

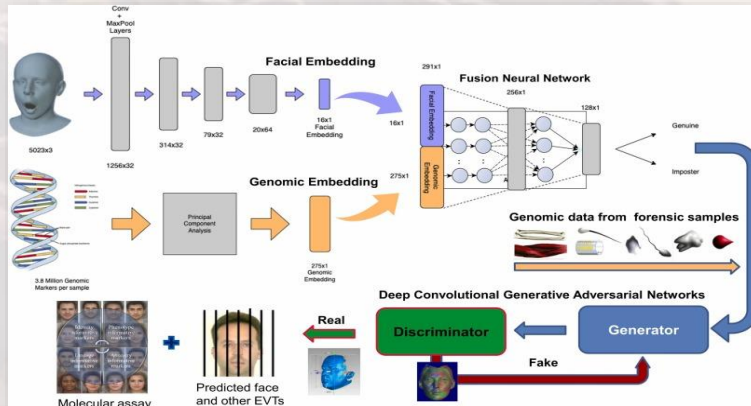
FORENSIC DNA PHENOTYPING: UNA NUOVA FRONTIERA NELLA GENETICA FORENSE

Saracino F.(Roma), Mei M.*(Roma)

* Referente Gruppo di Lavoro Medicina Legale e Anatomia
Patologica Macroscopica

INTRODUZIONE

- Il **Forensic DNA Phenotyping (FDP)**, ovvero la predizione a partire dal DNA dei tratti umani esterni visibili, è diventato un campo in rapida crescita all'interno della genetica forense grazie alle importanti informazioni che sono fornite dalle tracce di DNA: queste ultime possono essere molto utili nelle indagini investigative al fine di identificare autori di reati sconosciuti nei casi in cui la profilazione forense standard con i **polimorfismi Short Tandem Repeats (STR)** non sia informativa a causa della mancanza di sospetti noti o presenti in database nazionali di DNA. La FDP ha iniziato a svilupparsi nei primi anni 2000, quando attraverso vari studi genetici è stato possibile identificare i primi geni e polimorfismi alla base delle caratteristiche visibili esternamente come la pigmentazione di occhi, capelli e pelle. Più recentemente, la ricerca genetica è stata estesa anche ad una varietà di altri tratti umani, tra cui origine biogeografica, morfologia facciale, forma del cranio, etc. La FDP di conseguenza rappresenta un approccio investigativo innovativo nella genetica forense in quanto può fornire informazioni sull'aspetto dell'individuo e ha diverse applicazioni oltre ai casi penali che sono:
 - Identificazione di resti scheletrici.
 - Identificazione di persone scomparse.
 - Identificazione delle vittime di disastri di massa, soprattutto nel caso in cui i parenti noti non siano disponibili:
 - Identificazione fenotipica nel campo del DNA antico .





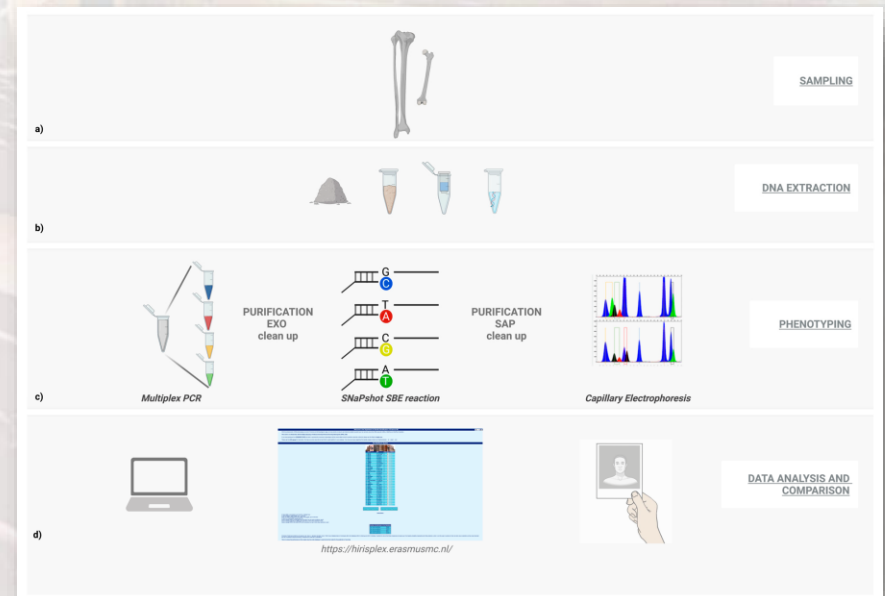
III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



OBIETTIVI

Gli **SHORT TANDEM REPEATS** più polimorfici hanno un alto potere discriminante, tuttavia questo polimorfismo, consente un'identificazione individuale solo attraverso un confronto diretto del profilo STR della scena del crimine con il profilo STR di un sospettato nel caso, o di una persona il cui profilo STR è archiviato in un database nazionale del DNA. L'obiettivo di questo lavoro è volto a far conoscere gli ultimi sviluppi nel campo della genetica forense grazie all'acquisizione di nuove tecnologie altamente avanzate. Oltre agli STR, un'altra classe di marcatori genetici che possono rivelarsi utili, in particolare per la tipizzazione di campioni degradati e per aumentare la quantità di informazioni genetiche raccolte da campioni forensi contestati, **sono i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs)** che derivano da sostituzioni, transizioni, inserzioni o delezioni di basi nucleotidiche che si verificano in singole posizioni nel genoma di qualsiasi organismo. Rispetto ai loci STR, i **siti SNPs hanno un tasso di mutazione inferiore, che è di circa 10^{-8}** e i prodotti di amplificazione dei singoli siti SNP possono essere molto brevi, il che rende gli SNPs adatti all'analisi di campioni forensi altamente degradati. Il principale limite degli SNPs è il basso polimorfismo, che induce ad un potere discriminatorio inferiore. Tuttavia, questo effetto può essere compensato sviluppando **PCR-multiplex di SNPs**, per consentire l'analisi simultanea di più di 100 loci polimorfici. Un'enorme quantità di SNPs può essere analizzata mediante il **sequenziamento massivo in parallelo (MPS)**, tecnologia basata sul sequenziamento di nuova generazione (NGS).





III Convegno Nazionale SITLaB 7 - 8 giugno 2025 - Chieti


SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



MATERIALI E METODI

L'avanzamento del DNA Phenotyping che necessita di un numero crescente di SNPs da analizzare, impone un cambiamento nella tecnologia di genotipizzazione verso metodi con una resa più elevata come il sequenziamento massivo parallelo (MPS). L'MPS consente di testare contemporaneamente un gran numero di polimorfismi differenti, processando più campioni in una singola corsa. Allo stesso tempo, si prevede che il passaggio all'MPS aiuterà nell'analisi di campioni di DNA di bassa qualità, frequentemente esaminati in genetica forense, come il **touch DNA** o frammenti scheletrici antichi. Nel 2019 è stato validato per la prima volta il **sistema Hirisplex-S** utilizzando tecnologia MPS applicata a scopi forensi: in particolare sono state utilizzate due piattaforme MPS molto note quali **Ion Personal Genome Machine™ (PGMTM) System** e **l'Illumina MiSeq® System**, che permettono l'analisi di 41 varianti di DNA in un'unica corsa. Il saggio **Ion Torrent MPS**, basato sulla tecnologia **Ion AmpliSeq**, ha dimostrato l'ottenimento di profili genotipici completi a partire da un minimo di **100 pg di DNA input**, mentre il test **MPS MiSeq** ha prodotto profili completi da **250 pg di DNA di input**. La transizione da **SNaPshot** a **Massive Parallel Sequencing** consente un'analisi sensibile e ad elevata resa di un set di 41 polimorfismi del sistema Hirisplex-S in un'unica reazione, migliorando i risultati di fenotipizzazione del DNA forense (pigmentazione colore occhi e capelli) e offrendo una buona soluzione per l'analisi di materiale complesso come quello degradato.

The Hirisplex System



	Gene	SNP	Allele	No. of Alleles
1	MC1R	rs312262906	A	0 1 2 NA
2	MC1R	rs11547464	A	0 1 2 NA
3	MC1R	rs885479	T	0 1 2 NA
4	MC1R	rs1805008	T	0 1 2 NA
5	MC1R	rs1805005	T	0 1 2 NA
6	MC1R	rs1805006	A	0 1 2 NA
7	MC1R	rs1805007	T	0 1 2 NA
8	TUBB3	rs1805009	C	0 1 2 NA
9	MC1R	rs201326893	A	0 1 2 NA
10	MC1R	rs2228479	A	0 1 2 NA

RISULTATI E CONCLUSIONI

IL sistema Hirisplex-S utilizzato per la predizione fenotipica rappresenta uno **strumento utile e valido da poter affiancare alle indagini forensi classiche**, anche in casi di campioni complessi come DNA degradato e ha dimostrato che la tipizzazione degli SNPs non risente della degradazione del DNA come gli STRs. Questi studi hanno dimostrato inoltre come il FDP forense possa prevedere il genere di una persona con una precisione di quasi il **100%** e le caratteristiche fenotipiche visibili esternamente come colore degli occhi, colore dei capelli e colore della pelle con una precisione di circa il **70%**.

BIBLIOGRAFIA

- Alaeddini, R., Walsh, S.J. and Abbas, A. Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA – a review. *Forensic Science International: Genetics*, 2010; 4: 148–157.
- Branicki W., Brudnik, U. & WojasPelc A. Interactions between HERC2, OCA2, and MC1R may influence human pigmentation phenotype. *Annals of Hum Genet.* 2009; 73(2):160-70
- Budowle B, van Daal A. Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques*. 2008; 44(5):603-610.
- Butler JM, Coble MD and Vallone PM. STRs vs. SNPs: thoughts on the future of forensic DNA testing. *Forensic Sci Med Pathol* 2007; 3: 200–205