

TABLE I

INTRODUCTION	1	1
OBJECTIVES	2	2
DESCRIPTION OF THE STUDY	3	3
DESCRIPTION OF THE STUDY	4	4
DESCRIPTION OF THE STUDY	5	5
DESCRIPTION OF THE STUDY	6	6
DESCRIPTION OF THE STUDY	7	7
DESCRIPTION OF THE STUDY	8	8
DESCRIPTION OF THE STUDY	9	9
DESCRIPTION OF THE STUDY	10	10
DESCRIPTION OF THE STUDY	11	11
DESCRIPTION OF THE STUDY	12	12
DESCRIPTION OF THE STUDY	13	13
DESCRIPTION OF THE STUDY	14	14
DESCRIPTION OF THE STUDY	15	15
DESCRIPTION OF THE STUDY	16	16
DESCRIPTION OF THE STUDY	17	17
DESCRIPTION OF THE STUDY	18	18
DESCRIPTION OF THE STUDY	19	19
DESCRIPTION OF THE STUDY	20	20
DESCRIPTION OF THE STUDY	21	21
DESCRIPTION OF THE STUDY	22	22
DESCRIPTION OF THE STUDY	23	23
DESCRIPTION OF THE STUDY	24	24
DESCRIPTION OF THE STUDY	25	25
DESCRIPTION OF THE STUDY	26	26
DESCRIPTION OF THE STUDY	27	27
DESCRIPTION OF THE STUDY	28	28
DESCRIPTION OF THE STUDY	29	29
DESCRIPTION OF THE STUDY	30	30
DESCRIPTION OF THE STUDY	31	31
DESCRIPTION OF THE STUDY	32	32
DESCRIPTION OF THE STUDY	33	33
DESCRIPTION OF THE STUDY	34	34
DESCRIPTION OF THE STUDY	35	35
DESCRIPTION OF THE STUDY	36	36
DESCRIPTION OF THE STUDY	37	37
DESCRIPTION OF THE STUDY	38	38
DESCRIPTION OF THE STUDY	39	39
DESCRIPTION OF THE STUDY	40	40
DESCRIPTION OF THE STUDY	41	41
DESCRIPTION OF THE STUDY	42	42
DESCRIPTION OF THE STUDY	43	43
DESCRIPTION OF THE STUDY	44	44
DESCRIPTION OF THE STUDY	45	45
DESCRIPTION OF THE STUDY	46	46
DESCRIPTION OF THE STUDY	47	47
DESCRIPTION OF THE STUDY	48	48
DESCRIPTION OF THE STUDY	49	49
DESCRIPTION OF THE STUDY	50	50
DESCRIPTION OF THE STUDY	51	51
DESCRIPTION OF THE STUDY	52	52
DESCRIPTION OF THE STUDY	53	53
DESCRIPTION OF THE STUDY	54	54
DESCRIPTION OF THE STUDY	55	55
DESCRIPTION OF THE STUDY	56	56
DESCRIPTION OF THE STUDY	57	57
DESCRIPTION OF THE STUDY	58	58
DESCRIPTION OF THE STUDY	59	59
DESCRIPTION OF THE STUDY	60	60
DESCRIPTION OF THE STUDY	61	61
DESCRIPTION OF THE STUDY	62	62
DESCRIPTION OF THE STUDY	63	63
DESCRIPTION OF THE STUDY	64	64
DESCRIPTION OF THE STUDY	65	65
DESCRIPTION OF THE STUDY	66	66
DESCRIPTION OF THE STUDY	67	67
DESCRIPTION OF THE STUDY	68	68
DESCRIPTION OF THE STUDY	69	69
DESCRIPTION OF THE STUDY	70	70
DESCRIPTION OF THE STUDY	71	71
DESCRIPTION OF THE STUDY	72	72
DESCRIPTION OF THE STUDY	73	73
DESCRIPTION OF THE STUDY	74	74
DESCRIPTION OF THE STUDY	75	75
DESCRIPTION OF THE STUDY	76	76
DESCRIPTION OF THE STUDY	77	77
DESCRIPTION OF THE STUDY	78	78
DESCRIPTION OF THE STUDY	79	79
DESCRIPTION OF THE STUDY	80	80
DESCRIPTION OF THE STUDY	81	81
DESCRIPTION OF THE STUDY	82	82
DESCRIPTION OF THE STUDY	83	83
DESCRIPTION OF THE STUDY	84	84
DESCRIPTION OF THE STUDY	85	85
DESCRIPTION OF THE STUDY	86	86
DESCRIPTION OF THE STUDY	87	87
DESCRIPTION OF THE STUDY	88	88
DESCRIPTION OF THE STUDY	89	89
DESCRIPTION OF THE STUDY	90	90
DESCRIPTION OF THE STUDY	91	91
DESCRIPTION OF THE STUDY	92	92
DESCRIPTION OF THE STUDY	93	93
DESCRIPTION OF THE STUDY	94	94
DESCRIPTION OF THE STUDY	95	95
DESCRIPTION OF THE STUDY	96	96
DESCRIPTION OF THE STUDY	97	97
DESCRIPTION OF THE STUDY	98	98
DESCRIPTION OF THE STUDY	99	99
DESCRIPTION OF THE STUDY	100	100

INCARICO

In data 6 luglio 2004, alle ore 20.00, codesto Ill.mo Pubblico Ministero, in riferimento al procedimento n° 1277/03 RGNR, alla presenza dell'Ispettore Capo Michelangelo Castelli, dell'Assistente Vincenzo Mele e dell'Agente Arena del Gides, tuuti appartenenti al Ministero dell'Interno, mi affidava incarico di consulenza tecnica ex art 359 c.p.p., 116 e 117 D.Lv. 271/89, formulando il seguente quesito:

“ Premesso che nell'ambito delle indagini relative ai fatti di cui al procedimento 1277/03 RGNR, a seguito delle indagini di Polizia Giudiziaria conseguenti al delitto di San Casciano Val di Pesa del settembre 1985 fu reperato, sul luogo dell'omicidio, un fazzoletto con macchie di sangue, già oggetto all'epoca di consulenza ematologica del Prof. CAGLIESI CINGOLANI, acquisita agli atti, che indicò la presenza sul reperto di sangue di GRUPPO "B", che a seguito dei progressi della scienza appare oggi necessario verificare preliminarmente se sia possibile rilevare il DNA dalle tracce di sangue di cui al reperto sempre che si tratti di indagine ripetibile;

Visto l'art, 359 c.p.p.:

affida al C.T. l'incarico di provvedere agli accertamenti di cui sopra.”

Per lo svolgimento dell'incarico la S.V. Ill.ma concedeva il termine di giorni 20. Successivamente chiedevo due proroghe di giorni 30 e di giorni 40 per il completamento delle operazioni tecniche, che venivano concesse.

Dichiaravo che le operazioni peritali sarebbero iniziate immediatamente con l'spezione del reperto, presso l'Azienda Ospedaliera “A. Meyer”, Unità Operativa di Genetica Medica (Firenze).

Riferisco su quanto emerso dagli accertamenti tecnici di laboratorio.

ESAME DEL REPERTO

Il reperto è costituito da una busta di carta di colore bianco, delle dimensioni di cm 11 x 17, chiusa da spille di metallo lungo il bordo sinistro e nella parte centrale, con il lembo destro piegato (vedi foto 1 e 2). Sulla busta è apposto in alto a destra il numero "64" con colore rosso e nella parte centrale sono le seguenti scritte, vergate con penna di colore blu "CONTIENE REPERTO OGGETTO DELLA PERIZIA DI CUI AL VERBALE 11-10-85". La busta risulta spillata a tre fogli di carta, recanti il conferimento dell'incarico al C.T.U. Prof. Cagliesi (vedi allegati).

La busta è stata aperta lungo il bordo laterale destro, mediante la rimozione delle spille metalliche (vedi foto 3) e l'interno è stato ispezionato in condizioni di sicurezza (vedi foto 4). Durante queste operazioni è stato osservato la comparsa di una piccola quantità di polvere rossastra, proveniente dall'interno della busta, che è stata repertata. All'interno si rinviene un pezzo di carta, verosimilmente un fazzolettino, completamente schiacciato, di forma irregolare, del diametro di circa 8 cm, quasi totalmente imbrattato di sostanza di colore brunastro. Dal fazzolettino risulta essere stato asportato un piccolo frammento di forma pressoché quadrata (vedi foto 5 e 6).

Dal reperto, mediante forbici precedentemente sterilizzate, è stato asportato un piccolo frammento di forma pressoché quadrato, di circa 1 cm di lato, che sarà utilizzato per le analisi (vedi foto 7).

Al materiale in esame sarà assegnato il codice identificativo 78_A.

Il reperto, dopo queste operazioni preliminari, è stato immediatamente riposto nella busta di carta originaria ed è stato sigillato in busta di sicurezza (n° sigillo 0021490). Esso risulta al momento custodito a cura di questo consulente nei laboratori dell'Unità operativa di genetica medica dell'Azienda Ospedaliera "A.Meyer", in frigorifero a -20°C.

DIAGNOSI GENERICA DI SOSTANZA EMATICA

Una piccola porzione del reperto è stata esaminata per verificare se fosse ancora possibile rilevare la presenza di sostanza ematica, mediante il saggio descritto in materiali e metodi.

Il test ha confermato la presenza di sostanza ematica sul reperto.

DIAGNOSI DI SPECIE SUL REPERTO

La diagnosi di specie sul campionamento è stata effettuata in maniera indiretta attraverso lo studio dei polimorfismi del DNA. Le sequenze oligonucleotidiche usate, infatti, sono specifiche del DNA umano, per cui una reazione positiva nell'amplificazione di queste sequenze, deve essere valutata come conferma della presenza di sostanza di origine umana.

DETERMINAZIONE DEL PROFILO GENETICO DAL MATERIALE BIOLOGICO ESTRATTO DAL REPERTO

Per la descrizione del protocollo analitico utilizzato vedi la sezione "materiali e metodi".

La tabella alla pagina seguente indica il profilo genetico determinato sul campionamento di sostanza ematica. Tale profilo è stato determinato con almeno tre metodiche diverse, costituite da due kit commerciali ed un metodo non commerciale.

Sul medesimo estratto di DNA si è quindi provveduto ad effettuare caratterizzazione genetica per alcuni polimorfismi del cromosoma Y, utilizzando un kit commerciale.

Tutte le analisi di caratterizzazione genetica sono state effettuate in doppio.

Campione	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	VWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	Amelogenina
78_A	8, 14	32.2, 33	8, 8	11, 12	15, 15	8, 9	11, 13	11, 11	18, 20	13, 15	17, 17	8, 10	17, 17	11, 13	20, 23	X-Y

PM (probabilità di condivisione casuale) = 5×10^{-20}

Profilo genetico della macchia di sangue, determinato mediante AmpF/STR® Identifier™ (Applied Biosystems).

Questo profilo è stato anche esaminato mediante AmpF/STR® Profiler Plus™ (Applied Biosystems), genetici a comune con il primo prodotto commerciale. Inoltre i tredici sistemi CODIS sono stati confermati in Ricci et al. (2000), mediante sistema LI-COR.

RW

Campione										
DYS391	10									
DYS389-I	14									
DYS439	11									
DYS389-II	31									
DYS438	9									
DYS437	15									
DYS19	14									
DYS392	11									
DYS393	1									

La tabella riporta la caratterizzazione per i sistemi STR-Y, eseguita mediante il kit commerciale PowerAmp® Yfiler™ Plus. La metodica è stata eseguita in doppio su due aliquote diverse di estratto.

Procura della Repubblica di Firenze Proc. Penale N° 1277/03 RGNR Consulenza tecnica in materia di

OSSERVAZIONI SUI RISULTATI OTTENUTI

Il risultato dell'analisi fornisce un profilo genetico che caratterizza il DNA del donatore. L'assetto del locus dell'amelogenina permette di stabilire il sesso fenotipico del soggetto donatore. L'assetto X-X corrisponde al soggetto femminile; l'assetto X-Y al soggetto maschile. E' questa l'unica informazione che l'esame del DNA può oggi darci sull'aspetto fisico di colui che ha lasciato una traccia biologica.

Nel caso in esame il sangue presente sul fazzoletto è quindi di un uomo.

La valutazione della qualità del DNA estratto, eseguita mediante gel elettroforesi, ha evidenziato una parziale degradazione del campione, ma con la presenza di frammenti di DNA in un range di peso molecolare tale da permetterne la caratterizzazione con i metodi oggi disponibili.

La caratterizzazione genetica, effettuata con metodiche standardizzate, ha fornito risultati positivi e riproducibili con metodiche diverse. Sono stati in particolare esaminati quindici loci polimorfici del DNA, localizzati sulla parte del DNA detta autosomale, non legata quindi ai caratteri che contraddistinguono il sesso genetico. Il profilo che ne emerge, consente di fare una prima valutazione riguardo alla sua diffusione. Si è utilizzato un database di individui Caucasic non tra loro correlati (Ricci e al. 2001). Va rivelato, comunque, che è opinione corrente della comunità scientifica che l'esame di un alto numero di polimorfismi non dia differenze significative nei valori finali di frequenza per un dato profilo, nelle diverse popolazioni. I valori ottenuti sono definiti *probabilità di condivisione casuale* (PM) e danno un'idea della rarità del profilo. Più il valore di PM è piccolo, tanto più il profilo è raro e quindi minore è la possibilità che un altro individuo condivida casualmente quello stesso assetto del DNA (Evetts e Weir, 1998).

Il profilo ricavato risulta avere un $PM = 5 \times 10^{-20}$, quindi estremamente raro nella popolazione generale (come del resto risulta da ogni profilo determinato per un così alto numero di marcatori).

Appare opportuno qui ricordare che l'unico limite delle analisi del DNA per la discriminazione di due soggetti, è ancor oggi rappresentato dai gemelli monozigoti.

Gemelli identici hanno identico DNA, per cui tracce o campioni biologici provenienti da questi individui, appariranno assolutamente identici alle analisi di laboratorio.

E' evidente che se un reperto presenta un profilo genetico molto raro "compatibile" con un soggetto, quest'ultimo dovrà ragionevolmente essere considerato il donatore di quella traccia biologica.

Trattandosi di un reperto biologico proveniente da un uomo, è stata anche effettuata la tipizzazione, mediante un kit commerciale, di 11 sistemi polimorfici del DNA specifici per il cromosoma Y. Questo esame aumenta l'informatività che il reperto e fornisce una caratterizzazione specifica di sistemi maschili. Si ha cioè una precisa informazione riguardo alle caratteristiche del cromosoma Y, cromosoma che viene ereditato esclusivamente attraverso la via paterna.

Dagli esami effettuati, di natura assolutamente ripetibile, emerge che il sangue sul fazzolettino è quindi da ritenersi idoneo per la caratterizzazione genetica.

I profili genetici che ne scaturiscono, determinati in condizioni standard, sono stabili e riproducibili e consentiranno quindi comparazioni dirette ed indirette con soggetti sospettati di aver lasciato quelle tracce, o con persone che si ritenga possano essere imparentate con il donatore.

* * * *

CONCLUSIONI

Sulla base delle indagini di laboratorio effettuate sul reperto in sequestro giudiziale ed in base alle valutazioni biostatistiche di cui sopra, posso così rispondere ai quesiti posti dalla S.V. Ill.ma:

“Le tracce di sangue presenti sul fazzolettino conservato in una busta all’interno del Vol. 37 atti del P.M del Proc.to n. 2944/90 a carte 64, unitamente alla perizia del Prof. Cagliosi Cingolani datata 9 novembre 1985, consentono di rilevare la presenza di DNA umano.

Il sangue sul fazzolettino appartiene ad un soggetto maschile, del quale è stato ricavato il profilo genetico per quindici polimorfismi autosomici del DNA e per undici polimorfismi del cromosoma Y.

Tali profili potranno essere utilizzati per confronti diretti con il soggetto ritenuto donatore di quelle tracce o anche per confronti indiretti con soggetti ad esso correlati”.

Firenze, li 23 settembre 2004

Il consulente

Dr. Ugo Ricci



MATERIALI E METODI

Diagnosi generica di sostanza ematica – test alla Benzidina

Per la diagnosi generica di sangue si è utilizzato un test che si basa sulla proprietà che hanno alcune sostanze incolori allo stato ridotto (leucobasi), di assumere un determinato colore, per ossidazione, in presenza di un perossido e di una perossidasi. In particolare è stato utilizzato il metodo di Adler per determinare la presenza di emoglobina (sensibilità del metodo 1:500.000). In parallelo sono stati utilizzati un campione di sangue umano di controllo ed un campione di controllo negativo, ovvero di natura non ematica.

Il test è stato eseguito dopo una cromatografia su strato sottile di un eluato della traccia, in modo da poter escludere falsi positivi dovuti alla presenza di sostanze che reagiscono con la benzidina.

Una campionatura del reperto è stata seminata su carta da filtro e lasciata brevemente asciugare. La migrazione è avvenuta mediante tampone costituito da alcool metilico in soluzione acetica ed acqua, dopo aver segnato i fronti del solvente. Si è quindi trattato la lastrina con reattivo alla benzidina modificata in soluzione acetica, lasciando quindi brevemente asciugare la carta da filtro e verificando l'assenza di colorazioni aspecifiche. Infine la lastra è stata spruzzata con acqua ossigenata al 3%, la quale produce immediatamente un'intensa colorazione azzurra, in presenza di emoglobina.

Diagnosi individuale - esame del DNA

1. Estrazione del DNA

Una piccola porzione del fazzoletto sporco di sangue è stata estratta utilizzando la metodica con kit QIAamp DNA Blood Mini Kit Handbook (QUIAGEN, Germany), utilizzando contemporaneamente un controllo negativo.

Gli estratti ottenuti sono stati successivamente sottoposti a purificazione con metodica Clean-Up DNA Purification System (Promega).

Il dosaggio del DNA è stato effettuato mediante lettura spettrofotometrica a 260 nm e la valutazione della qualità/quantità degli estratti è stata effettuata mediante corsa elettroforetica su gel di agarosio al 1% (vedi foto).

La quantificazione è stata anche effettuata mediante il sistema in Real Time PCR denominato Quantifiler Human kit.

2. Scelta dei polimorfismi

I polimorfismi studiati fanno parte del protocollo in uso dall'FBI per il sistema CODIS e sono accettati dall'intera comunità internazionale anche per la formazione di database del DNA (Chakraborty et al. 1999). La caratteristica più importante di questi sistemi è la loro immutabilità nel tempo in uno stesso individuo. Il profilo genetico così determinato, caratterizza quindi un soggetto in maniera inequivocabile e può essere utilizzato per la sua identificazione anche a distanza di tempo, qualora venissero rinvenute tracce biologiche che si sospettano essere di sua pertinenza.

La tabella alla pagina seguente illustra i marcatori del DNA esaminati:

Locus	Localizzazione cromosomica	GenBank riferimento	Dimensione frammenti	Bibliografia
TPOX	2p23-2pter	M68651	224-256	Huang 1995
D3S1358	3p	-	115-143	Szibor 1998
FGA	4q28	M64982	168-230	Oldroyd 1995
CSF1PO	5q33.3-34	X14720	291-327	Hammond 1994
D5S818	5q23.3-32	G08446	141-173	Jin 1997
D7S820	7q	G08616	198-230	Jin 1997
D8S1179	8	AF250877	127-167	Oldroyd 1995
TH01	11p15-15.5	D00269	171-214	Edwards 1991
VWA	12p12-pter	M25858	126-170	Oldroyd 1995
D13S317	13q22-31	AF250876	241-273	Jin 1993
D16S359	16q22-24	AF249681	215-247	Jin 1993
D18S51	18q21.3	L18333	271-343	Oldroyd 1995
D21S11	21	M84567	209-249	Oldroyd 1995
HUMAMGXA & HUMAMGY	Xp22.1-p22.3 Yp11.2	M86932 M86933	106-112	Sullivan 1993

Oltre a questi sistemi sono stati analizzati anche i marcatori D2S1338 e D19S433, che fanno parte del kit di amplificazione AmpF/STR® Identifiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems).

Breve descrizione dei loci esaminati

Locus TPOX

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 2p23-ter, nel decimo introne del gene umano per la perossidasi tiroidea. Presenta tipicamente 8 alleli denominati dal 6 al 13.

Locus D3S1358

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 3p. Sono noti tipicamente 12 alleli denominati 9 e dall'11 al 20.

Locus FGA

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 4q28, nel terzo introne del gene umano per l'alfa fibrinogeno. Sono noti numerosi alleli di tipo regolare denominati da 15 al 30 quelli regolari ed altri alleli nelle forme microvarianti.

Locus CSF1PO

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 5q33.3-34, nel proto-oncogene CSF-1. Presenta tipicamente 10 alleli denominati dal 6 a 15.

Locus D5S818

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 5q21-q31. Sono noti tipicamente 9 alleli denominati dal 7 al 15.

Locus D7S820

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 7q. Sono noti tipicamente 9 alleli classificati dal 6 al 14.

Locus D8S1179

Tratto polimorfico localizzato sul cromosoma 8. Presenta tipicamente 11 alleli denominati dall'8 al 18.

Locus TH01

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 11p15.5, nel primo introne del gene codificante per la tirosina idrossilasi. Presenta un numero variabile di alleli, tipicamente 7,

denominati dal 5 al 11, compresi alleli irregolari tra i quali uno molto diffuso nelle popolazioni Caucasiche e classificato 9.3.

Locus D13S317

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 13q21-q31. Sono noti tipicamente 9 alleli classificati dal 7 al 15.

Locus vWA

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 12p12-ter, nell'introne 40 del gene per il fattore von Willebrand. Questo polimorfismo presenta tipicamente 12 alleli denominati dal 11 al 22.

Locus D16S359

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 16q22-24. Presenta tipicamente 8 alleli regolari dall'8 al 15.

Locus D18S51

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 18q21.3. Presenta tipicamente 18 alleli regolari dal 9 al 27 ed alcuni alleli irregolari.

Locus D21S11

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 21q11.2-q21. Presenta molte forme alleliche, tipicamente dall'allele 25 all'allele 35, con una grande microvariabilità con numerosi interalleli.

Locus D2S1338

Tratto polimorfico localizzato nel cromosoma 2. Presenta tipicamente 13 alleli regolari dal 15 al 28.

Locus D19S433

Tratto polimorfico localizzato nella posizione 19. Presenta tipicamente 10 alleli regolari dal 9 al 17 ed alcuni alleli irregolari.

Amelogenina

La determinazione del sesso genetico è stata condotta mediante lo studio del locus Amelogenina, presente tanto sul cromosoma X in posizione p22.1-22.3 che sul cromosoma Y in posizione Yp11.2. Il prodotto di amplificazione ottenuto dai due cromosomi sessuali presenta una differenza di lunghezza, dovuta ad una delezione. Il frammento prodotto dal

cromosoma X è infatti più corto di 6 paia di basi rispetto a quello prodotto dal cromosoma Y; ciò consente quindi di determinare l'eventuale presenza di questi frammenti con una sola reazione di PCR.

Per aumentare il potere identificativo, trattandosi di un individuo maschile, sono stati inoltre esaminati alcuni polimorfismi del cromosoma Y, utilizzando il kit commerciale PowerPlex® Y System (Promega). La tabella seguente riassume i loci analizzati:

Locus
DYS19
DYS389I
DYS389II
DYS390
DYS391
DYS392
DYS385a,b
DYS393
DYS437
DYS438
DYS439

3. Amplificazione genica

Gli estartti sono stati infine tipizzati come descritto in Ricci et al. (2000) e Ricci et al. (2003).

Brevemente, aliquote di circa 1 µl degli estratti, sono state sottoposte ad amplificazione mediante tecnica PCR (Saiki 1989), utilizzando DNA Polimerasi e sequenze oligonucleotidiche specifiche per i primer, suggerite dai vari autori. Uno dei due inneschi della reazione è stato marcato con un fluorocromo sensibile all'infrarosso, IRDye™800.

Insieme ad ogni campione è stato amplificato un campione positivo, costituito da DNA tipizzato ed un campione negativo (bianco), contenente tutti i reagenti ad eccezione di DNA.

4. Analisi con sistema automatico UV e kit commerciali

L'analisi di tutti i reperti in esame è stata effettuata anche con strumentazione automatica ABI Prism 310 (Applied Biosystems), utilizzando i kit commerciali AmpFISTR® Profiler Plus™ (Applied Biosystems) seguendo il protocollo descritto nell'User Manual. È stato successivamente introdotto ed utilizzato il kit commerciale AmpFISTR® Identifier™ (Applied Biosystems), anch'esso secondo le indicazioni contenute nell'User Manual, capace di amplificare un numero maggiore di sistemi, oltre a quello dell'amelogenina.

5. Interpretazione dei risultati

I risultati sono stati interpretati inizialmente per confronto con le miscele d'alleli noti, in modo da individuare l'esatto aplotipo individuale. Ad ogni allele sono stati assegnati dei numeri che corrispondono al numero delle sequenze ripetute per ogni allele, in accordo alle direttive dettate dall'ISFG (International Society of Forensic Genetics), organismo europeo che detta le linee guida per le indagini di genetica forense (1992, 1994 e 1997).

BIBLIOGRAFIA

- Chakraborty R, Stivers DN, Su B, Zhong Y, Budowle B, The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: implication for development of new DNA typing systems. Electrophoresis 1999;20:1682-1696.
- DNA recommendations - 1992 report concerning recommendations of the DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics relating to the use of PCR-based polymorphisms. Int J Leg Med 1992; 105: 63-64.
- DNA recommendations - 1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) system. Int J Leg Med 1994; 107:159-160.

Procura della Repubblica di Firenze Proc. Penale N° 1277/03 RGNR
Consulenza tecnica in materia di genetica forense

- DNA recommendations-further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Forensic Science Int* 1997; 87:179-184
- DNA recommendations: further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. Bar W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Lincoln P, Mayr W, Olaisen B. *Int J Legal Med* 1997;110:175-176.
- Evett IW, Weir BS (1998), *Interpreting DNA evidence*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Lytle LT, Hedgecock DG, Chemiluminescence in the visualization of forensic bloodstains. *J Forensic Sci* 1978;23:550
- Ricci U, Sani I, Guarducci S, Biondi C, Pelagatti S, Lazzerini V, Brusaferrri A, Lapini M, Andreucci E, Giunti L, Giovannucci Uzielli ML (2000), Infrared fluorescent automated detection of thirteen short tandem repeat polymorphisms and one gender-determining system of the CODIS core system. *Electrophoresis* 21;3564-3570.
- Ricci U, Klintschar M, Sani I, Giovannucci Uzielli ML, DNA STR typing for forensic use. Two methods and two instruments in comparison: IR-based sequencer and UV-based sequencer. Volume degli abstracts of 19th International Congress of International Society for Forensic Genetics Münster, Germany 28 Aug – 1 Sept 2001; 128.
- Ricci U, Sani I, Giovannucci Uzielli ML (2001), Analysis of thirteen tetrameric short tandem repeat loci in a population of Tuscany (Central Italy) performed by means of an automated infrared sequencer. *Forensic Sci Int* 125; 83-85.
- Ricci U, Sani I, Klintschar M, Cerri N, De Ferrari F, Giovannucci Uzielli ML, Identification of forensic samples by using an Infrared-based automatic DNA sequencer. *Croat Med J* 2003, 44(3);299-305.
- Saiki RK, Scharf S, et al. (1985) *Science* 230:1350-1354.
- Saiki RK, Walsh PS, Levenson CH, Erlich HA,(1989) *Proc.N.Ac.Sci.*86:6230-6234.

Locus genetici

- Amelogenin: Sullivan, K., et al. (1993) *BioTechniques* 15:636-641
- FGA: Mills, K.A., et al. (1992) *Hum. Mol. Genet.* 1:779
- TH01: Edwards, A., et al. (1991) *Am. J. Hum. Genet.* 49:746-756

Procura della Repubblica di Firenze Proc. Penale N° 1277/03 RGNR
Consulenza tecnica in materia di genetica forense

- TH01: Polymeropoulos, M.H., et al. (1991) Nucleic Acids Res. 19:3753
- TPOX: Anker, R., et al. (1992) Hum. Mol. Genet. 1:137
- vWA: Kimpton, C.P., et al. (1992) Hum. Mol. Genet. 1:287
- D3S1358: Li, H., et al. (1993) Hum. Mol. Genet. 2:1327
- D13S317: Jin L., Underhill P.A., et al. (1997) J. Forensic Sci. 42, 496-499.
- D5S818: Jin L., Underhill P.A., et al. (1997) J. Forensic Sci. 42, 496-499.
- D7S820: Jin L., Underhill P.A., et al. (1997) J. Forensic Sci. 42, 496-499.
- CSF1PO: Hammond H.A., Li J et al., (1994) Am. J. Hum. Genet. 55, 175-189.
- D8S1179: Oldroyd N.J., Urquhart A.J. et al. (1995) Electrophoresis 16, 334-337.
- D18S51: Staub, R.E., et al. (1993) Genomics 15:48-56.
- D21S11: Sharma, V. and Litt, M. (1992) Hum. Mol. Genet. 1:67.