

Dott. Carlo Previderè  
Dipartimento di Medicina Legale e  
Sanità Pubblica, Via Forlanini 12  
27100 - PAVIA  
Tel. 0382/507810; Fax 0382/528025

**PROCURA DELLA REPUBBLICA PRESSO IL  
TRIBUNALE DI PERUGIA**

**RELAZIONE DI CONSULENZA TECNICA GENETICO-FORENSE  
PROC. PEN. 17869/01 R.G. Mod. 44**

Il giorno 16 giugno 2003, il Chiar.mo Dott. Giuliano Mignini, P.M. nella Procura della Repubblica presso il Tribunale di Perugia, in relazione al procedimento in epigrafe, mi pose il seguente quesito:

*“Accerti il consulente tecnico se sia possibile estrapolare il profilo genetico (comprensivo del gruppo sanguigno) del cadavere esumato presso lo stesso Dipartimento, e riconosciuto come quello del Prof. Francesco Narducci, utilizzando parte dei prelievi biologici conservati presso il Dipartimento, nonché quant’altro necessario a fini di giustizia”.*

Per l'espletamento dell'incarico peritale mi venne concesso di rispondere entro cinquanta giorni, termine successivamente prorogato.

## DESCRIZIONE DEI REPERTI

Il giorno 17 giugno 2003, il Prof. Giovanni Pierucci, direttore del Dipartimento di Medicina Legale dell'Università di Pavia, nonché Consulente del P.M. nel medesimo procedimento penale, mi consegnò cinque contenitori al cui interno vi erano campioni biologici prelevati nel corso dell'autopsia eseguita sui resti identificati per quelli del Prof. Francesco Narducci. Tutti i contenitori erano stati conservati in congelatore a  $-20^{\circ}\text{C}$  e recavano, apposta a pennarello, la sigla identificativa A 13294 unitamente all'indicazione del tessuto biologico prelevato.

Sono, quindi, stati selezionati per l'estrazione del DNA i seguenti tessuti biologici:

- tessuto cerebrale: sono state prelevate due porzioni di circa 500 mg ciascuna, identificate come **reperto encefalo 1** e **reperto encefalo 2**;
- tessuto osseo: è stata utilizzato uno frammento di circa 1 grammo di tessuto osseo prelevato in corrispondenza dello sterno; tale reperto è stato identificato come **reperto osso**;
- tessuto muscolare: è stata utilizzata una porzione di circa 500 mg del muscolo ileo-psoas; tale prelievo è stato identificato come **reperto muscolo**;
- tessuto epatico: sono state prelevate due porzioni di circa 500 mg ciascuna, identificate come **reperto fegato 1** e **reperto fegato 2**;
- tessuto polmonare: sono state prelevate due porzioni di circa 500 mg ciascuna, identificate come **reperto polmone 1** e **reperto polmone 2**.

## INDAGINI EFFETTUATE

Sono state condotte le seguenti indagini:

### **Diagnosi molecolare di sesso:**

indirizzata a determinare *l'appartenenza del DNA estratto dai reperti a persona di sesso maschile ovvero femminile.*

### **Diagnosi individuale:**

indirizzata a determinare *le caratteristiche genetiche* della persona cui appartengono i reperti oggetto di questo procedimento. Tali caratteristiche sono individuate analizzando alcuni polimorfismi autosomici del DNA e i polimorfismi delle regioni ipervariabili del DNA mitocondriale.

## METODICHE IMPIEGATE

### **Estrazione del DNA da tessuti biologici**

Il DNA è stato estratto dal tessuto cerebrale, muscolare, epatico e polmonare utilizzando le consuete metodiche di laboratorio che prevedono l'incubazione del substrato biologico a 56°C o.n. in una soluzione contenente 10 mM Tris-HCl pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM EDTA, 500µg/ml Proteinasi K, 0.5% SDS, 39 mM DTT e la purificazione del DNA con solventi organici (fenolo e cloroformio) (cfr. Sambrook et al. in Molecular Cloning, 1989). Il DNA così estratto è stato risospeso in tampone TE (10 mM Tris-HCl pH 7.5 - 1 mM EDTA) ed utilizzato per la reazione di amplificazione enzimatica.

### Estrazione del DNA da tessuto osseo

Un'aliquota di circa 1 grammo della polvere ottenuta frantumando in un mortaio il tessuto osseo selezionato, è stata utilizzata per l'estrazione del DNA seguendo la metodica descritta da Cattaneo et al. (For. Sci. Int. 74, 167-174,1995). Tale metodica prevede che il campione sia sottoposto a lisi per una notte a 42°C in tampone contenente 10 mM Tris-HCl pH 7.5, 100 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0,5% SDS e 1 mg/ml Proteinasi K; viene, quindi, aggiunto 1 ml di soluzione satura di Sodio Acetato ed il DNA viene precipitato con isopropanolo. Il DNA così recuperato viene risospeso in tampone TE (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 1 mM EDTA).

### Diagnosi molecolare di sesso

La determinazione del sesso è stata effettuata mediante l'impiego della tecnica della PCR, evidenziando le regioni omologhe X e Y al **locus dell'amelogenina** (cfr. Nakahori et al. in Genomics 9,264-269,1991). L'amplificazione di tale regione permette di individuare su di un gel di acrilamide al 9% oppure su di un sequenziatore ABI-PRISM 310 (Perkin-Elmer), un'unica banda X-specifica di 106 bp in presenza di DNA di origine femminile ed una banda Y-specifica di 112, insieme con la banda X-specifica, in presenza di DNA di origine maschile.

### Diagnosi individuale

Per quanto riguarda la caratterizzazione del DNA estratto, è stata utilizzata una metodica con caratteristiche di estrema sensibilità; tale metodica, denominata PCR (Polymerase Chain Reaction) permette, infatti, la caratterizzazione genetica di quantità anche

minime di DNA, dell'ordine di pochi nanogrammi, anche degradato (cfr. Saiki et al. in Science 239,487-491,1989). La PCR permette di amplificare selettivamente frammenti di DNA di cui sia conosciuta la sequenza nucleotidica. Le fasi fondamentali prevedono una denaturazione termica delle eliche del DNA della sequenza di interesse, l'appaiamento alle eliche di oligonucleotidi complementari (primers) e la sintesi enzimatica del DNA ad opera di un enzima termostabile denominato Taq polimerasi. Tutti questi passaggi, replicati per un determinato numero di cicli, portano ad un accumulo esponenziale delle sequenze bersaglio. Utilizzando tale tecnica sono stati determinati alcuni polimorfismi del DNA dotati di un elevato potere discriminante, inteso come capacità di selezionare, all'interno della popolazione, più gruppi di persone.

I marcatori genetici di elezione per le analisi in ambito ematologico-forense sono i polimorfismi del DNA nucleare definiti “microsatelliti” o STRs (Short Tandem Repeats); nello specifico, sono stati contestualmente amplificati, per 30 cicli, in una singola reazione di PCR (PCR multiplex) i marcatori contenuti nel kit commerciale *AmpFl Identifier PCR amplification kit* (PE-Applied Biosystems), seguendo le indicazioni dettate dalla ditta produttrice; i polimorfismi STR selezionati sono qui di seguito descritti:

- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumVWA** (cfr. Kimpton et al. in Hum. Mol. Genetics 1,287,1992). Le varianti sono indicate per numero di unità ripetute secondo Sajantila et al. (cfr. For. Sci. Int. 68,91,1994) e sono separate in elettroforesi capillare su di un sequenziatore ABI Prism 310 (PE Applied Biosystems); la medesima metodica è stata applicata anche ai successivi marcatori genetici;
- polimorfismo “microsatellite” del DNA al **locus HumFGA**, (cfr. Barber et al. in Int. J. Legal Med 108,180-185,1996);

- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD21S11** (cfr. Sharma et al. in Hum. Mol. Genet. 1,67,1992);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD8S1179** (cfr. Barber et al. in Int. J. Legal Med. 109: 62-65 ,1996);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD18S51** (cfr. Barber et al. in Int. J. Leg. Med. 109: 62-65, 1996);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD5S818** (cfr. Urquhart et al. in Biotechniques 18:116-121, 1995);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD13S317** (cfr. Hudson et al. in Science 270, 1945-1954, 1995);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD7S820** (cfr. Green et al. in Genomics 11:548-564,1991);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD3S1358** (cfr. Li et al. in Hum Mol Genet 2:1327, 1993);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumCSF1PO** (cfr. Hammond et al. in Am J Hum Genet 55: 175-189, 1994);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumTH01** (cfr. Edwards et al. in Am J Hum Genet 49:746-756, 1991);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD16S539** (cfr. Lins et al. in J Forensic Sci 43:1168-1180, 1998);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumTPOX** (cfr. Anker et al. in Hum Mol Genet 1:137, 1992);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD2S1338** (cfr. Garofano et al. in Forensic Sci Int 1;105:131-136, 1999);
- polimorfismo "microsatellite" del DNA al **locus HumD19S433** (cfr. Garofano et al. in Forensic Sci Int 17;101:203-208, 1999).

### Determinazione molecolare del gruppo sanguigno ABO

La determinazione del gruppo sanguigno nell'ambito del sistema ABO è stata effettuata utilizzando la tecnica della PCR. Sono stati impiegati i primers specifici descritti nella pubblicazione di Lee J.C (cfr. J Forensic Sci 37,1269-1275,1992). I prodotti amplificati sono stati visualizzati su minigel di agarosio e, quindi, sottoposti a digestione enzimatica utilizzando gli specifici enzimi di restrizione *Kpn I* e *Alu I*. Il DNA è stato, infine, sottoposto ad elettroforesi verticale su gel di poliacrilamide ed i frammenti di restrizione visualizzati mediante colorazione con nitrato d'argento. L'assegnazione dei genotipi è stata effettuata mediante confronto con DNA di individui a genotipo noto e marcatori di peso molecolare (123 bp ladder e 50 bp ladder).

### Polimorfismi del DNA mitocondriale

Il DNA mitocondriale (mtDNA) è presente nel citoplasma della cellula ed è quindi un genoma extranucleare. E' presente in circa 100-10.000 copie per cellula nei mammiferi, compreso l'uomo, e viene ereditato per via aploide materna. Ciò significa che una madre trasmette per intero, e quindi con tutte le sue caratteristiche peculiari, il suo genoma mitocondriale a tutta la sua progenie. Solo la progenie femminile, a sua volta, trasmetterà lo stesso mtDNA ai figli, seguendo le medesime modalità.

In buona sostanza, quindi, ogni prossimo congiunto correlato in linea materna, sia essa ascendente che discendente, di un individuo da identificare condividerà il medesimo DNA mitocondriale.

Sono state individuate all'interno dell' mtDNA due regioni polimorfiche, denominate *HVR1* e *HVR2* all'interno della zona comunemente identificata come D-loop. La base molecolare di questo polimorfismo consiste principalmente in eventi di mutazione denominati *base transitions* localizzati all'interno di una sequenza canonica di riferimento detta *sequenza di Anderson* (cfr. Anderson et al. in Nature 290,457-465,1981).

I primers specifici utilizzati in questa consulenza per l'amplificazione delle regioni HVR sono qui di seguito riportati:

**HVR1:** L15997 (5'-CACCATTAGCACCCAAAGCT)

H16401 (5'-TGATTTACGGAGGATGGTG)

**HVR2:** L00029 (5'-GGTCTATCACCTATTAACCAC)

H00408 (5'-CTGTTAAAAGTGCATACCGCCA)

Le condizioni di PCR sono riportate nella pubblicazione di Ginther et al. (Nat. Genetics 2,135-138,1992). La presenza di amplificati è stata verificata attraverso elettroforesi su minigel di agarosio al 2% in tampone TAE; il prodotto amplificato è stato, successivamente, purificato utilizzando colonnine Qiagen. Le sequenze sono state ottenute con la metodica dei *BigDyes* su frammenti amplificati utilizzando primers specifici per le regioni HVR (primers L per entrambe le regioni HVR). Il kit di sequenziamento è stato utilizzato secondo le istruzioni della ditta fornitrice (PE Applied Biosystems). L'analisi delle sequenze è stata eseguita mediante elettroforesi capillare su di un sequenziatore automatico ABI 310 DNA Sequencer (PE Applied Biosystems). Le reazioni di sequenza, per ognuno dei reperti, sono state effettuate in duplicato utilizzando come DNA stampo per la seconda reazione di sequenza un differente prodotto di amplificazione delle regioni HVR 1 e 2.

### Controlli:

Il problema relativo all'allestimento di controlli significativi è di particolare importanza per quanto riguarda le analisi genetiche in ambito forense. Infatti, onde garantire per quanto sia possibile che un'eventuale carenza di template specifico, cioè relativo al reperto, non si risolva in una occasione di errore per il sovrapporsi di materiale genetico esogeno, sono stati allestiti una serie di controlli, qui di seguito riportati:

- controllo negativo dei reagenti, atto ad evidenziare la presenza di contaminazioni nei reagenti utilizzati per l'estrazione del DNA dai reperti;
- controllo negativo della PCR, atto ad evidenziare la presenza di contaminazioni nei reagenti utilizzati per la reazione di PCR.
- controllo negativo della reazione di sequenziamento, atto ad evidenziare la presenza di contaminazioni nei reagenti utilizzati per la testé nominata reazione enzimatica.

Si è quindi convenuto che, ogni qualvolta si fosse avuto l'evidenza di un risultato positivo (presenza di una specifica banda di amplificazione) da uno qualsiasi dei campioni di controllo, l'esperimento sarebbe stato considerato inutilizzabile.

## **RISULTATI**

### **Diagnosi molecolare di sesso e diagnosi individuale:**

L'analisi dei polimorfismi STR del DNA estratto dai tessuti biologici prelevati nel corso dell'esame autoptico effettuato sulla salma, identificata per quella del Prof. Narducci, ha fornito i risultati riportati nella seguente tabella 1 (cfr. elettroferogrammi 1-4):



### Determinazione molecolare del gruppo sanguigno ABO

La caratterizzazione del DNA estratto da campioni di tessuto encefalico ed osseo (*reperto encefalo 1 e reperto osso*), nell'ambito del gruppo sanguigno ABO, ha fornito i risultati riportati nella seguente tabella 2 (cfr. foto N° 1 e 2):

| <b>Campioni</b>    | <b>Genotipo</b> |
|--------------------|-----------------|
| Reperto encefalo 1 | AO              |
| Reperto osso       | AO              |

Tabella 2 – i genotipi ottenuti analizzando il sistema ABO

### Analisi delle regioni ipervariabili del DNA mitocondriale

#### *Amplificazione delle regioni HVR1 e HVR2*

Si è proceduto all'amplificazione, utilizzando la tecnica della PCR, del DNA estratto da differenti tessuti biologici prelevati nel corso dell'autopsia effettuata sulla salma del Prof. Narducci. Aliquote degli estratti dal tessuto encefalico (*reperti encefalo 1 e 2*), dal tessuto epatico (*reperto fegato 1*) e dal tessuto polmonare (*reperto polmone 2*) sono state amplificate per 32 cicli, utilizzando le condizioni sperimentali riportate pubblicazione di Ginther et al. (Nat. Genetics 2,135-138,1992). La presenza di amplificato è stata verificata su minigel di agarosio al 2% in tampone TAE. Prodotti di amplificazione specifici per le regioni HVR 1 e 2 sono stati evidenziati per tutti i campioni sottoposti ad analisi.

#### *Analisi del DNA mitocondriale*

Al fine di ottenere l'aplotipo mitocondriale per successivi eventuali confronti, si è proceduto a determinare la sequenza nucleotidica delle regioni HVR1 e HVR2 del DNA mitocondriale.

L'analisi della sequenza della regione **HVR1** del DNA mitocondriale che procede dalla posizione 16033 alla posizione 16401 della sequenza di riferimento di Anderson, (cfr. Sullivan et al. in Int. J. Legal Med. 105: 83-86,1992; Parson et al. in Int. J. Legal Med. 111:124-132, 1998), relativamente ai suddetti campioni, ha evidenziato i risultati riportati nella seguente tabella 3 (in neretto sono evidenziate le basi mutate rispetto alla sequenza di riferimento) (cfr. elettroferogrammi 5-8) :

| <b>Campione</b>           | <i>posizione</i>         | <i>16217</i> |
|---------------------------|--------------------------|--------------|
|                           | <i>sequenza Anderson</i> | <i>T</i>     |
| <b>Reperto encefalo 1</b> |                          | <b>C</b>     |
| <b>Reperto encefalo 2</b> |                          | <b>C</b>     |
| <b>Reperto fegato 1</b>   |                          | <b>C</b>     |
| <b>Reperto polmone 2</b>  |                          | <b>C</b>     |

Tabella 3 – posizione delle mutazioni nella regione HVR1, rispetto alla sequenza di riferimento di Anderson

L'analisi della sequenza della regione **HVR2** del DNA mitocondriale che procede dalla posizione 66 alla posizione 408 della sequenza di riferimento di Anderson, (cfr. Sullivan et al. in Int. J. Legal Med. 105: 83-86,1992; Parson et al. in Int. J. Legal Med. 111:124-132, 1998), relativamente ai suddetti campioni, ha evidenziato i risultati riportati nella seguente tabella 4 (in

neretto sono evidenziate le basi mutate rispetto alla sequenza di riferimento) (cfr. elettroferogrammi 9-12):

| <b>Campione</b>           | <i>posizione</i>         | <i>72</i> | <i>73</i> | <i>152</i> | <i>195</i> | <i>263</i> | <i>309.1</i> | <i>315.1</i> |
|---------------------------|--------------------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|--------------|--------------|
|                           | <i>sequenza Anderson</i> | T         | A         | T          | T          | A          | -            | -            |
| <b>Reperto encefalo 1</b> |                          | <b>C</b>  | <b>G</b>  | <b>C</b>   | <b>C</b>   | <b>G</b>   | <b>C</b>     | <b>C</b>     |
| <b>Reperto encefalo 2</b> |                          | <b>C</b>  | <b>G</b>  | <b>C</b>   | <b>C</b>   | <b>G</b>   | <b>C</b>     | <b>C</b>     |
| <b>Reperto fegato 1</b>   |                          | <b>C</b>  | <b>G</b>  | <b>C</b>   | <b>C</b>   | <b>G</b>   | <b>C</b>     | <b>C</b>     |
| <b>Reperto polmone 2</b>  |                          | <b>C</b>  | <b>G</b>  | <b>C</b>   | <b>C</b>   | <b>G</b>   | <b>C</b>     | <b>C</b>     |

Tabella 4 – posizione delle mutazioni nella regione HVR2, rispetto alla sequenza di riferimento di Anderson

## RISPOSTA AI QUESITI

Gli accertamenti di laboratorio sono stati effettuati utilizzando differenti tessuti biologici, prelevati nel corso dell'esame autoptico effettuato sulla salma identificata per quella del Prof. Francesco Narducci. Più specificamente, aliquote di tessuto cerebrale, osseo, epatico e polmonare sono state prelevate e sottoposte a specifici protocolli di estrazione del DNA. Il materiale genetico è stato, quindi, amplificato utilizzando la tecnica della PCR, al fine di ottenere un profilo genetico utile per eventuali successivi confronti. A tale scopo, sono stati selezionati marcatori genetici già validati a livello internazionale e comunemente impiegati nei protocolli di identificazione personale. Tredici dei quindici polimorfismi STR del DNA caratterizzati nella presente consulenza sono i medesimi individuati dal *Federal Bureau of Investigation* americano (*FBI*) per la costruzione del database che archivia i profili genetici di criminali (*CODIS, COmbined DNA Index System*). I marcatori genetici selezionati nella consulenza in oggetto sono estremamente informativi dal punto di vista dell'identificazione personale, poiché la probabilità di una casuale condivisione di profili genetici tra individui fra loro non imparentati è dell'ordine di 1 su  $1,83 \times 10^{17}$  (dato riferito alla popolazione caucasica).

La caratterizzazione molecolare dei polimorfismi autosomici del DNA ha così consentito di ottenere il profilo genetico dell'individuo identificato per il Prof. Narducci. Tale risultato ha caratteristiche di riproducibilità tra differenti tessuti, in quanto indipendentemente acquisito a partire da due diversi prelievi biologici (encefalo ed osso). Si ribadisce, inoltre, che il profilo genetico riportato nella tabella 1 può essere utilizzato per confronti all'interno di qualsiasi database nazionale od internazionale, per i motivi già in precedenza elencati.

Per contro, non è stato possibile ottenere un profilo genetico interpretabile dall'analisi di altri tessuti biologici (epatico, polmonare e muscolare) prelevati nel corso dell'esame autoptico. Ciò, verosimilmente, a causa di fenomeni di massiccia degradazione a carico del DNA tali da renderne vana la successiva caratterizzazione genetica. Numerose pubblicazioni presenti nella letteratura di merito (cfr. Bar W et al. in *Forensic Sci Int* 39:59-70, 1988 e Hoff-Olsen P in *Forensic Sci Int* 15;119:273-8, 2001) evidenziano, infatti, come esista una maggiore suscettibilità del DNA di alcuni tessuti biologici (tra i quali quello epatico e polmonare) alla modificazione degradativa. Inoltre, a conferire significatività a tale fenomeno ha concorso certamente il significativo lasso di tempo (17 anni) trascorso tra la morte del Prof. Narducci ed il prelievo dei campioni biologici analizzati in questa consulenza.

Successivamente, si è proceduto ad analizzare il DNA estratto da due tessuti biologici (encefalo ed osso) al fine di estrapolare il genotipo, e conseguentemente il fenotipo, dell'individuo identificato per il Prof. Narducci, nell'ambito del *gruppo sanguigno ABO*. A tale scopo, è stato analizzato, con la tecnica della PCR, il gene della *transferasi A*; l'utilizzo di specifici enzimi di restrizione ha permesso di identificare le specifiche posizioni nucleotidiche caratteristiche degli alleli A, B e O (cfr. Lee JC et al. già citato nel capitolo "Metodiche impiegate").

L'amplificazione e la digestione enzimatica (utilizzando *Kpn I* ed *Alu I*) hanno evidenziato il *genotipo AO*, relativamente ad entrambi i campioni biologici analizzati. Ciò consente di affermare che l'individuo identificato per il Dott. Francesco Narducci era caratterizzato dal **gruppo sanguigno A**, nell'ambito del sistema ABO.

Le successive analisi sono state indirizzate alla tipizzazione dei polimorfismi del *DNA mitocondriale* (mtDNA) e, specificamente, delle *regioni ipervariabili HVR1 e HVR2*.

Le caratteristiche peculiari di tale genoma, già in precedenza discusse, forniscono, infatti, un importante strumento per l'identificazione genetica in ambito forense, anche in situazioni di estrema degradazione dei campioni biologici da analizzare, ovvero di datazione dei reperti anche di decine di anni. La caratterizzazione del mtDNA è, infatti, ampiamente utilizzata per l'identificazione di resti scheletrici (cfr. Bender et al. in *Forensic Sci Int* 113:103-7, 2000 e Butler in *Trends Biotechnol* 14:158-62, 1998) La tipizzazione del mtDNA è, inoltre, pressoché l'unica possibilità di ottenere profili genetici dall'analisi di formazioni pilifere in fase telogen (cfr. Allen et al. in *J Forensic Sci* 43:453-64, 1998).

Di estremo interesse è, quindi, l'acquisizione dell'aplotipo *mtDNA HVR1 e 2* dell'individuo identificato per il Prof. Francesco Narducci, in prospettiva di un confronto con reperti biologici, anche non recenti, eventualmente già individuati o potenzialmente individuabili.

L'amplificazione ed il sequenziamento delle regioni HVR1 e HVR2 del mtDNA sono stati condotti sul DNA estratto da tre differenti tessuti biologici (encefalo, fegato, polmone) ed hanno consentito di individuare, in modo univoco, una mutazione rispetto alla sequenza canonica di riferimento, in posizione **16217** (transizione T→C), per quanto concerne l'analisi della *regione HVR1* e 5 mutazioni, rispettivamente nelle posizioni **72** (transizione T→C), **73** (transizione G→A), **152** (transizione T→C), **195** (transizione T→C), **263** (transizione A→G) e due inserzioni di C in posizione 309 (**309.1C**) e 315 (**315.1C**), per quanto riguarda l'analisi della *regione HVR2*.

## CONCLUSIONI

- In conclusione, gli accertamenti di laboratorio condotti su differenti campioni biologici (tessuto encefalico ed osseo) prelevati nel corso dell'autopsia effettuata sul corpo dell'individuo identificato per il Prof. Francesco Narducci, hanno consentito di ottenere uno specifico profilo genetico. Tale evidenza può essere utilizzata per confronti all'interno di qualsiasi database nazionale od internazionale, in quanto ottenuta tipizzando marcatori genetici già validati a livello internazionale e comunemente impiegati nei protocolli di identificazione personale.
- L'analisi del gene della *transferasi A*, unitamente all'utilizzo di specifici enzimi di restrizione, consente di affermare che l'individuo identificato per il Prof. Francesco Narducci era caratterizzato dal **gruppo sanguigno A** (*genotipo AO*), nell'ambito del sistema ABO.
- Le successive analisi sono state indirizzate alla caratterizzazione dei polimorfismi del *DNA mitocondriale* (mtDNA), per le ragioni già in precedenza esposte. L'amplificazione ed il sequenziamento delle regioni *HVR1* e *HVR2* del mtDNA sono stati condotti sul DNA estratto da tre differenti tessuti biologici (encefalo, fegato, polmone) ed hanno consentito di individuare specifiche mutazioni ed inserzioni di base. L'aplotipo mtDNA così ottenuto potrà essere utilizzato per successivi eventuali confronti.

Pavia, 22 settembre 2003

Dott. Carlo Previderè



Fig. 1 – analisi del genotipo, nell'ambito del sistema ABO, del DNA estratto da tessuto encefalico ed osseo. Pattern di digestione enzimatica (*Kpn I*). Sono stati contestualmente digeriti campioni di DNA di controllo a genotipo noto. I marcatori di peso molecolare sono il 50 e 123 bp ladder.

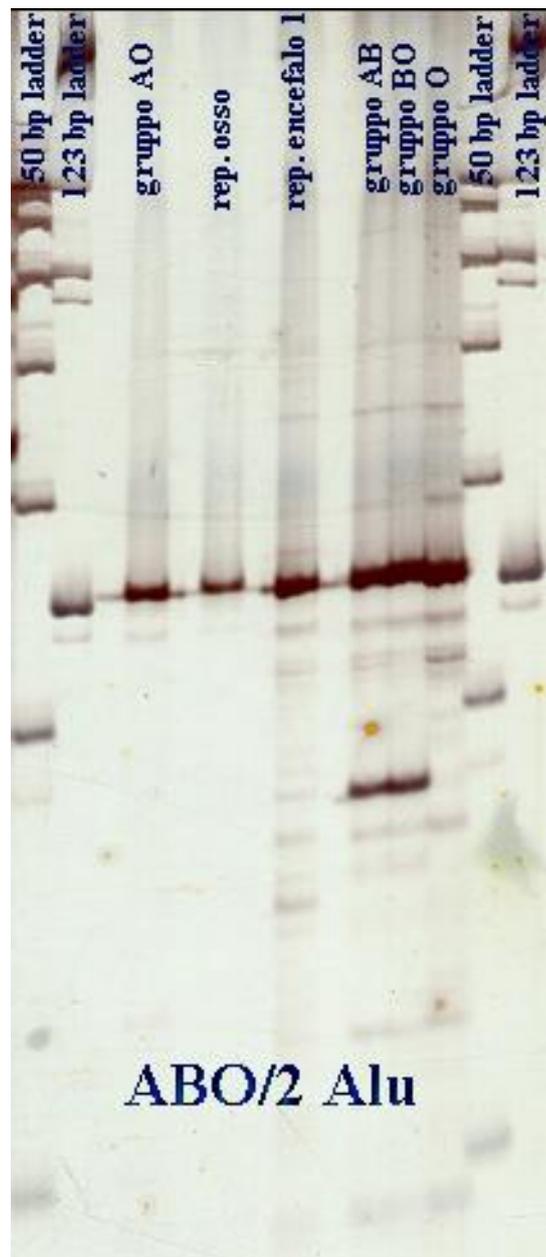


Fig. 1 – analisi del genotipo, nell’ambito del sistema ABO, del DNA estratto da tessuto encefalico ed osseo. Pattern di digestione enzimatica (*Alu I*). Sono stati contestualmente digeriti campioni di DNA di controllo a genotipo noto. I marcatori di peso molecolare sono il 50 e 123 bp ladder.