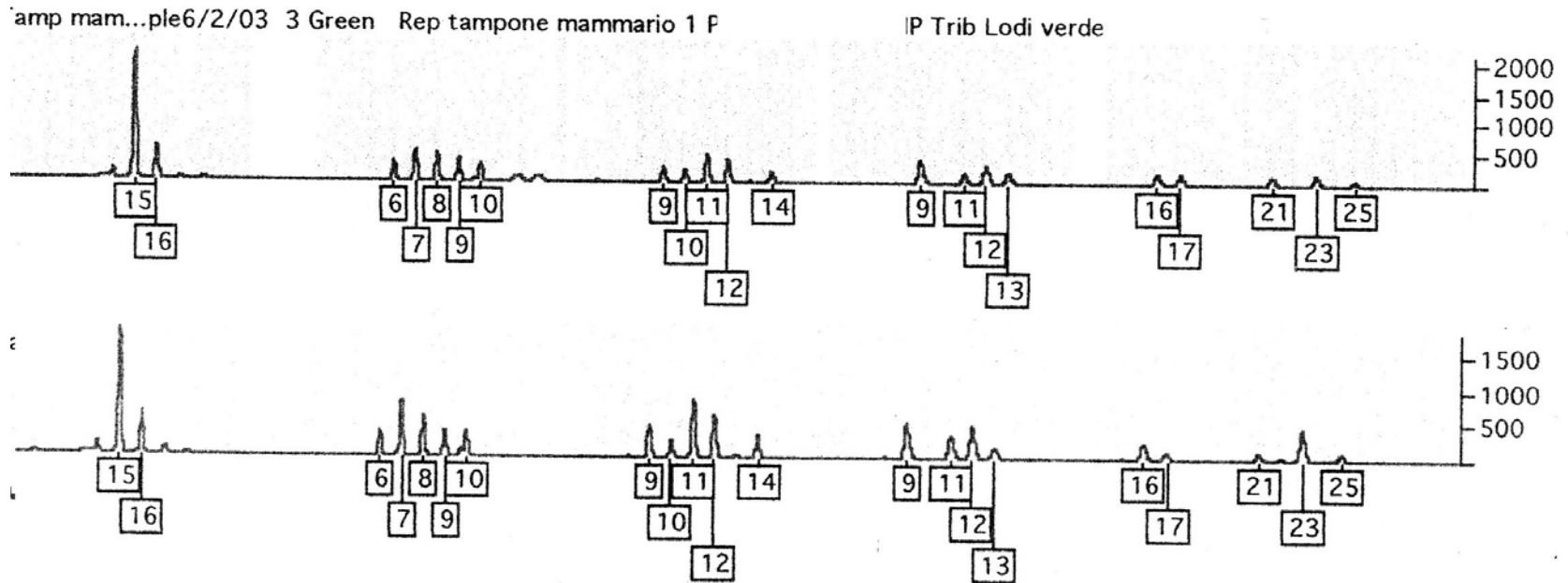
# Il profilo genetico



- Tracce miste : più di due alleli per locus in almeno due sistemi genetici
- Inferenza sul numero dei contributori:
  - Fino a 4 alleli: almeno 2 contributori
  - Fino a 6 alleli: almeno 3 contributori
  - Più di 6 alleli: nessun'interpretazione possibile

# *Lo stato dell'arte della genetica-forense*

## PROFILI GENETICI COMMISTI

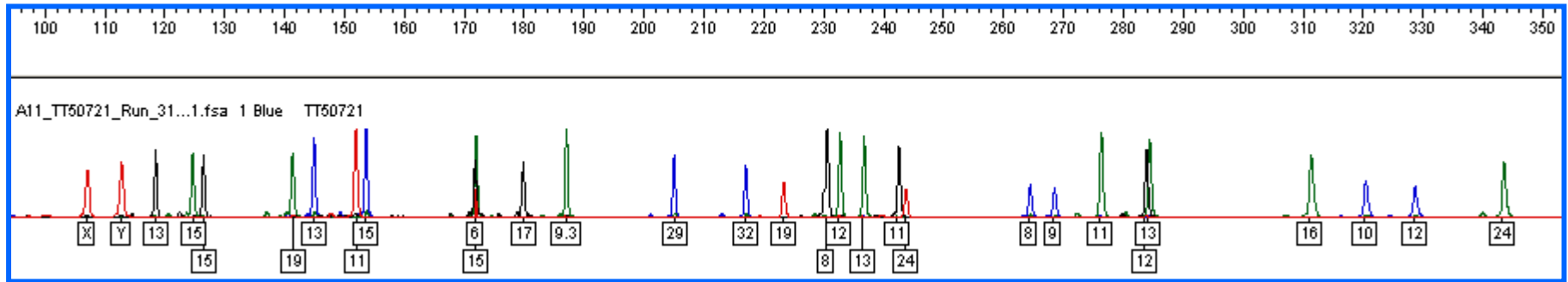


DIFFICILE INTERPRETAZIONE SE NON SI HANNO PROFILI GENETICI DI COMPARAZIONE.

DIFFICILE ISOLARE I SINGOLI PROFILI GENETICI

Anche se esistono linee guida internazionali l'approccio probabilistico è molto complesso.

# L'attribuzione del profilo genetico



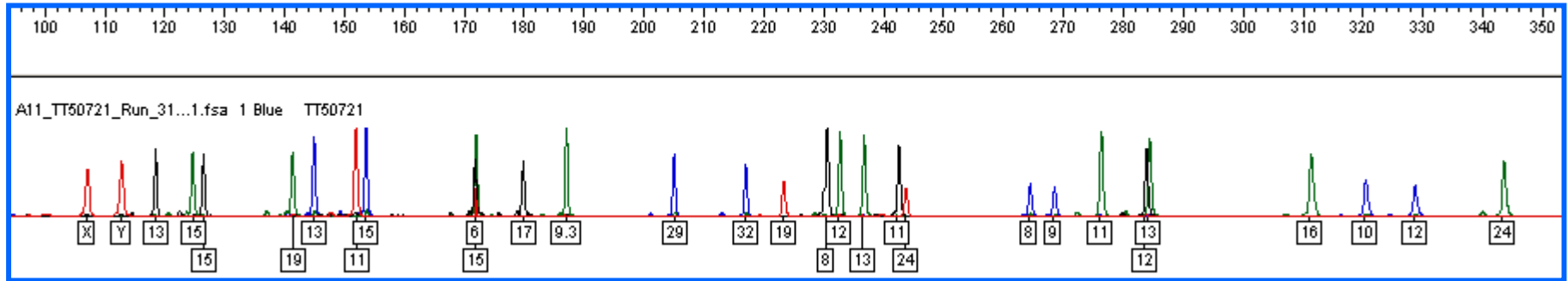
STR	Amelog.	D3S1358	vWA	FGA	D8S1179	D18S51	CSF1PO	TH01	TPOX
traccia	X-Y	15-16	18-20	21-23	13-15	12-12	9-10	7-10	8-11

## Il test del DNA è un esame comparativo

**Il profilo genetico determinato dalla traccia deve essere confrontato altri profili genetici**

- Con il soggetto indagato, con la vittima
- Con i prossimi congiunti, nell'ambito di una identificazione
- Con una banca dati di profili genetici

# L'attribuzione del profilo genetico



TRACCIA BIOLOGICA



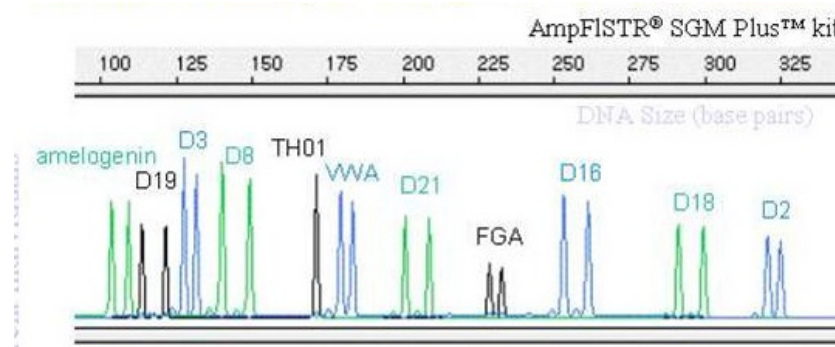
INDAGATO

**NUMEROSE INCOMPATIBILITA' GENETICHE: GIUDIZIO DI ESCLUSIONE**



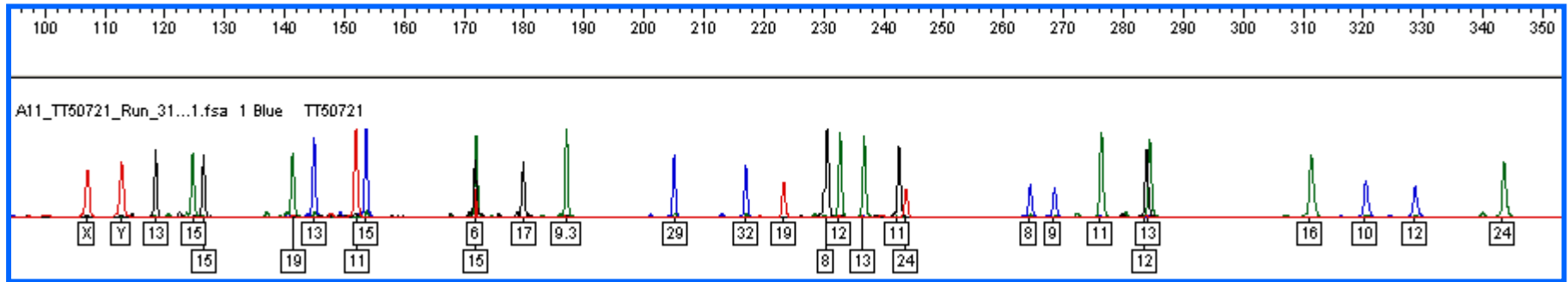
# L'attribuzione del profilo genetico

## CONFRONTO DI PROFILI GENETICI



MARKER	Amel	D3S1358	D19S433	D2S1338	D16S539	D18S51	TH01	vWA	FGA
traccia	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23
Individuo 1	XY	16-17	14-15	17-19	9-10	12-13	8-9	16-20	21-21
Individuo 2	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23

# L'attribuzione del profilo genetico



TRACCIA BIOLOGICA



INDAGATO

**NESSUNA INCOMPATIBILITA' GENETICA: PROFILI PERFETTAMENTE SOVRAPPONIBILI (IDENTICI?)**

# L'attribuzione del profilo genetico

## CONFRONTO DI PROFILI GENETICI

MARKER	Amel	D3S1358	D19S433	D2S1338	D16S539	D18S51	TH01	vWA	FGA
traccia	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23
Individuo 2	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23

- Dalla comparazione dei profili genetici NON emergono incompatibilità genetiche.
- I profili genetici sono perfettamente sovrapponibili. Vi è quello che viene definito il “*match*”.

# L'attribuzione del profilo genetico

## CONFRONTO DI PROFILI GENETICI

MARKER	Amel	D3S1358	D19S433	D2S1338	D16S539	D18S51	TH01	vWA	FGA
traccia	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23
Individuo 2	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23

- Viene, quindi, calcolata la “*match probability*” ovvero la probabilità di rinvenire a caso nella popolazione un soggetto che presenti le medesime caratteristiche genetiche evidenziate per la traccia.
- Per fare questo, si calcola la frequenza dei genotipi osservati ai singoli loci analizzati

# L'attribuzione del profilo genetico

Per valutare la probabilità di un genotipo si usa il modello proposto da Hardy-Weinberg la cui validità è legata ad alcune assunzioni principali:

- 1) La popolazione di riferimento è infinita
- 2) L'incontro fra soggetti a fini riproduttivi segue uno schema casuale  
(GENOTIPI INDIPENDENTI FRA DIFFERENTI SOGGETTI)
- 3) Vi è assenza di mutazioni
- 4) Vi è assenza di migrazioni
- 5) Gli individui non hanno differente abilità di sopravvivenza in corrispondenza dei loci considerati

$$P^2 + 2pq + q^2 = 1$$



# L'attribuzione del profilo genetico

## CONFRONTO DI PROFILI GENETICI

MARKER	Amel	D3S1358	D19S433	D2S1338	D16S539	D18S51	TH01	vWA	FGA
traccia	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23
Individuo 2	XY	15-18	14-14	17-20	9-9	12-13	8-9.3	17-19	21-23
freq. nella popolazione		<i>2x0,1x0,5</i> <i>0,10</i>	<i>0,2x0,2</i> <i>0,04</i>	<i>0,15x0,13</i> <i>0,18</i>	<i>0,17x0,17</i> <i>0,029</i>	<i>0,11</i>	<i>0,21</i>	<i>0,02</i>	<i>0,04</i>

Probabilità cumulativa: 0,00000000003858624 cioè  $3,858 \times 10^{-10}$

1 soggetto su 3,858 miliardi condivide nella popolazione di riferimento le medesime caratteristiche genetiche.

*Per un profilo genetico a 15-17 marcatori la “match probability” è stimata in circa 1 soggetto su  $10^{16}$  (un soggetto su 10 milioni di miliardi).*

# L'attribuzione del profilo genetico

## CONFRONTO DI PROFILI GENETICI

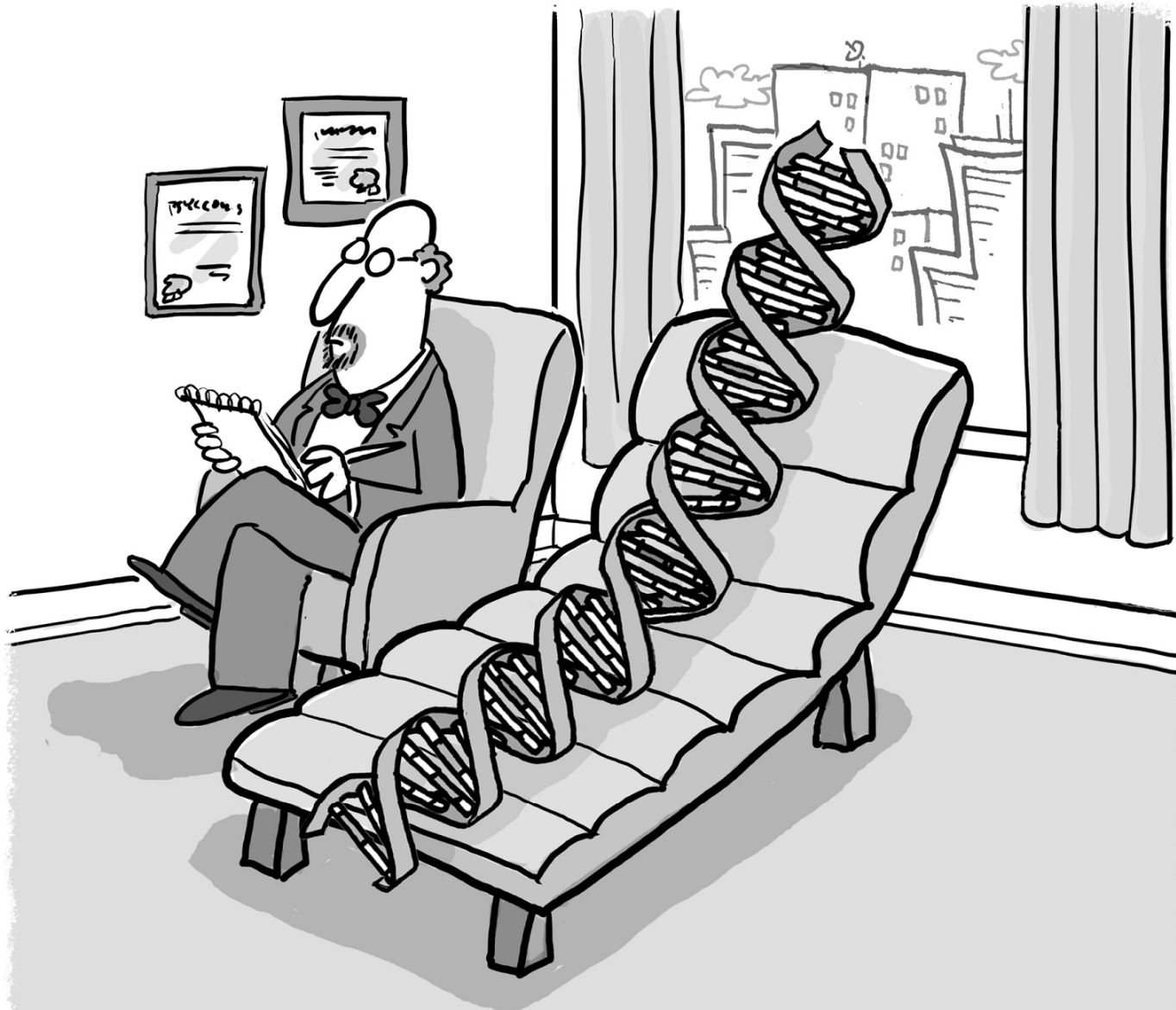
Un altro modo di rappresentare la compatibilità tra profili genetici e la LR (likelihood ratio), ovverosia un rapporto di probabilità, tipicamente ipotesi dell'accusa rispetto ad ipotesi della difesa. Il risultato ottenuto indica quanto è più probabile un'ipotesi rispetto all'altra.

$$LR = \frac{H_p \text{ (ipotesi dell'accusa)}}{H_d \text{ (ipotesi della difesa)}}$$

Se il risultato è  $>1$ , l'ipotesi è favorevole all'accusa

Se è **uguale a 1**, l'ipotesi è neutra

Se è  $< 1$ , l'ipotesi è a favore della difesa



DNA ANALYSIS

©NILEY