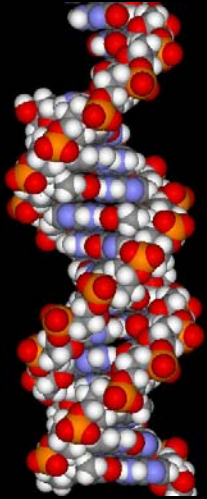


“L’identità genetica: lo studio delle impronte del DNA”



Emiliano Giardina

Università degli Studi di Roma “Tor Vergata”

Centro di eccellenza per lo studio del rischio genomico in patologie complesse multifattoriali

emiliano.giardina@uniroma2.it

Urbino, 14/3/2007

*Il test del DNA è per la giustizia ciò che il
telescopio è per le stelle:
non una lezione di biochimica, piuttosto il modo di
vedere le cose come esse sono.
[Scheck and Neufeld]*



The focus of most criminal investigations is on linking evidence from the crime scene to suspects, and for more than a century, science has played an increasingly important role in this process.



*L'applicazione della scienza in ambito forense
cerca di trovare delle risposte alle seguenti
domande: cosa è avvenuto, dove è avvenuto,
quando è avvenuto, chi è coinvolto.*





“If were not for the great variability between individuals, Medicine might be a Science not an Art”

Sir William Osler

“The principles and Practice of Medicine, 1892”





JOHN
TRAVOLTA/CAGE

IN ORDER
TO TRAP
HIM,

HE MUST
BECOME
HIM.

0.1%

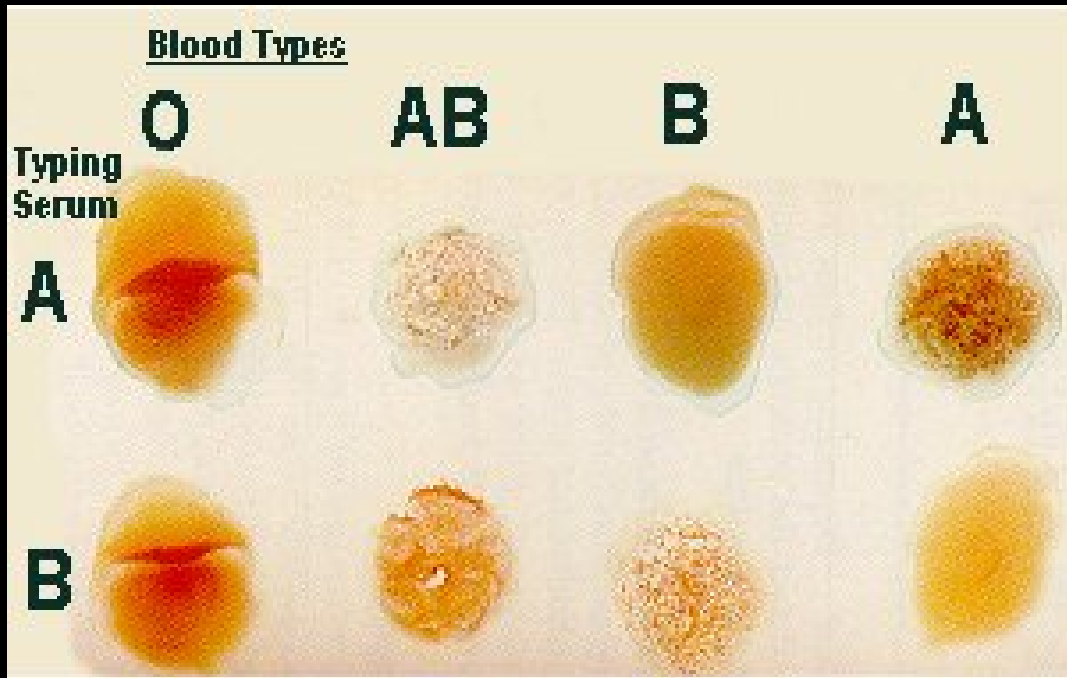
FACE/OFF

MADE BY JESSIE WU



LA VARIABILITA' INTER-INDIVIDUALE

All'inizio di questo secolo un medico austriaco, K. Landsteiner (1868 -1943), scoprì che il sangue non è identico in tutti gli individui, ma può appartenere a quattro diversi gruppi sanguigni, che egli denominò A, B, AB e O



35% della popolazione caucasica è di gruppo A...

... l'arte dell'investigazione deve essere capace di riconoscere un elevato numero di fatti, che sono casuali ma vitali. Pertanto la tua energia e la tua attenzione devono essere dissipate invece che concentrate.

[Sherlock Holmes, the Reigate Puzzle]



Sherlock Holmes was not a golfer.



...studiando l'evoluzione del gene
della mioglobina tra uomo e foca



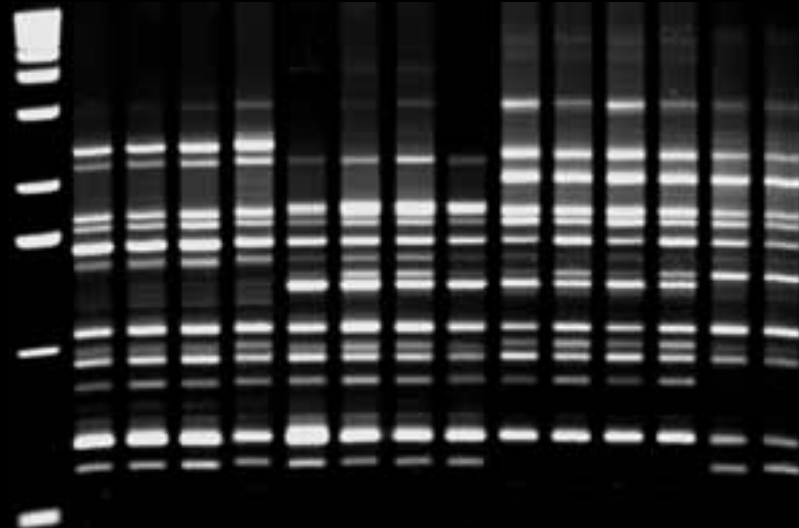
Il primo caso

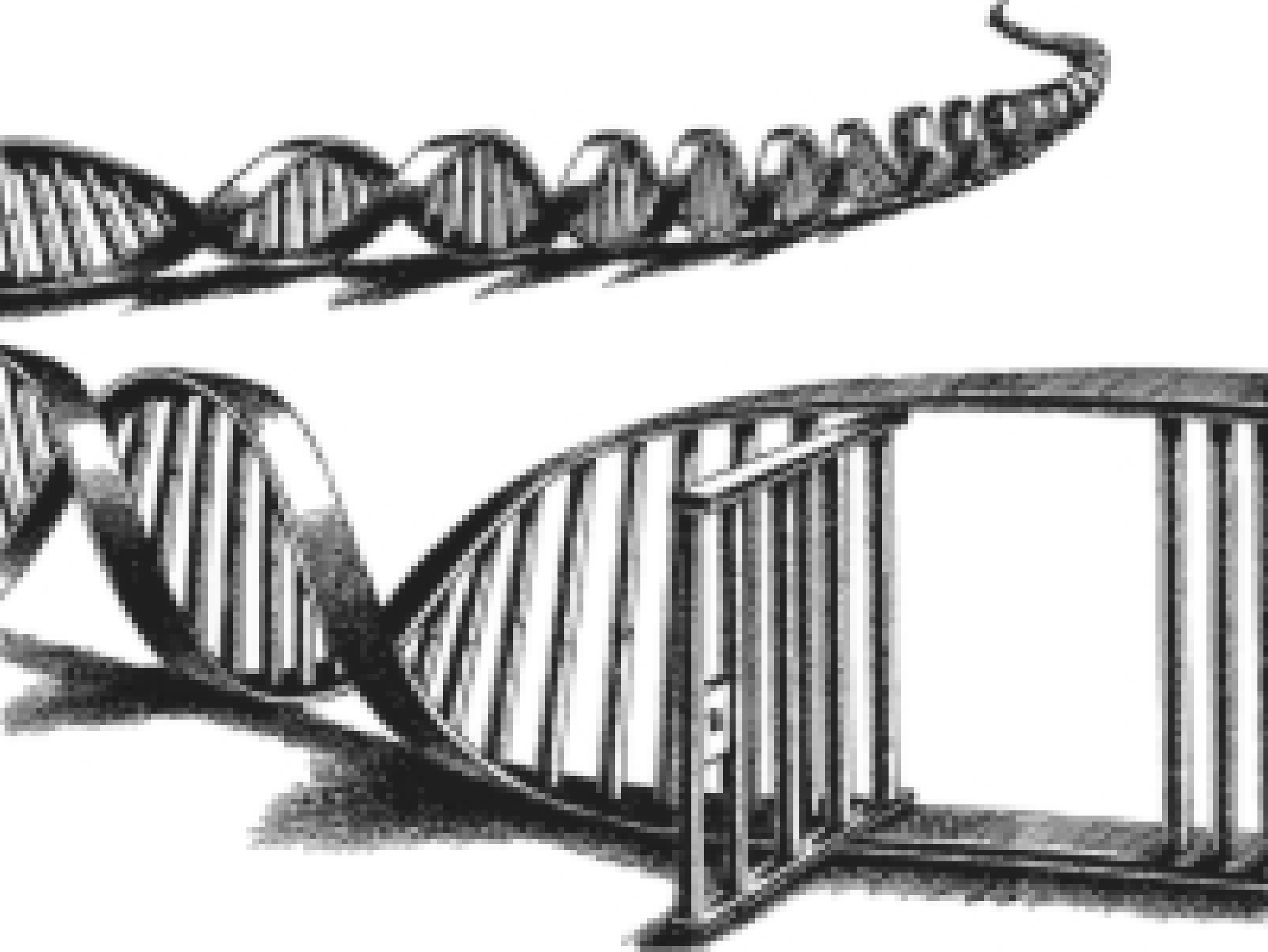
- Il 22/11/83 Lynda Mann è stata trovata violentata e strangolata nei pressi di Narborough, vicino Leicester.
- Il colpevole non fu trovato ma fu raccolto un campione di sperma

- Il 2 agosto del 1986, in un cespuglio nei pressi di Leicestershire, venne ritrovato il corpo di una studentessa di 15 anni, Dawn Ashworth, violentata e strangolata
- Richard Buckland, il giovane usciere dell'ospedale locale, confessò solo il secondo delitto.

Alec Jeffreys

- Confermò che entrambi i campioni di sperma provenivano dalla stessa persona!
- Caso chiuso. No!: i campioni non appartenevano a Buckland...







Parte una tremenda caccia all'uomo: 5500 uomini furono tipizzati. Nessun risultato.



1988 Colinn Pitchfork

POLIMORFISMI GENETICI

Polimorfismi di lunghezza

ATTCATTC

ATTCATTCATTC

ATTCATTCATTCATTC

Polimorfismi di sequenza

AACGTTTCG A TTGCAAGC

TTGCAAGC T AACGTTTCG

AACGTTTCG C TTGCAAGC

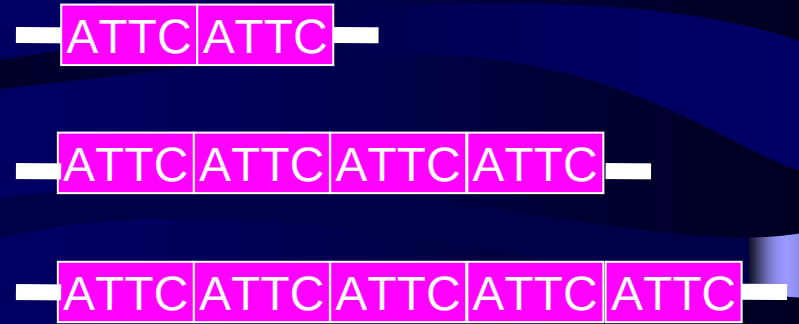
TTGCAAGC G AACGTTTCG

Copy Number Variation

A B C

A A A B C

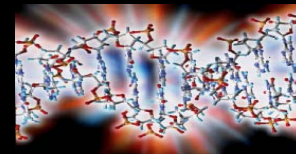
STRs



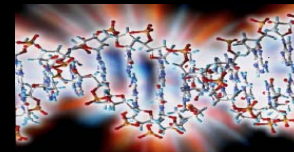
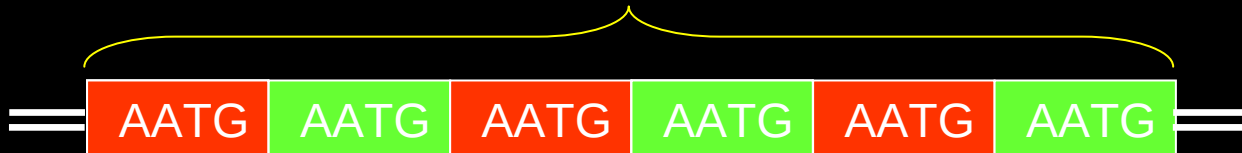
- Ripetizioni di 3-7 nucleotidi
 - 5-20 ripetizioni
 - 5-20 alleli per STR
- Necessitano di ampliconi di ~200-500 nucleotidi per venire analizzati
- La diversa dimensione dei frammenti può essere analizzata tramite amplificazione ed elettroforesi capillare



4 ripetizioni



6 ripetizioni

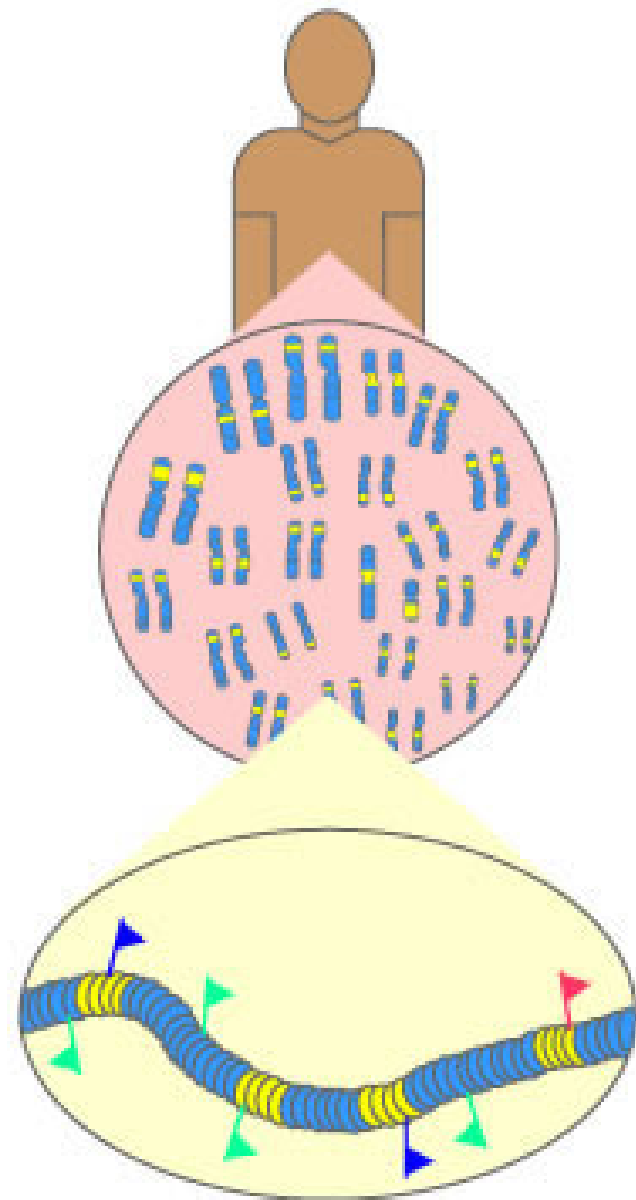
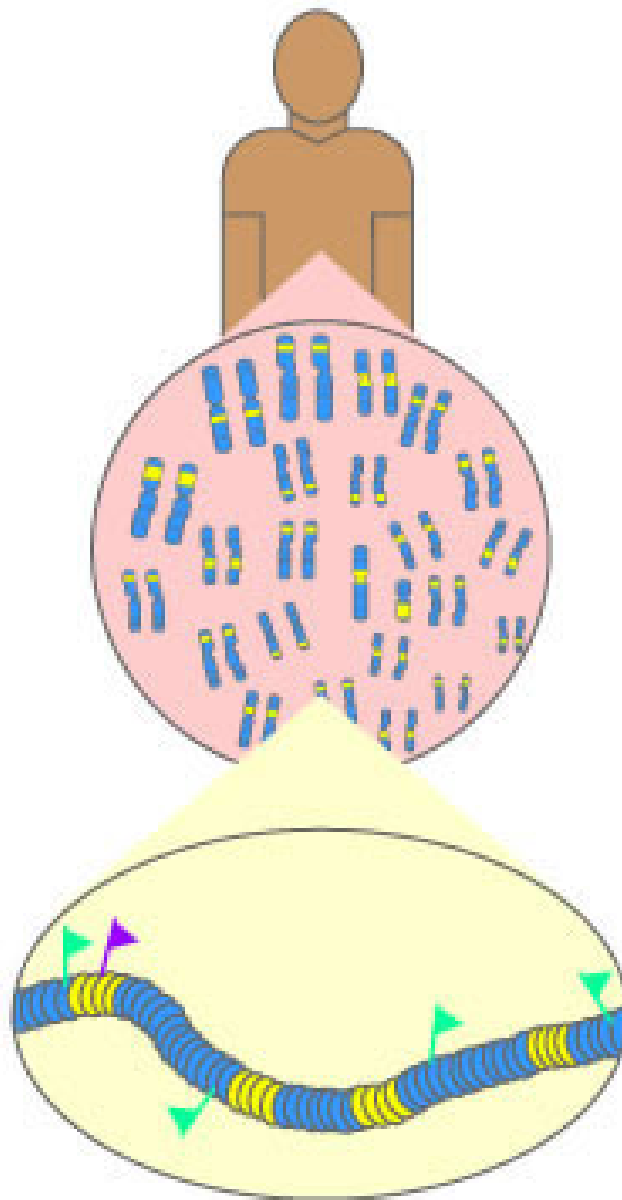


Nasce la genetica forense moderna!!!



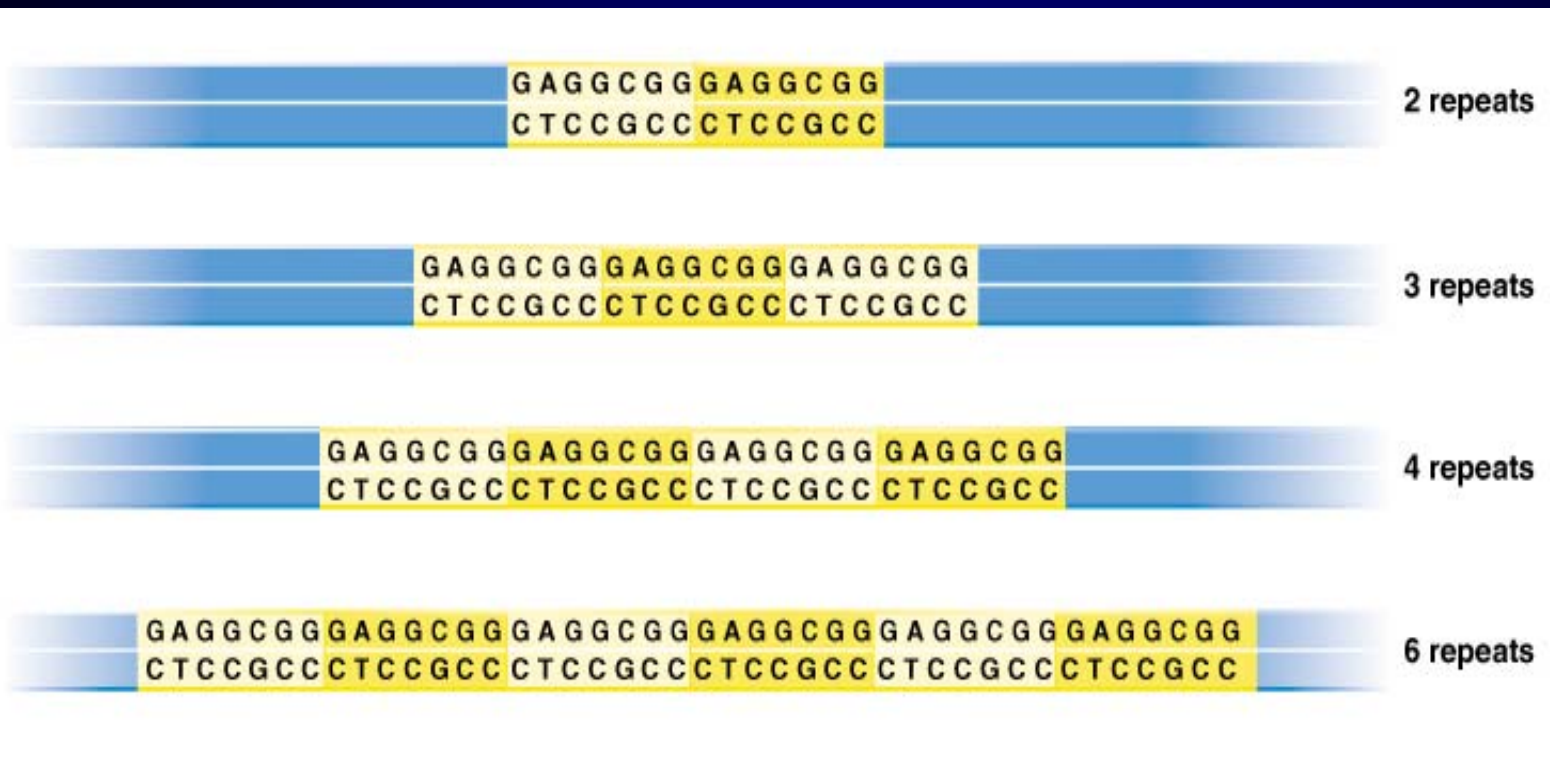
Person 1

Person 2



▶▶▶▶ = Variations in DNA

**Velocità
elettroforetica**



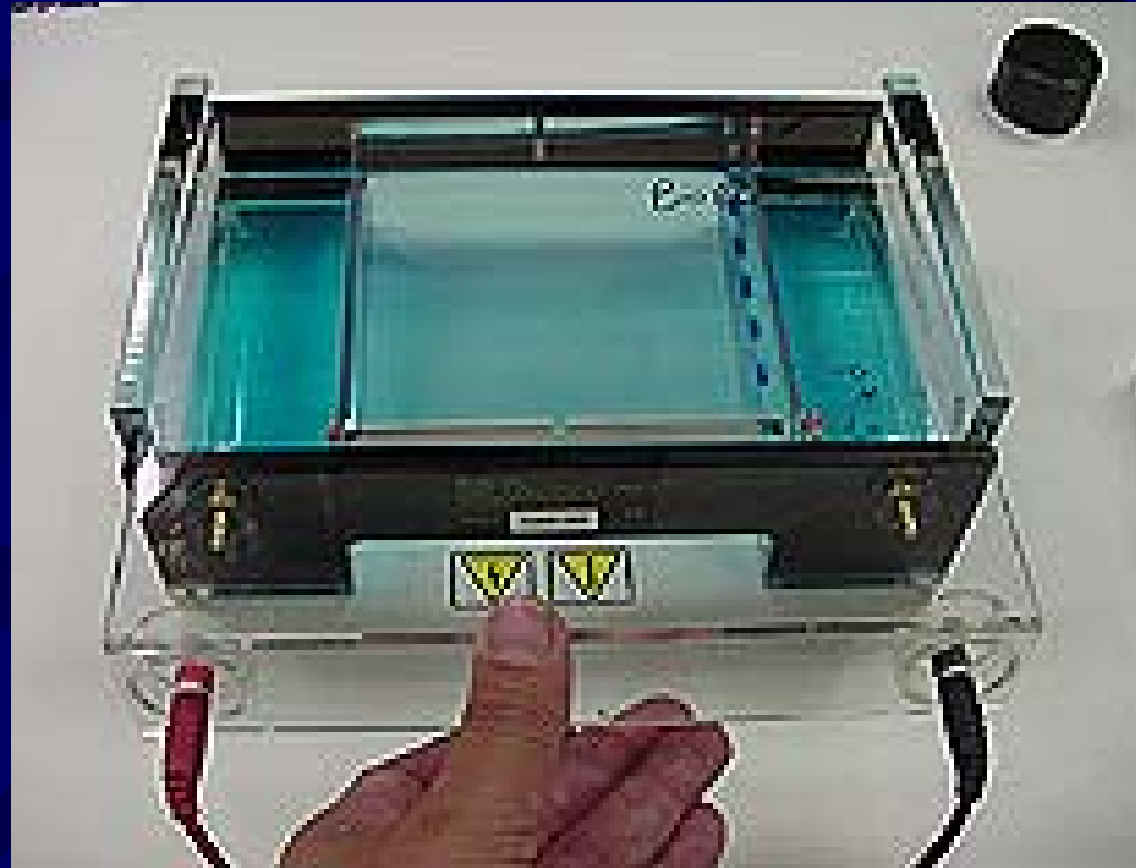
**Queste differenze possono essere rilevate
tramite amplificazione e corsa elettroforetica**

PRIMERS

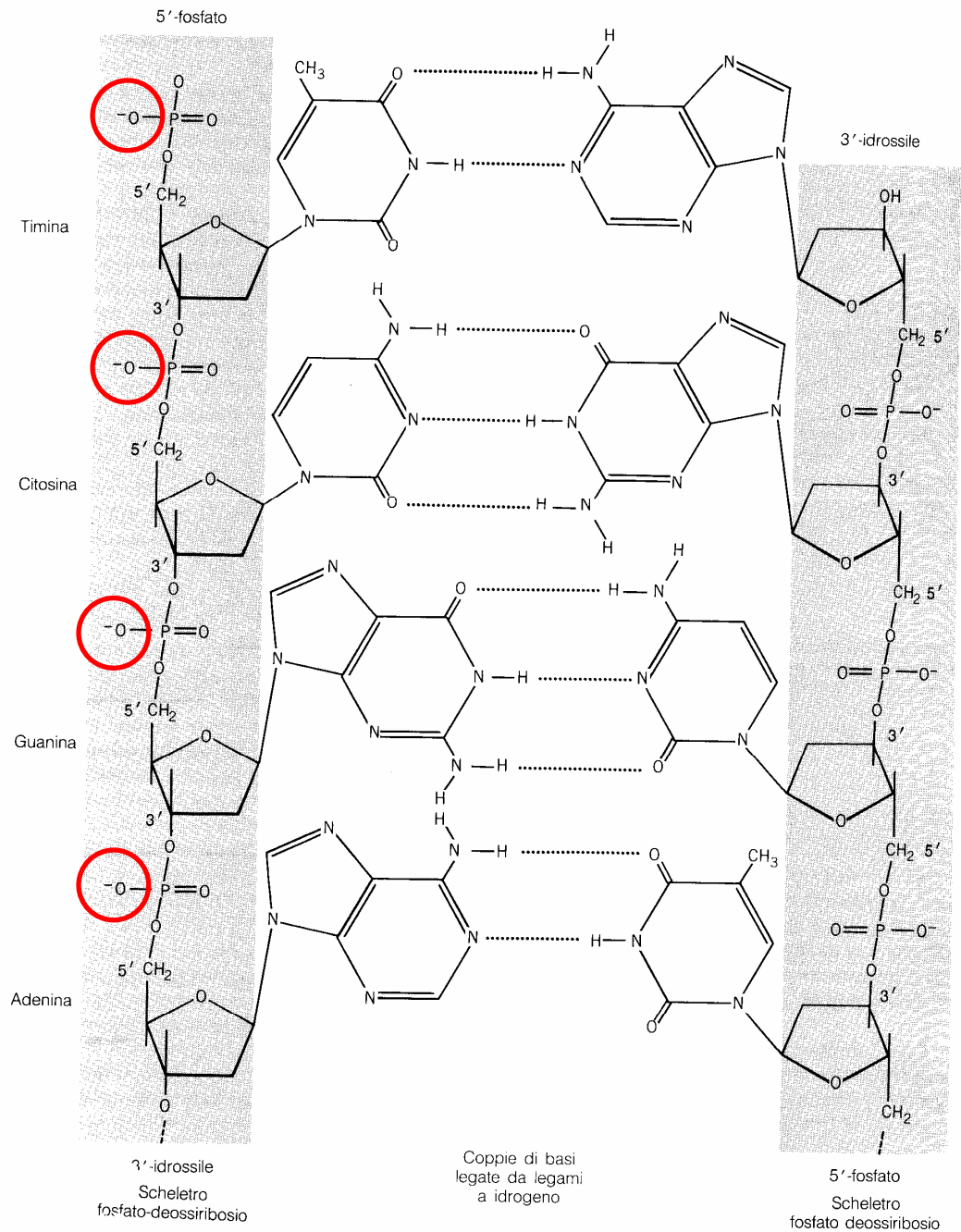


ELETTROFORESI DI ACIDI NUCLEICI

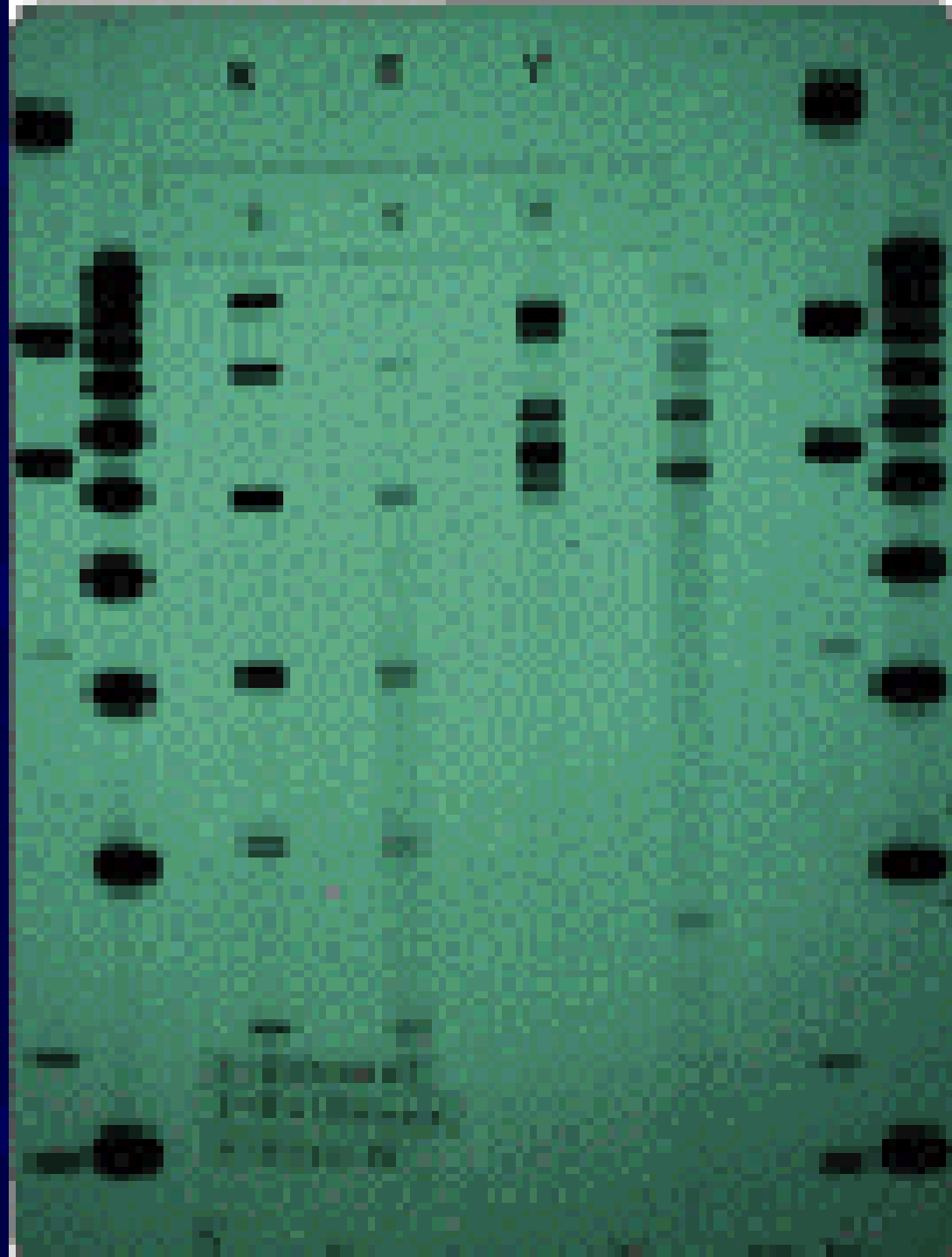
- Per elettroforesi si intende la migrazione di molecole sottoposte ad un campo elettrico
- direzione della migrazione dipende dalla carica delle molecole
- velocità migrazione dipende dalla dimesione (negli acidi nucleici)
- migrazione avviene in una matrice gel di porosità variabile







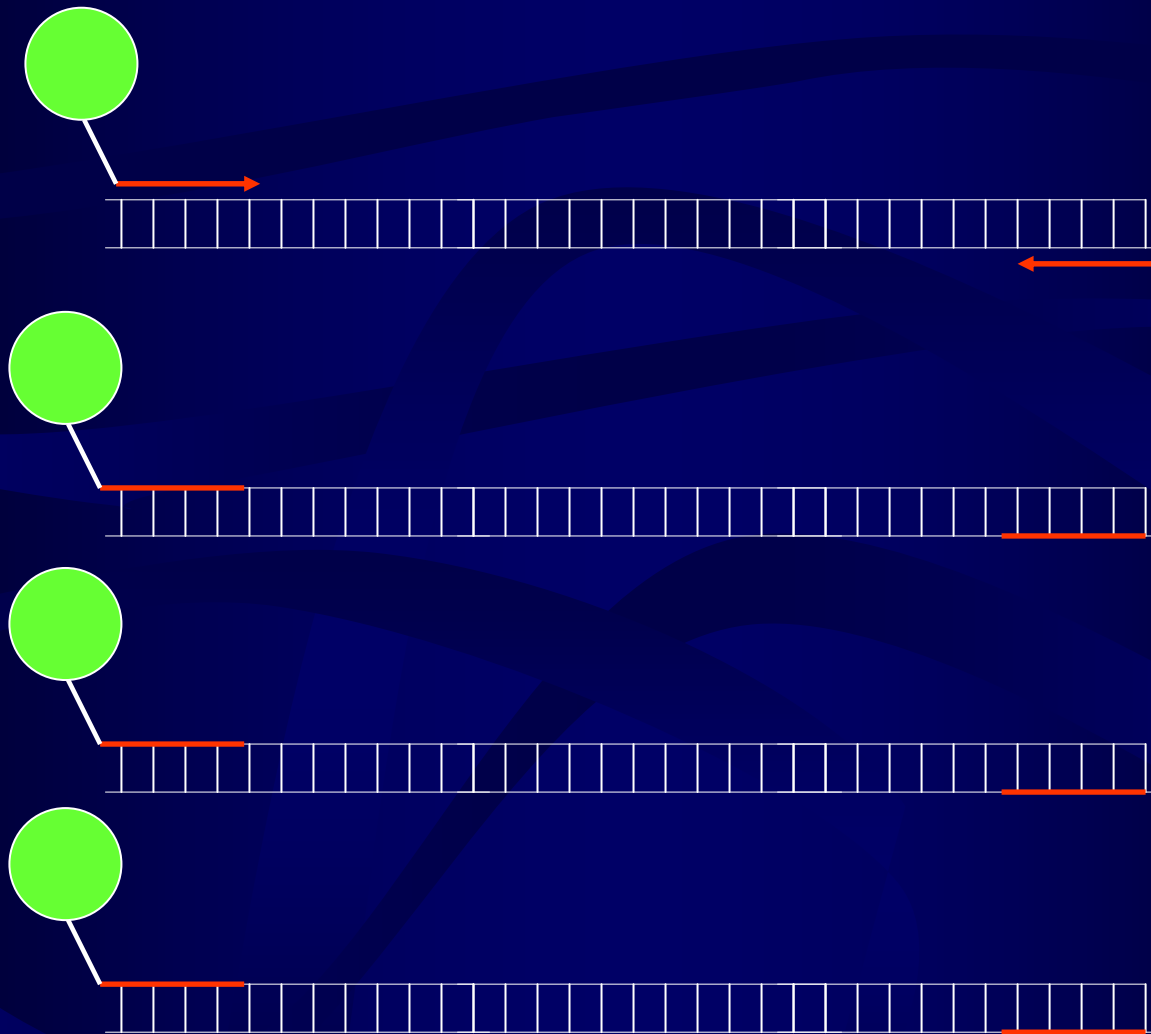




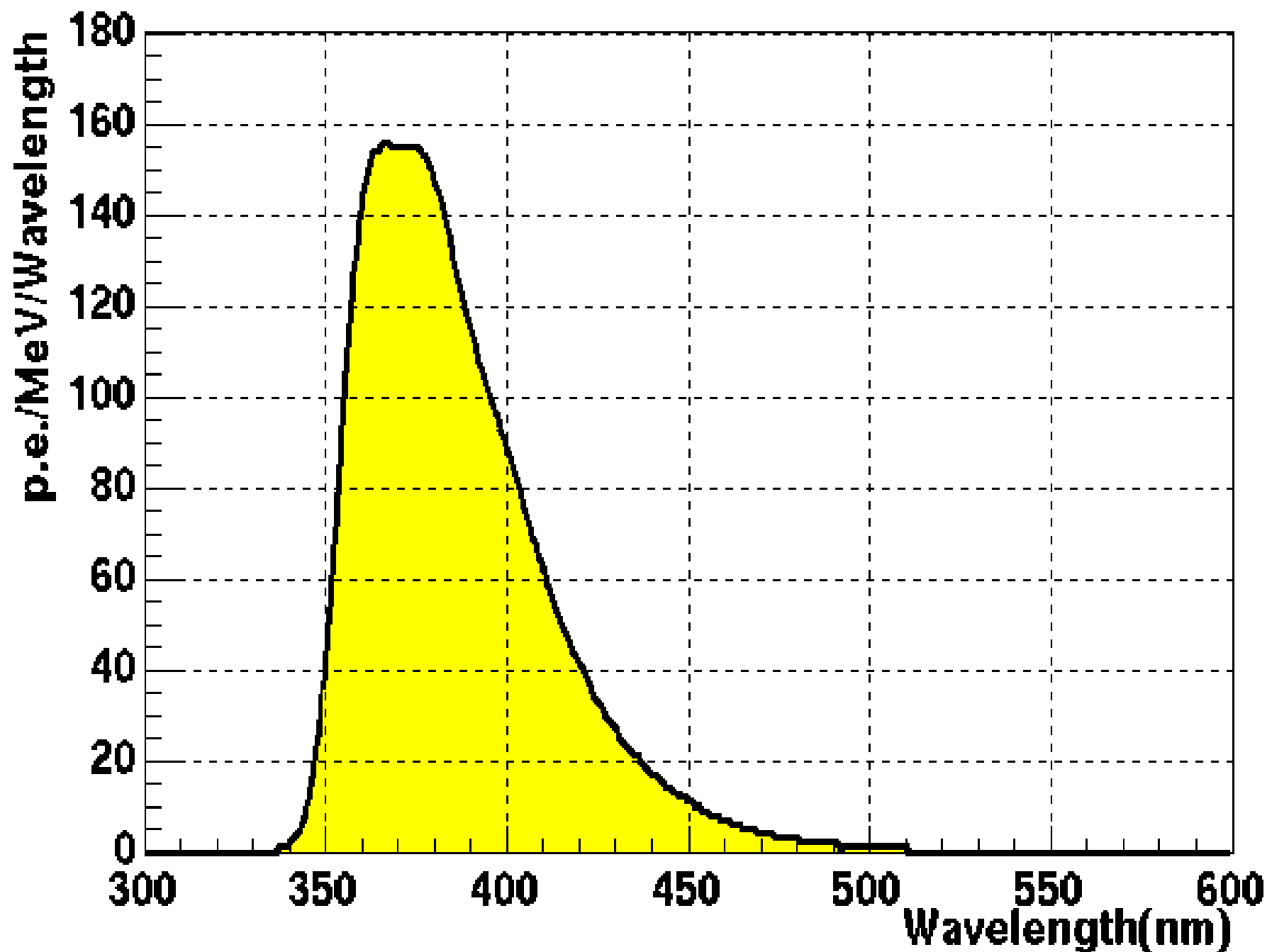




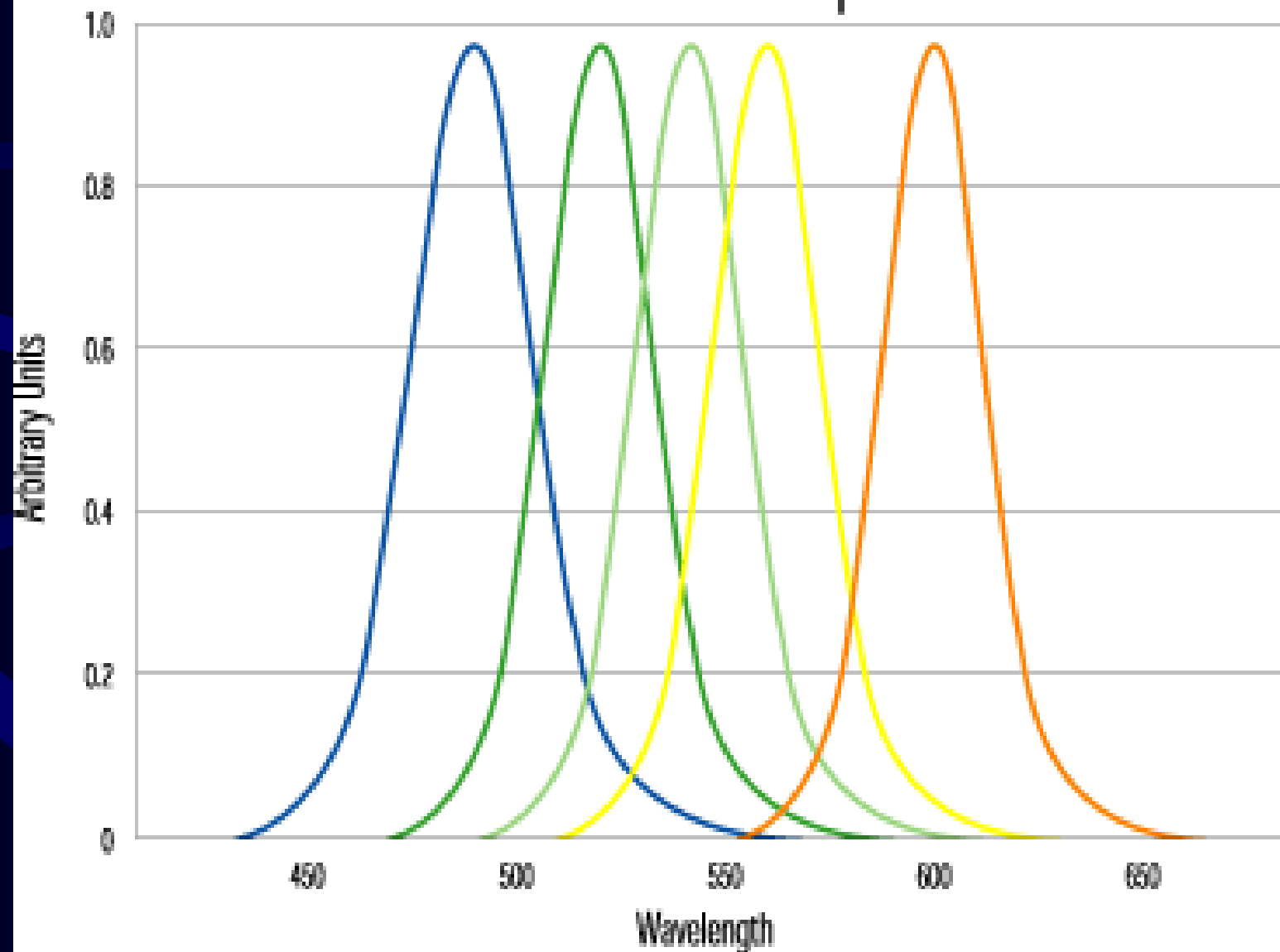
ABI 310





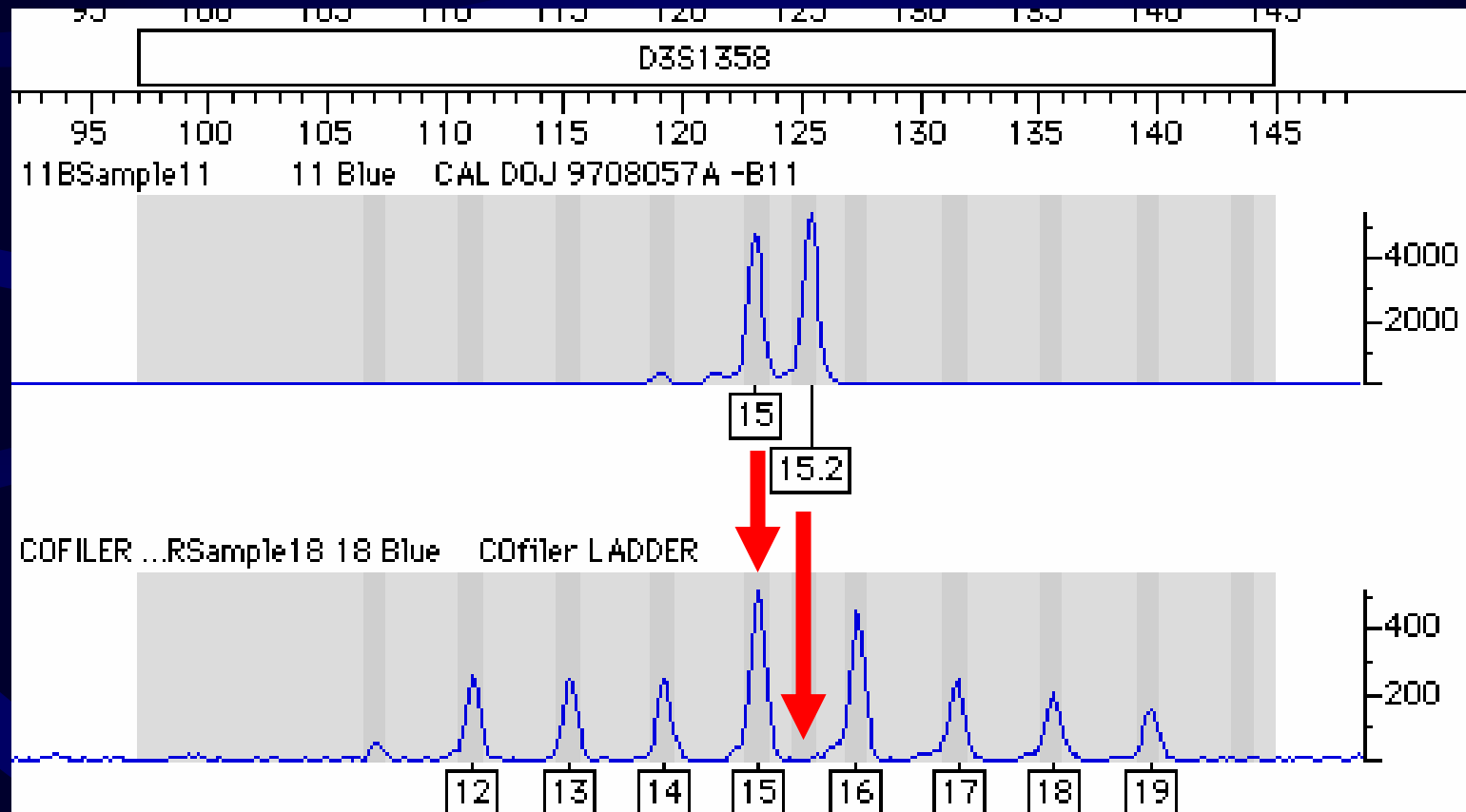


5 Color Kit Emission Spectra

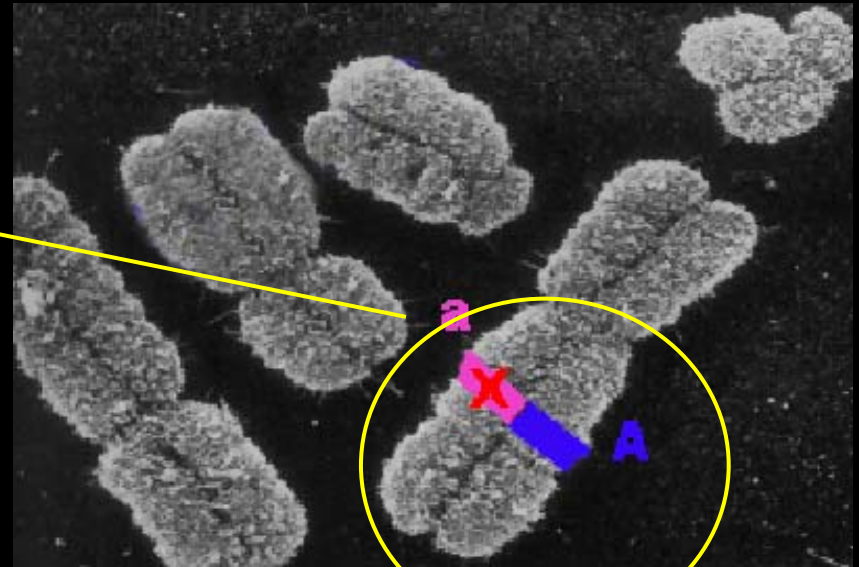
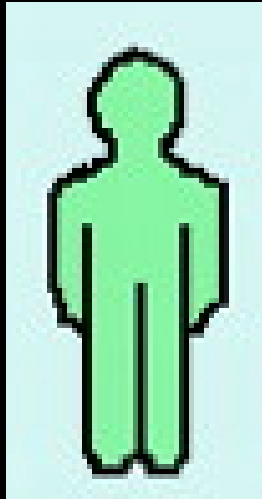




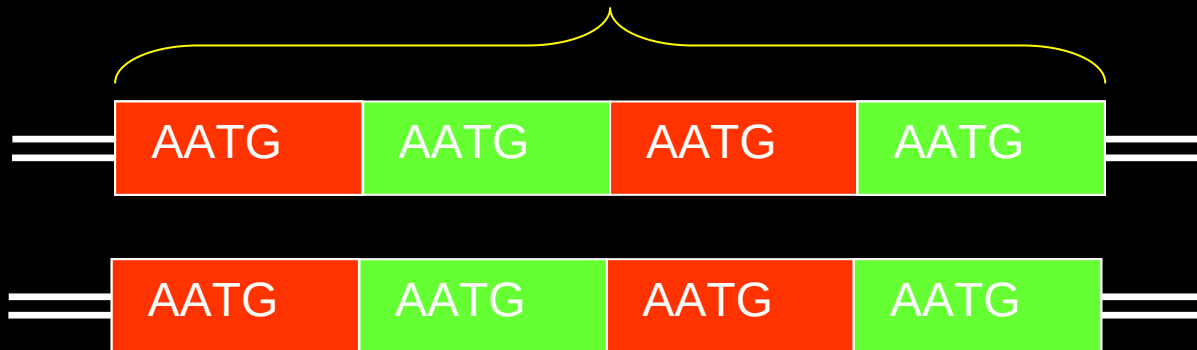
I CAMPIONI DI PCR CORSI SU EC VENGONO ANALIZZATI SU UN MONITOR



TIPIZZAZIONE SOGGETTI



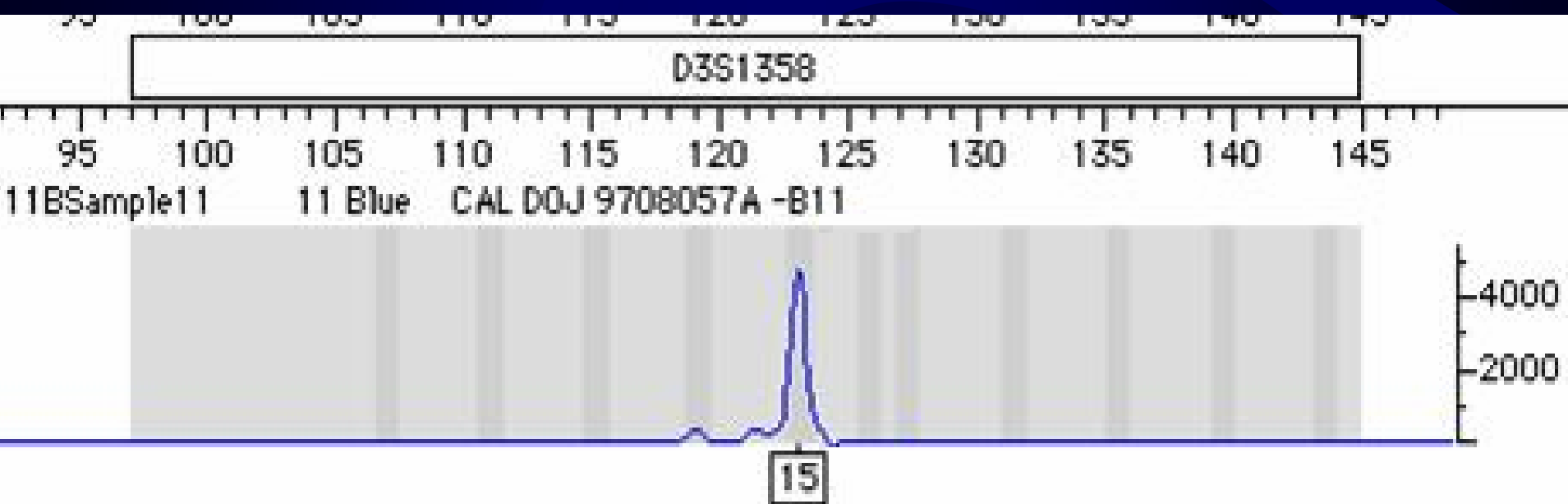
4 ripetizioni



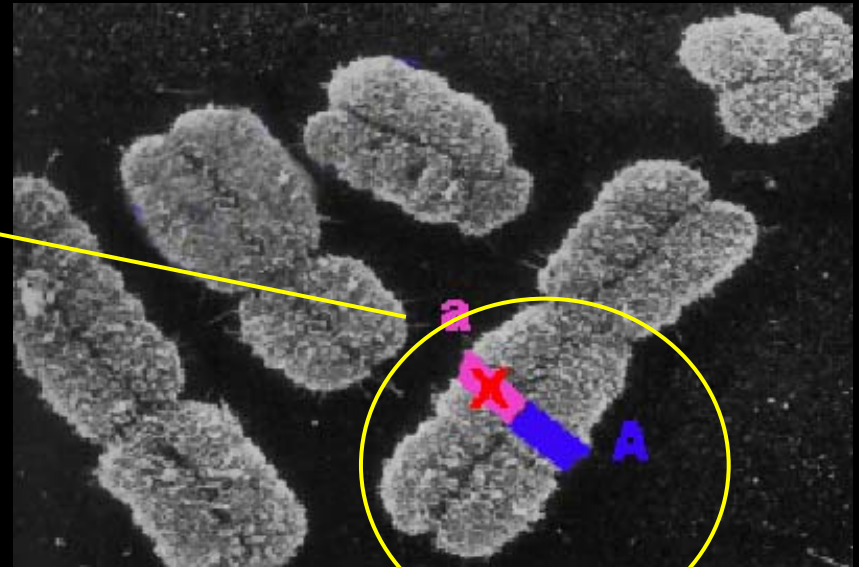
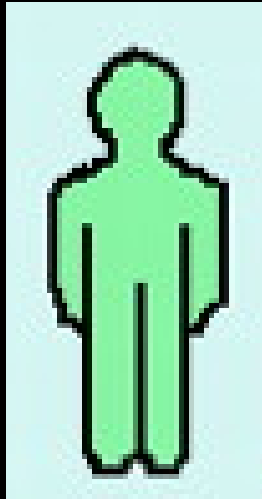
**LA REGIONE AMPLIFICATA SU ENTRAMBI I CROMOSOMI
CONTIENE LO STESSO NUMERO DI RIPETIZIONI**

**GLI AMPLIFICATI DI ENTRAMBI I CROMOSOMI HANNO LE
STESSE DIMENSIONI**

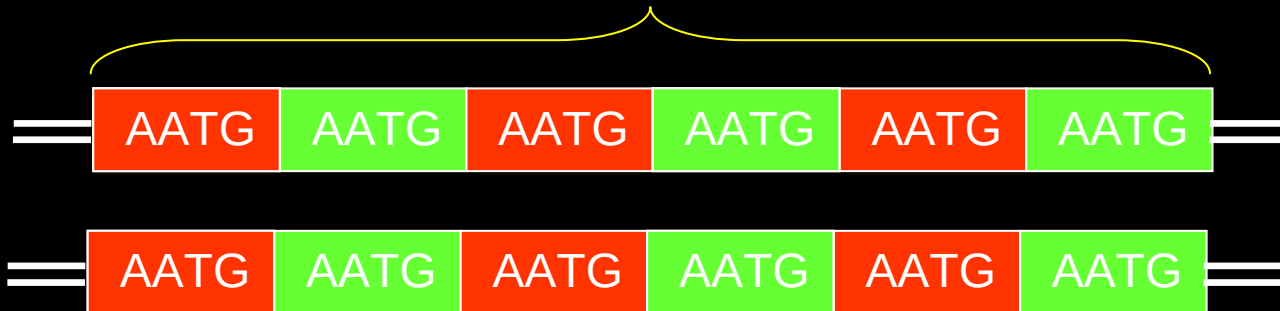
UN PICCO UNICO



TIPIZZAZIONE SOGGETTI



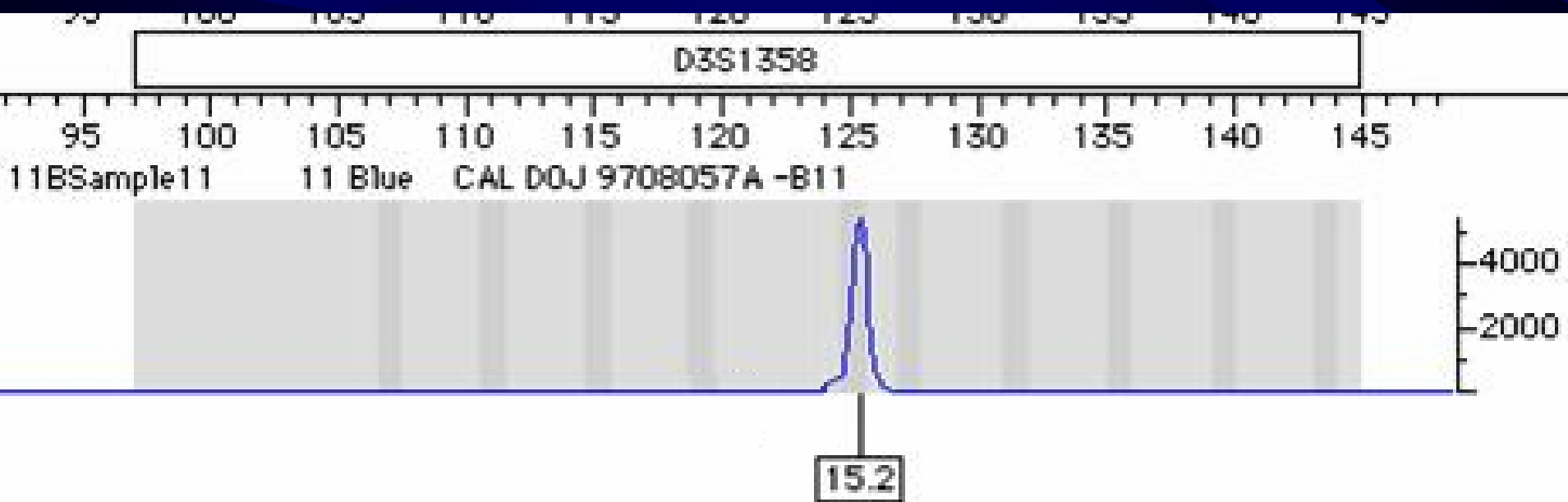
6 ripetizioni



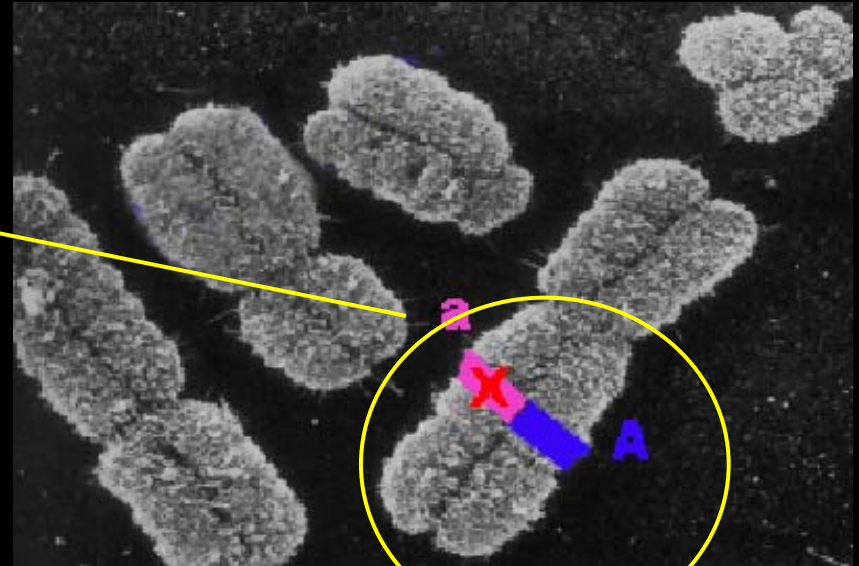
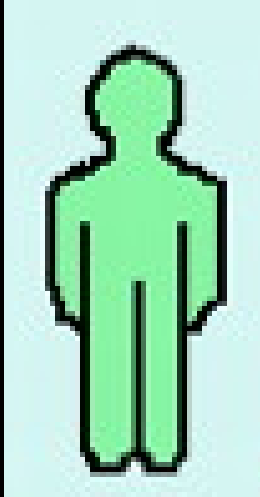
**LA REGIONE AMPLIFICATA SU ENTRAMBI I CROMOSOMI
CONTIENE LO STESSO NUMERO DI RIPETIZIONI**

**GLI AMPLIFICATI DI ENTRAMBI I CROMOSOMI HANNO LE
STESSE DIMENSIONI**

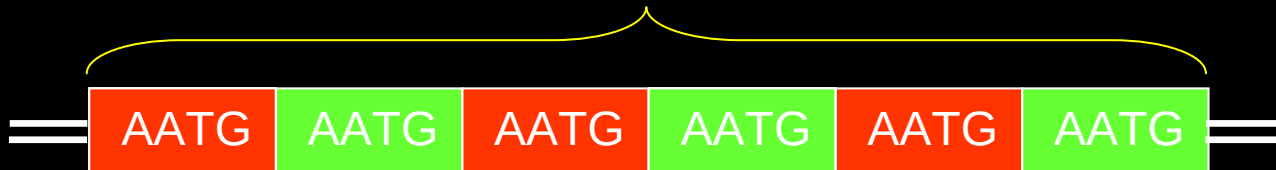
UN PICCO UNICO



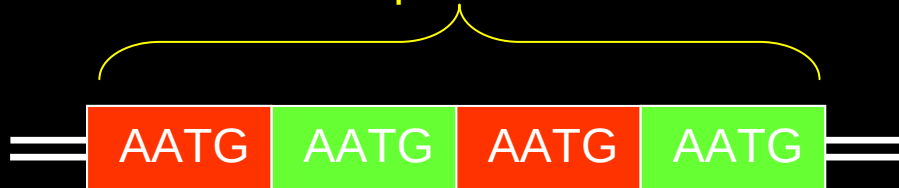
TIPIZZAZIONE SOGGETTI



6 ripetizioni



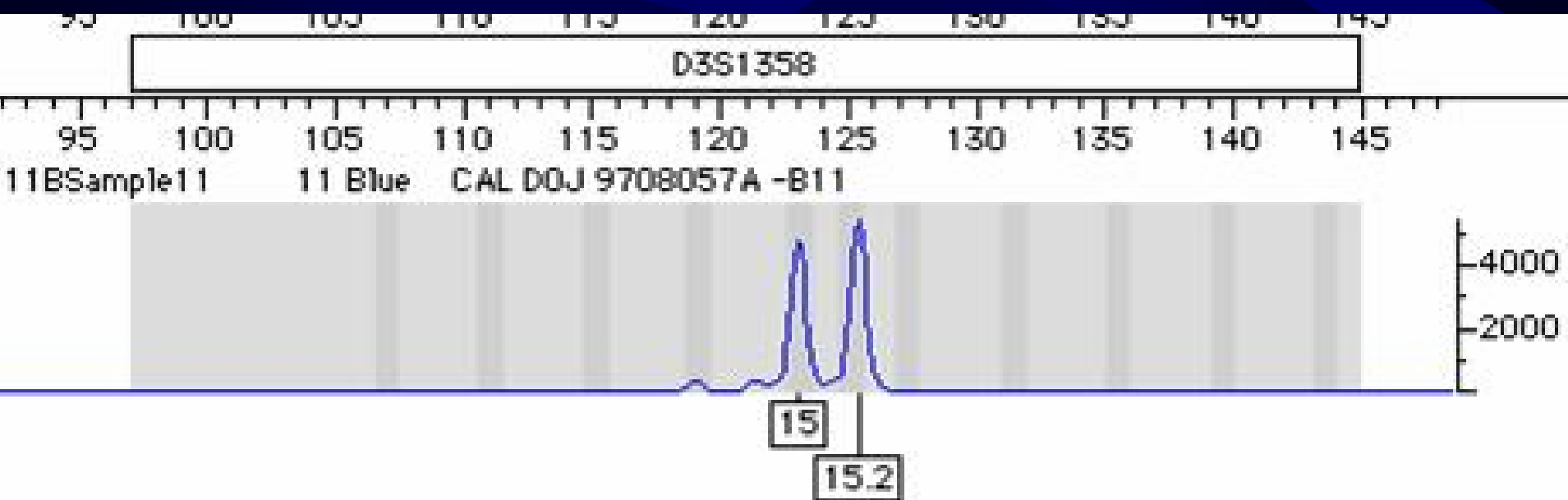
4 ripetizioni

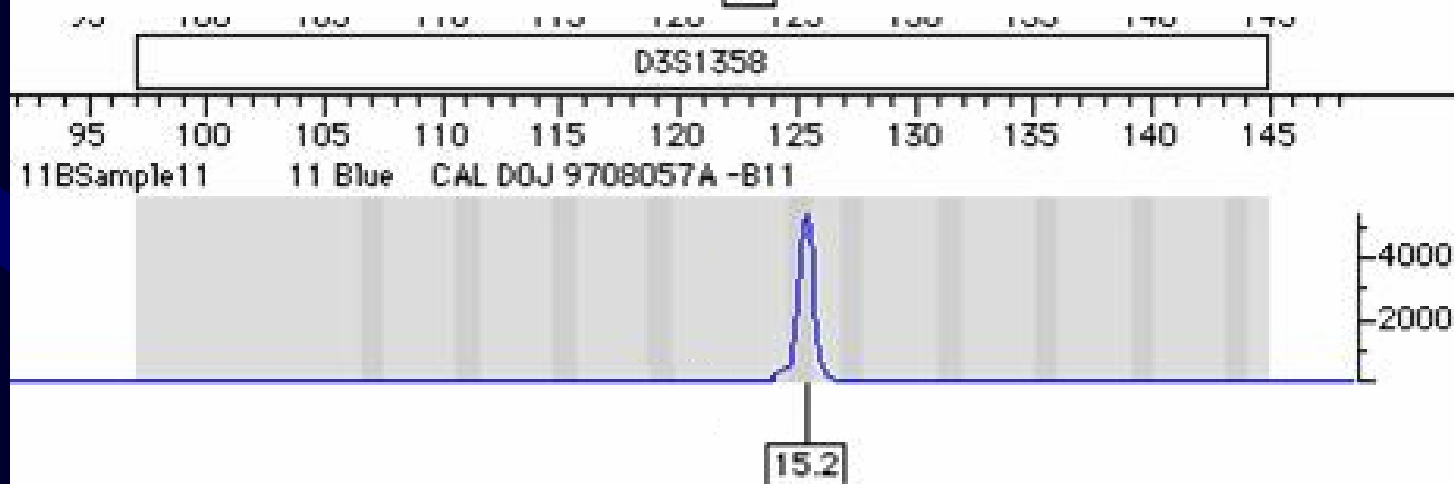
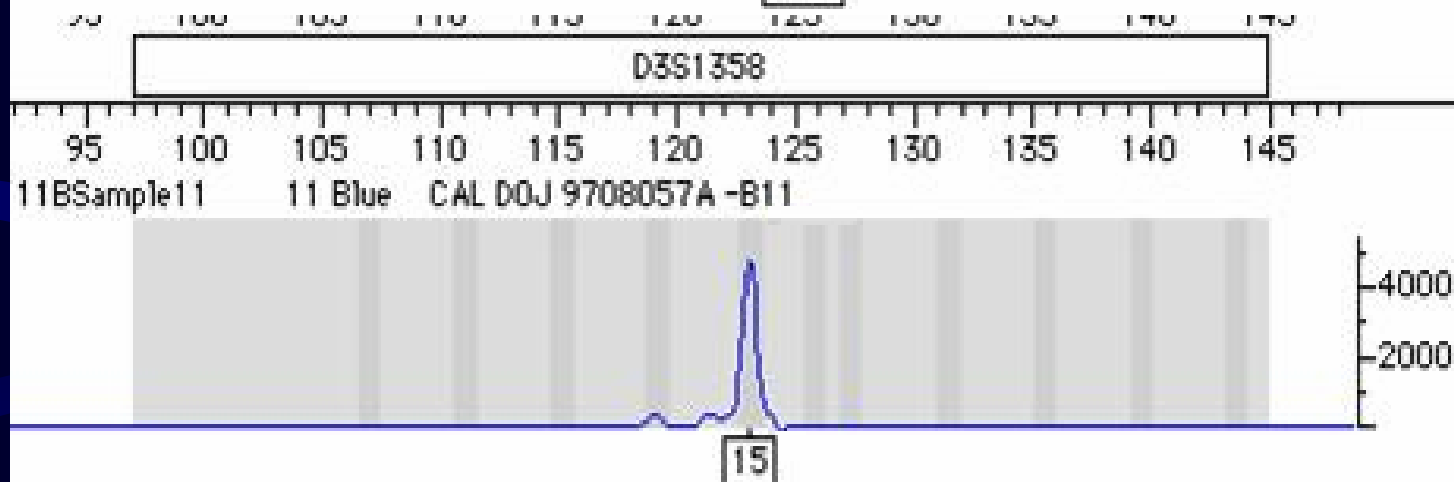
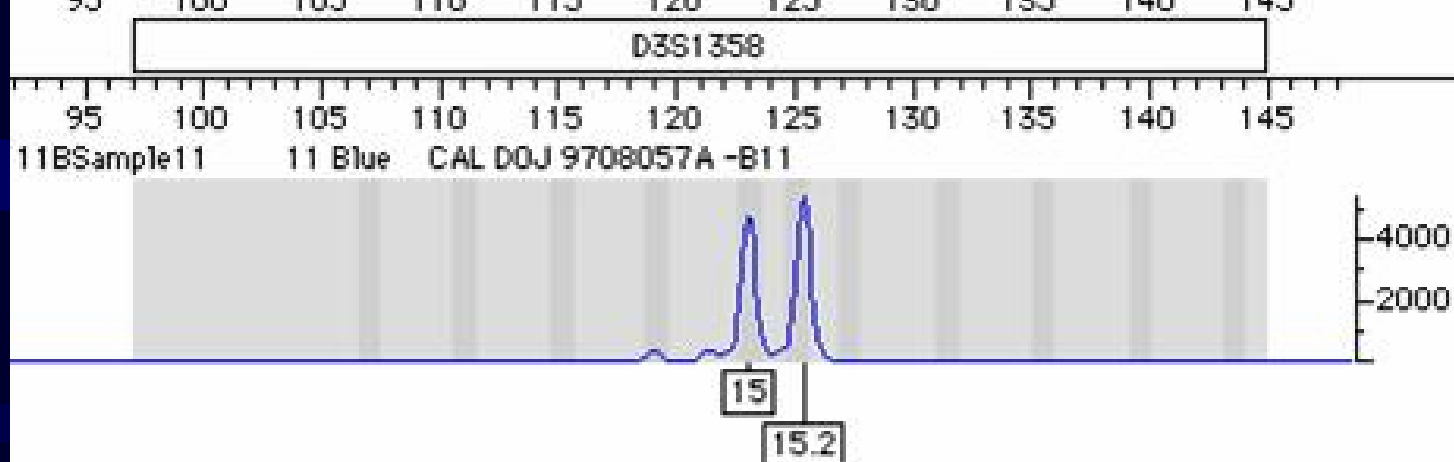


**LA REGIONE AMPLIFICATA SUI 2 CROMOSOMI
CONTIENE UN NUMERO DI RIPETIZIONI DIVERSO**

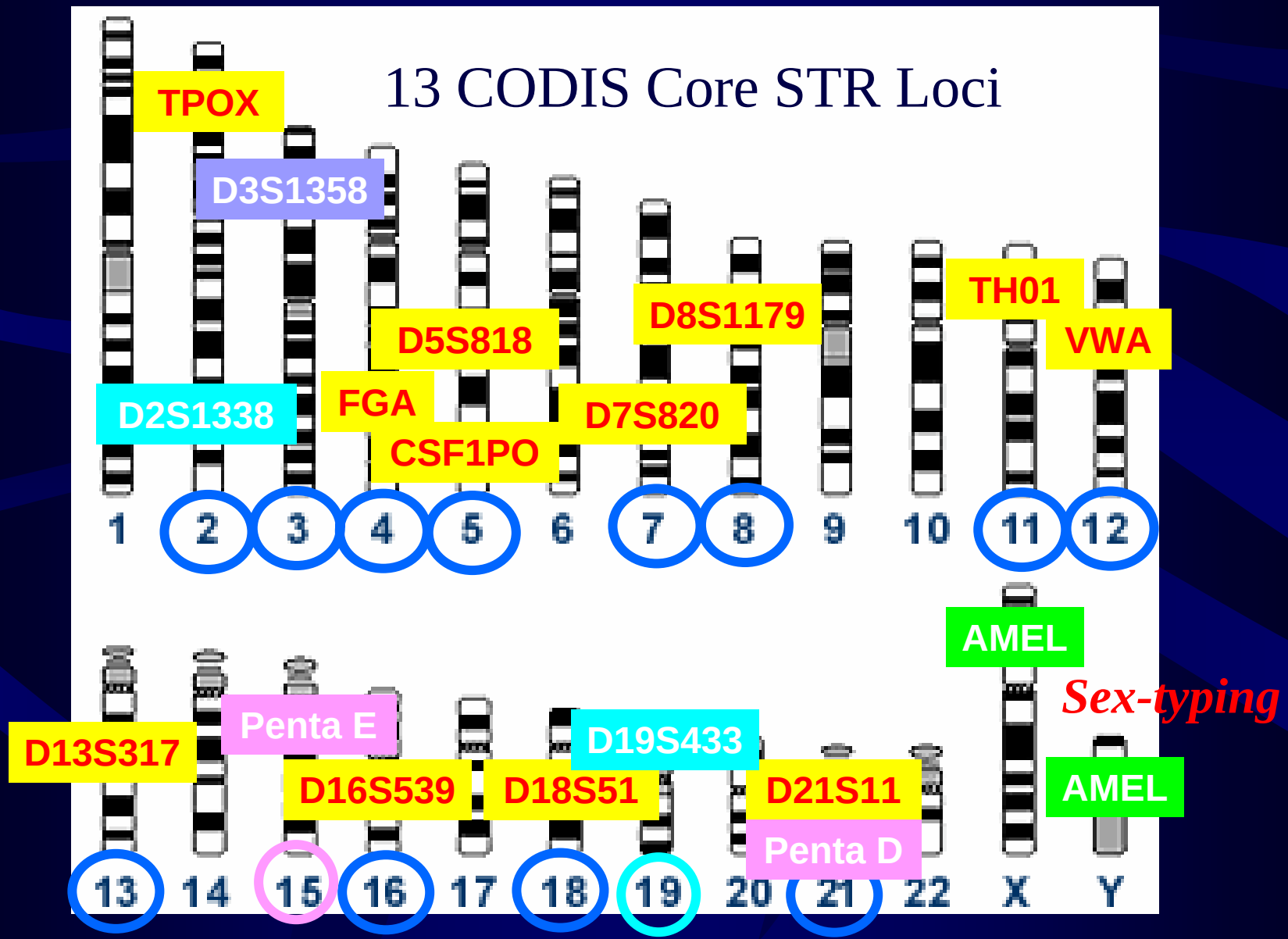
**GLI AMPLIFICATI DEI 2 CROMOSOMI HANNO DIVERSE
DIMENSIONI**

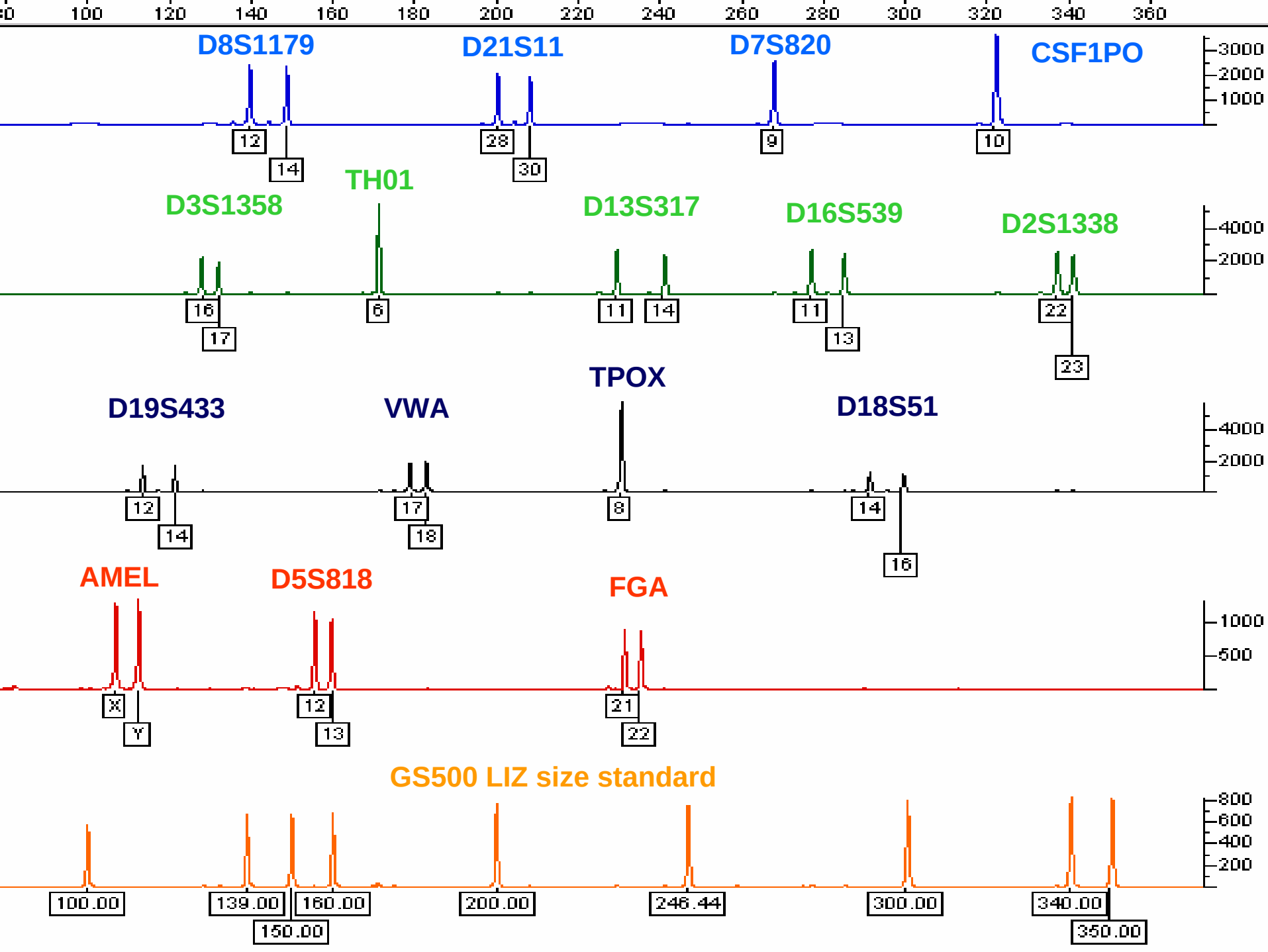
2 PICCHI

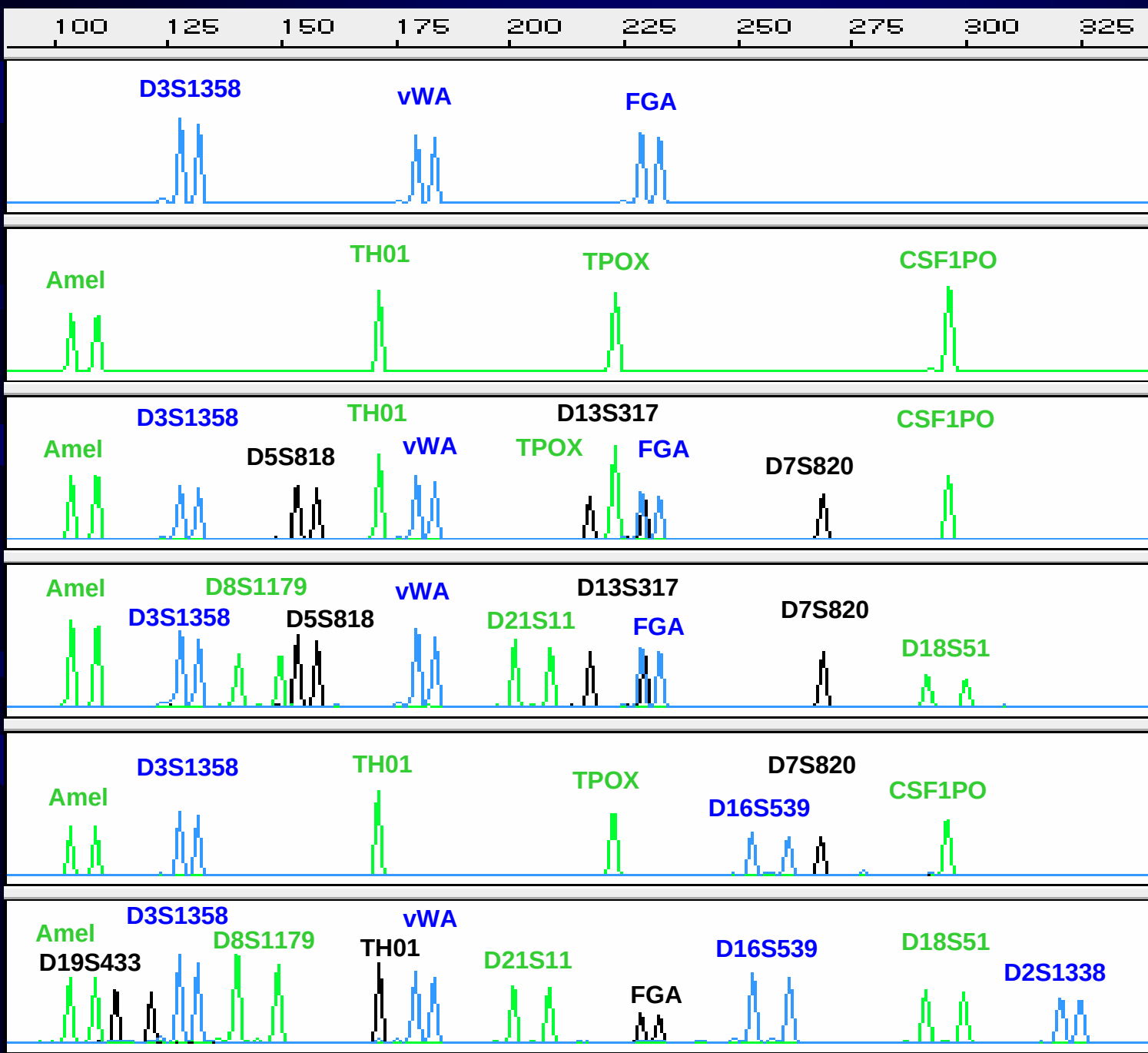




Marcatori STRs utilizzati in ambito forense







Blue

1:5000

Green I

1:410

Profiler™

1:3.6 x 10⁹

Profiler Plus™

1:9.6 x 10¹⁰

COfiler™

1:8.4 x 10⁵

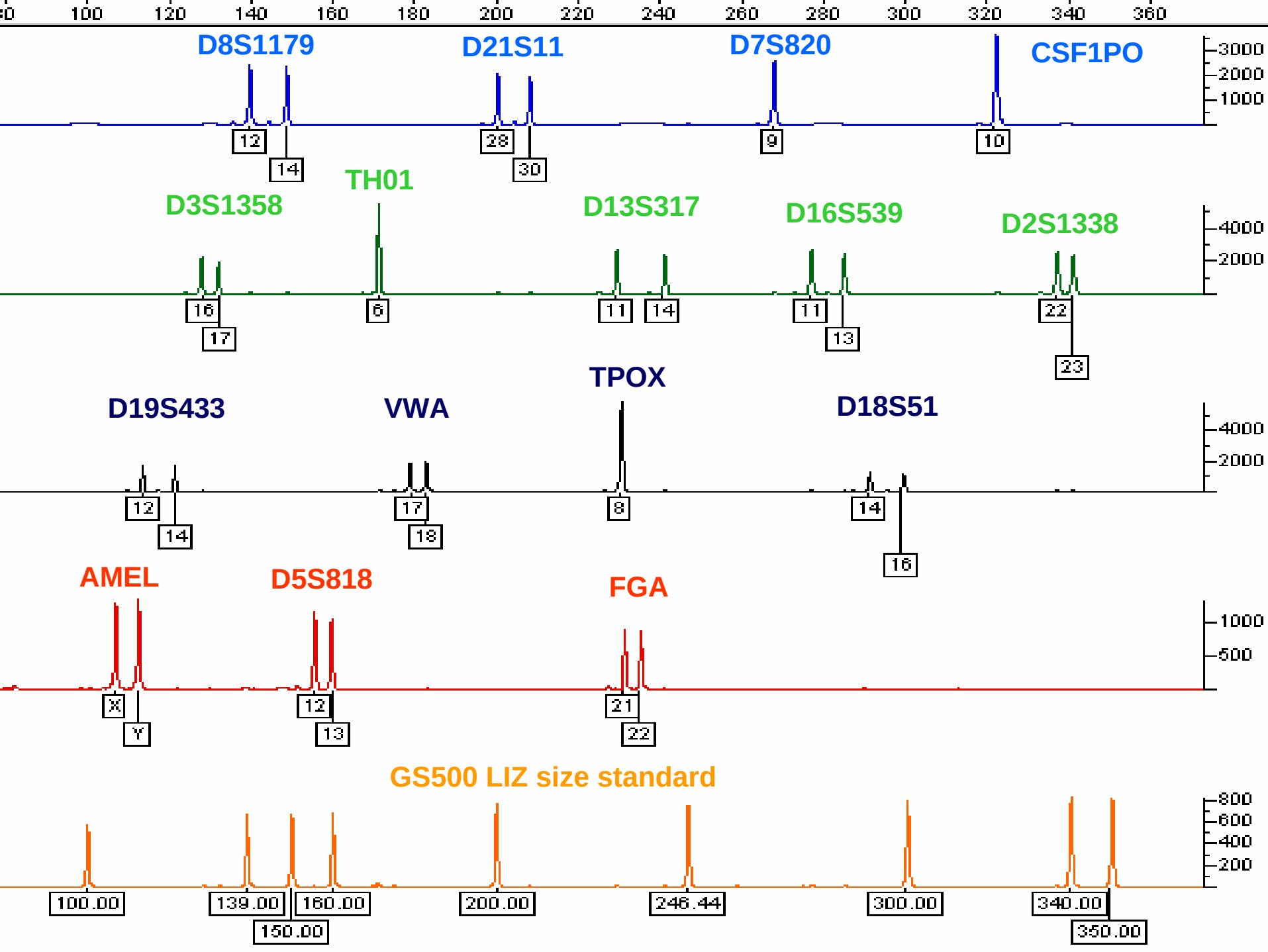
Identifiler™

1:3.3 x 10¹²

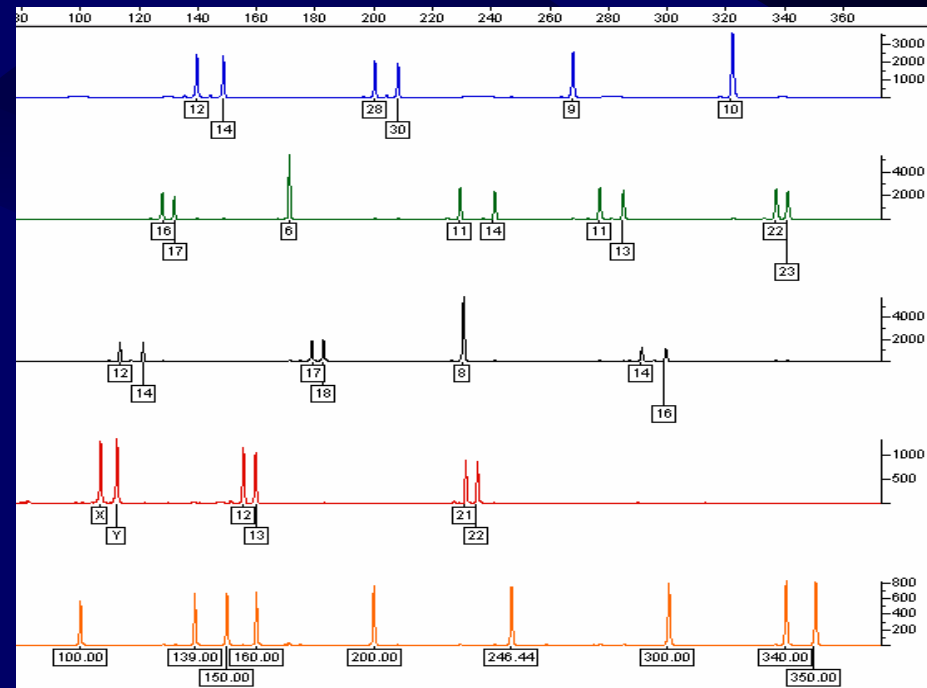
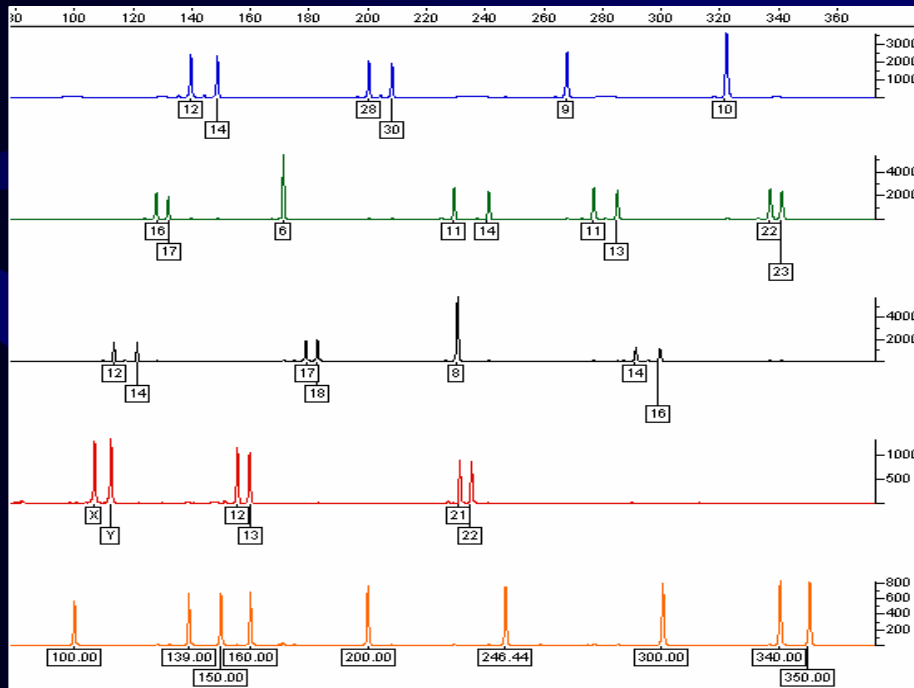
Lo studio della variabilità individuale

**Identificazione personale/attribuzione
di tracce biologiche**

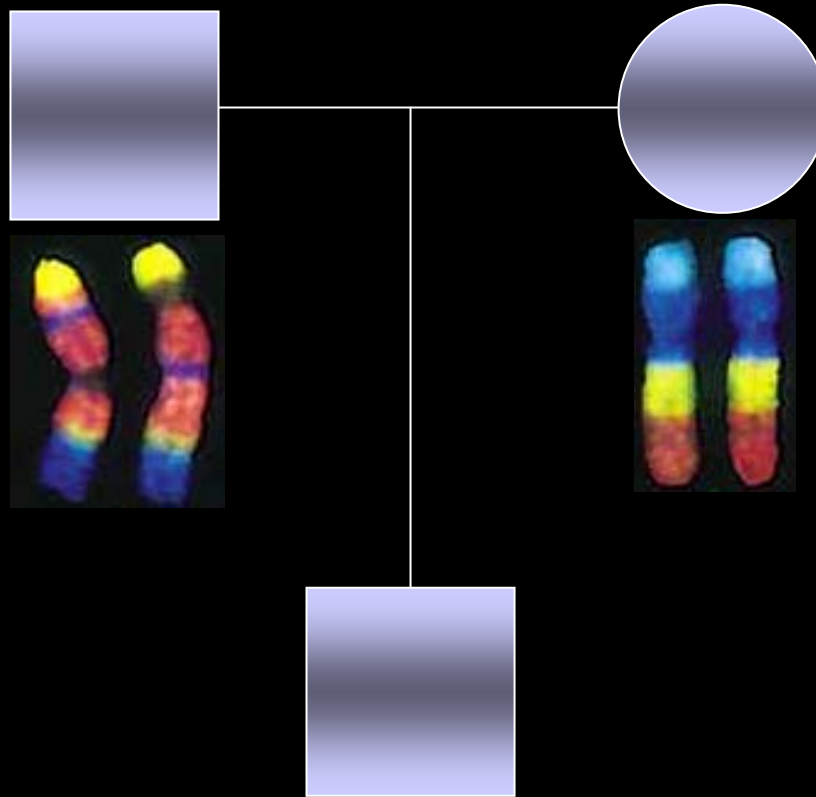
Accertamento di rapporti di parentela



IL CONFRONTO DEI PROFILI GENETICI GENERATI PER DIVERSI INDIVIDUI O CAMPIONI CONSENTE DI RILEVARNE LA EVENTUALE COMPATIBILITA' BIOLOGICA

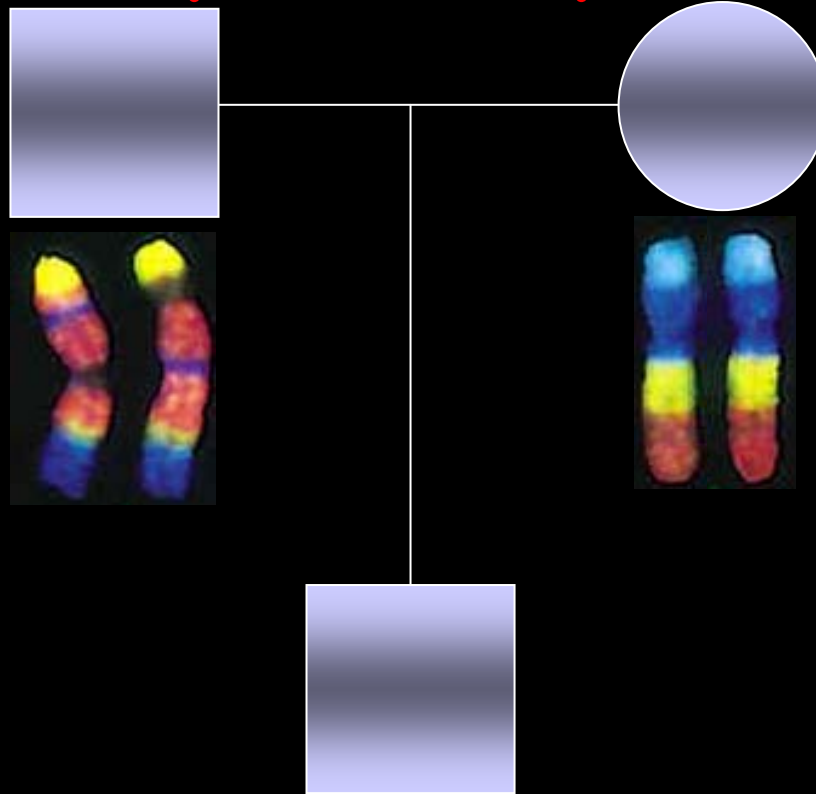


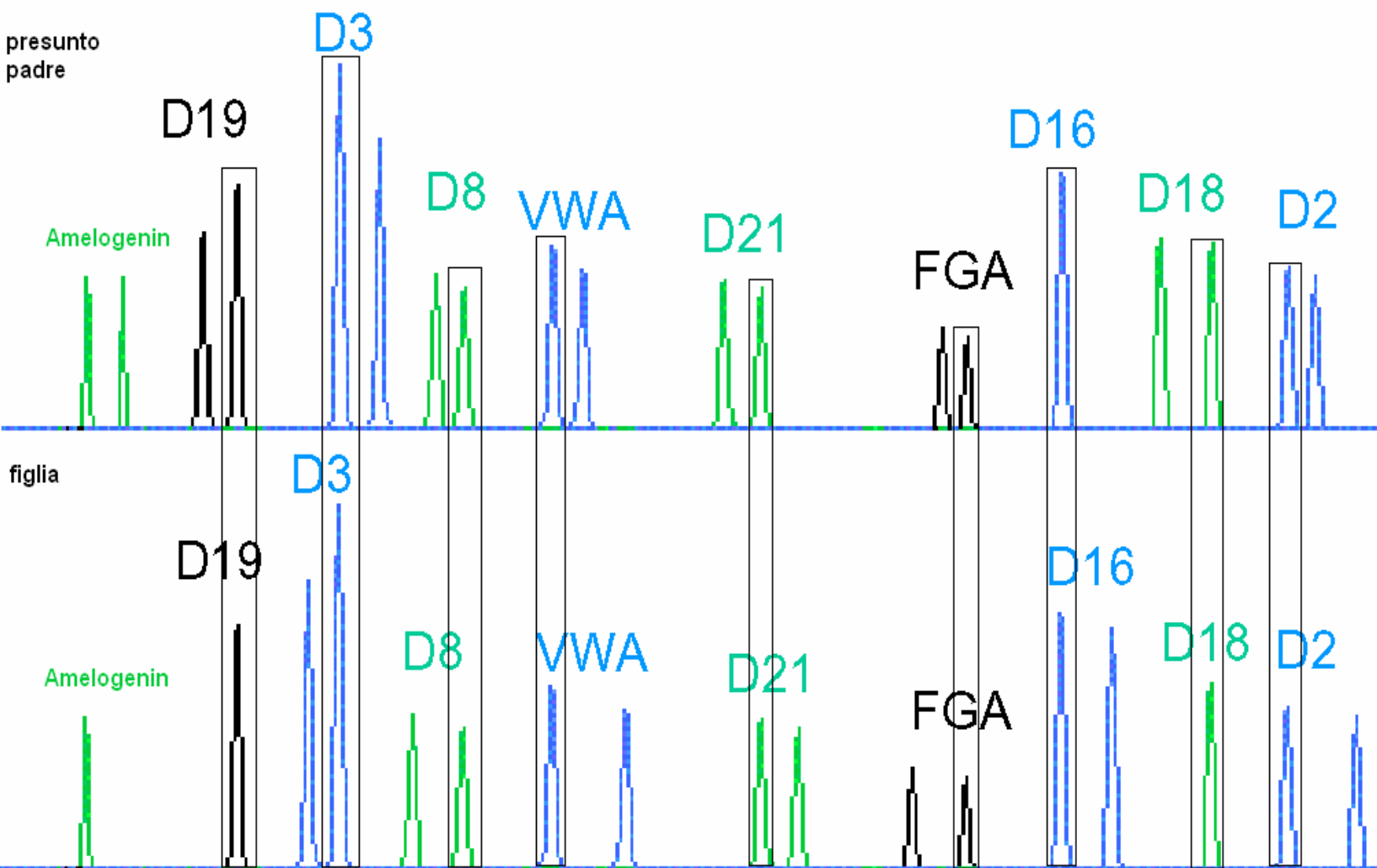
**Ciascun genitore trasmette al proprio figlio
un cromosoma per ogni coppia**



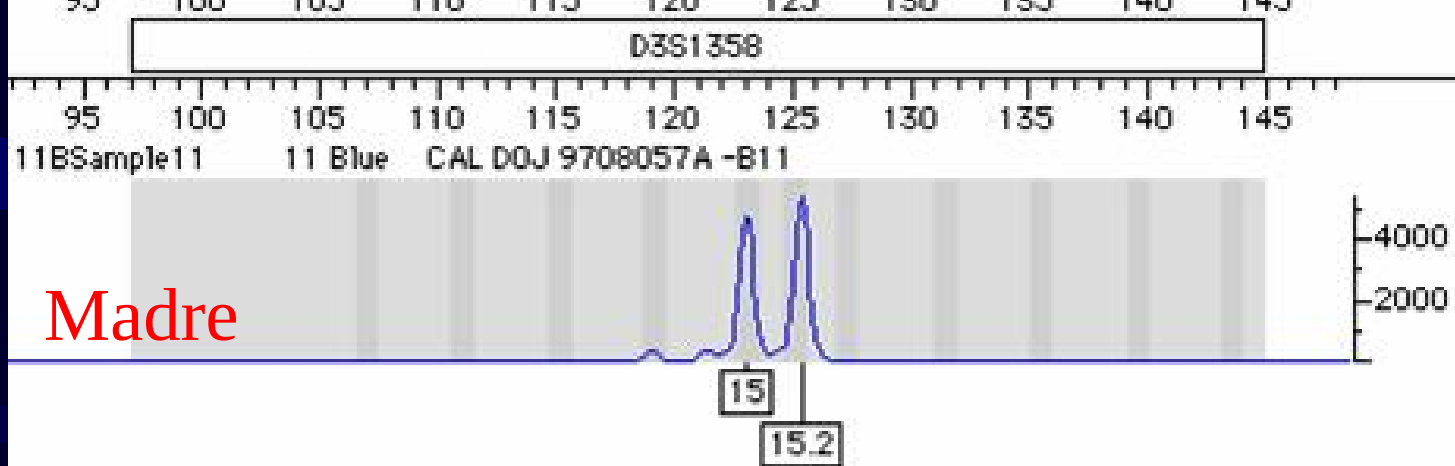
Il padre biologico trasmette ad un figlio il 50% del proprio patrimonio genetico, ovvero un cromosoma di ogni coppia che possiede

Lo scopo degli accertamenti di parentela è verificare se un cromosoma di ogni coppia è in comune tra presunto padre e figlio/a

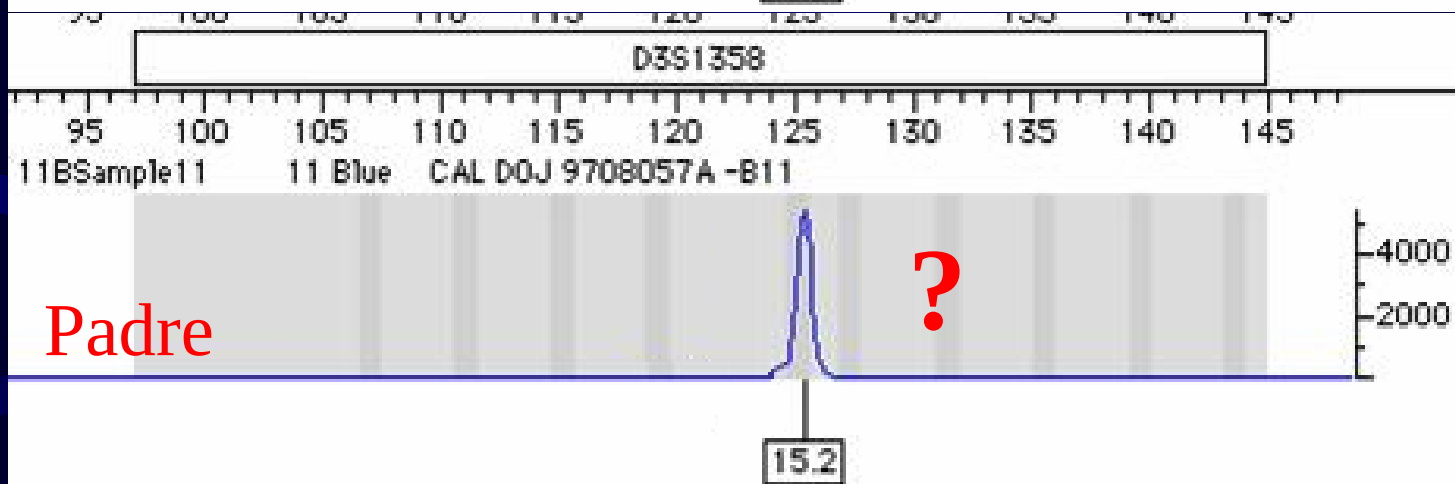




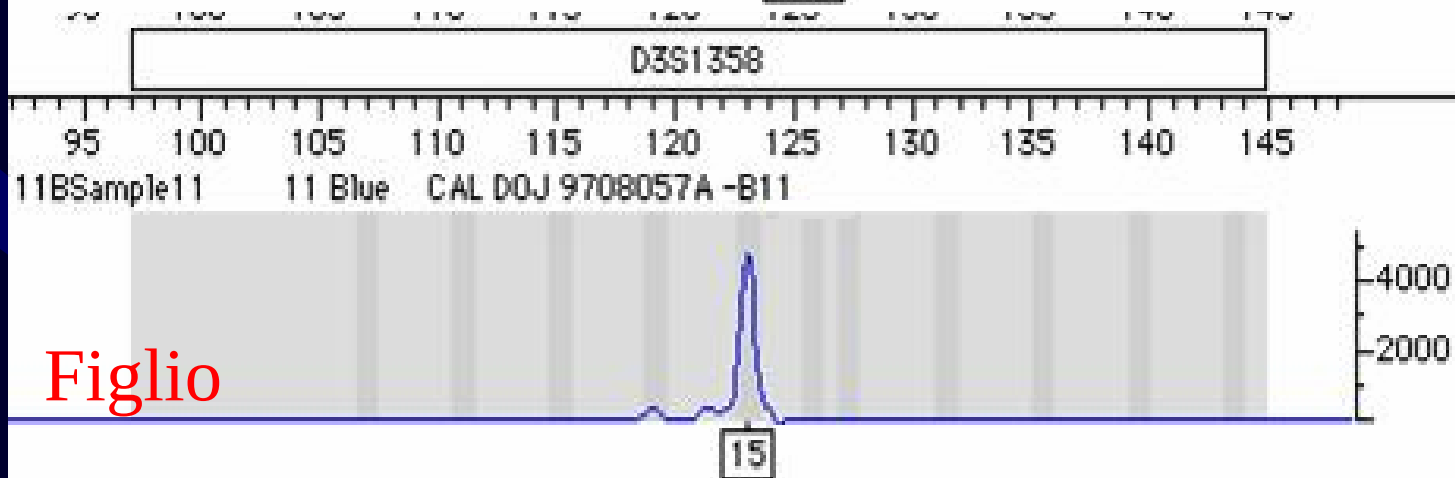
Madre

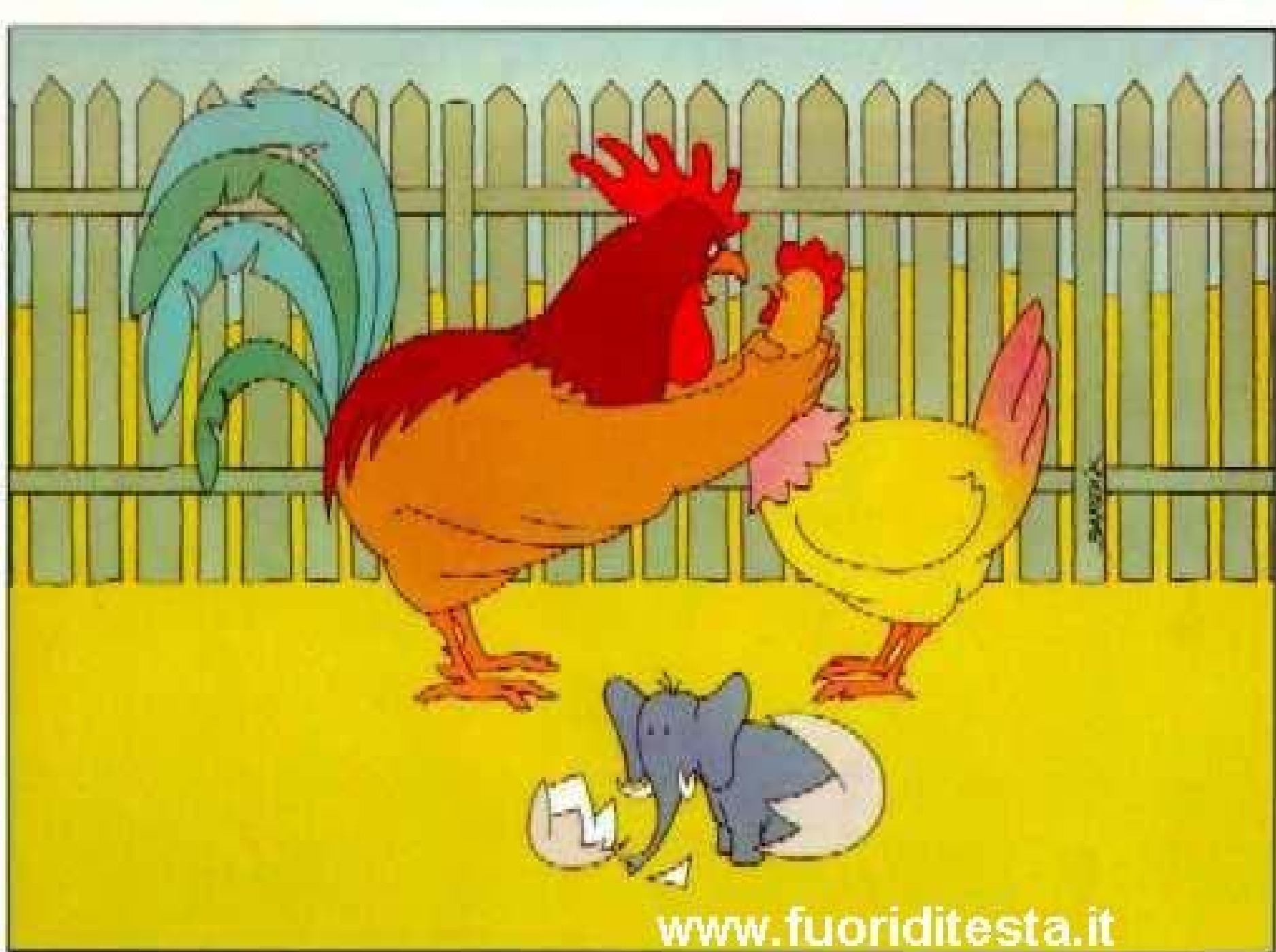


Padre



Figlio

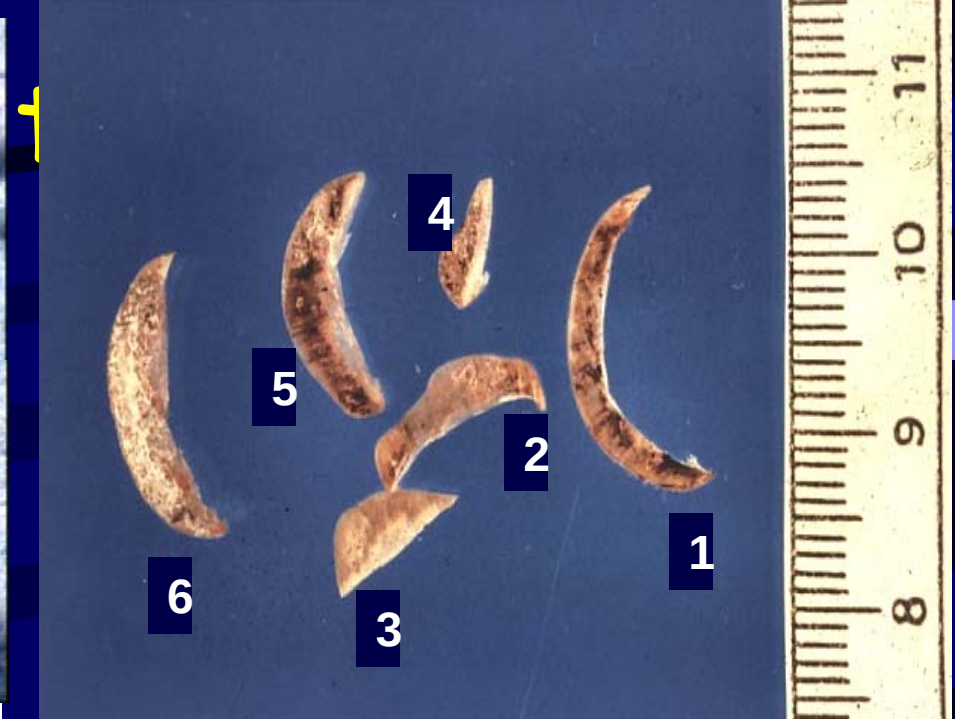




Le fonti di DNA

- Sangue
- Seme
- Saliva
- Urina
- Capelli
- Denti
- Osso
- Tessuti

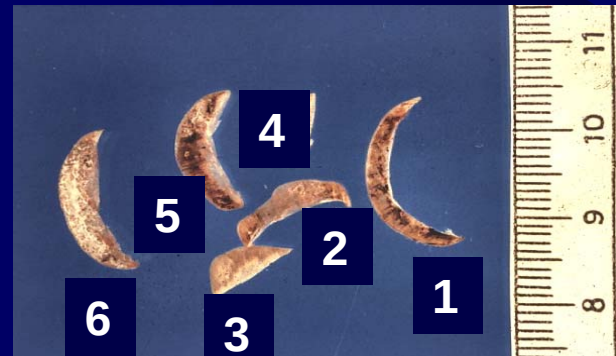




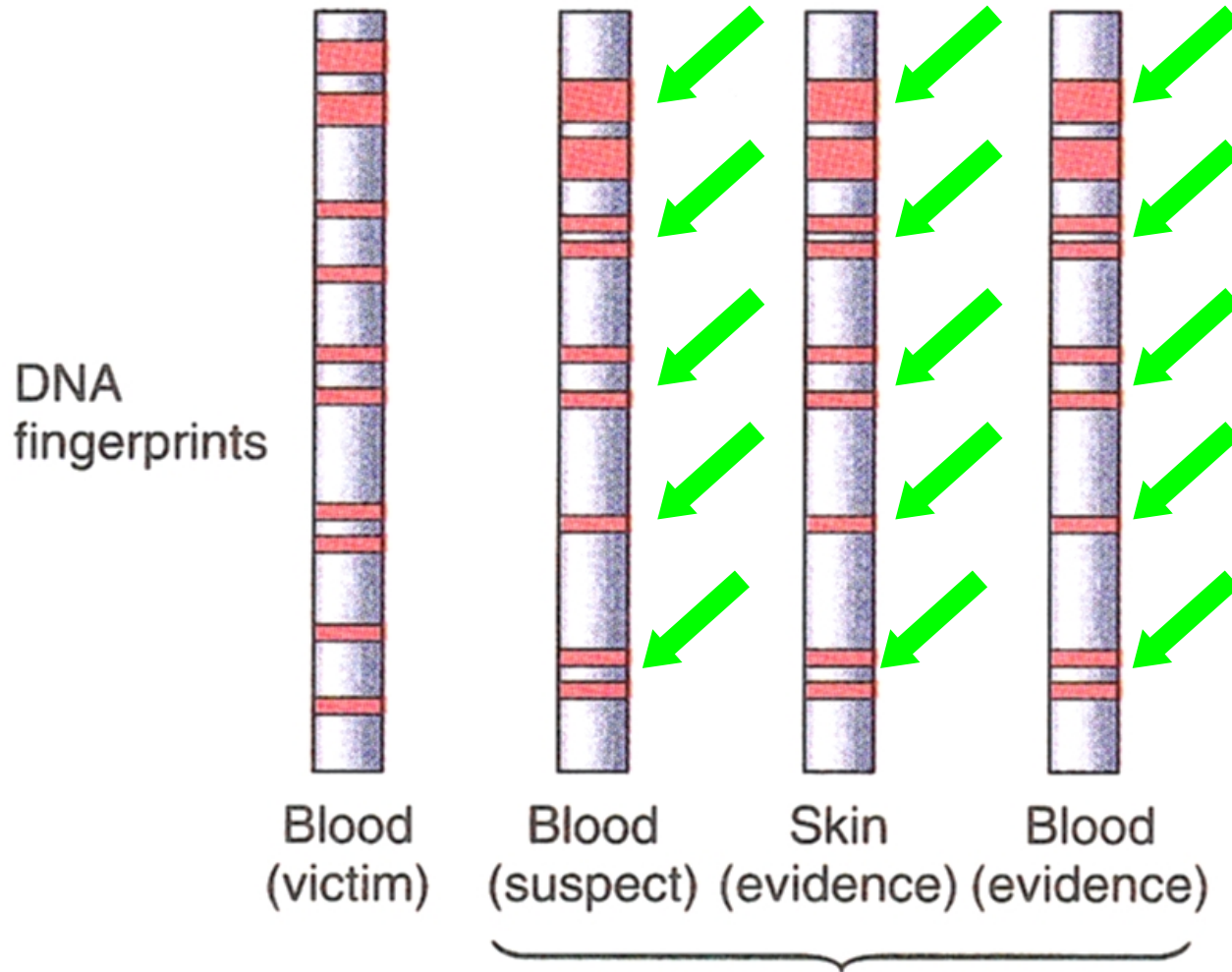
Repertazione di:



VENGONO GENERATI I PROFILI GENETICI DEI SOSPETTATI E DELLE TRACCE RILEVATE



Confronto dei profili genetici



MARCATORI DI DNA ADDIZIONALI

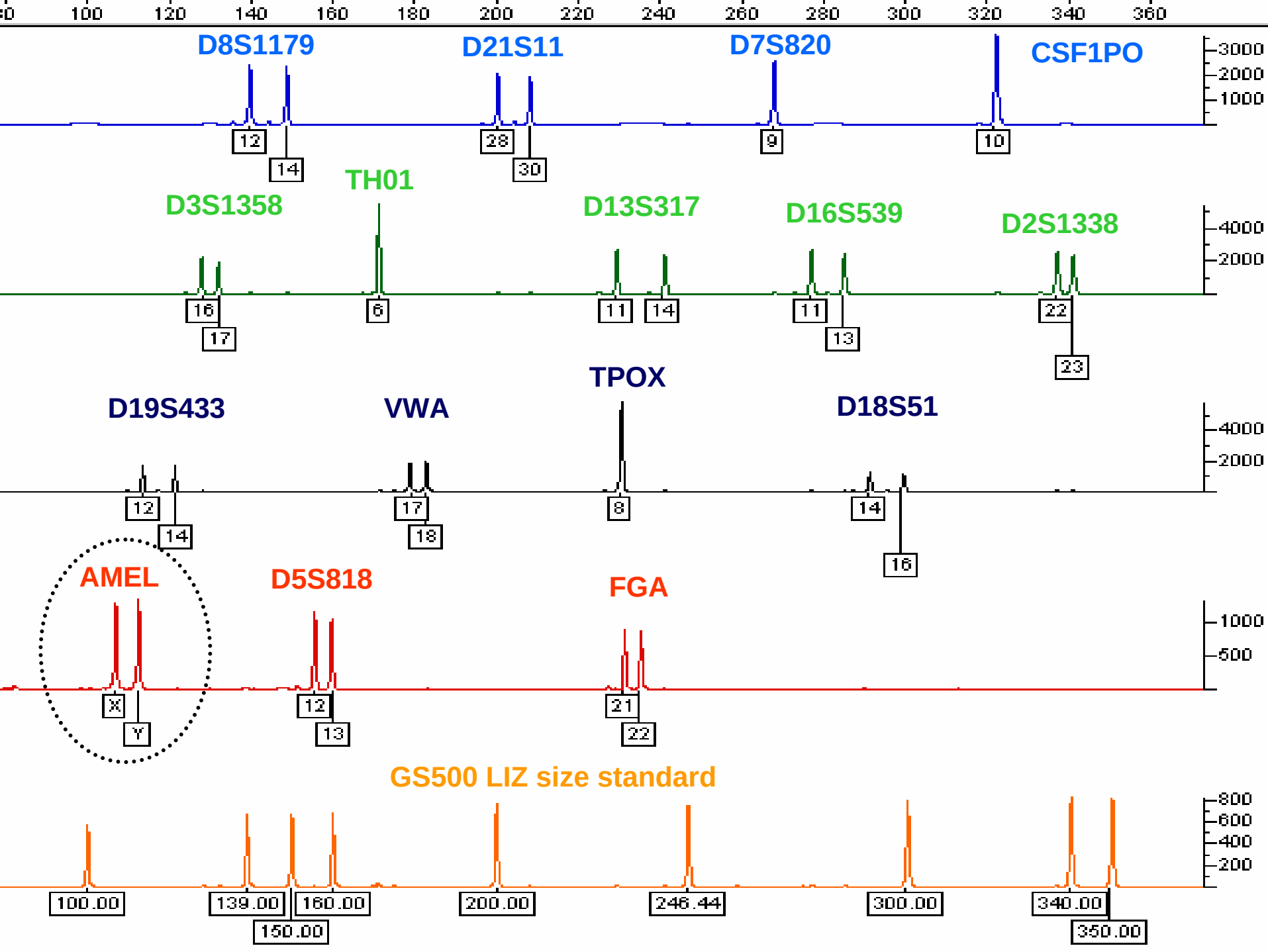
Amelogenina
Cromosoma Y
mt DNA
SNPs

AMELOGENINA

- **Determinazione del sesso**
- **E' il più piccolo frammento usato in genetica forense**
- **Il gene codifica per una proteina dello smalto dei denti**

AMELOGENINA

- Si trova sia sul cromosoma X che sul cromosoma Y
- X ha una delezione di 6bp (106 bp)
- Y è 112 bp
- Rappresenta anche un controllo positivo di PCR
- Molto sensibile



MARCATORI DI DISCENDENZA



Cromosoma Y
(eredità patrilineare)



cromosoma mitocondriale
(eredità matrilineare)

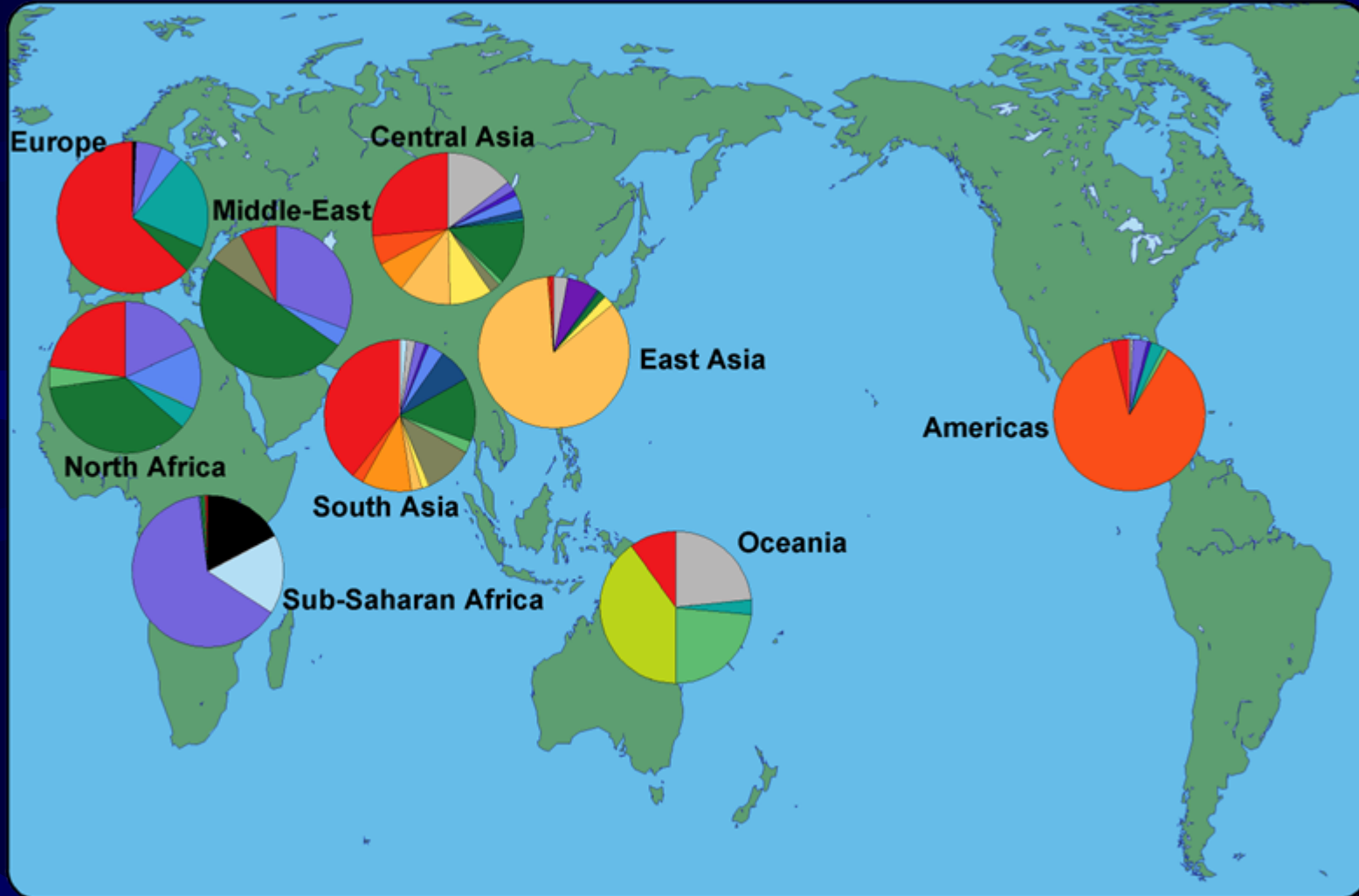
CROMOSOMA Y

Importante nei reati sessuali

Risolve le situazioni di misti

Test di paternità

CROMOSOMA Y

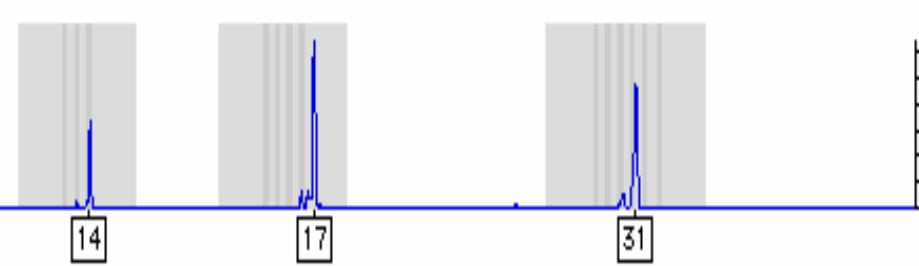
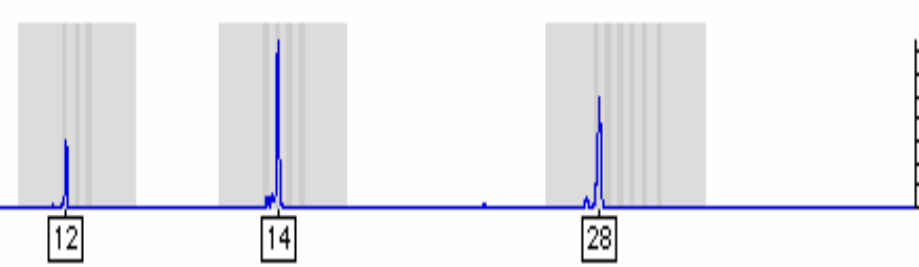
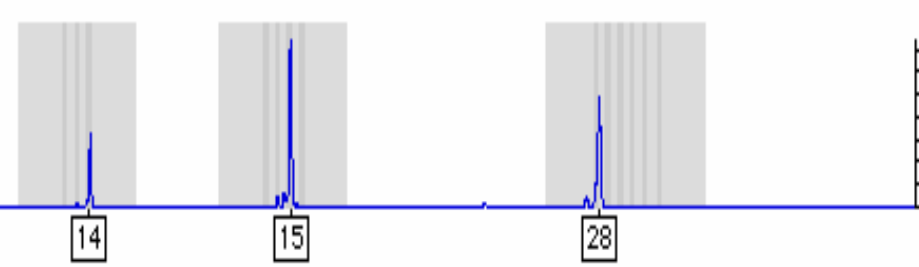
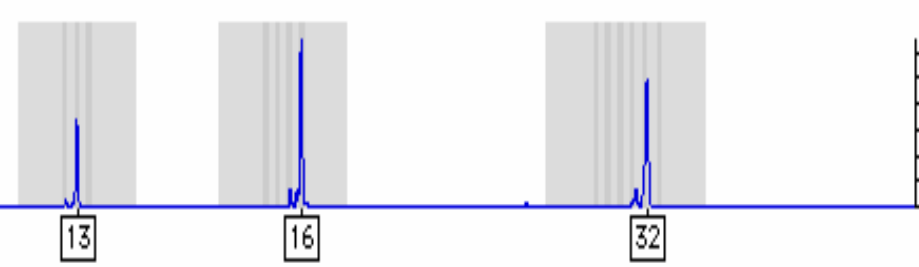
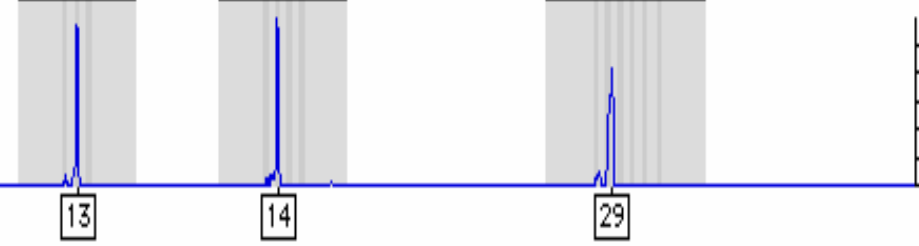


00 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360 380 400

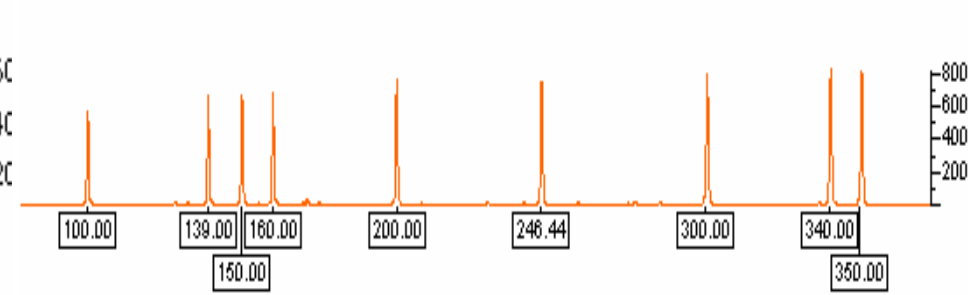
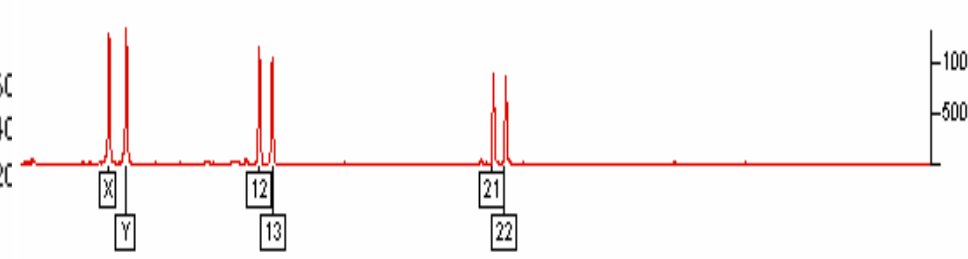
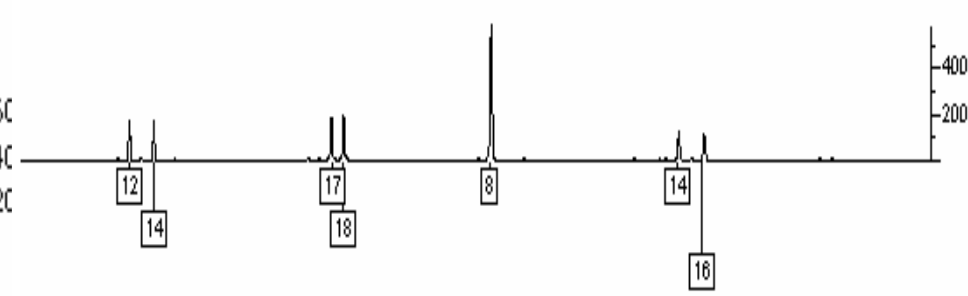
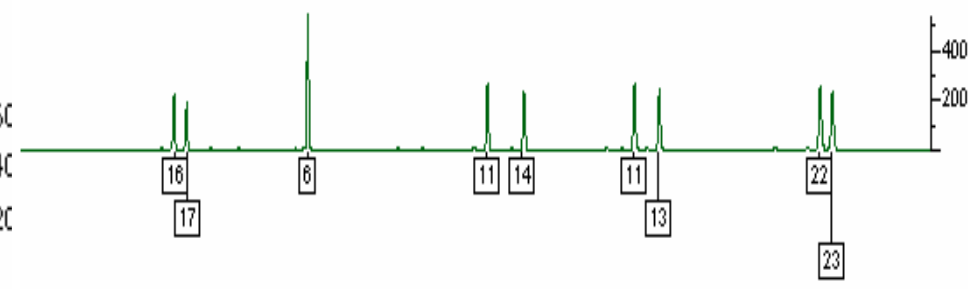
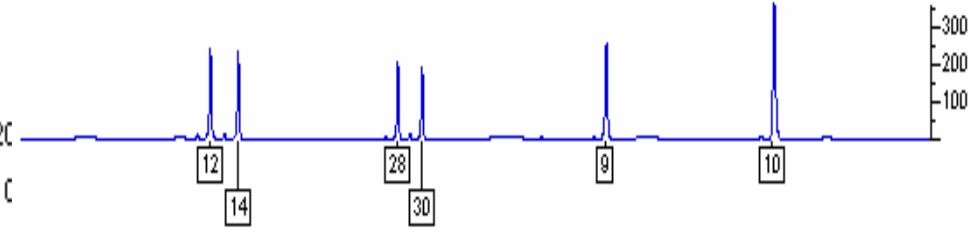
DYS393

DYS19

DYS389



80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 340 360

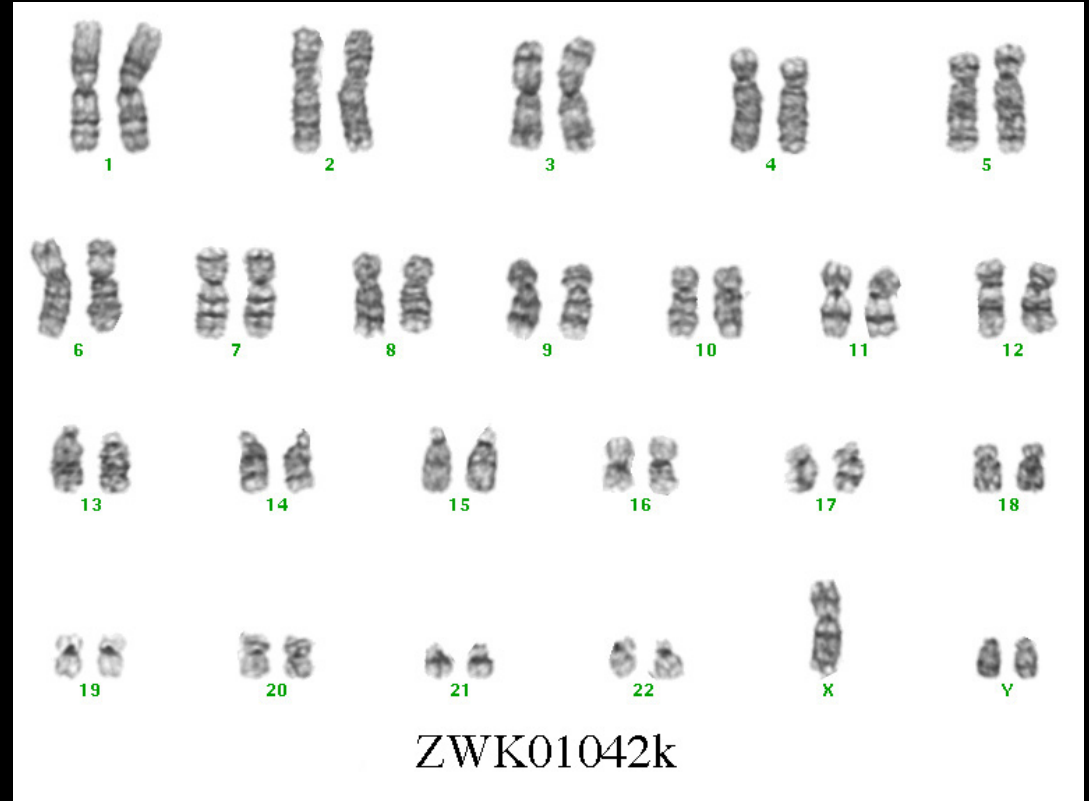
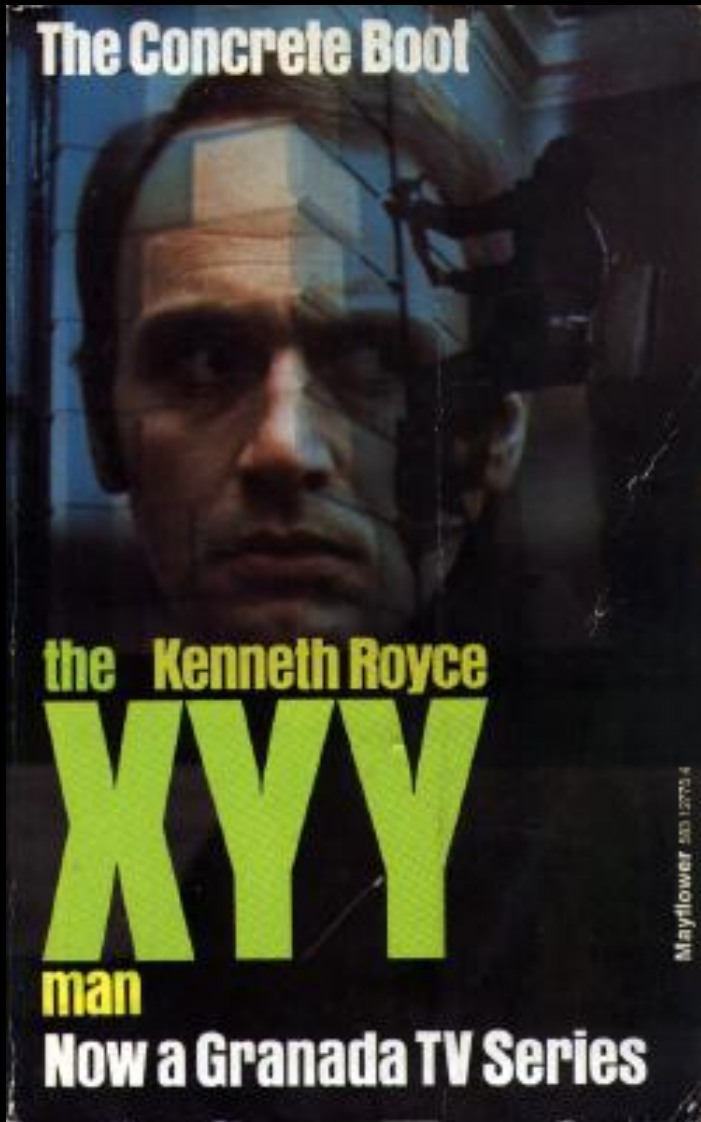


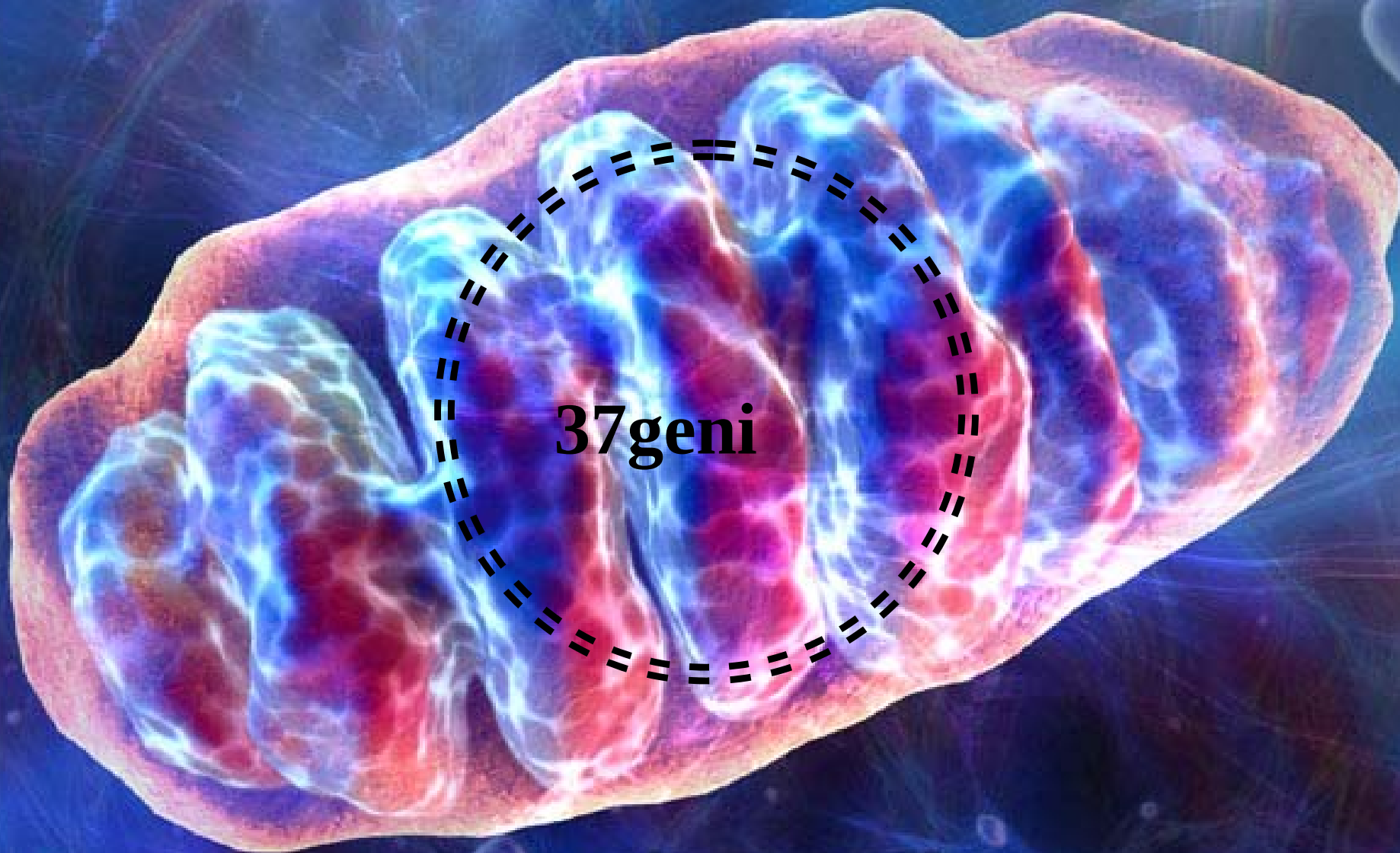


**93% dei crimini e il 99%
dei delitti a sfondo
sessuale è commesso da
uomini**

...e allora

CARIOTIPO E STEREOTIPO





37geni

myobrio

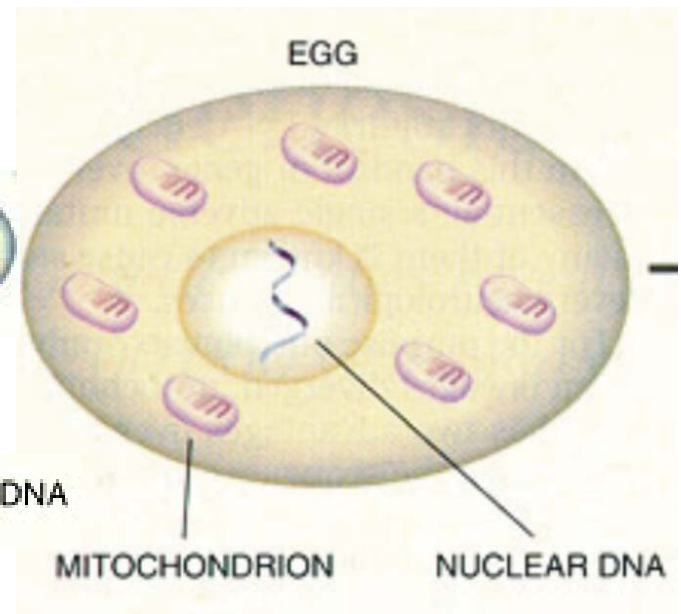
m o d e l l i n g o f m i c r o b i a



SPERM

MITOCHONDRION

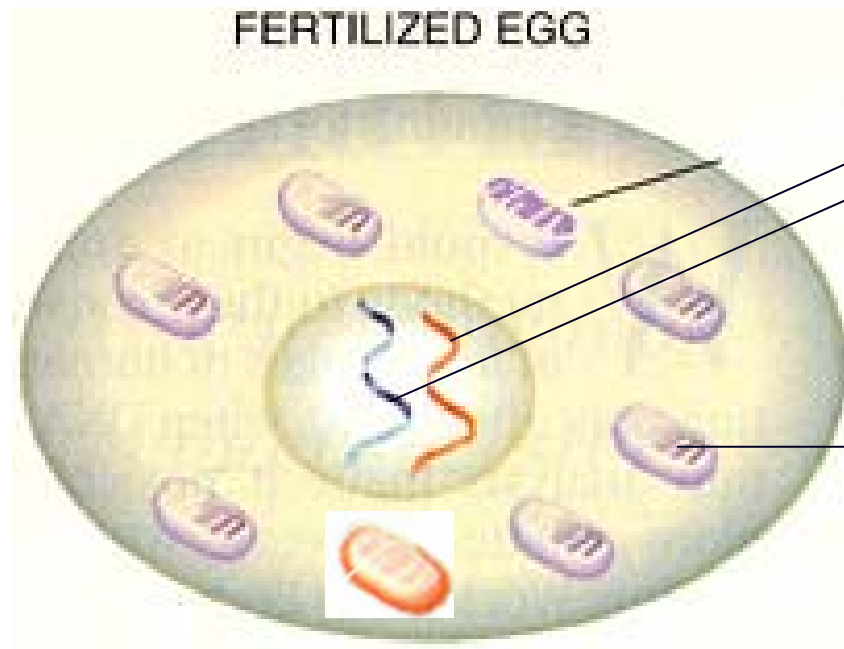
NUCLEAR DNA



EGG

MITOCHONDRION

NUCLEAR DNA



FERTILIZED EGG

**Il DNA nucleare
riceve
il contributo di
entrambi
i genitori**

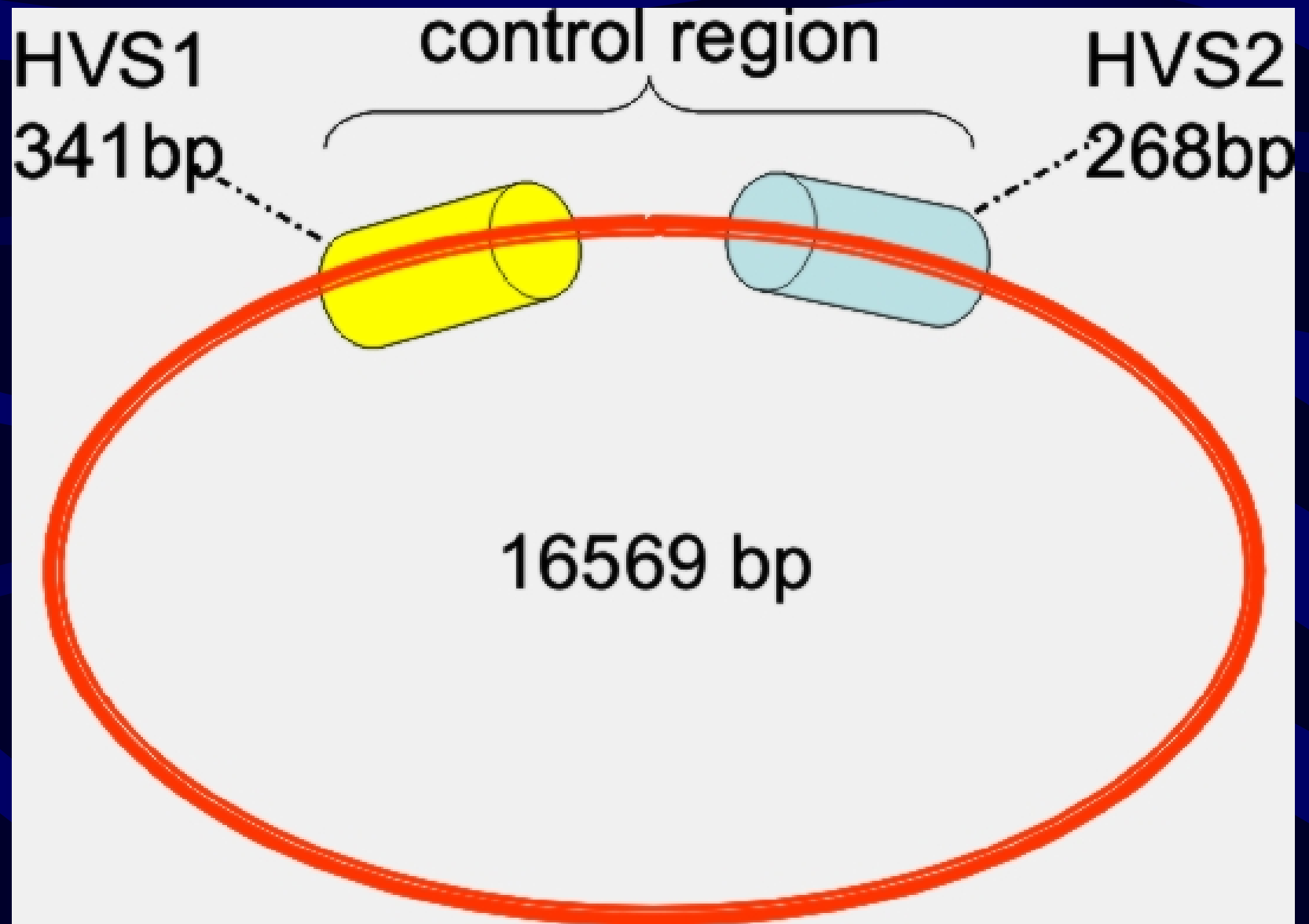
**Il DNA mitocondriale
riceve il contributo
esclusivo della madre**

- **DNA NUCLEARE**

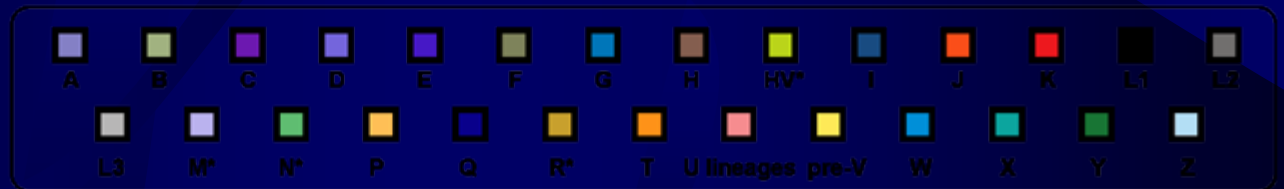
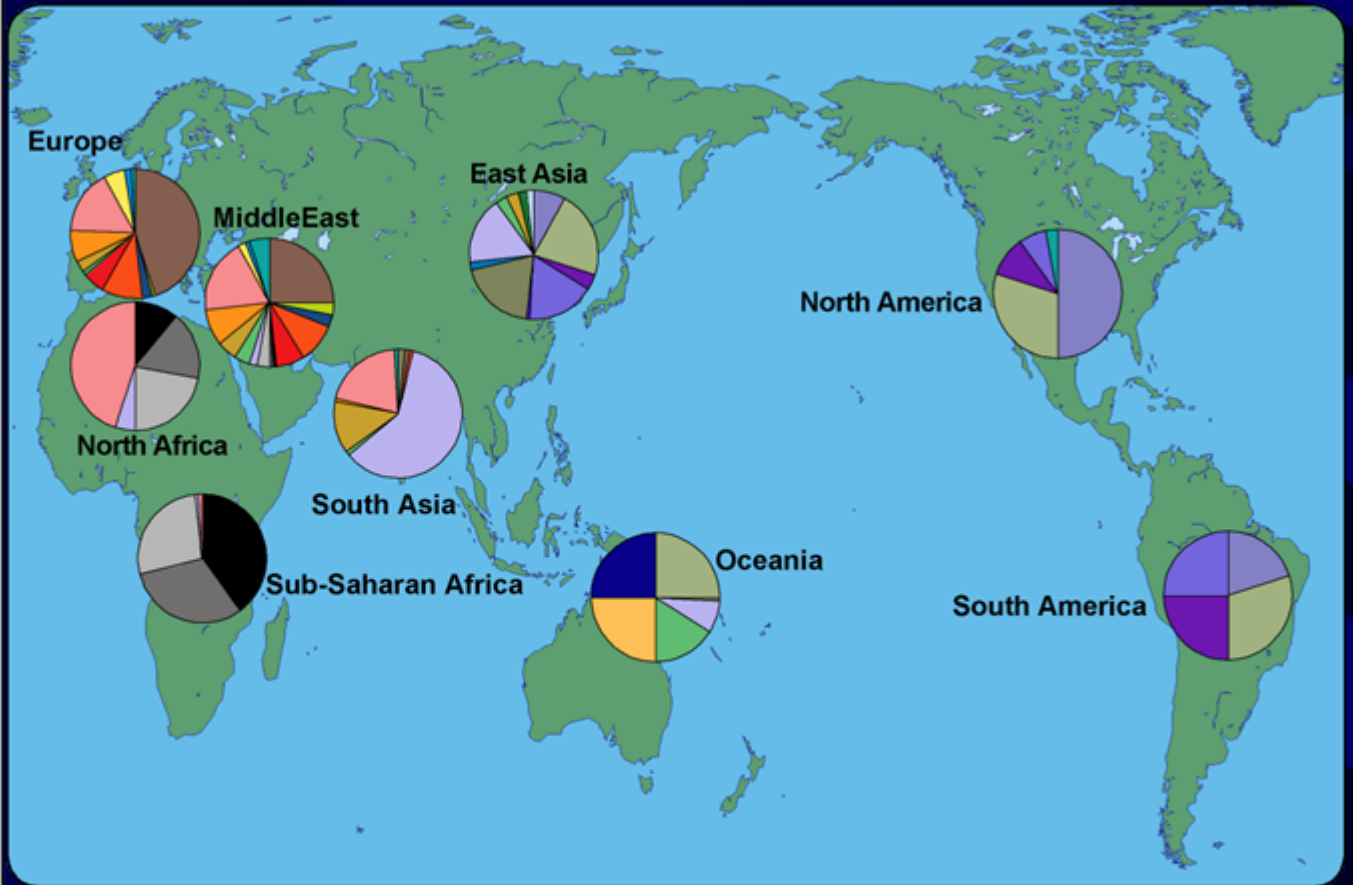
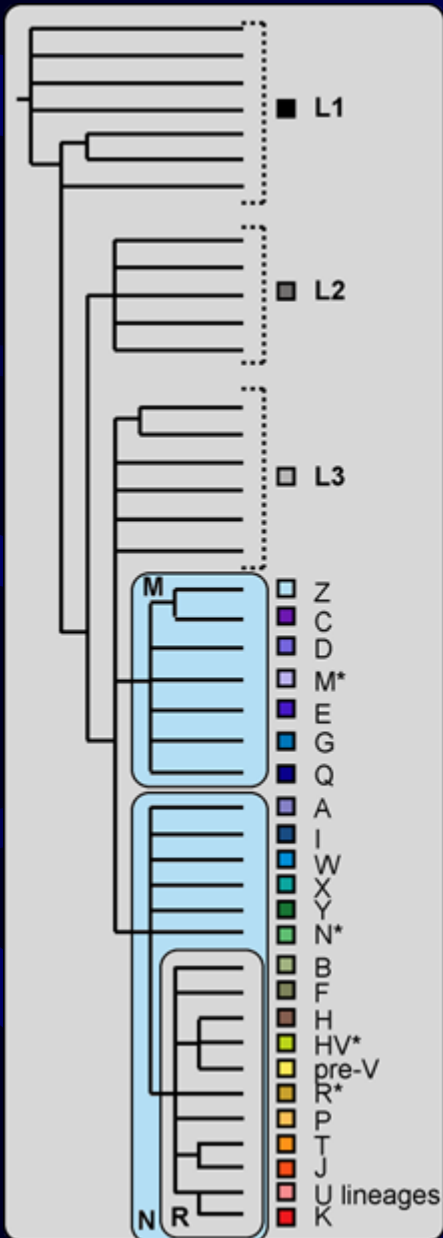
- 3 miliardi bp
- 2 copie (1 per genitore)
- Lineare, doppia elica
- Padre e madre
- Ricombinazione
- UNICO*
- Basso tasso di mutazione
- Human Genome Project

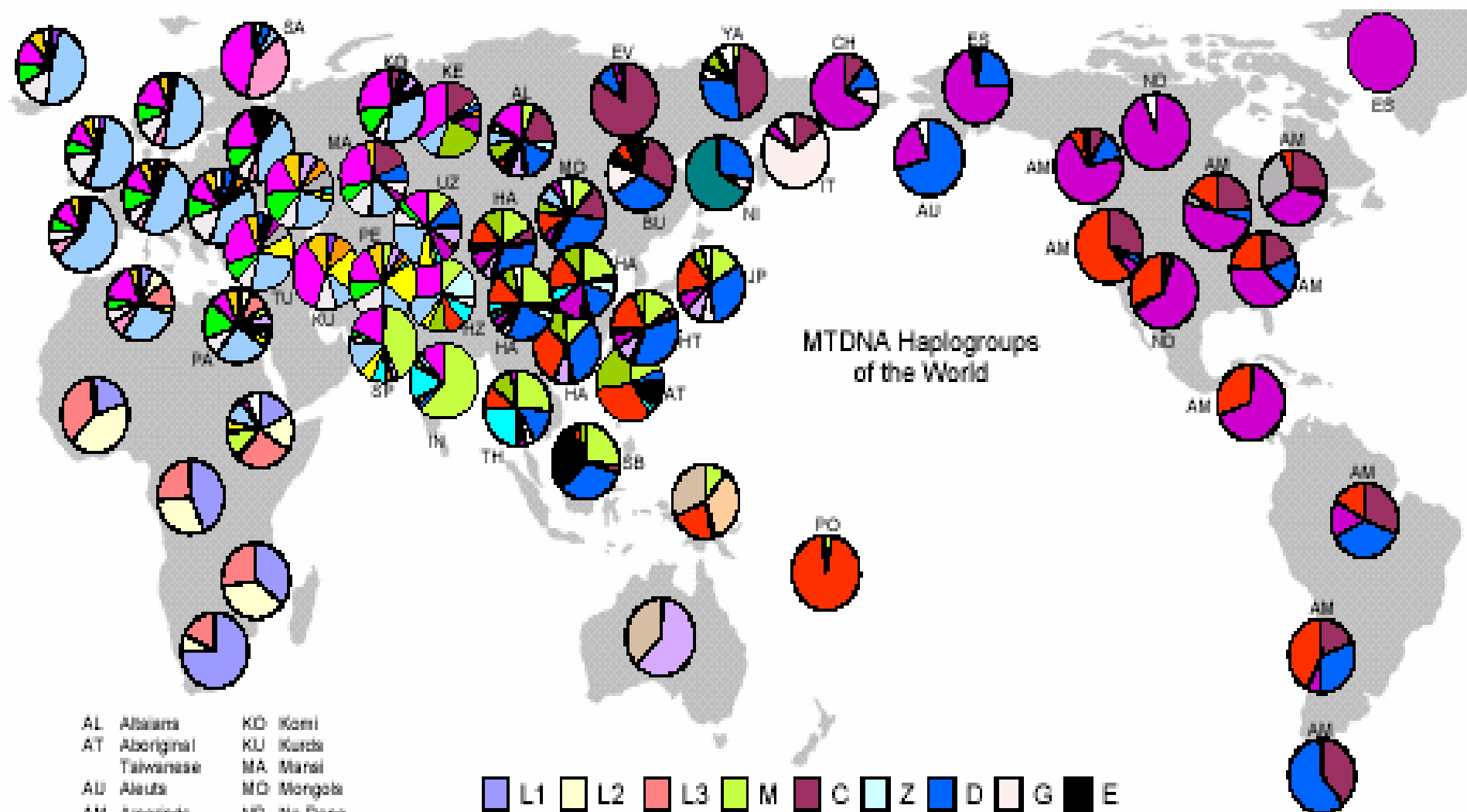
- **mtDNA**

- 16,569 bp
- >1,000
- Circolare
- madre
- No ricombinazione
- NON UNICO
- Alto tasso mutazione 5-10X DNA nucleare
- Anderson 1981



mtDNA haplogroup distribution





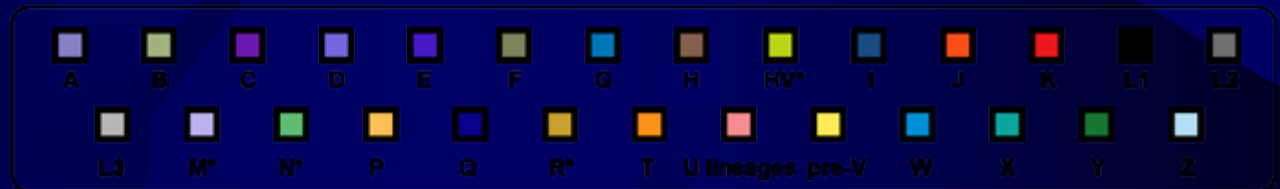
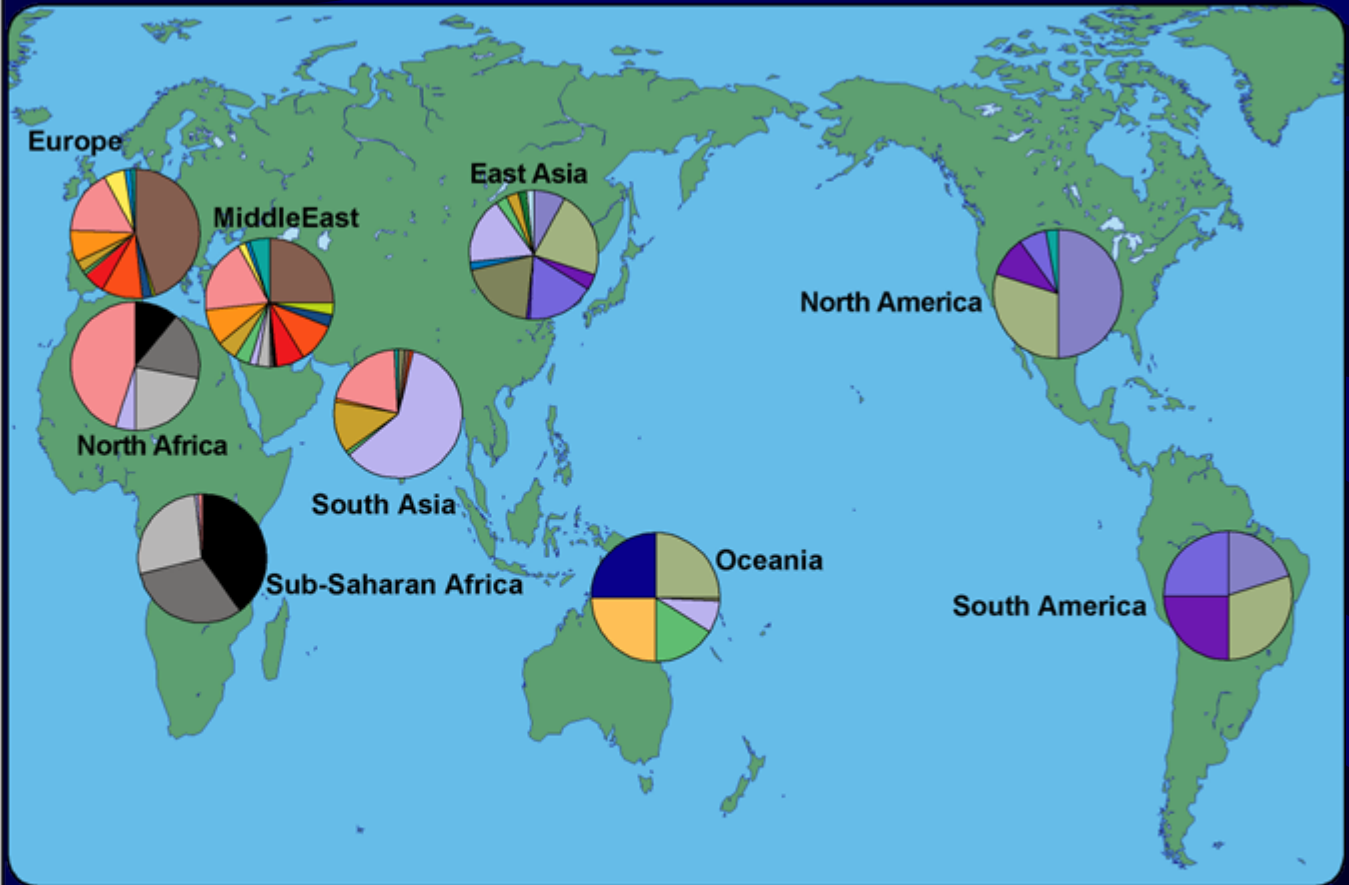
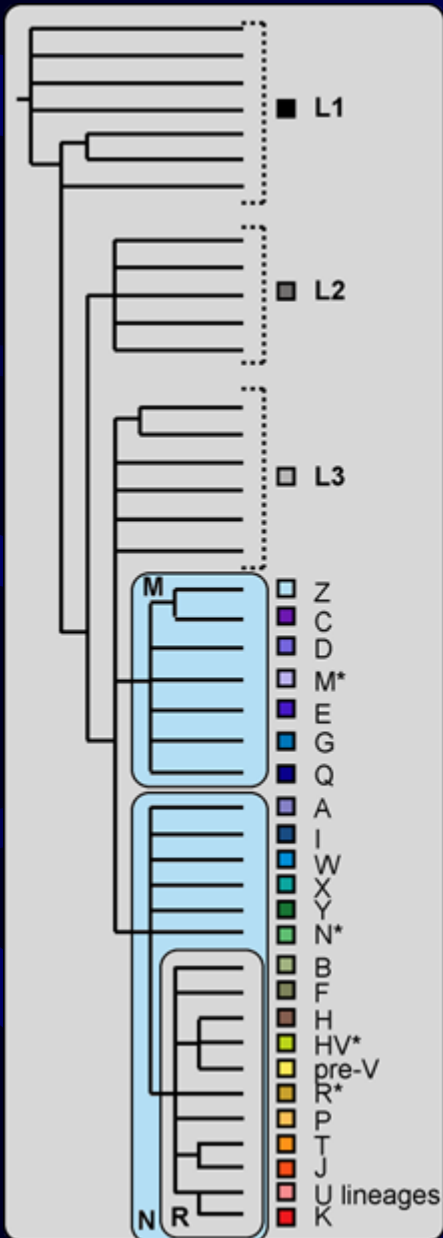
AL	Altaians	KD	Komi
AT	Aboriginal Taiwanese	KU	Kurds
AU	Aleuts	MA	Mansi
AM	Amerinds	MD	Mongols
BU	Buryats	NI	Nirkha
CH	Chukchi	PA	Palestine+Egypt
ES	Eskimo	PE	Persians (Iran)
EV	Evenks	PO	Polynesians
HA	Han Chinese	SA	Saami
HT	Han Taiwanese	SB	Sabah (Borneo)
HZ	Hazara	SP	South Pakistan
IN	India	TH	Thailand
IT	Haimen	TU	Turks
JP	Japanese	UZ	Uzbeks
KE	Koba	YA	Yakuts

L1	L2	L3	M	C	Z	D	G	E
Q	N	I	W	A	X	Y	R	B
F	HV	H	V	P	J	T	U	K
								Other

Specific tribes or locations are shown at left. Unlabelled pies are for general population in the area. African, American, and especially Polynesian areas are very large. The data in this chart is supposed to represent the situation before the recent European expansion beginning about 1500 AD. Assignments in Australia are somewhat iffy.



mtDNA haplogroup distribution

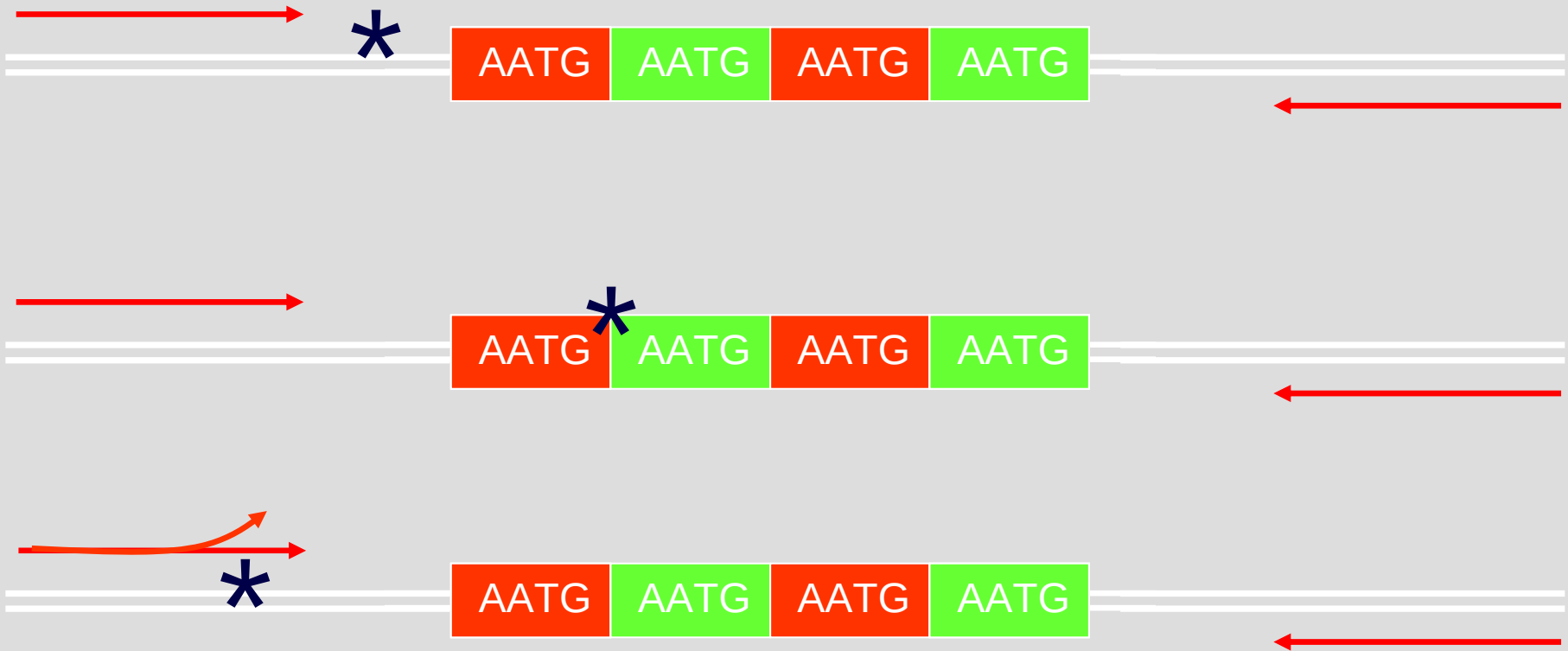


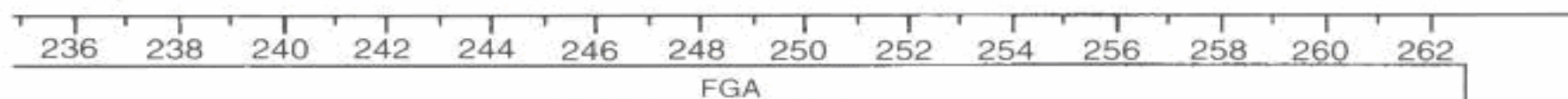


Per identificare
i corpi delle
vittime del
WTC, sono stati
eseguiti più di
un milione di
profili genetici

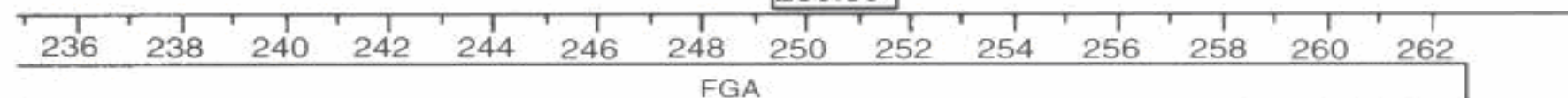
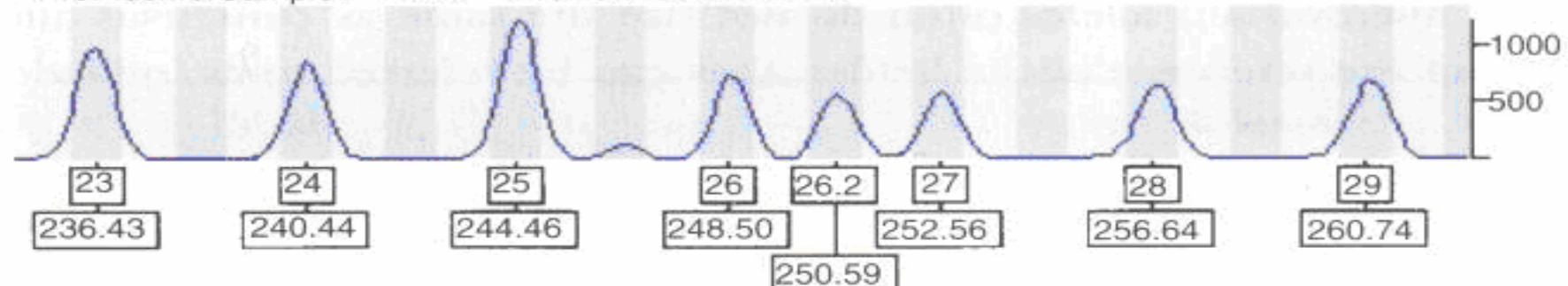


ALLELE DROPOUT

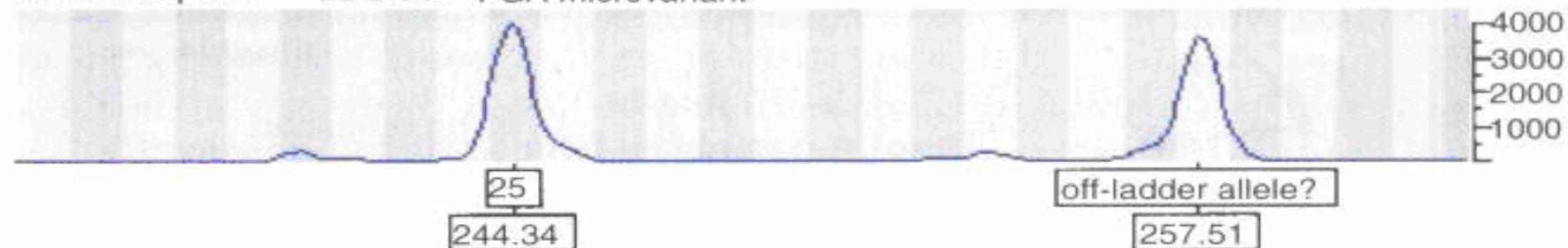




• ProPlus...erSample1 1 Blue ProfilerPlus LADDER



NG88Sample22 22 Blue FGA microvariant



$$\delta_1 = S_{25} - L_{25} = 244.34 - 244.46 = -0.12 \text{ bp}$$

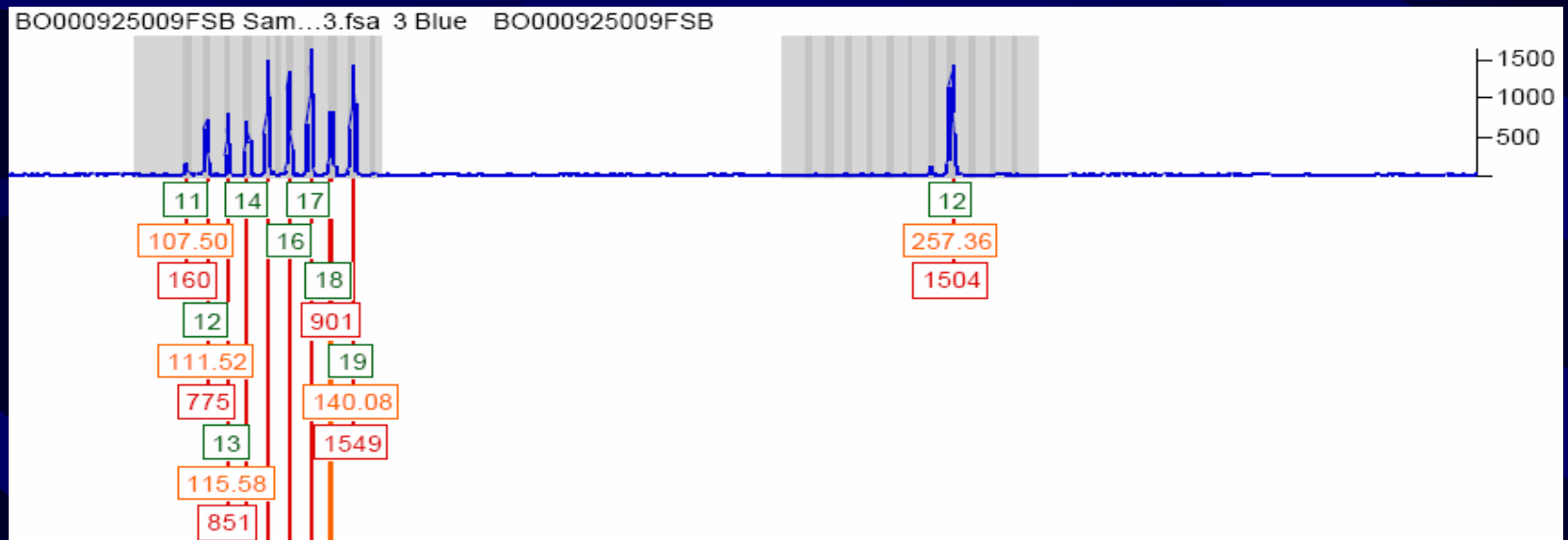
$$\delta_2 = S_{OL} - L_{28} = 257.51 - 256.64 = +0.87 \text{ bp}$$

$$c = |\delta_1 - \delta_2| = |-0.12 - 0.87| = 0.99 \text{ bp}$$

28.1

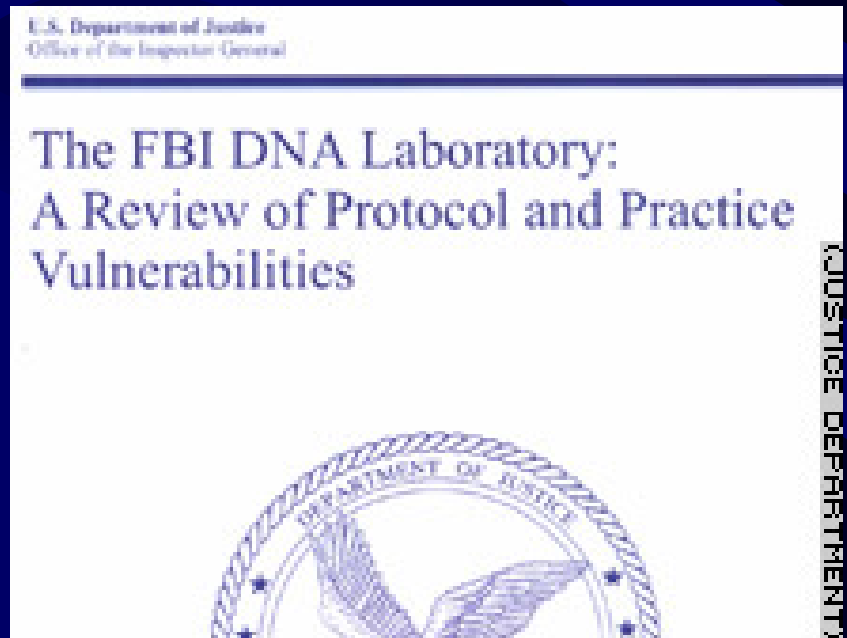
Contaminazioni

Controllo negativo contaminato



...il caso di Jacqueline Blake

- 100 casi corsi in assenza di controlli negativi di PCR...



Houston, abbiamo un problema...



Josiah Sutton

Errori di repertazione, interpretazione,
refertazione.

Houston Police Department (HPD)

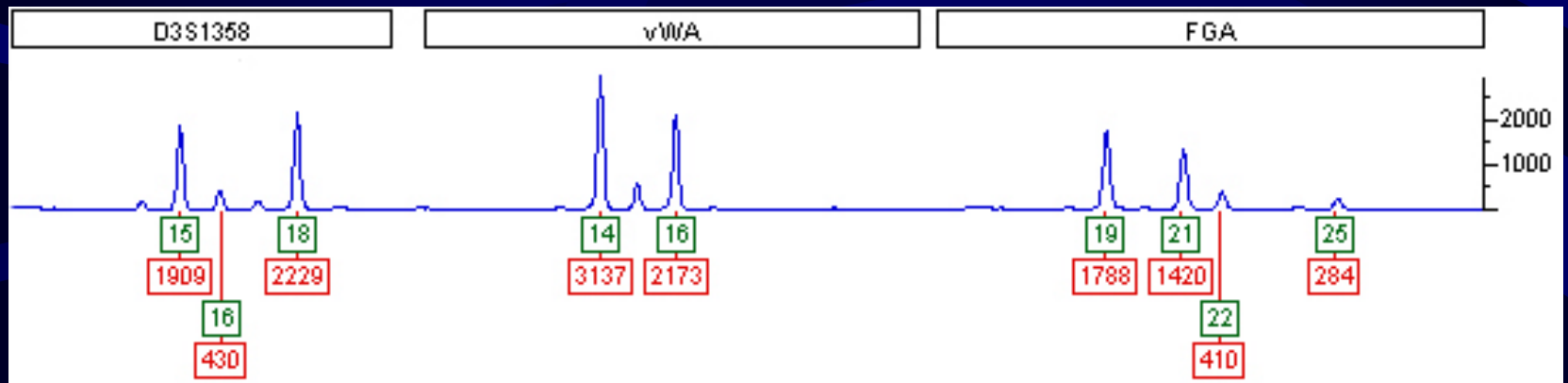
4 anni di reclusione e poi scagionato

“Qualsiasi cosa venga calpestata, toccata, o anche inavvertitamente lasciata, sarà un silenzioso testimone contro di lui. Non solo le sue impronte digitali e le sue orme, ma anche i suoi capelli, le fibre dei suoi vestiti, il vetro che rompe, le tracce che lascia, i graffi sulla vernice, il sangue o il seme che egli lascia o raccoglie. Tutto questo, ed altro ancora, costituisce una implicita testimonianza contro di lui. Testimonianze che non dimenticano, che non si lasciano confondere dall’eccitazione del momento: sono testimoni non umani. Sono, di fatto, evidenze. Le prove materiali non possono sbagliare, non possono contraddirsi, non possono essere del tutto assenti. Solo l’incapacità degli uomini nel trovarle, studiarle e capirle, può diminuire il loro valore.”

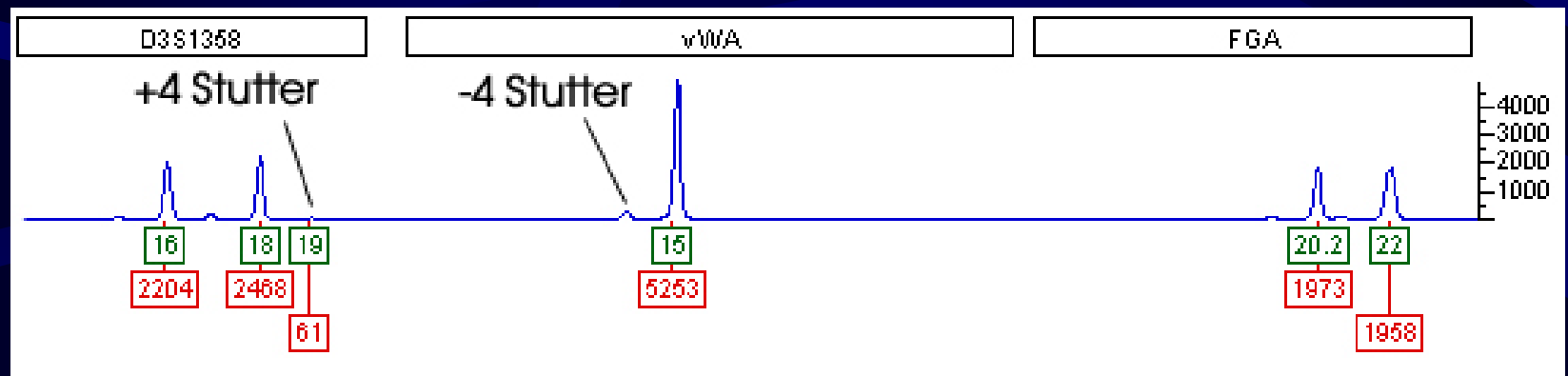
Edmond Locard (1877-1966)

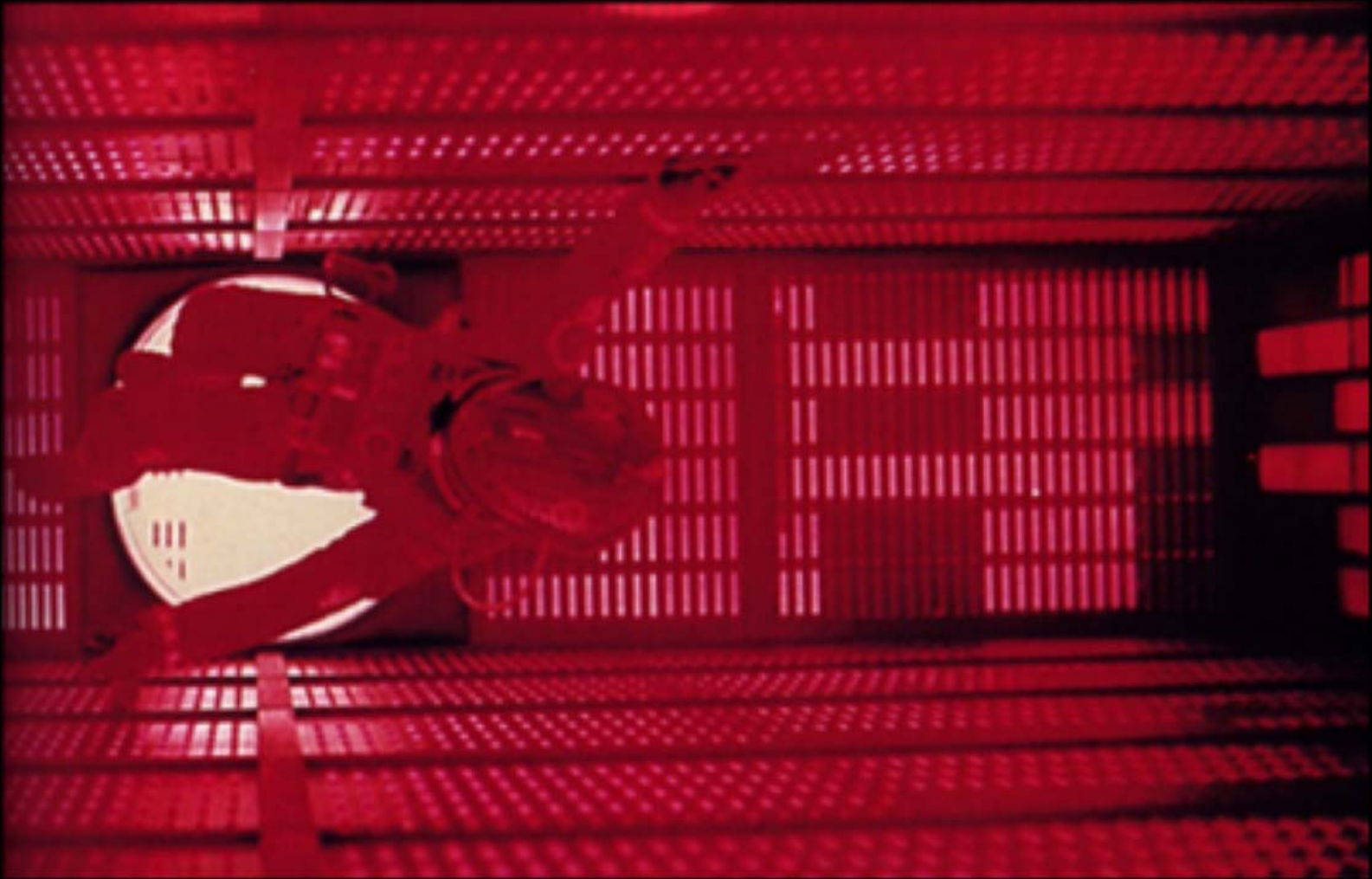
Chiamata inaccurata degli alleli

Masked contributors (misinterpretation of mixtures)



Chiamata inaccurata degli alleli





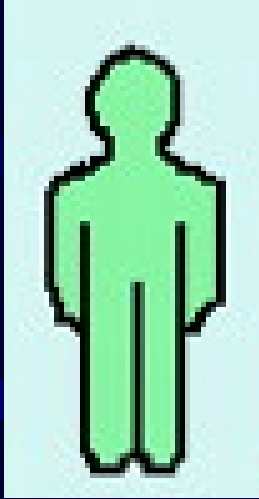
2001: A SPACE ODYSSEY

SVANTAGGI

- Difficoltà ad analizzare DNA degradato
- Risultati spesso difficili da interpretare
- Possibilità di dare artefatti
- Tecnologia molto costosa

SNPs

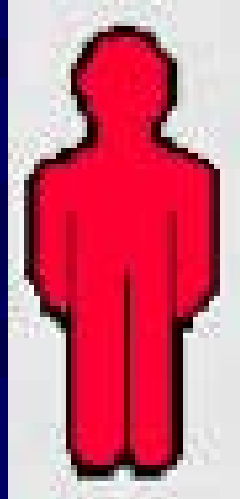
1



GTTCG	A	TTGCA
CAAGC	T	AACGT

GTTCG	A	TTGCA
CAAGC	T	AACGT

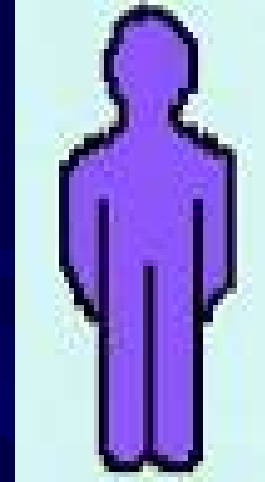
2



GTTCG	A	TTGCA
CAAGC	T	AACGT

GTTCG	C	TTGCA
CAAGC	G	AACGT

3



GTTCG	C	TTGCA
CAAGC	G	AACGT

GTTCG	C	TTGCA
CAAGC	G	AACGT

- 10^7 SNPs nel genoma umano
- 4-8 SNPs per ogni gene
- 300-600 bp tra ogni SNPs
- 500.000 tagSNPs (HapMap project)
- 150.000 SNPs non sinonimi
- 6% SNPs rari (<20%)
- 53% SNPs comuni (>20%)

UTILITA' IN INDAGINI FORENSI

- Molto frequenti nel genoma
- Necessità di amplificati più corti
(minore sensibilità alla degradazione)
- Meno soggetti ad artefatti ed interpretazione più semplice
- Basso tasso di mutazioni ricorrenti
- Maggiore automazione

SVANTAGGI

SNPs: biallelici

AACGTTTCG	A	TTGCAAGC
AACGTTTCG	C	TTGCAAGC

STRs: multiallelici

ATTC|ATTC

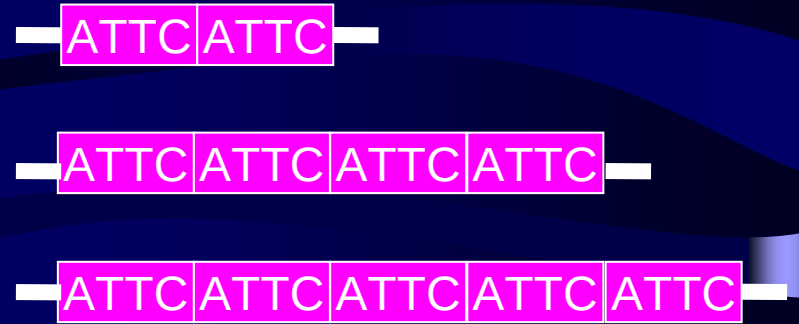
ATTC|ATTC|ATTC|ATTC

ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC

ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC|ATTC

SONO NECESSARI PIU' SNPs PER LO STESSO Pd

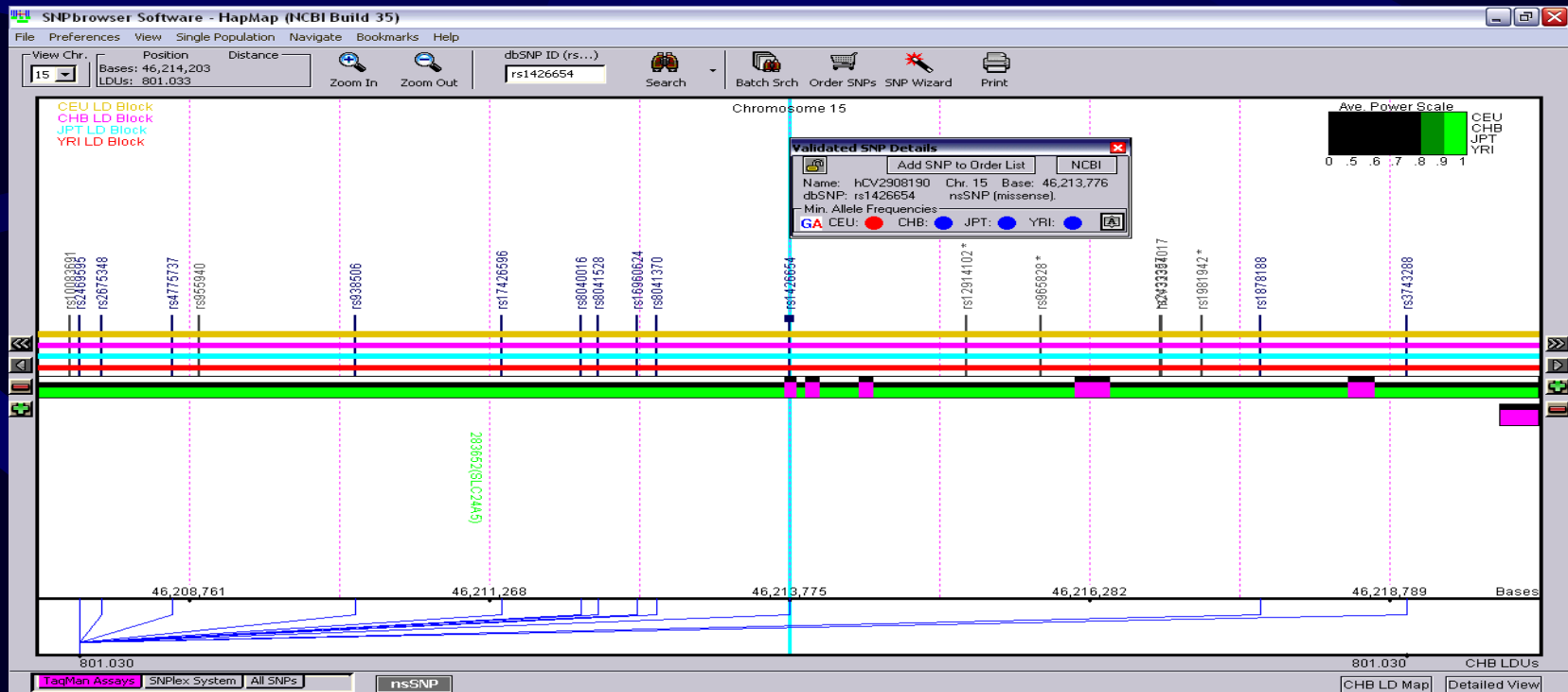
STRs



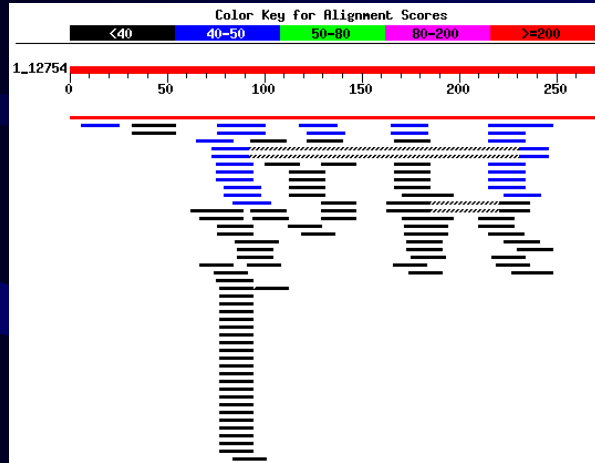
- Ripetizioni di 3-7 nucleotidi
 - 5-20 ripetizioni
 - 5-20 alleli per STR
- Necessitano di ampliconi di ~200-500 nucleotidi per venire analizzati
- La diversa dimensione dei frammenti può essere analizzata tramite amplificazione ed elettroforesi capillare

SELEZIONE DEGLI SNPs

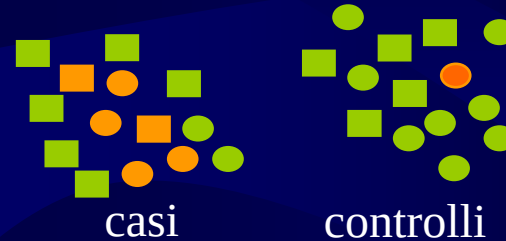
- Ricerca in letteratura di dati popolazionistici
- Ricerca in *Database* (SNP database) e tramite l'utilizzo di *SNPBrowser*TM v3.1



CRITERI DI SELEZIONE



✓ Provenienza da regioni intergeniche del genoma



✓ Assenza in pubblicazioni riguardanti studi di associazione



✓ Alta eterozigosità intra e inter popolazioni



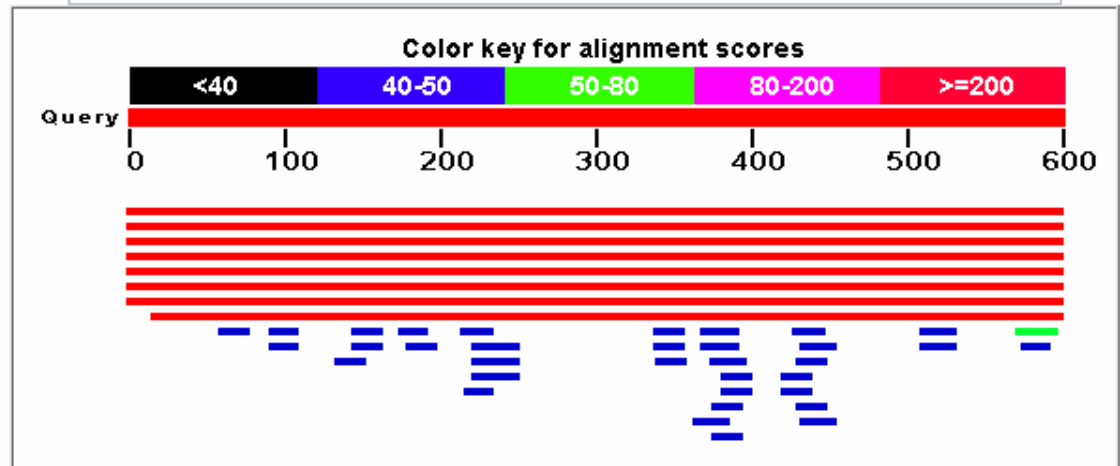
✓ Attendibilità su DNA degradato

- Frequenza dell'allele minore $>40\%$
- Posizione in regioni intergeniche a 100 Kb di distanza dal gene più vicino
- Assenza di Linkage Disequilibrium per marcatori su uno stesso cromosoma
- Assenza di associazione con i loci STRs
- Assenza di altri polimorfismi nella sequenza circostante lo SNP
- Posizione in regioni esterne a quelle coinvolte nelle CNVs.

SPECIFICITA' DI SPECIE *IN SILICO*

Distribution of 43 Blast Hits on the Query Sequence

Mouse-over to show define and scores, click to show alignments



Distance tree of results **NEW**

Sequences producing significant alignments:			Score (Bits)	E Value
gi 17381339 emb AL391382.10 	Human DNA sequence from clone RP...	1115	0.0	
gi 6114593 emb AL109748.2 	Homo sapiens chromosome 21 PAC RPC...	1092	0.0	
gi 7717247 emb AL163204.2 HS21C004	Homo sapiens chromosome 21 se	1092	0.0	
gi 21727808 emb AL050303.4 HS214G14	Homo sapiens chromosome 2...	1092	0.0	
gi 62551017 emb AL162851.10 	Human DNA sequence from clone RP...	1084	0.0	
gi 102142241 gb AC183594.3 	Pan troglodytes BAC clone CH251-6...	1048	0.0	

E

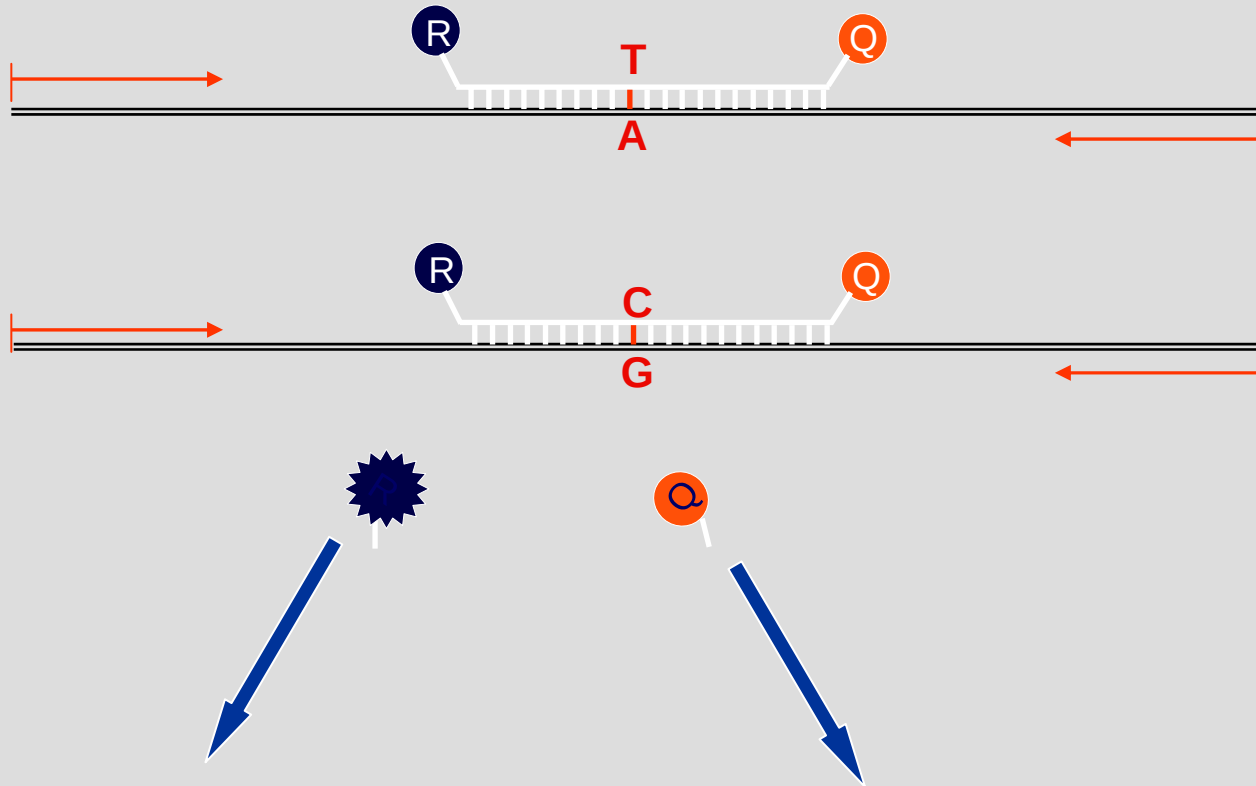


GENOTIPIZZAZIONE

PCR Real-Time

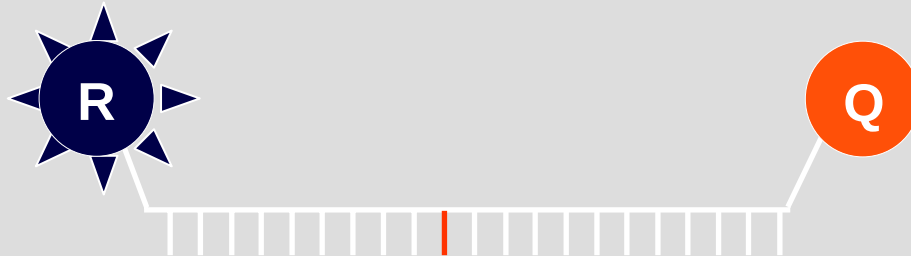


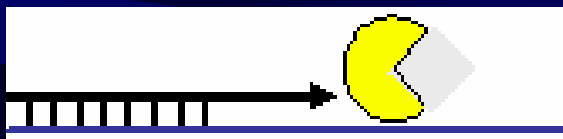
Nel caso di un polimorfismo G/A:



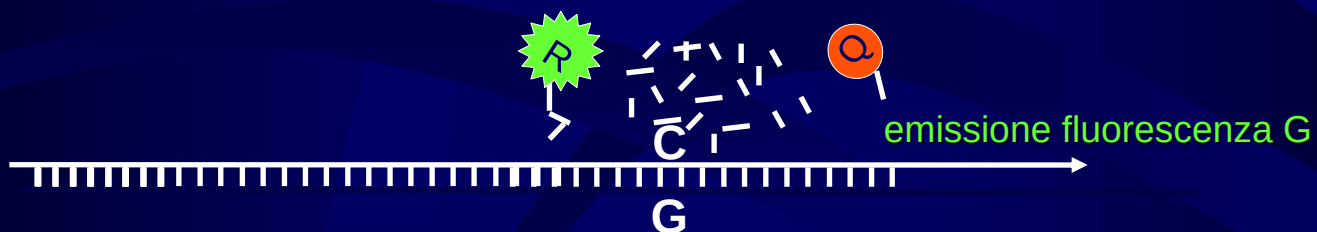
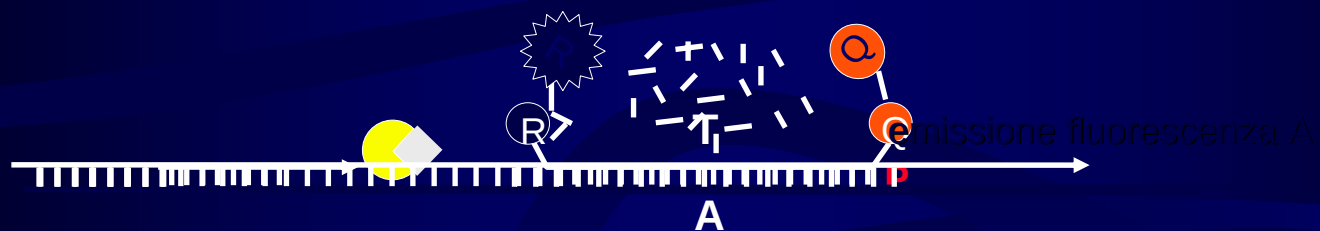
**molecola che emette fluorescenza
se eccitata da una sorgente laser**

**molecola che assorbe la
fluorescenza del
reporter se rimane ad esso vicina**

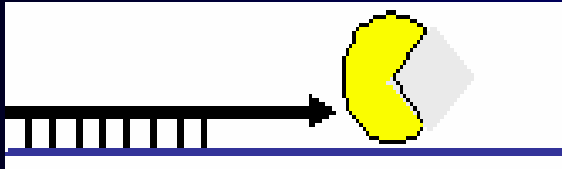




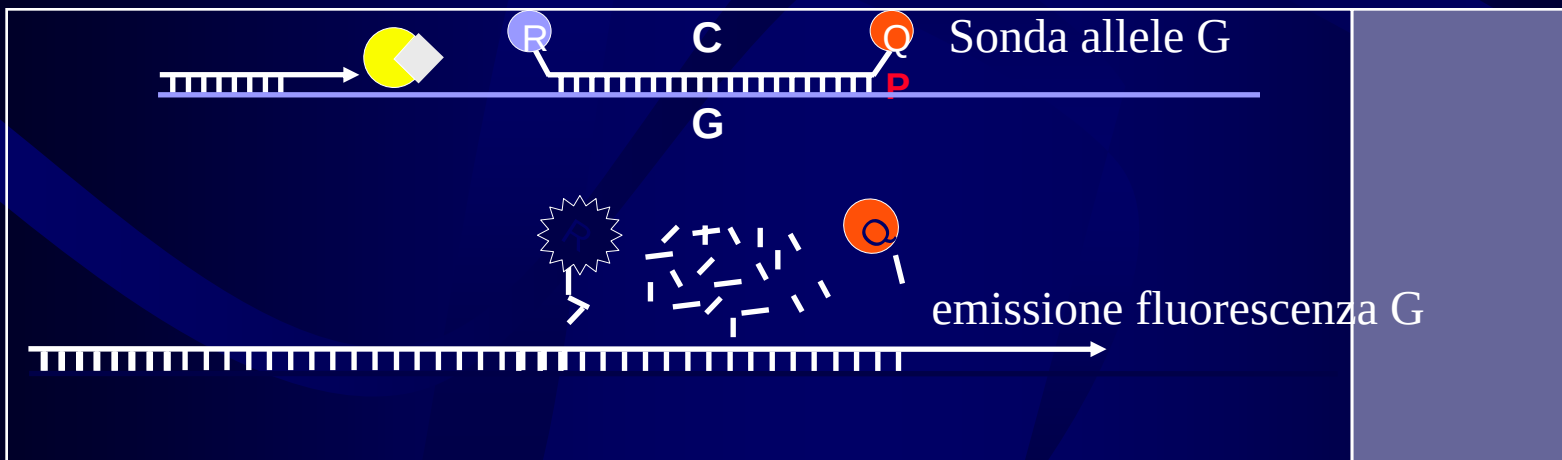
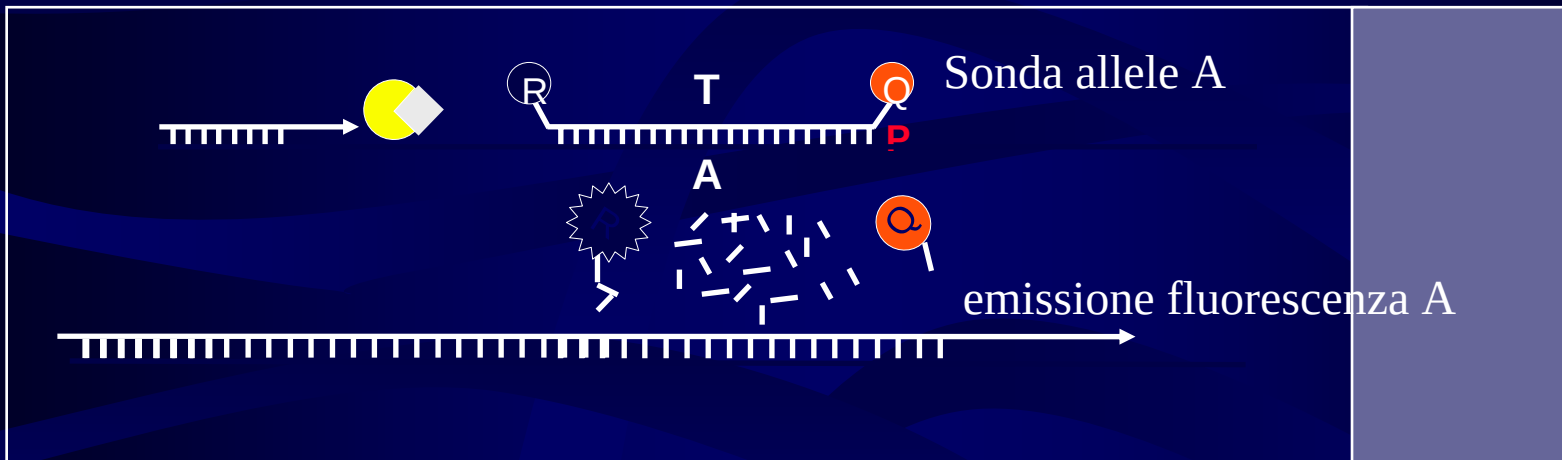
La polimerasi è in grado di rompere il
Legame tra Reporter e Quencher



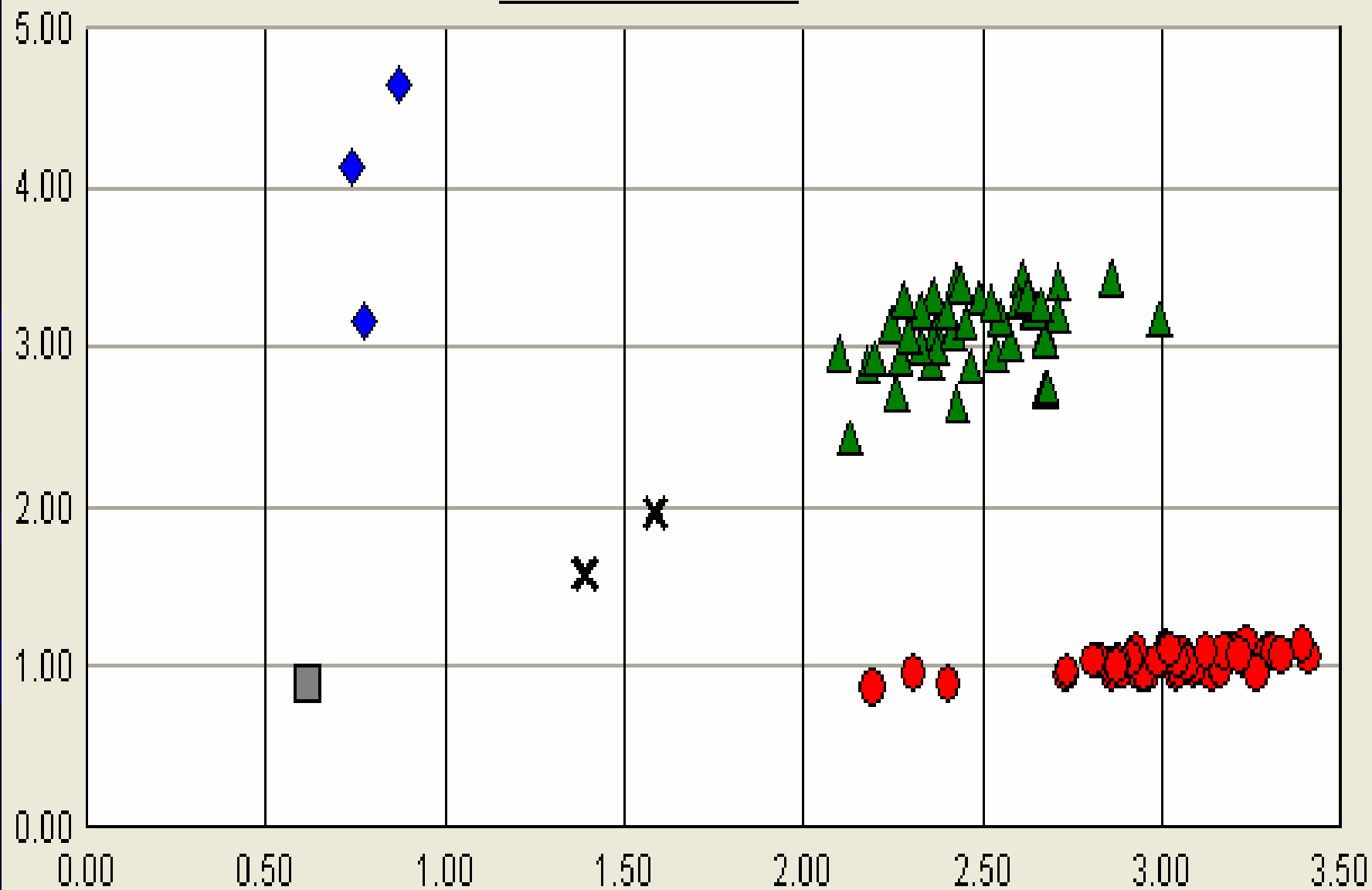
TECNOLOGIA TaqMan



La polimerasi è in grado di rompere il
Legame tra Reporter e Quencher



Allelic Discrimination



POPOLAZIONE CONSIDERATA



700 campioni di origine italiana



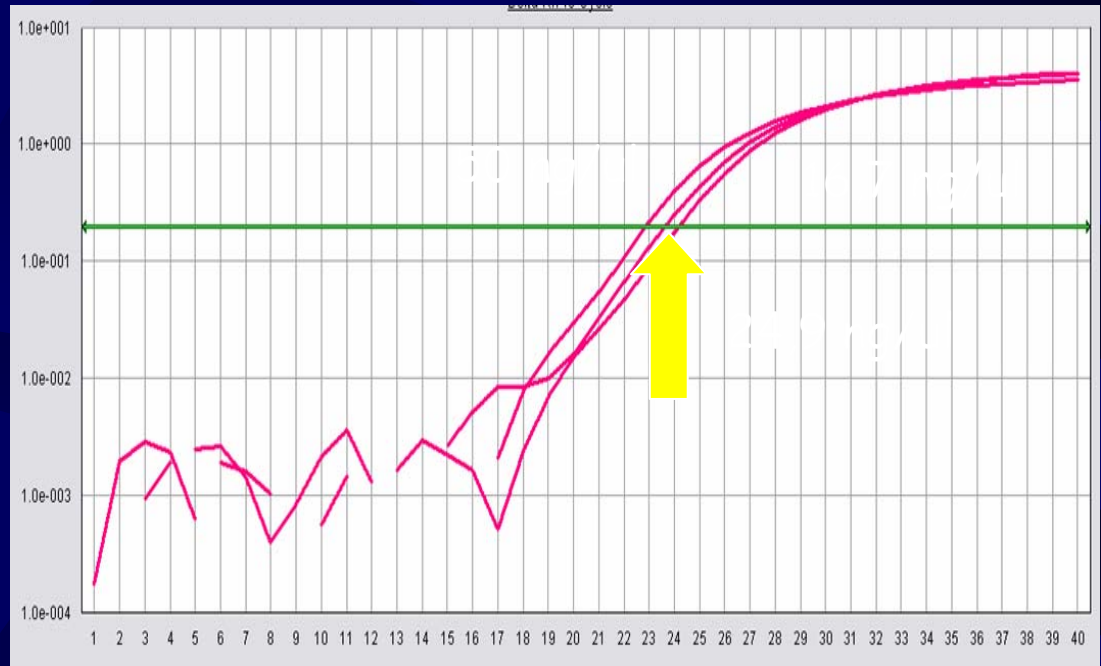
200 campioni di origine asiatica
(Mongoli e Siberiani)



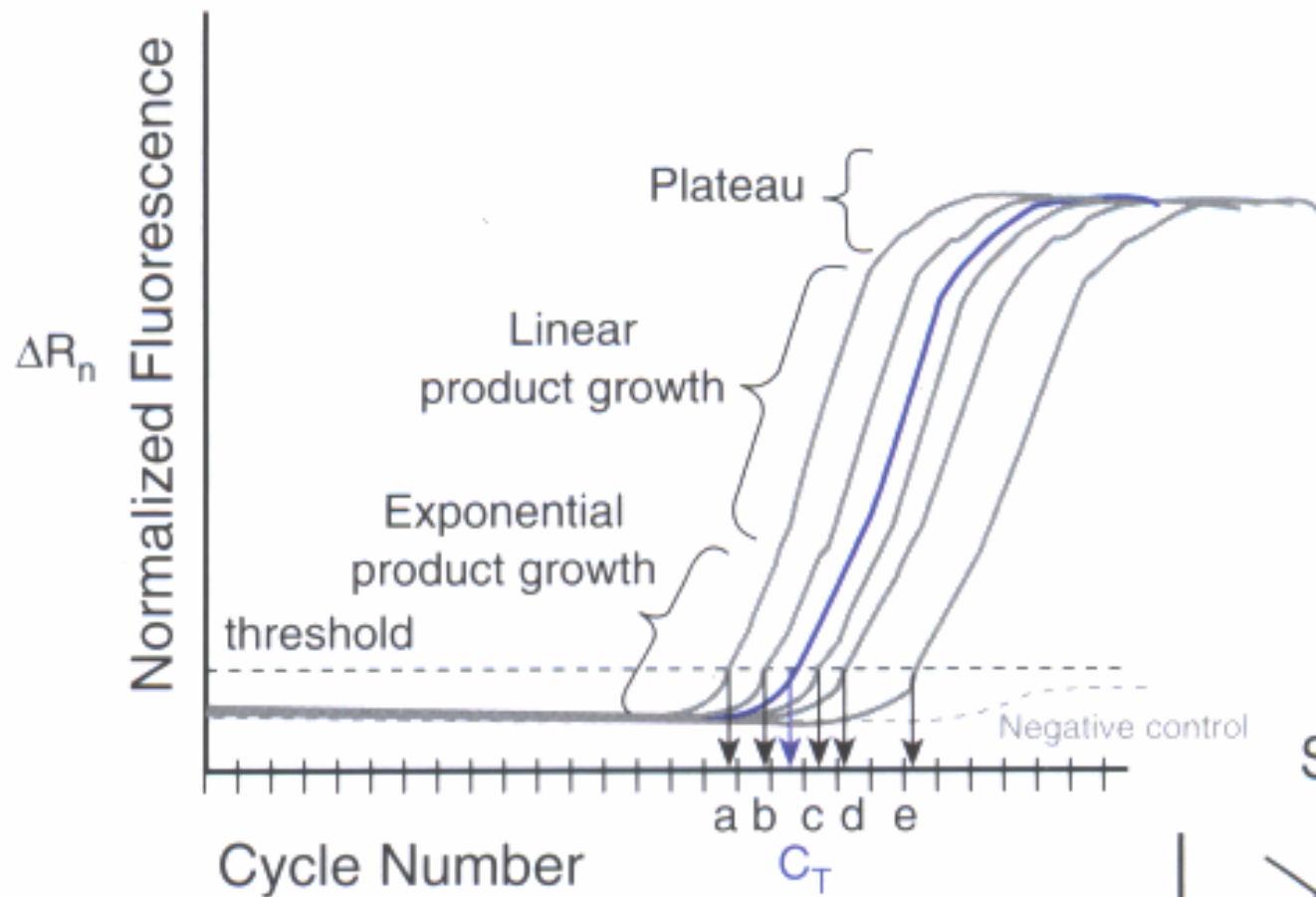
200 campioni di origine africana del Golfo del Benin

QUANTIFICAZIONE E NORMALIZZAZIONE DEL CAMPIONE

Quantifiler™ Human DNA Quantification Kit

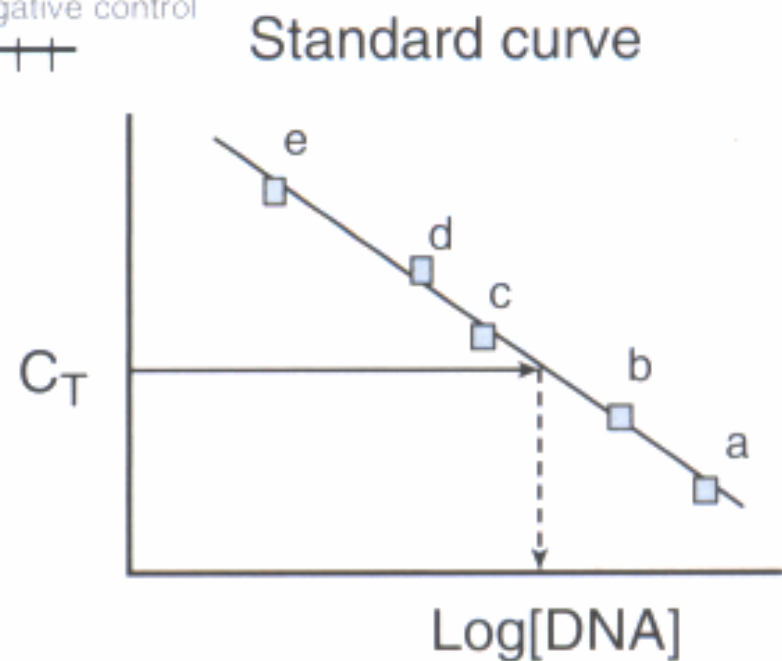


Tutti i campioni normalizzati a 1 ng/ul



$$N_c = N_o (1+E)^c$$

If efficiency is close to 100% ($E = 1$), then the product copy number (N_c) doubles the target copy number (N_o) with each cycle (C).

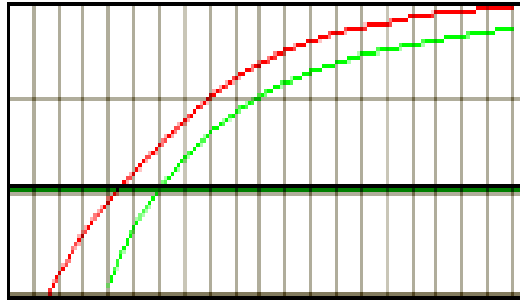


SNPs	chr	pol	Popolazione italiana			Popolazione africana			Popolazione asiatica		
			All. 1	All. 2	tot	All. 1	All. 2	tot	All. 1	All. 2	tot
rs1779866	1	C/G	0,43	0,57	680	0,47	0,53	183	0,55	0,45	193
rs734664	1	C/T	0,74	0,36	688	0,43	0,57	189	0,75	0,25	182
rs734295	2	C/T	0,60	0,40	650	0,84	0,16	200	0,66	0,34	194
rs2278741	2	C/G	0,73	0,27	680	0,37	0,63	189	0,40	0,60	192
rs1922807	2	A/G	0,46	0,54	690	0,63	0,37	189	0,62	0,38	180
rs1482650	3	A/T	0,67	0,34	684	0,91	0,09	197	0,85	0,15	175
rs420426	3	C/T	0,55	0,45	690	0,93	0,07	192	0,60	0,40	182
rs2311046	3	A/T	0,62	0,38	680	0,16	0,84	185	0,53	0,47	186
rs1453461	4	A/T	0,89	0,11	680	0,46	0,54	182	0,90	0,10	182
rs2962594	5	A/G	0,38	0,62	689	0,56	0,44	191	0,55	0,45	192
rs905213	5	C/T	0,62	0,38	690	0,65	0,35	189	0,59	0,41	191
rs1075665	6	C/T	0,27	0,73	697	0,41	0,58	198	0,38	0,62	183
rs11242909	6	C/T	0,33	0,67	680	0,38	0,62	182	0,39	0,61	189
rs3130315	6	A/G	0,38	0,62	690	0,63	0,37	180	0,46	0,54	190
rs7740233	6	C/T	0,43	0,57	700	0,45	0,55	187	0,59	0,44	183
rs675236	7	A/T	0,75	0,25	680	0,90	0,10	196	0,78	0,22	184
rs10866988	8	C/G	0,47	0,53	678	0,49	0,51	199	0,60	0,40	168
rs1542931	8	C/G	0,70	0,30	680	0,72	0,28	185	0,35	0,65	186
rs585070	10	C/T	0,50	0,50	696	0,19	0,81	196	0,39	0,61	197
rs174473	11	C/T	0,22	0,78	670	0,42	0,58	186	0,31	0,69	188
rs1506981	11	A/G	0,55	0,45	674	0,67	0,33	173	0,66	0,34	188
rs1533800	11	A/C	0,22	0,78	680	0,58	0,42	180	0,41	0,59	180
rs1981752	12	C/T	0,33	0,67	667	0,56	0,44	151	0,49	0,51	187
rs478347	12	G/T	0,51	0,49	694	0,46	0,54	175	0,42	0,58	185
rs9562080	13	C/G	0,50	0,50	670	0,56	0,44	174	0,47	0,53	198
rs911621	14	C/T	0,51	0,49	660	0,57	0,43	184	0,70	0,30	186
rs999842	15	C/T	0,49	0,51	657	0,35	0,65	179	0,60	0,40	198
rs8033863	15	C/G	0,37	0,63	664	0,36	0,64	178	0,40	0,60	188
rs996528	16	C/T	0,28	0,72	692	0,66	0,34	179	0,45	0,55	179
rs154659	16	C/T	0,16	0,84	659	0,51	0,49	188	0,34	0,66	165
rs2317225	17	A/G	0,63	0,37	680	0,55	0,45	184	0,61	0,39	175
rs873289	19	T/C	0,52	0,48	682	0,59	0,41	194	0,63	0,37	196
rs11881170	19	A/C	0,61	0,39	694	0,59	0,41	186	0,65	0,35	180
rs1000322	20	C/T	0,44	0,56	678	0,30	0,70	180	0,46	0,35	190
rs380011	21	C/T	0,39	0,61	664	0,52	0,48	195	0,45	0,35	185
rs1003473	21	C/G	0,73	0,27	672	0,77	0,23	181	0,59	0,35	178
rs267628	X	A/G	0,51	0,49	680	0,03	0,97	187	0,21	0,35	197

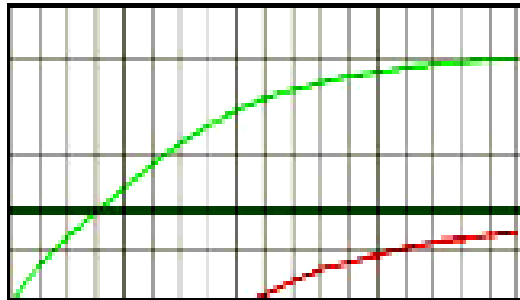
CONFRONTO CON DATI HapMap

SNPs	Popolazione italiana		Popolazione africana		Popolazione asiatica	
	All, 1	All, 2	All, 1	All, 2	All, 1	All, 2
rs905213	0,62(0,39)	0,38(0,61)	0,65(0,65)	0,35(0,35)	0,59(0,64)	0,41(0,36)
rs1542931	0,70(0,76)	0,30(0,24)	0,72(0,53)	0,28(0,47)	0,35(0,23)	0,65(0,67)
rs174473	0,22(0,30)	0,78(0,70)	0,42(0,35)	0,58(0,65)	0,31(0,42)	0,69(0,58)
rs1533800	0,22(0,39)	0,78(0,61)	0,58(0,55)	0,42(0,45)	0,41(0,42)	0,59(0,58)
rs9562080	0,50(0,39)	0,50(0,61)	0,56(0,55)	0,44(0,45)	0,47(0,61)	0,53(0,39)
rs999842	0,49(0,64)	0,51(0,36)	0,35(0,36)	0,65(0,64)	0,60(0,66)	0,40(0,34)
rs886528	0,38(0,52)	0,62(0,48)	0,60(0,53)	0,40(0,47)	0,45(0,43)	0,55(0,47)
rs154659	0,16(0,29)	0,84(0,71)	0,51(0,54)	0,49(0,46)	0,34(0,42)	0,66(0,58)
rs2317225	0,63(0,62)	0,37(0,38)	0,55(0,48)	0,45(0,52)	0,61(0,52)	0,39(0,48)
rs873289	0,52(0,48)	0,48(0,52)	0,59(0,52)	0,41(0,48)	0,63(0,64)	0,37(0,36)
rs1000322	0,44(0,57)	0,56(0,43)	0,30(0,25)	0,70(0,75)	0,46(0,25)	0,54(0,75)

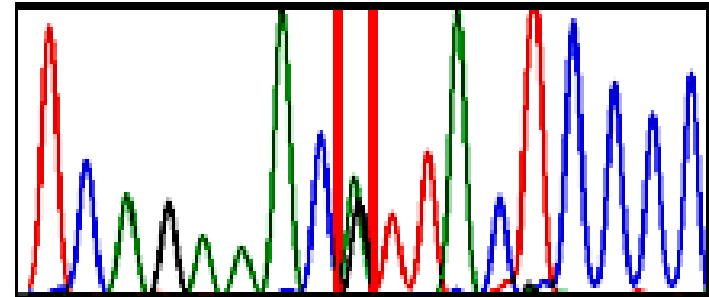
CONTROLLI DI QUALITA' INTERNI E POST REAZIONE



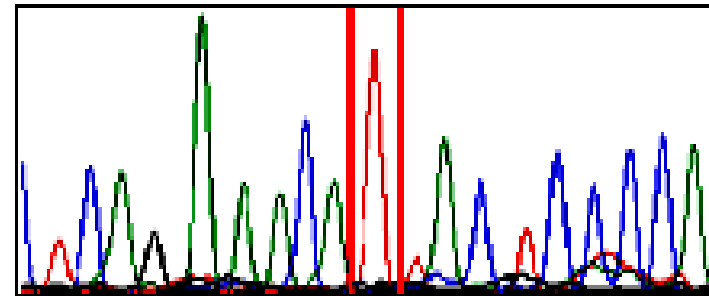
(A) Eterozigote



(B) Omozigote



Eterozigote

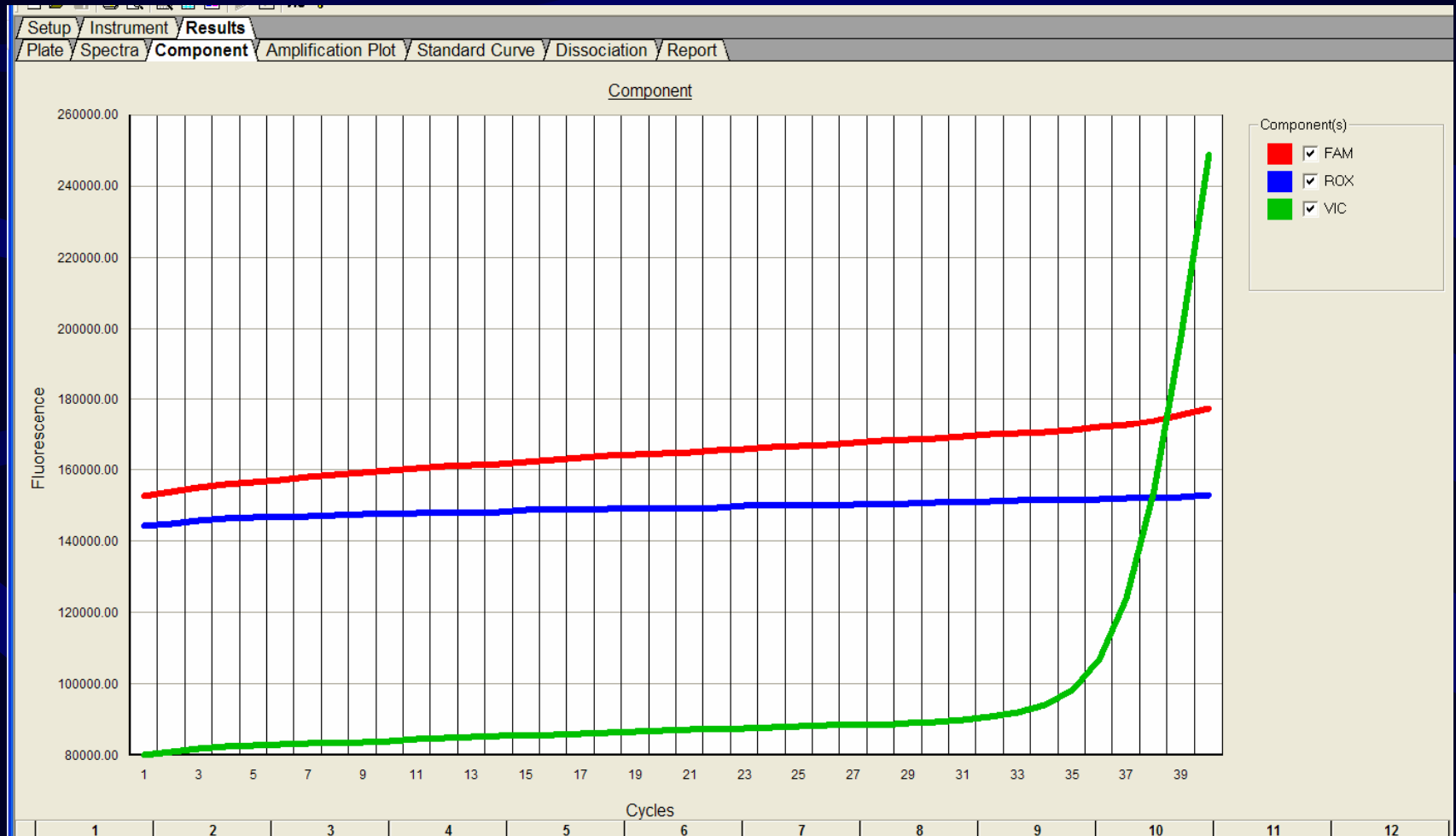


Omozigote

• Controllo deviazione dall Equilibrio di
Hardy –Weinberg .

APPLICABILITA' ALLE INDAGINI FORENSI

DNA degradato a concentrazione di 0,017 ng/ul





Macaca mulatta



NO
AMPLIFICAZIONE



Macaca nigra



rs1922807



Macaca fascicularis

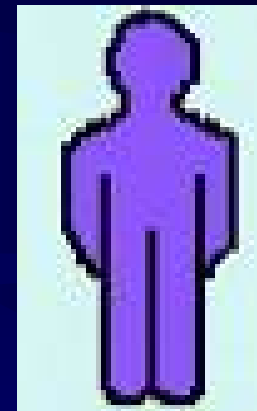
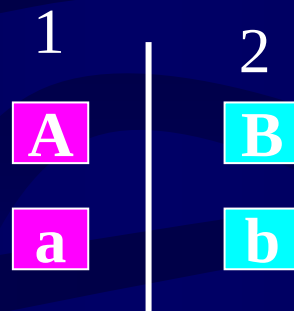
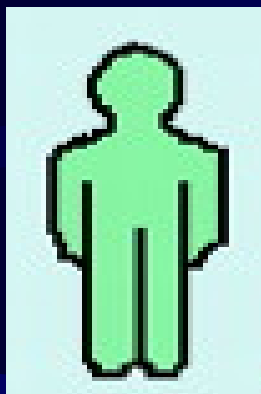


NO
AMPLIFICAZIONE



ANALISI STATISTICA

RANDOM MATCH PROBABILITY



$$\text{SNP 1 : } a^2 + 2Aa + A^2$$

$$\text{SNP 2 : } b^2 + 2Bb + B^2$$

SNP 1

$$S1 = a^2 \times a^2$$

$$S2 = 2Aa \times 2Aa$$

$$S3 = A^2 \times A^2$$

$$\text{RMP1} = S1 + S2 + S3$$

SNP 2

$$S1 = b^2 \times b^2$$

$$S2 = 2Bb \times 2Bb$$

$$S3 = B^2 \times B^2$$

$$\text{RMP2} = S1 + S2 + S3$$

$$\text{Random Match Probability} = \text{RMP1} \times \text{RMP2} \times \text{RPM}_n$$

ANALISI STATISTICA

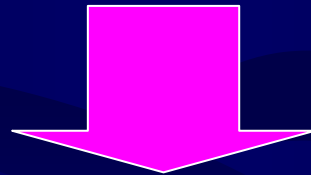
Random Probability of Matching:

- 10^{-15} nella popolazione italiana
- 10^{-14} nella popolazione di origine africana
- 10^{-15} nella popolazione di origine asiatica

Power of Discrimination: 99,99%

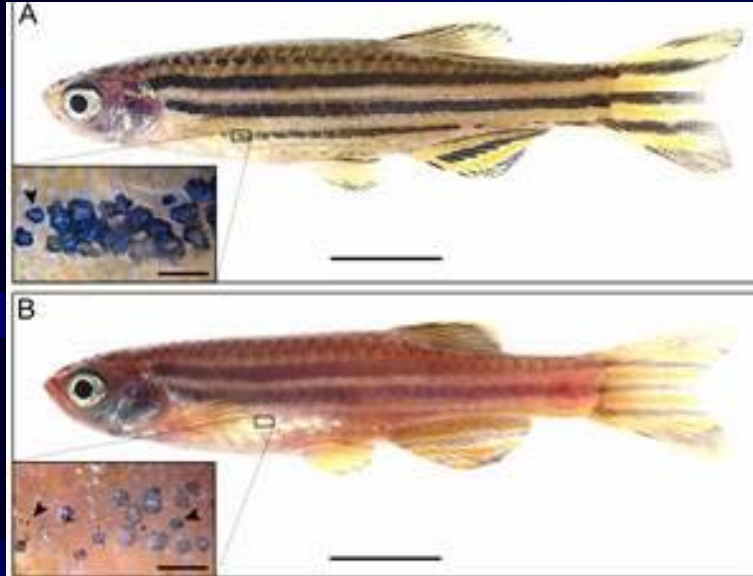
ANCESTRY INFORMATIVE MARKER (AIMs)

Polimorfismo che mostra frequenze
sostanzialmente diverse tra le varie popolazioni



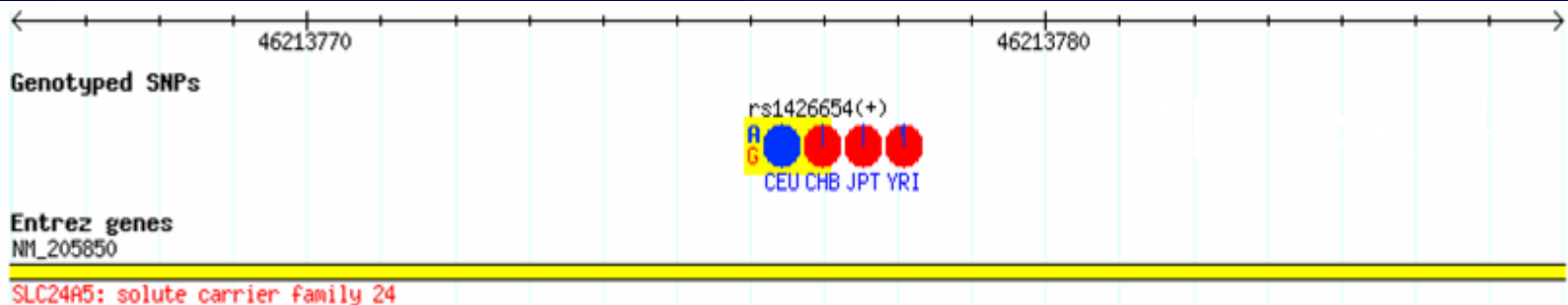
Possono essere utili per studiare l'origine biologica
ancestrale a livello di popolazione, sottogruppi ed
individui

SLC24A5



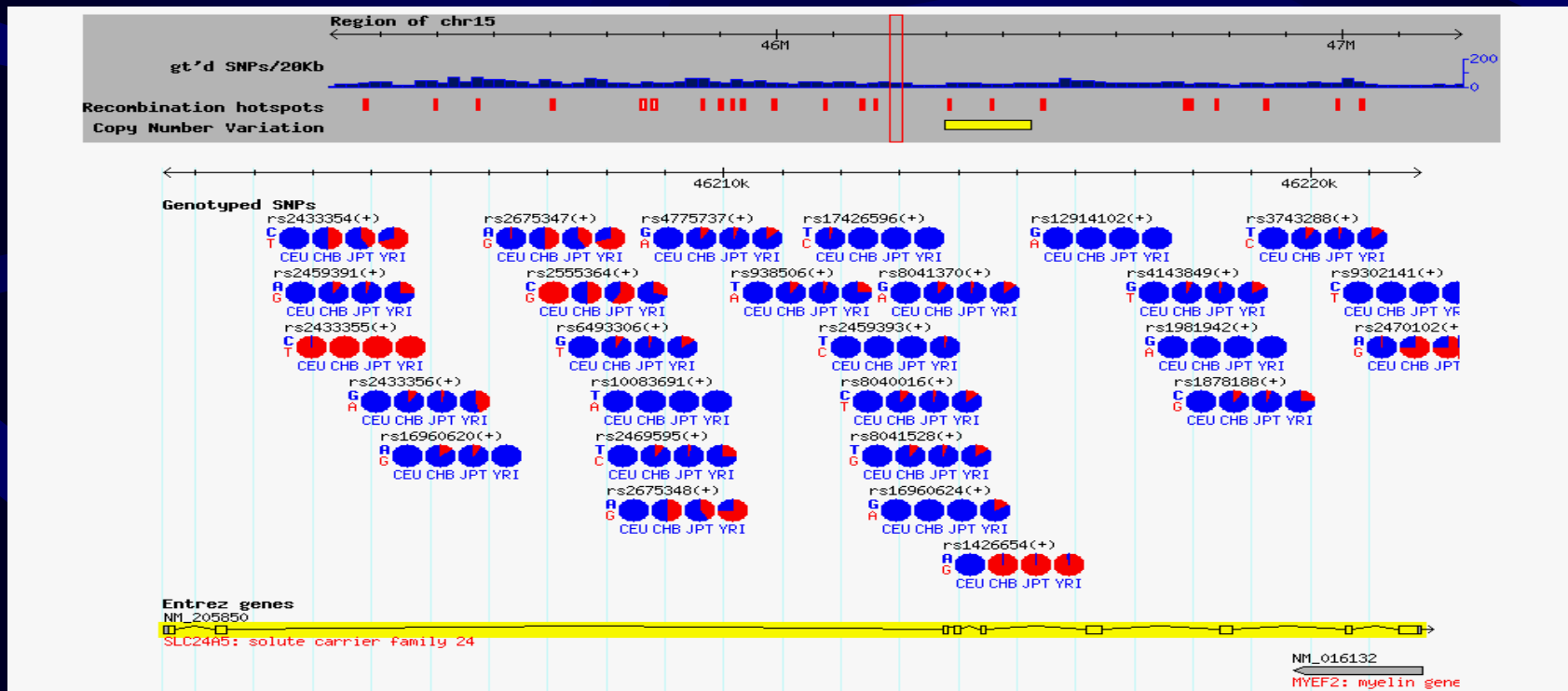
Proteina a localizzazione intracellulare.
Appartenente alla famiglia dei trasportatori di membrana (sodium/potassium/calcium exchanger)

rs1426654



SELEZIONE DI AIMs NEL GENE SLC24A5

rs2555364 (C/G), rs1426654 (A/G) e rs169660620 (A/G)



FREQUENZE ALLELICHE DEGLI AIMs

SNPs	Italiani			Africani			Asiatici		
	All.1	All.2		All.1	All.2		All.1	All.2	
rs2555364	0,002	0,998	368	0,68	0,32	344	0,34	0,66	230
rs1426654	1	0	368	0,04	0,96	344	0,36	0,64	230
rs16960620	1	0	368	1	0	344	0,9	0,1	230

ANALISI APLOTIPICA

Aplotipo Italiani Africani Asiatici

111 0,01 0,01 0,026

121 0 0,66 0,222

112 0 0 0,004

211 0,99 0,03 0,331

122 0 0 0,088

221 0 0,30 0,320

222 0 0 0,009

1,00 1,00 1,00

Aplotipo Italiani Africani Asiatici

111 0,20 0,20 0,60 1,00

121 0 0,75 0,25 1,00

112 0 0 1 1,00

211 0,74 0,02 0,24 1,00

122 0 0 1 1,00

221 0 0,48 0,52 1,00

222 0 0 1 1,00

rs2555364 (C/G), rs1426654 (A/G) e rs169660620 (A/G)

GENOTIPI COMBINATI

	Italiani	Africani	Asiatici	
$O_2/O_1/O_1$	0,91	0	0,09	2
$O_1/H/O_1$	0	0,23	0,77	
$H/O_1/O_1$	0,16	0,31	0,53	
$H/H/O_1$	0	0,08	0,92	
$O_1/H/H$	0	0	1	
$O_2/H/O_2$	0	0	1	1
$H/H/H$	0	0	1	
$H/O_2/O_1$	0	0,74	0,26	
$O_1/O_2/O_1$	0	0,94	0,06	3
$O_2/O_2/O_1$	0	0,34	0,66	
$O_2/H/O_1$	0	0,07	0,93	
$O_2/O_2/H$	0	0	1	
$O_1/O_2/O_2$	0	0	1	
$H/O_2/H$	0	0	1	
$O_1/H/O_2$	0	0	1	
$O_1/O_2/H$	0	0	1	

1) G/G A/G G/G

2) G/G A/A A/A

3) C/C G/G A/A



*L'esistere del mondo è uno stupore infinito, ma
nulla è più stupendo dell'uomo.*

*Egli viaggia verso l'altra sponda del mare spumoso
con l'aiuto del tempestoso vento del sud, avanzando
sotto le ruggenti onde, e alla più potente delle dee,
l'imperitura e infaticabile Terra, lavora senza posa,
facendo girare gli aratri anno dopo anno [...].
Grazie alla sua capacità, si impossessa degli animali
della campagna...e sottomette al gioco il cavallo dal
crino fluente [...]. Niente del futuro lo coglie
sprovvisto di risorse. Solo dalla morte non potrà
fuggire. Di malattie che non avevano rimedio già
respinge l' assalto. **Possedendo oltre misura la
capacità di inventare risorse questa lo volge talvolta
al male e talvolta al bene.***

[Sofocle, Antigone]

