



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

**ANALISI DEGLI ASPETTI SOCIALI,
ETICI E NORMATIVI DELL'UTILIZZO
DEL DNA PHENOTYPING IN AMBITO
FORENSE IN ITALIA**

Relatore: Chiar.mo

Prof. Mauro Pesaresi

Tesi di Laurea di:

Leonardo d'Errico

Correlatore: Chiar.ma

Prof.ssa Chiara Turchi

A.A. 2021-2022

A Zia Pina

INTRODUZIONE	5
CAPITOLO 1 LE INFORMAZIONI DI GENETICA	10
DISCENDENZA BIOGEOGRAFICA	13
ETA'	14
PIGMENTAZIONE.....	15
COLORE DEGLI OCCHI.....	17
COLORE DEI CAPELLI	19
COLORE DELLA PELLE	21
VALIDAZIONE FORENSE	23
Hiris-Plex-S.....	26
DNA & LEGISLAZIONI	31
CAPITOLO 2	33
LE PROBLEMATICHE ETICHE.....	33
DISCRIMINAZIONE	37
PRIVACY	40
ECESSIVA AFFIDABILITA'	43
ARCHIVIAZIONE E PROTEZIONE DEI DATI	46
ANALOGIE E DIFFERENZE CON IL TESTIMONE OCULARE	49
BIAS	51
USO IMPROPRIO DELLA TECNOLOGIA.....	53
RELAZIONE CON IL NE BIS IN IDEM	55
CAPITOLO 3	57
PANORAMICA SULLE LEGISLAZIONI VIGENTI IN EUROPA	57
LEGISLAZIONI EUROPEI VIGENTI	59
PAESI BASSI	72
FRANCIA	75
POLONIA.....	77
SPAGNA.....	79
SVEZIA.....	80
REGNO UNITO	82
AUSTRIA	83
GERMANIA.....	84

CAPITOLO 4	88
PANORAMICA SULLE LEGISLAZIONI VIGENTI IN ITALIA	88
COSTITUZIONE	89
LEGISLAZIONI PRECEDENTI 85/2009	90
LEGGE 85/2009	96
d.P.R 7 APRILE 2016, N.87.....	103
CAPITOLO 5	112
STUDIO SPERIMENTALE	112
SCOPO DELLO STUDIO	113
MATERIALI E METODI.....	114
1 DISEGNO DEL PANNELLO NGS.....	114
2 UTILIZZO DELLA PIATTAFORMA ION PGM DX SYSTEM.....	114
3 RACCOLTA DEI CAMPIONI	114
4 ESTRAZIONE.....	115
5 QUANTIFICAZIONE	117
6 PROVE DI SENSIBILITA'	120
7 MASSIME PARALLEL SEQUENCING	120
8 DIGESTIONE PARZIALE DEGLI AMPLICONI	121
9 LIGAZIONE DEI BARCODE.....	122
10 PURIFICAZIONE DELLE LIBRERIE	122
11 QUANTIFICAZIONE qPCR DELLE LIBRERIE	123
12 EMULSION PCR CON ION ONE TOUCH 2	123
13 ARRICCHIMENTO E PURIFICAZIONE DELLE LIBRERIE CON ION ONE TOUCH ES	124
14 CARICAMENTO DEL CHIP E SEQUENZIAMENTO CON ION PGM SYSTEM.....	124
RISULTATI	125
Disegno del Pannello NGS.....	125
Risultati della quantificazione delle librerie per MPS	128
Risultati del sequenziamento e del coverage	128
Risultati della determinazione del genotipo dei campioni	129
DISCUSSIONE	137

CONCLUSIONE.....	140
BIBLIOGRAFIA.....	144

INTRODUZIONE

La fenotipizzazione del DNA forense (FDP) o DNA Phenotyping è un sottocampo in rapido sviluppo di genetica forense che mira a dedurre informazioni visibili esternamente (aspetto, ascendenza biogeografica ed età cronologica) di un donatore sconosciuto, dal campione sulla scena del crimine, direttamente dal DNA (1).

Si intende quel processo analitico che permette di predire le caratteristiche fenotipiche di una persona (colore degli occhi, colore dei capelli, colore della pelle, altezza, peso, caratteristiche del viso ma anche età e discendenza biogeografica) usando solo i dati ottenuti dalla genotipizzazione o dal sequenziamento del DNA.

Una possibile applicazione del DNA Phenotyping è quella forense ovvero la cosiddetta Forensic DNA Phenotyping (FDP) che analizza il materiale sulla scena del crimine per comporre una descrizione del sospetto sconosciuto.

Tale metodica può avere un ruolo molto importante nell' identificazione dei resti umani non identificati fornendo indicazione sul loro probabile aspetto da vivi, ma soprattutto può rivelarsi utile nell' individuare i responsabili di crimini violenti in cui non vi è alcun indizio utile, tant'è che viene definita anche "accélérateur d'enquête"¹ in quanto permette di restringere la potenziale cerchia di autori velocizzando l'indagine.

L'applicazione di tale tecnica a scopi forensi è iniziata nei primi anni 2000. Attualmente viene usata solo da poche nazioni e in pochi casi per le svariate problematiche, non ancora debitamente discusse, e di conseguenza non risolte, di tale tecnica, ampiamente analizzate dal VISAGE.²

¹ Dr. Vincent Castella, RTS, «La matinale», 21 maggio 2019.

² Il Consorzio VISible Attributes Through GENomics - VISAGE - mira a superare la limitazione generale dell'attuale analisi forense del DNA ampliando le prove forensi del DNA verso la costruzione di schizzi compositi di perpetratori sconosciuti da quante più tracce biologiche e fonti e il più velocemente possibile all'interno degli attuali quadri legali e linee guida etiche. Il progetto VISAGE stabilirà nuove conoscenze scientifiche, svilupperà prototipi di strumenti per l'analisi del DNA e l'interpretazione statistica, convaliderà e implementerà questi strumenti nella pratica

La problematica principale riguarda l'efficacia in quanto il DNA Phenotyping, infatti, fornisce una probabilità e non una certezza (2): le caratteristiche fisiche ottenute mediante fenotipizzazione del DNA non sono specifiche a un solo individuo e quindi non possono essere attribuite in modo univoco a una persona precisa e per questo viene definito più uno strumento investigativo che non uno strumento per identificare una specifica persona.

Inoltre, per poter fornire delle informazioni è necessaria una discreta quantità di materiale biologico mentre solitamente si riesce a raccogliere soltanto una quantità limitata di materiale, appena sufficiente per allestire il profilo standard del DNA; oltretutto, è possibile ottenere informazioni rilevanti soltanto da tracce singole mentre le tracce miste, composte dal DNA di diversi individui, non possono essere utilizzate, secondo la maggior parte degli autori.

Le altre problematiche riguardano le numerose implicazioni dal punto di vista etico, specie in materia di discriminazione e di violazione della privacy ed infine le legislazioni, differenti nei vari Paesi, solitamente redatte in epoche antecedenti l'introduzione di tale tecnica, spesso ne ostacolano l'applicazione.

Lo sviluppo di tale tecnica è stato rallentato per ulteriori due motivazioni: in primis per una conoscenza molto limitata della genetica degli EVC, molto inferiore rispetto ai geni implicati in processi morbosi (3), che si giovano di fondi molto più cospicui in virtù dell'impatto su una fetta di popolazione più ampia. In secundis perché tutti gli EVC sono complessi in quanto numerosi geni contribuiscono solo in piccola parte al fenotipo che invece deriva dalla combinazione di numerosi geni e dalla componente ambientale (4).

forense, indagherà le dimensioni etiche, sociali e normative, diffonderà ampiamente i risultati e istruirà i portatori di interesse e i gruppi target riguardo alla previsione dell'aspetto di una persona, dell'età e dell'ascendenza bio-geografica dalle tracce di DNA, che aiuterà a trovare autori sconosciuti di crimini non identificabili con il profilo standard del DNA attraverso indagini di polizia mirate. Il Consorzio VISAGE è composto da 13 partner provenienti da istituzioni accademiche, di polizia e di giustizia di 8 paesi europei, e riunisce ricercatori di genetica forense e professionisti del DNA forense, genetisti statistici e scienziati sociali per raggiungere gli obiettivi del progetto.

Tuttavia, con il tempo si sono scoperti i sempre più numerosi vantaggi di tale tecnica e questo ne spiega la maggiore diffusione negli ultimi anni in più Stati specie per la risoluzione di casi gravi e complessi in cui non sono presenti né indizi né sospettati. La Fenotipizzazione, infatti, può essere di aiuto in indagini di difficile soluzione, in assenza di una corrispondenza del DNA, che è la prova regina di numerosi crimini (“la presenza della prova del DNA predice le condanne” (5)).

In caso di reato in cui il responsabile ha inavvertitamente lasciato il proprio DNA sulla scena del crimine, si può procedere al confronto di tale materiale con il DNA del principale sospettato, se presente, o, in caso di riscontro negativo, si può procedere alla ricerca di una corrispondenza con i profili DNA contenuti nei database.

Se il riscontro è negativo il DNA standard non può fornire ulteriori informazioni: infatti i soggetti il cui profilo DNA identificativo (profilo STR) non è ancora noto alle autorità inquirenti non possono essere identificati dal DNA forense standard (STR profiling) (2).

Il DNA Phenotyping invece può fornire informazioni fenotipiche analizzando le tracce di DNA anche in assenza di sospettati e/o in assenza di corrispondenze nei databases, sebbene occorra ricordare che, mentre il DNA standard fornisce un risultato univoco, la Fenotipizzazione fornisce un risultato in termini di probabilità per cui deve essere utilizzata come indizio e non come prova.

Il DNA invece, secondo l’ordinamento italiano, può essere usato come prova: la sentenza 48349 /2004 sancisce che “gli esiti dell’indagine genetica condotta sul DNA, atteso l’elevatissimo numero delle ricorrenze statistiche confermate, tale da rendere infinitesimale la possibilità di un errore, presentano natura di prova, e non di mero elemento indiziario ai sensi dell’art. 192, comma secondo, CPP “... “senza necessità di ulteriori elementi convergenti” (sentenza 43406/2016”).

Pertanto, quando il sospetto viene identificato tramite fenotipizzazione del DNA, si deve comunque utilizzare il profilo del DNA tradizionale per dimostrarne la colpevolezza (6).

Per queste motivazioni il DNA Phenotyping, allo stato dell'arte, viene usato solo in assenza di DNA tradizionale, e definito da alcuni "ultima spiaggia".

Nonostante ciò, si è dimostrato molto utile nel risolvere alcuni casi aperti da anni o complessi per il numero ristretto di indizi, grazie anche alle migliorate conoscenze e la maggiore attendibilità dei test e markers utilizzati che ha permesso di aumentare la probabilità di individuare le corrette caratteristiche fenotipiche.

Infine lo sviluppo della Fenotipizzazione è stato accelerato dalla consapevolezza dei limiti di altre metodiche forensi, quale lo screening a tappeto di una determinata categoria di popolazione(5) (6).

Tale metodica usata raramente (in Italia, vedasi caso di Yara Gambirasio nel 2014) è piuttosto costosa e spesso anche non risolutiva in quanto vincolato strettamente alla disponibilità degli individui a partecipare allo screening: ad esempio nel caso Gambirasio si giunse alla conclusione solo perché un fratellastro del colpevole partecipò allo screening.

Questo limite invece non ricorre in caso di utilizzo della Fenotipizzazione, che in Europa ad oggi viene applicato nei seguenti stati: Francia, Polonia, Spagna, Svezia, Paesi Bassi, Germania e Regno Unito.

L'auspicio è di diffondere tale tecnica anche in altre nazioni, Italia in primis: a tal fine si rendono necessarie delle considerazioni etiche specie riguardo la discriminazione e la privacy, delle legislazioni rinnovate che disciplinino sia l'utilizzo della Fenotipizzazione che la conservazione dei dati genetici, una maggiore affidabilità ed omogeneità dei test utilizzati, maggiori fondi ed una collaborazione internazionale.

Grazie a questi miglioramenti in futuro potrà essere più frequente l'applicazione di tale tecnica per risolvere i casi complessi in cui l'analisi del DNA tradizionale si è rivelata non risolutiva.

Lo scopo di questa tesi infatti è quello di analizzare le problematiche dal punto di vista genetico, etico e legislativo che il DNA Phenotyping possiede ed individuarne possibili soluzioni affinché possa in un prossimo futuro

essere regolamentato ed utilizzato anche nel territorio italiano.

CAPITOLO 1

**LE INFORMAZIONI DI
GENETICA**

Per DNA Phenotyping si intende quel processo analitico che permette di predire le caratteristiche fenotipiche di una persona usando solo i dati ottenuti dalla genotipizzazione o dal sequenziamento del DNA.

Le varianti genetiche significative associate a un particolare tratto vengono scoperte utilizzando un approccio di studio di associazione dell'intero genoma (GWAS), in cui centinaia di migliaia o milioni di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) vengono testati per la loro associazione con ciascun tratto di interesse (7). Gli SNP sono polimorfismi a singolo nucleotide e sono degli importanti marcatori poiché presentano un'elevata stabilità genetica, una omogenea distribuzione nel genoma (1 SNP ogni 1000 basi) e l'85% di condivisione tra i DNA di diversi individui: per questo motivo, gli SNPs vengono utilizzati negli studi di associazione genica per correlare le manifestazioni di un determinato fenotipo con determinate regioni geniche alterate.

La modellazione predittiva viene quindi utilizzata per costruire un modello matematico per fare previsioni sui tratti di soggetti ignoti. Le caratteristiche che possono essere dedotte, allo stato attuale, sono:

- colore degli occhi
- colore dei capelli
- colore della pelle
- discendenza biogeografica
- età
- tipologia di capelli (8) (9) (10) (11)
- presenza di calvizie (12) (13) (14)
- altezza (15) (16) (17)
- caratteristiche del viso (18) (19) (20) (21) (22)
- colore delle sopracciglia (22)

Allo stato dell'arte i parametri più affidabili sono: discendenza biogeografica, età, colore degli occhi, colore dei capelli e della pelle (questi ultimi tre noti anche come EVC, externally visible characteristics)

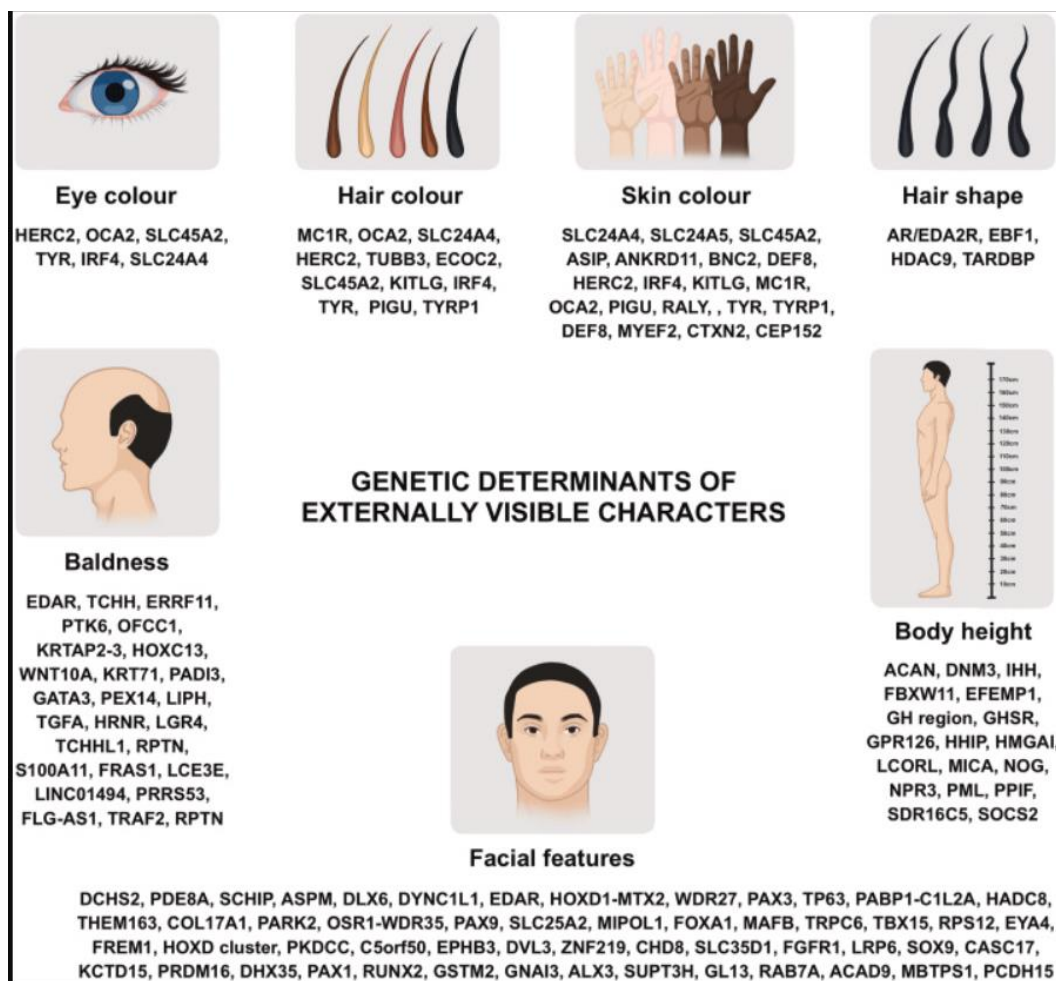


Figura 1 tratta da “ Forensic DNA Phenotyping : Inferring phenotypic traits from crime scene DNA” Prashida Dabas, Sonal Jain, Himanshu Khajuria, Biswa Prakash Nayak, Journal of Forensic and Legal Medicina 88 (2022) dove vengono mostrati gli SNPs più informativi di ogni parametro.

DISCENDENZA BIOGEOGRAFICA

Costituisce uno dei parametri più utilizzati.

La discendenza biogeografica, o genetica, di una persona descrive la regione geografica del mondo da cui provengono gli antenati genetici di una persona. Solo circa il 10% della variazione genetica tra gli individui dipende dalla popolazione di origine(5) ma, questa piccola proporzione di differenze genetiche tra persone provenienti da luoghi diversi può essere utilizzata per ricavare marcatori di DNA informativi sull'ascendenza e per sviluppare test del DNA per la sua predizione utili nelle applicazioni forensi.

I marcatori genetici utilizzati per dedurla nel progetto VISAGE sono per lo più polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs). Questi marcatori genetici si trovano su tutti i cromosomi autosomici sui cromosomi sessuali e sul genoma mitocondriale extracromosomico (23) (24) (25).

La discendenza biogeografica è per lo più prevista a livello continentale, cioè la regione continentale da cui provengono gli antenati genetici della persona, e non può essere utilizzato per fornire informazioni sulla nazionalità di un sospetto criminale: infatti le nazionalità e i confini hanno radici politiche e culturali, non radici biologiche (26), e allo stesso modo, le identità etniche e razziali sono articolate attraverso fattori personali e sociali.

ETA'

La stima dell'età dal materiale biologico può fornire piste essenziali nelle indagini forensi(27) per due motivi: dare informazioni sull'età e rendere la previsione del DNA di alcuni tratti di aspetto dipendenti dall'età (esempio: colore dei capelli, perdita dei capelli) più affidabile(28).

Mentre vari test genetici sono stati utilizzati per dedurre l'età biologica, quelli basati sull'analisi dei marcatori epigenetici (29) (30) (31) (32), in particolare i modelli di metilazione del DNA (ovvero la presenza di una specifica molecola "metile" sulla citosina), altrimenti noti come marcatori epigenetici, hanno dimostrato di essere i più affidabili (29) nel "predire" l'età cronologica, tant'è che sono spesso indicati "orologi epigenetici" (31).

La metilazione del DNA regola l'espressione genica e il modello di metilazione del DNA di un individuo (cioè, quali parti del suo DNA sono metilate e quali no, così come la proporzione relativa di metilazione in un singolo sito) cambia con l'età (33) (34) (35).

Come tutti i metodi quantitativi, l'analisi della metilazione del DNA per tentare di predire l'età cronologica è influenzata da effetti stocastici quando la quantità di DNA è bassa(36) : ciò pone un limite all'applicazione della metilazione quantitativa del DNA a campioni forensi che contengono solo piccole quantità di DNA.

PIGMENTAZIONE

La pigmentazione umana è spiegata principalmente dalla presenza di melanina nell'epidermide, nell'iride e nei capelli.

Di tutte le caratteristiche visibili esternamente, il colore degli occhi, dei capelli e della pelle può attualmente essere previsto dal DNA della scena del crimine e sono tra gli esempi più visibili di variazione fenotipica umana, che è determinata dalla quantità, dal tipo e dalla distribuzione della melanina all'interno dei melanociti.

La genetica mette in relazione il fenotipo con la variazione genotipica (37): attualmente ci sono diverse strategie per studiare la genetica della pigmentazione umana in modo quantitativo basato sulla riflettanza, sulla bioimmagine o tecnologie biochimiche. Le tecnologie comunemente usate includono colorimetria tristimolo, riflettometria specializzata a banda stretta, spettroscopia di riflettanza diffusa, fotografie digitali e cromatografia liquida ad alte prestazioni (38).

Le informazioni derivate dal DNA umano permettono studi che correlano la variazione fenotipica con la variazione genotipica. Le fonti più comuni di variabilità genetica sono polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) e piccole microinserzioni/microdelezioni (indel). SNP è una variazione di sequenza del DNA che si verifica quando un singolo nucleotide differisce tra i membri di una specie (o tra cromosomi appaiati in un individuo). Microindel descrive una mutazione che risulta o in un'inserzione colocalizzata o in una delezione o in un guadagno o una perdita netta da 1 a 50 nucleotidi. Quando le varianti genetiche si verificano in almeno l'1% della popolazione, sono definite polimorfismi.

La pigmentazione di pelle, occhi e capelli dipende da una complessa interazione tra numerosi geni(39): anche se i colori degli occhi, dei capelli e della pelle sono poligenici in natura, essi rappresentano fenotipi complessi piuttosto atipici rispetto a molti altri tratti umani poligenici, come l'altezza, dove sono coinvolti centinaia di geni con piccoli effetti (40).

Tra i geni implicati nella pigmentazione, il recettore della melanocortina-1 (MC1R) è uno dei geni chiave che regola il colore della pelle (41) (42) (43). Studi su popolazioni estese hanno dimostrato che MC1R è notevolmente polimorfo negli europei, e probabilmente una chiave determinante della variazione di colore in questa popolazione.(44)

Numerosi polimorfismi sono inoltre presenti nei geni che interagiscono con MC1R (e quindi con la pigmentazione) quali : ASIP (45) (46) , SLC45A2 (47) (48) (49), SLC24A5 (50), TYR (51) (52) (53) (54) (36) .

Alcuni tra questi polimorfismi sono associati ad un maggior rischio di melanoma con tutte le problematiche etiche che ne seguono (vedasi capitolo 2).

Altro gene importante(38) è OCA2 i cui polimorfismi sono chiaramente associati al colore della pelle, dei capelli e soprattutto degli occhi (55) (56) (57). Il gene HERC2 ,che inibisce OCA2, a sua volta ha un ruolo nel colore degli occhi (55) (58) (59) (60).

Il gene DCT (61) (62) è coinvolto nel colore dei capelli e degli occhi.

Il gene TPCN2 è stato recentemente associato ai capelli biondi (63).

Il gene IRF4 codifica per un fattore di trascrizione che influenza l'espressione genica in risposta all'interferone e ad altre citochine: è stata dimostrata (64) (65) (66) (67) un'associazione convincente tra un polimorfismo del gene IRF4 (rs12203592) e i capelli, il colore degli occhi e della pelle e la risposta all'abbronzatura.

Anche polimorfismi del gene SCL24A4 sono associati al colore degli occhi e dei capelli(63) e numerosissimi altri geni sono coinvolti.

COLORE DEGLI OCCHI

In passato si pensava che il colore degli occhi umani fosse un semplice tratto mendeliano, ma recenti scoperte hanno rivelato il suo complesso modello di ereditarietà, regolato da epistasi e dominanza incompleta (53). Il colore dell'iride può variare da blu, verde, grigio a tonalità intermedie di marrone e nero.

Sono stati proposti numerosi modelli di predizione basati sul DNA, ulteriormente sviluppati soprattutto per applicazioni forensi(68) (69) (70) (71) (72) (73) (74) (75).

Gli SNP più utilizzati sono: HERC2(che è il gene più implicato nel colore degli occhi(60)) rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350, e IRF4rs12203592, HERC2 rs1129038, HERC2 rs1667394 e HERC2 rs7183877.

Nel 2011 è stato sviluppato il primo pannello di SNP per la previsione accurata del colore degli occhi, noto come sistema Irisplex, che consiste in 6 SNP all'interno di 6 geni della pigmentazione: tale sistema è stato uno dei primi strumenti (70) di fenotipizzazione convalidati dalla medicina legale. Esso ha fornito un alto livello di discriminazione tra il colore degli occhi blu e marrone a partire da appena 31 pg di DNA.

La previsione dei colori intermedi degli occhi, invece, rimane una sfida che richiede ulteriori indagini per identificare nuove varianti genetiche, poiché l'accuratezza della loro previsione rimane significativamente inferiore rispetto agli occhi blu e marroni.

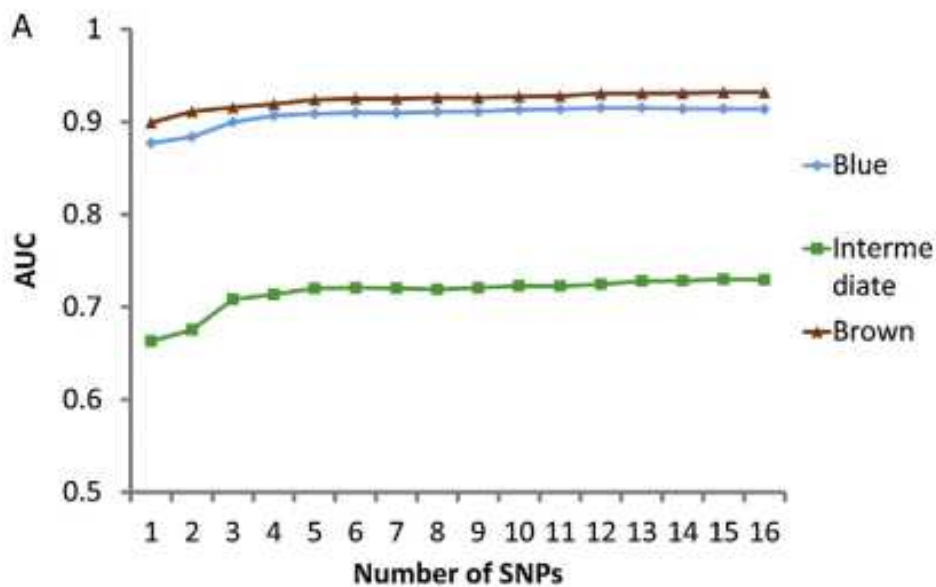


Figura 2, tratta da “The Colorful DNA polymorphisms in humans”, Fan Liu, Bei Wen, Manfred Kayser, Seminars in Cell 6 Development biology (2013) che mostra la differente accuratezza tra i differenti colori di occhi.

Questo perché in generale, le posizioni centrali dei colori intermedi nella distribuzione limitano la loro accuratezza predittiva in quanto l'intervallo di confidenza per prevedere un punto di dati in un bin centrale è due volte più grande di quello per prevedere un punto di dati in un intervallo in coda. Inoltre, i colori intermedi sono spesso accertati con un più alto grado di incertezza rispetto gli estremi dello spettro continuo dei colori dell'occhio come il blu e il marrone, il che può influenzare sostanzialmente i risultati di previsione di tali colori intermedi. Inoltre, gli occhi classificati come colore intermedio contengono spesso colori diversi in diverse regioni dell'iride, come grigio-blu nella parte interna e marrone nella parte esterna, che con varianti di DNA attualmente disponibili è difficile da prevedere. Rimane da vedere se i polimorfismi del DNA attualmente sconosciuti, non coinvolti nei colori degli occhi blu e marrone, saranno trovati per determinare i colori degli occhi non blu e non marroni, utili per la previsione dei colori intermedi come il verde.

COLORE DEI CAPELLI

Negli esseri umani si possono osservare diverse sfumature di colore dei capelli, dal rosso, al biondo, al castano, al nero, con aspetti di tonalità chiara e scura per ogni colore ed è stato dimostrato che anche le categorie di colore dei capelli sono prevedibili dalle varianti del DNA (53) (71) : i polimorfismi più usati sono MC1R varianti multiple, HERC2 rs12913832 (70), IRF4 rs12203592 e rs4959270, TYR rs1042602, SLC45A2 rs28777, rs16891982, TYRP1 rs683, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs2402130, KITLG rs12821256, e ASIP rs2378249.

Nel 2011(53), è stato proposto un altro saggio basato su 22 SNPs di 11 geni, in grado di predire i capelli rossi, biondi, castani e neri con un'accuratezza dell'81-93%: sulla base di questi risultati è stato sviluppato HlrIsPlex , un saggio di genotipizzazione multipla composto da 24 SNPs e sono state ottenute previsioni corrette nel 90% degli individui con i capelli rossi, 87,5 % neri, 78,5 % castani e 69,5% biondi.

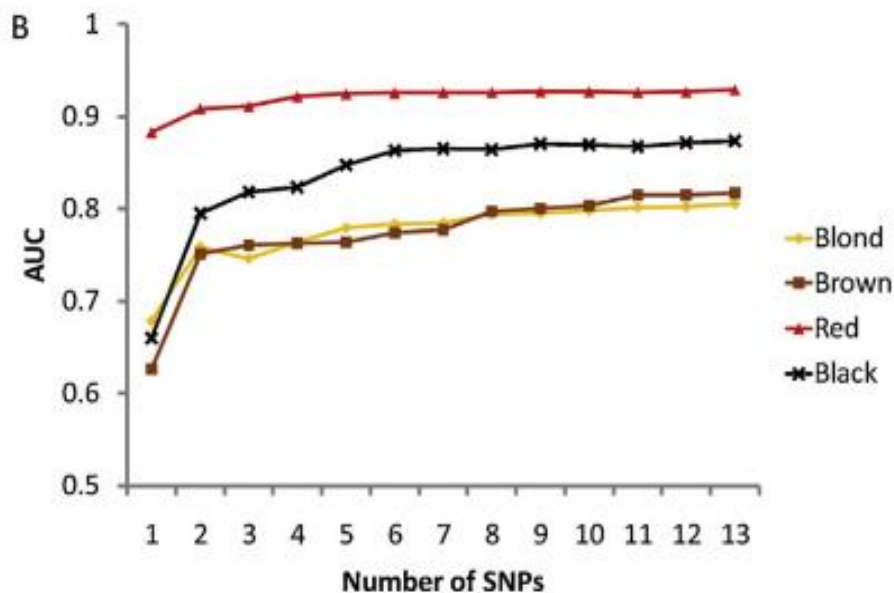


Figura 3, tratta da "The Colorful DNA polymorphisms in humans" , Fan Liu, Bei Wen, Manfred Kayser , Seminars in Cell 6 Development biology (2013) che mostra la differente accuratezza tra i differenti colori di capelli.

La previsione dei capelli rossi e neri, infatti, è più affidabile rispetto a quella relativa ai capelli biondi e marroni.

Ci sono molteplici ragioni per questo. Per esempio, la minore precisione nella prevedibilità dei capelli biondi e castani deriva dal fatto che i capelli biondi possono scurirsi durante l'infanzia e l'adolescenza e un grande limite di questi studi genetici è che vengono svolti su individui adulti (76), ignorando l'imbrunimento dei capelli che avviene tra i sei e i tredici anni di età.

Infatti alcuni adulti dai capelli castani che avevano i capelli biondi da bambini mostrano un alto valore di probabilità individuale per i capelli castani, altri per i capelli biondi(71). Quindi, qualsiasi risultato del test con un'alta probabilità di capelli biondi permette una delle due interpretazioni: la persona è un adulto biondo o un adulto dai capelli castani che aveva i capelli biondi da bambino.

Si può ipotizzare che il cambiamento di colore dei capelli in funzione dell'età sia sotto controllo biologico, ma il meccanismo molecolare responsabile (e quindi il bio-marcatore) deve ancora essere identificato.

COLORE DELLA PELLE

La gamma di colori della pelle che notiamo oggi si è creata come risposta evolutiva all'intensità delle radiazioni ultraviolette nelle varie regioni della Terra. Il colore della pelle più scuro può essere osservato nelle regioni con un'intensità Ultravioletta più elevata, mentre il colore della pelle più chiaro può essere osservato nelle regioni con un'intensità UV più bassa(77) (78).

La genetica del colore della pelle è attualmente meno compresa di quella del colore degli occhi e dei capelli e i primi tentativi di prevedere la pigmentazione da dati genomici multietnici hanno avuto esiti limitati. Questo è in parte dovuto alla difficoltà di approcci di mappatura dei geni per distinguere tra gli alleli veramente associati al colore della pelle dalle molte altre differenze alleliche che esistono tra europei, africani o asiatici, indipendenti dalla variazione del colore della pelle. Ovviamente, c'è una forte sovrapposizione tra i geni che influenzano il colore degli occhi, dei capelli e della pelle, ma i tre fenotipi di pigmentazione non sono completamente correlati.

Il primo studio(79) completo di previsione del colore della pelle multietnica è stato pubblicato nel 2015 utilizzando un set di 10 SNPs , attualmente i polimorfismi (68) (75) più importanti sono: TYRP1 rs1426654 e SLC45A2 rs16891982 (oltre a HERC2 rs12913832, OCA2 rs1545397, SLC45A2 rs16891982, SLC24A5 rs1426654, MC1R rs885479, ASIP rs6119471, e IRF4 rs12203592).

Tuttavia, la conoscenza attuale per predizione del colore della pelle è ancora limitata, in particolare per le variazioni di colore più esigue, osservate all'interno delle popolazioni europee, asiatiche o africane.

Per superare questo ostacolo è stato sviluppato un modello globale basato su 36 SNPs con un'accuratezza di previsione del 97%(80).

Lo sviluppo di un saggio di genotipizzazione (HirisPlex-S) fornisce risultati promettenti per il futuro della Fenotipizzazione: il modello consiste

in 17 SNPs per la predizione di 5 categorie di colore della pelle (molto pallido, pallido, intermedio, scuro, nero)(81).

Tuttavia, la popolazione mondiale è una vasta tela di tipi di pigmentazione che vanno dai colori più scuri a quelli più chiari e c'è ancora molto da scoprire.

VALIDAZIONE FORENSE

Dal punto di vista forense, i test del DNA per l'analisi di questi marcatori sono stati sviluppati e convalidati, insieme a modelli statistici predittivi adeguati (71) (70) (81) (82) (69) (83) (84) (85) (86) (87) (88) come indicato nelle tabelle.

TABLE 2						
A selection of available DNA test systems ^{*1} for continental biogeographic ancestry						
DNA test / Reference	Geographical regions	DNA markers	DNA technology / forensic test validation ^{*2}	Statistical model / availability	Accuracy ^{*3}	Remarks
Non-commercial						
34-plex (35, 36)	3 – AFR, EAS, EUR	34 aSNPs	1x PCR+SBE+CE Yes	Snipper: naive Bayes classification; N = 492, freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	Bayes classification successful for all three regions, >99.9% ^{*4}	No distinction between Europe, Southwest Asia, and South Asia; relatively small reference data set
InDel 46-plex (37, 38)	4 – AFR, EAS, EUR, AME	46 Indels	1x PCR+CE Yes	Snipper: naive Bayes classification; N = 556, freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	Bayes classification successful for all four regions, >99.9% ^{*4}	Relatively small reference data set
Global AIMS (11)	6 – AFR, EUR, EAS, SAS, OCE, AME	127 aSNPs	1x targeted MPS Yes	Snipper: naive Bayes classification; N = 2099, freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	Bayes classification successful for all six regions, >99.9% ^{*4}	
Commercial						
ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit (Verogen, USA) (31, 32)	4 – EUR, AFR, AME, EAS	56 aSNPs	1x targeted MPS Yes	Unknown Available via commercial ForenSeq™ Universal Analysis software (Verogen)	Unknown	The test assay contains additional DNA markers for other purposes; no information available on statistical model, reference data set, or accuracy
Precision ID Ancestry Panel (ThermoFisher Scientific, USA) (39, 40)	7 – AFR, AME, EAS, EUR, SAS, SWA, OCE	165 aSNPs	1x targeted MPS Yes	Unknown available via commercial HID Genotyper software (Thermo Fisher Scientific)	Unknown	No information available on statistical model, reference data set, or accuracy

Tab.1 Tratta da “The use of Forensic DNA Phenotyping in predicting appearance and Biogeographic Ancestry”, P.Schneider, B. Prainsack, M.Kayser

Currently available forensic DNA test systems ^{*1} for eye, hair, and skin color						
Test system/ Reference	Feature	DNA markers ^{*2}	DNA technology / forensic test validation ^{*3}	Statistical model	Test accuracy ^{*4}	Remarks
Non-commercial						
IrisPlex (7, 22)	Eye color	6 aSNPs	1x PCR+SBE+CE Yes	IrisPlex model; multinomial logistic regression; current version; N = 9466; freely available https://hirisplex.erasmusmc.nl/	Current version of IrisPlex model for eye color (6 DNA markers). AUC; PPV; NPV: – blue 0.94; 0.90; 0.90 – brown 0.95; 0.77; 0.96 – intermediate 0.74; 0.09; 0.96 https://hirisplex.erasmusmc.nl/	Eyes that are neither brown nor blue are often reflected in test results not with the highest probabili- ty assigned in the intermedi- ate category, but rather with similarly high probabilities in the blue and brown eye color categories
SHEP 1, 2 (23)	Eye color	23 (13) aSNPs	2x PCR+SBE+CE No	Snipper; N = 416; freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	AUC (13 DNA markers): – blue 0.999 – brown 0.99 – green-hazel 0.82 PPV; NPV (8 DNA markers): – blue 0.8; 0.99 – brown 0.51; 0.96 – green-hazel 0.55; 0.93	The test assays contain additional DNA markers that are not included in the model; relatively small model data set
HlrisPlex (6, 24)	Hair, eye color	24 aSNPs	1x PCR+SBE+CE Yes	HlrisPlex model for hair color; multinomial logistic regression; current version; N = 1878; freely available https://hirisplex.erasmusmc.nl/	Current version of HlrisPlex model for hair color (22 DNA markers). AUC; PPV; NPV: – red 0.92; 0.73; 0.97 – black 0.83; 0.70; 0.91 – blond 0.80; 0.63; 0.79 – brown 0.72; 0.58; 0.72 https://hirisplex.erasmusmc.nl/ (for eye color, see IrisPlex)	Contains all 6 IrisPlex DNA markers
SHEP 1, 2 (25)	Hair color	12 aSNPs	2x PCR+SBE+CE No	Snipper; N = 605; freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	AUC (12 DNA markers): – red 0.94 – blond 0.86 – black 0.84 – brown 0.64	The test assays contain additional DNA markers that are not included in the model; relatively small model data set
SHEP 1, 2, 4 (26)	Skin color	29 (10) aSNPs	3x PCR+SBE+CE No	Snipper; N = 118; freely available http://mathgene.usc.es/snipper/	AUC (10 DNA markers) – white 0.99 – black 0.97 – intermediate 0.80	The test assays contain addi- tional DNA markers that are not included in the model; small model data set
HlrisPlex-S (8, 27, 28)	Skin, hair, eye color	41 aSNPs	2x PCR+SBE+CE; or 1x targeted MPS Yes	HlrisPlex-S model for skin color; multinomial logistic regression; current version; N = 1423; freely available https://hirisplex.erasmusmc.nl/	Current version of HlrisPlex-S model for skin color (36 DNA markers). AUC; PPV; NPV: – very light 0.74; 0.40; 0.94 – light 0.72; 0.60; 0.72 – intermediate 0.73; 0.60; 0.73 – dark 0.88; 0.34; 0.98 – dark to black 0.96; 0.81; 0.99 https://hirisplex.erasmusmc.nl/ (for hair color, see HlrisPlex; for eye color, see IrisPlex)	Contains all 24 HlrisPlex DNA markers; higher test accuracy for skin color than SHEP 1, 2, 4 when tested on the same subjects (27)

Tab.2 Tratta da “The use of Forensic DNA Phenotyping in predicting appearance and Biogeographic Ancestry”, P.Schneider, B. Prainsack, M.Kayser

Lo sviluppo di qualsiasi modello statistico predittivo, basato su un modello di riferimento costituito da genotipi e fenotipi associati, è seguito dalla convalida statistica del modello stesso, che produce parametri di accuratezza del test. L'accuratezza del test riflette l'accuratezza media con cui un test del DNA può prevedere una particolare caratteristica esterna. Come raccomandato da Caliebe (89) le stime di accuratezza del test nella fenotipizzazione forense del DNA, piuttosto che per i test diagnostici medici, dovrebbero essere espresse in valori predittivi positivi e negativi (PPV e NPV). Le differenze nell'accuratezza dei test riflettono le differenze nel contenuto informativo e nel numero di marcatori del DNA impiegati nei test

del DNA utilizzati, così come nei dati di riferimento sottostanti utilizzati nei modelli statistici predittivi.

Come si evince dai valori di accuratezza dei test forniti nella tabella 1, i test del DNA e i modelli statistici attualmente disponibili permettono di prevedere alcune categorie di colore degli occhi, dei capelli e della pelle con maggiore precisione, in media, rispetto ad altre: gli occhi blu e marroni sono più accuratamente prevedibili(90) degli occhi che non sono né marroni né blu, i capelli rossi e neri più accuratamente dei capelli biondi e marroni, e i colori della pelle scura più accuratamente di quelli chiari.

Non sono ancora disponibili test forensi del DNA per la previsione più precisa del colore di occhi, capelli e pelle, né esiste un test simile per la variazione di colore dei capelli legata all'età.

Tuttavia, studi preliminari su topi, cavalli e uomini (91) (92) (93) suggeriscono che l'ingrigimento/sbiancamento dei capelli, almeno nella sua forma iniziale è principalmente sotto controllo genetico. Studi futuri potrebbero identificare predittori molecolari per i capelli bianchi/grigi, che in combinazione con predittori molecolari dell'età, potrebbero essere utili per applicazioni pratiche di DNA Phenotyping.

Hlris-Plex-S

Il sistema HlrisPlex-S (81) rappresenta attualmente il più completo strumento di previsione della pigmentazione basato sul DNA (94), consentendo la previsione simultanea del colore degli occhi, dei capelli e della pelle a partire dal DNA, compreso il DNA forense di bassa qualità e quantità, sulla base di 41 marcatori del DNA accuratamente selezionati e su tre modelli di previsione separati ed è quindi il primo sistema forense convalidato per la previsione simultanea dei tre parametri.

HlrisPlex-S rappresenta un'estensione del sistema IrisPlex precedentemente sviluppato per il colore degli occhi (70) e del precedente sistema HlrisPlex per la previsione del colore di occhi e capelli (71).

I test di genotipizzazione del sistema HlrisPlex-S disponibili sono basati sulla tecnologia SNaPshot di estensione di una singola base e sull'elettroforesi capillare (CE), oltre a due tecnologie di sequenziamento massivo parallelo (MPS) ampiamente diffuse: Ion Torrent e Illumina (87).

I modelli di previsione statistica sono quindi:

-IrisPlex che contiene una lista di 6 SNPS (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350 and rs12203592 dai geni HERC2, OCA2, SLC24A4, SLC45A2 (MATP), TYR e IRF4) informativi per la predizione del colore degli occhi, validato nel 2011 (70).

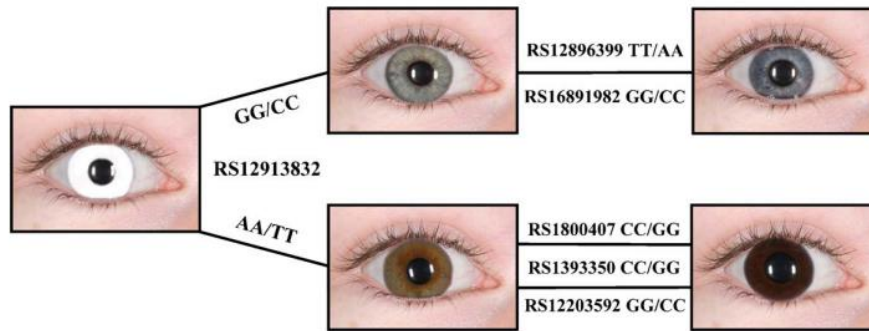


Fig.4 Modello ipotizzato per la determinazione genetica del colore degli occhi (70)

Gene	SNP	Allele	No. of Alleles
1 <i>HERC2</i>	rs12913832	T	0 1 2 NA
2 <i>OCA2</i>	rs1800407	A	0 1 2 NA
3 <i>LOC105370627</i>	rs12896399	T	0 1 2 NA
4 <i>SLC45A2</i>	rs16891982	C	0 1 2 NA
5 <i>TYR</i>	rs1393350	T	0 1 2 NA
6 <i>IRF4</i>	rs12203592	T	0 1 2 NA

Fig.5 Modello predittivo con i loci per ciascun gene, l'allele considerato e a fianco uno spazio interattivo dove inserire gli alleli genotipizzati (da irisplex.erasmusmc.nl.)

-HirisPlex che contiene 24 SNPs che includono i 6 SNPs per il colore degli occhi e i restanti 18 SNPs per quello dei capelli, validato nel 2013 (71).

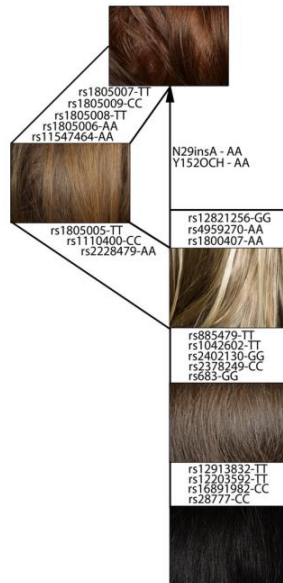



Fig.6 Modello ipotizzato per la determinazione genetica del colore dei capelli.(71)

Gene	SNP	Allele	No. of Alleles	
1	<i>MC1R</i>	rs312262906	A	0 1 2 NA
2	<i>MC1R</i>	rs11547464	A	0 1 2 NA
3	<i>MC1R</i>	rs885479	T	0 1 2 NA
4	<i>MC1R</i>	rs1805008	T	0 1 2 NA
5	<i>MC1R</i>	rs1805005	T	0 1 2 NA
6	<i>MC1R</i>	rs1805006	A	0 1 2 NA
7	<i>MC1R</i>	rs1805007	T	0 1 2 NA
8	<i>TUBB3</i>	rs1805009	C	0 1 2 NA
9	<i>MC1R</i>	rs201326893	A	0 1 2 NA
10	<i>MC1R</i>	rs2228479	A	0 1 2 NA
11	<i>MC1R</i>	rs1110400	C	0 1 2 NA
12	<i>SLC45A2</i>	rs28777	C	0 1 2 NA
13	<i>SLC45A2</i>	rs16891982	C	0 1 2 NA
14	<i>KITLG</i>	rs12821256	G	0 1 2 NA
15	<i>LOC105374875</i>	rs4959270	A	0 1 2 NA
16	<i>IRF4</i>	rs12203592	T	0 1 2 NA
17	<i>TYR</i>	rs1042602	T	0 1 2 NA
18	<i>OCA2</i>	rs1800407	A	0 1 2 NA
19	<i>SLC24A4</i>	rs2402130	G	0 1 2 NA
20	<i>HERC2</i>	rs12913832	T	0 1 2 NA
21	<i>PIGU</i>	rs2378249	C	0 1 2 NA
22	<i>LOC105370627</i>	rs12896399	T	0 1 2 NA
23	<i>TYR</i>	rs1393350	T	0 1 2 NA
24	<i>TYRP1</i>	rs683	G	0 1 2 NA

Fig.7 Modello predittivo con i loci per ciascun gene, l'allele considerato e a fianco uno spazio interattivo dove inserire gli alleli genotipizzati (da hirisplex.erasmusmc.nl.)

-HirisPlex-S che presenta 41 SNPs ovvero i 24 dell'Hirisplex e 17 nuovi SNPs specifici per il colore della pelle e validato nel 2018 (81).



	Gene	SNP	Allele	No. of Alleles
1	<i>MC1R</i>	rs312262906	A	0 1 2 NA
2	<i>MC1R</i>	rs11547464	A	0 1 2 NA
3	<i>MC1R</i>	rs885479	T	0 1 2 NA
4	<i>MC1R</i>	rs1805008	T	0 1 2 NA
5	<i>MC1R</i>	rs1805005	T	0 1 2 NA
6	<i>MC1R</i>	rs1805006	A	0 1 2 NA
7	<i>MC1R</i>	rs1805007	T	0 1 2 NA
8	<i>TUBB3</i>	rs1805009	C	0 1 2 NA
9	<i>MC1R</i>	rs201326893	A	0 1 2 NA
10	<i>MC1R</i>	rs2228479	A	0 1 2 NA
11	<i>MC1R</i>	rs1110400	C	0 1 2 NA
12	<i>SLC45A2</i>	rs28777	C	0 1 2 NA
13	<i>SLC45A2</i>	rs16891982	C	0 1 2 NA
14	<i>KITLG</i>	rs12821256	G	0 1 2 NA
15	<i>LOC105374875</i>	rs4959270	A	0 1 2 NA
16	<i>IRF4</i>	rs12203592	T	0 1 2 NA
17	<i>TYR</i>	rs1042602	T	0 1 2 NA
18	<i>OCA2</i>	rs1800407	A	0 1 2 NA
19	<i>SLC24A4</i>	rs2402130	G	0 1 2 NA
20	<i>HERC2</i>	rs12913832	T	0 1 2 NA
21	<i>PIGU</i>	rs2378249	C	0 1 2 NA
22	<i>LOC105370627</i>	rs12896399	T	0 1 2 NA
23	<i>TYR</i>	rs1393350	T	0 1 2 NA
24	<i>TYRP1</i>	rs683	G	0 1 2 NA
25	<i>ANKRD11</i>	rs3114908	T	0 1 2 NA
26	<i>OCA2</i>	rs1800414	C	0 1 2 NA
27	<i>BNC2</i>	rs10756819	G	0 1 2 NA
28	<i>HERC2</i>	rs2238289	C	0 1 2 NA
29	<i>SLC24A4</i>	rs17128291	C	0 1 2 NA
30	<i>HERC2</i>	rs6497292	C	0 1 2 NA
31	<i>HERC2</i>	rs1129038	G	0 1 2 NA
32	<i>HERC2</i>	rs1667394	C	0 1 2 NA
33	<i>TYR</i>	rs1126809	A	0 1 2 NA
34	<i>OCA2</i>	rs1470608	A	0 1 2 NA
35	<i>SLC24A5</i>	rs1426654	G	0 1 2 NA
36	<i>ASIP</i>	rs6119471	C	0 1 2 NA
37	<i>OCA2</i>	rs1545397	T	0 1 2 NA
38	<i>RALY</i>	rs6059655	T	0 1 2 NA
39	<i>OCA2</i>	rs12441727	A	0 1 2 NA
40	<i>MC1R</i>	rs3212355	A	0 1 2 NA
41	<i>DEF8</i>	rs8051733	C	0 1 2 NA

Fig.8 Modello predittivo con i loci per ciascun gene, l'allele considerato e a fianco uno spazio interattivo dove inserire gli alleli genotipizzati (da hirisplex.erasmusmc.nl.)

Inoltre, il Consorzio VISAGE ha recentemente incorporato i marcatori di DNA HirisPlex-S insieme a marcatori di DNA informativi sull'ascendenza continentale, per fungere da strumenti all-in-one per entrambe le piattaforme MPS separatamente. Tutti i sistemi disponibili per la genotipizzazione di IrisPlex, HirisPlex e HirisPlex-S sono stati validati dal punto di vista forense(87) (82) (83) . I tre modelli statistici di predizione, ossia il modello IrisPlex per il colore degli occhi, il modello HirisPlex per il colore dei capelli e il modello HirisPlex-S per la previsione del colore della pelle, sono tutti pubblicamente disponibili nelle loro versioni più recenti attraverso il sito web <https://hirisplex.erasmusmc.nl/>.

Questi strumenti di laboratorio e/o statistici sono già di rilevanza pratica per la predizione dei tratti di pigmentazione basati sul DNA in diverse applicazioni, come le indagini forensi, l'inferenza della storia umana (95) e la ricerca antropologica (136) e altre applicazioni sono attese in futuro.

DNA & LEGISLAZIONI

Ogni Nazione presenta una specifica legislazione sull' analisi, sull'utilizzo e sulla conservazione del DNA (vedasi capitolo 3 e 4).

Occorre tuttavia sottolineare che, in generale, la regolamentazione delle tecnologie forensi del DNA nel sistema di giustizia penale si è storicamente basato sull'idea che il DNA può essere diviso in regioni codificanti e non codificanti. Allo stesso modo è stato assunto che, poiché solo le sezioni di DNA all'interno della regione codificante possono fornire informazioni sulle caratteristiche osservabili di un individuo, era meno eticamente problematico condurre analisi del DNA a fini forensi utilizzando marcatori genetici non codificanti.

Le regioni codificanti del DNA sono le sequenze che codificano per le proteine, ad esempio gli esoni. La codifica di tale DNA trascrive e si traduce in proteine e possono quindi fornire informazioni sul fenotipo di un individuo e si stima che tali regioni corrispondano soltanto all' 1,5 % del genoma umano.

Le regioni non codificanti del DNA, che costituiscono il 98% del genoma, sono tutte quelle regioni che non codificano per le proteine, ad esempio gli introni, ma svolgono comunque funzioni fondamentali specie per quanto riguarda la regolazione.

Si riteneva che il DNA non codificante di un individuo non fornisse informazioni sul fenotipo di un soggetto ed è stato quindi considerato eticamente meno problematico per cui durante lo sviluppo delle tecnologie di profilazione del DNA, questa distinzione codificante/non codificante ha costituito un "confine etico".

Tuttavia, la ricerca condotta negli ultimi dieci anni circa ha dimostrato chiaramente che esistono informazioni codificanti nelle regioni definite "non codificanti" (11) in particolare tramite la regolamentazione. Tali regolatori del DNA interagiscono con i geni per attivarli o disattivarli e pertanto, per l'espressione di un gene, sono di importanza simile alle varianti codificanti.

L'evidenza scientifica negli anni ha dimostrato che una parte considerevole della funzione genica è fornita dagli elementi regolatori del DNA e non solo dalle regioni codificanti del DNA, come ritenuto in passato.

Per cui la distinzione codificante-non codificante nella scelta etica dell'utilizzo della fenotipizzazione è considerata anacronistica da molti studiosi.

CAPITOLO 2

LE PROBLEMATICHE ETICHE

L'Etica riveste un ruolo fondamentale nella possibilità di utilizzo delle varie tecniche forensi ed è “una deliberazione sul tipo di società che vogliamo, su ciò a cui diamo valore e su ciò che consideriamo una interferenza proporzionata degli attori potenti (esempio lo Stato) nella sfera degli attori meno potenti (la maggior parte dei cittadini)” (6).

Le tecnologie forensi non sono soltanto veicoli materiali di progresso, ma “sono un conglomerato sfaccettato di pratiche scientifiche, sociali ed etiche”(96) per cui devono rispettare i principi etici e ciò vale ovviamente anche per il DNA Phenotyping.

Uno scenario simile (97) si creò alla fine degli anni 80' con l'introduzione dell'analisi del DNA a scopo forense che aprì un dibattito dal punto di vista etico perché governanti e forze dell'ordine l' hanno considerata una prova fondamentale per le indagini (98) e ciò ha contribuito ad un ricorso sempre crescente dell'analisi del DNA.

Tuttavia, il rapporto tra Legge e Scienza è stato “problematico”³ in quanto la scienza ha il potere di cambiare il “rapporto fondamentale tra cittadino e Stato”⁴.

Lo Stato di diritto è il presupposto in un Paese esistano regole definite, che disciplinano e limitano l'esercizio del potere da parte dello Stato e regolano gli affari dei cittadini (99). Lo Stato di diritto richiede che l'ordinamento giuridico rispetti requisiti minimi di certezza ed uguaglianza, presupponendo un equilibrio tra potere statale e libertà individuale come diritto fondamentale (100).

Il continuo aumento del ricorso all'analisi del DNA riflette una tendenza per la scienza e la tecnologia ad assumere un ruolo sempre più importante nel sistema della giustizia penale, che sposta gli equilibri tra potere statale e libertà individuale come diritto fondamentale. Secondo Corns, l'importanza crescente della scienza e della tecnologia nel sistema giudiziario equivale a uno scorrimento funzionale che causa la perdita delle

³ C.Corns , Dna is watching ,Arena 92 ,1990, 26-28

⁴ C.Corns The Justice of science and the science of justice, Law Context Socio-Leg J. 1992, 7-28

libertà civili, «in particolare attraverso nuovi poteri di polizia, [che] si è verificato praticamente senza sfida o domanda»⁵ .

Uno dei principali motivi che frenano l'utilizzo del DNA Phenotyping a scopi forensi è quindi legato alle numerose problematiche etiche ad esso connesse.

Come sancito dall'articolo 16 della Dichiarazione Universale del Genoma Umano e dei Diritti Umani (79) “Gli Stati dovrebbero prendere atto dell'interesse di promuovere, ai vari livelli appropriati, la creazione di comitati etici indipendenti, pluridisciplinari e pluralisti, incaricati di valutare le questioni etiche, giuridiche e sociali sollevate dalle ricerche sul genoma umano e dalle loro applicazioni” e “deve essere garantito il principio di proporzionalità secondo cui l'entità dell'ingerenza nei diritti fondamentali comportata da un provvedimento coercitivo deve corrispondere alla gravità del reato per cui la metodica può essere impiegata”.

Le problematiche etiche principali riguardano:

- La discriminazione
- L' eccessiva affidabilità riposta nella Fenotipizzazione
- La Privacy
- Le metodiche di archiviazione e di protezione dei dati
- I costi
- I Bias
- Gli usi impropri della tecnologia
- Possibilità di condanna dopo assoluzione

Occorre tuttavia sottolineare che tali problematiche etiche non riguardano solo la tecnica della Fenotipizzazione del DNA, ma più in generale l'utilizzo della tecnologia in ambito forense (101).

Una analisi etica dell'uso della tecnologia del DNA dovrebbe in generale coprire più che la semplice privacy e le preoccupazioni di riservatezza e andare oltre le questioni di stigmatizzazione e discriminazione, per valutare i principi sottostanti del rispetto delle persone e della giustizia.⁶

⁶ J.d. Watson, A.Berry, K.Davies, DNA: The story of the genetic revolution, Second, Alfred A.Knopf, New York, 2017

DISCRIMINAZIONE

La problematica etica principale è sicuramente quella legata alla discriminazione.

L'articolo 6 della Dichiarazione Universale sul Genoma Umano e i Diritti Umani sancisce che “Nessuno deve essere oggetto di discriminazione basata sulle proprie caratteristiche genetiche, che abbiano per oggetto o per effetto quello di ledere i diritti individuali, le libertà fondamentali ed il riconoscimento della propria dignità. “

In Europa il diritto alla non discriminazione è considerato un diritto fondamentale in quanto “influenza il godimento di tutti gli altri diritti umani”⁷ e un non corretto utilizzo del DNA Phenotyping può contribuire ad acuire le discriminazioni razziali (102), legate soprattutto ad uno dei parametri forniti, ovvero la discendenza biogeografica.

Occorre precisare tuttavia che la discendenza biogeografica non corrisponde in alcun modo a concetti come origine etnica o addirittura “razza”, in quanto queste sono modellate da una moltitudine di fattori, non solo genetici, ma riguarda esclusivamente la regione geografica da cui provengono gli antenati della persona fenotipizzata.

Il DNA Phenotyping, infatti, può fornire informazioni inerenti alla discendenza biogeografica della persona coinvolta con lo studio dei numerosi geni espressi nelle differenti aree del globo. L'accuratezza è molto alta per le differenze transcontinentali, meno alta per le differenze infracontinentali, per una maggiore analogia tra le varie sequenze e tale differenza genera un grande problema nell' applicazione della Fenotipizzazione nel continente Europeo.

Data la ridotta efficacia nell' individuare le differenze infracontinentali, l'utilizzo del DNA Phenotyping servirebbe principalmente a distinguere la popolazione Europea, nettamente maggiore in Europa, dalla popolazione non europea residente in Europa, numericamente molto inferiore: di fatto gli

⁷ Agenzia dell'Unione Europea per i Diritti Fondamentali 2018

individui che appartengono alla maggioranza sono troppo numerosi per essere indagati, a differenza delle popolazioni minoritarie(103) (tant'è che i critici parlano di "profilazione razziale" (104) o addirittura di "reificazione delle razze" (105)).

Ciò porterebbe ad una maggiore discriminazione delle minoranze(106) in un ambiente che già presenta di per sé discriminazioni e pregiudizi (107) e di conseguenza condurrebbe ad un peggioramento delle relazioni comunitarie : un esempio può essere fornito dal particolare caso del " Fantasma di Heilbronn"(108).

Era stato individuato del materiale genetico di una donna dell'Est Europa nei campioni prelevati in circa quaranta crimini sparsi in Europa. Nacquero dei movimenti razzisti anti-Sinti nelle zone teatro di alcuni di questi crimini, salvo poi scoprire che il DNA semplicemente apparteneva ad una donna polacca che lavorava in laboratorio ed inavvertitamente aveva contaminato i campioni.

L'utilizzo del parametro dell'origine biogeografica, in quanto maggiore responsabile della discriminazione, è quindi fortemente dibattuto: tuttavia nell' ottica di valutazione rischi/benefici tale parametro è molto utile per individuare un criminale per cui è auspicabile utilizzarlo.

Occorre tuttavia sottolineare che non sussiste una semplice relazione tra la presenza/assenza di un particolare tratto genetico e discriminazione dei gruppi minoritari, perché gli individui che hanno tratti poco frequenti non sono sempre discriminati (per esempio, gli individui con i capelli rossi). In ogni caso, il razzismo strutturale, i pregiudizi impliciti contro alcune minoranze presenti in molte società portano a concludere che occorre prestare particolare attenzione per garantire che le nuove tecnologie non siano usate in modo discriminatorio⁸.

Onde evitare o almeno per ridurre tale rischio è necessaria la stesura di linee guida internazionali, una profonda educazione di chi utilizza tali dati (forze dell'ordine) e di chi li diffonde (mass media) escludendoli al grande pubblico onde evitare "la stigmatizzazione di intere popolazioni"(109) e

ricordare che il DNA Phenotyping non è una “infallibile macchina della verità” (110), ma deve essere impiegato insieme ad altri strumenti ⁹.

⁹ M.Kopec, A new use of Race , The evidence of Ethics of Forensic DNA Ancestry Profiling, Journal of Applied Philosophy 31, 237-253

PRIVACY

La giustizia penale protegge e promuove alcuni diritti pubblici (per esempio la sicurezza), ma può anche entrare in conflitto con altri diritti pubblici, come la privacy, intesa come “il diritto alla riservatezza delle informazioni personali e della propria vita privata”¹⁰.

Problematiche inerenti alla privacy iniziarono di pari passo con l'utilizzo del DNA standard a scopi forensi, come sottolineato dal rapporto del 1992 del National Research Council e ciò vale ancor di più per il DNA Phenotyping (6).

La tutela della privacy in Europa è molto sentita tant'è che vi è uno specifico regolamento, il Regolamento Europeo Privacy o GDPR, entrato in vigore il 25 maggio 2016 e i cui punti salienti sono:

- “La protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati di carattere personale è un diritto fondamentale(...); ogni persona ha diritto alla protezione dei dati di carattere personale che la riguardano.”

- “I principi e le norme a tutela delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati di carattere personale (“dati personali”) dovrebbero rispettarne i diritti e le libertà fondamentali, in particolare il diritto alla protezione dei dati personali, a prescindere dalla loro nazionalità o dalla loro residenza. “

Disposizioni simili si possono individuare nell'articolo 24 della Direttiva di Polizia che afferma “Nei dati personali relativi alla salute dovrebbero rientrare tutti i dati riguardanti lo stato di salute dell'interessato che rivelino informazioni connesse allo stato di salute fisica o mentale passata, presente o futura dello stesso. Questi comprendono le informazioni sulla persona fisica raccolte nel corso della sua registrazione al fine di ricevere servizi di assistenza sanitaria o della relativa prestazione di cui alla direttiva 2011/24/UE del Parlamento europeo e del Consiglio ; un numero, un simbolo o un elemento specifico attribuito a una persona fisica per

¹⁰ Dlgs 196/2003 “Codice in materia di protezione dei dati personali”

identificarla in modo univoco a fini sanitari; le informazioni risultanti da esami e controlli effettuati su una parte del corpo o una sostanza organica, compresi i dati genetici e i campioni biologici; e qualsiasi informazione riguardante, ad esempio, una malattia, una disabilità, il rischio di malattie, l'anamnesi medica, i trattamenti clinici o lo stato fisiologico o biomedico dell'interessato, indipendentemente dalla fonte, quale, ad esempio, un medico o altro operatore sanitario, un ospedale, un dispositivo medico o un test diagnostico.“

La Fenotipizzazione rischia di violare la privacy in quanto è in grado di ottenere informazioni personali o addirittura informazioni di cui la persona coinvolta non è ancora a conoscenza: infatti lo studio dei polimorfismi può fornire notizie su malattie non ancora manifestatesi clinicamente (ad esempio lo studio del genoma inerente alla pelle può fornire previsioni sulla presenza del melanoma (111) (112) (113) (114) (115) (116) (64)) o sulla predisposizione genetica a determinati comportamenti (ad esempio la tendenza alla violenza)¹¹.

Da ciò scaturisce il problema etico dell'utilizzo del DNA Phenotyping, visto il rischio di violare la privacy e di conseguenza la possibilità di ledere “il diritto a non sapere” di ogni individuo e per evitare di ledere tale diritto la Fenotipizzazione dovrebbe prevedere una maggiore cautela nella gestione dei polimorfismi inerenti alla malattia.

Va comunque sottolineato che da un recente studio(24) si è visto che solo l'1,5 % degli SNP usati per il DNA Phenotyping fornisce informazioni sullo stato di salute quindi il problema pare essere circoscritto.

Gli altri tratti del DNA invece devono essere utilizzati perché possono fornire un aiuto alle indagini e perché i tratti dell'aspetto che fornisce tale “testimone biologico” sono gli stessi che fornisce un testimone oculare e che quindi possono essere noti a tutti i presenti, senza dunque ledere il diritto alla privacy (5).

¹¹ C.C.S. De Cerqueira, V. Ramallo, T.Hunemeier, S. De Azevedo, M. Quinto -Sanchez, C. Paschetta, C.Cintas et al 2016, Predicting Physical Features and Diseases by DNA Analysis: Current Advances and Future Challenges , Journal of Forensic Research 7

Nella diatriba Privacy - Fenotipizzazione vanno menzionate anche alcune teorie a sostegno di quest'ultima.

La prima è che secondo alcuni studiosi il DNA lasciato sulla scena del crimine è "Res nullius" (117) cioè che non appartiene a nessuno e pertanto "nessuno possiede il diritto a non sapere". Tale teoria non è accettata da tutti.

La seconda è che per alcune Nazioni il diritto a non sapere non è assoluto, ma è relativo in quanto nei crimini gravi l'interesse pubblico prevale sul diritto a non sapere del sospettato, per cui tali dati possono essere utilizzati. L'approccio è quindi differente nei vari Paesi.

Ad esempio, la Legislazione Olandese considera il diritto a non sapere assoluto; mentre il Texas non considera tale diritto assoluto ed infatti la sua legislazione afferma che "il Database del DNA è finalizzato all'indagine su un reato, all'esclusione o all'identificazione di sospetti e al perseguimento del reo." Quindi, in base a questa norma, un agente delle forze dell'ordine è libero di raccogliere caratteristiche fisiche e potenziali informazioni sullo stato di salute per utilizzare questi dati ai fini dell'accusa di un individuo.

La soluzione più equilibrata (102) perché rispetta sia la libertà che il diritto a non sapere di ogni individuo consiste nel lasciare la scelta al sospettato se voler venire a conoscenza delle informazioni ricavate dal proprio materiale genetico, come sancito dall' articolo 5 della Dichiarazione Universale sul Genoma Umano: "Il diritto di ognuno di decidere di essere informato o meno dei risultati di un esame genetico e delle sue conseguenze dovrebbe essere rispettato. "

ECCESSIVA AFFIDABILITA'

Un limite da cui scaturisce una ulteriore implicazione etica nell'utilizzo del DNA Phenotyping risiede nell' eccessiva affidabilità e nelle eccessive aspettative che in esso vengono riposte ¹² e tale percezione di "infallibilità" può portare a un'eccessiva fiducia nella prova del DNA che può contribuire a condanne errate o ad errori giudiziari (118): infatti non tutte le prove infatti sono considerate della stessa rilevanza tant'è che Hocking (119) ha sottolineato che a volte, erroneamente, per la giuria "scientifico" equivale a "corretto".

Le prove ottenute tramite genetica sono, anche socialmente, considerate molto più attendibili delle prove ricavate in altro modo. Tale effetto prende nome di "Effetto CSI" (120), intendendo quel fenomeno conseguente alla diffusione di alcune serie televisive di successo che ha cambiato la percezione che la gente comune ha della Medicina Forense attribuendole una maggiore affidabilità rispetto alle prove genetiche.

Un testimone oculare è, socialmente, considerato molto meno attendibile di una prova genetica¹³, specie del DNA Phenotyping, che in analogia viene definito anche "testimone biologico" a cui invece si conferisce estrema affidabilità.

Tuttavia, come già accennato, ciò è errato in quanto la Fenotipizzazione ha un limite intrinseco che è quello di fornire un risultato in termini probabilistici e non in termini di certezza e non deve quindi essere confusa con la corrispondenza del DNA che è in grado di fornire risultati univoci e che quindi rimane il Gold Standard per la risoluzione dei crimini.

Il DNA Phenotyping, quindi, deve essere usato solo in caso di impossibilità di utilizzo del DNA tradizionale, ma questa differenza di

¹² J. Stanley 2018, Forensic DNA Phenotyping American Civil Liberties Union

¹³ B. Prainsack 2009 book review Truth Machine : The contentious history of DNA fingerprinting by M.Lynch , S.A. Cole, R. McNally and K.Jordan Chicago Critical Policy Student

efficacia non è nota a tutti, inquirenti inclusi, conferendo quindi una erronea eccessiva affidabilità.

Una ulteriore complicità di questa eccessiva fiducia verso il Phenotyping è la possibilità che si creino false piste¹⁴ che si basano solo sul risultato ottenuto dall' analisi di tale tecnica e portano ad indagare individui che poi si rivelano completamente estranei ai fatti e comportano eccessivo dispendio di tempo e di energie e creano una falsa speranza nella popolazione con il rischio che si riducano le aspettative sulle Forze dell'Ordine.

L'eccessiva affidabilità va inoltre ad acuire il problema già citato delle discriminazioni, infatti oltre a quella razziale, già analizzata vi è anche la discriminazione personale: un individuo totalmente estraneo ai fatti risultato un possibile sospetto al DNA Phenotyping (ma successivamente smentito dalla prova del DNA) potrebbe esser visto come colpevole dalla società e quindi discriminato, con tutte le complicità sociali, familiari e psicologiche del caso.

L' eccessiva affidabilità si registra particolarmente nei crimini verificatisi molti anni prima dove difficilmente si dispone di materiali e/o testimoni sufficienti su cui poter indagare per cui si rischia di dar troppo peso alla Fenotipizzazione, trascurando il suo aspetto probabilistico.

Inoltre occorre ricordare (97) che si può verificare un falso positivo a causa di un errore nella raccolta del campione, nella sua manipolazione, in un'errata interpretazione del risultato del test o in un errata stesura dei risultati: questo porta alla possibilità di condannare erroneamente dei sospetti in realtà estranei ai fatti (121).

Per scongiurare questi rischi è necessario che: i test utilizzati per l'individuazione dei vari parametri siano più affidabili possibili ¹⁵ (122); che i dati non siano forniti direttamente alle Forze di Polizia, ma che siano prima validati da uno scienziato esperto nel DNA forense, che a sua volta informi

¹⁴ M.Gannon Amazing DNA Tool Gives Cops a New Way to Crack Cold Cases: DNA Phenotyping can produce a sketch of the suspect . But is ready for primetime?

¹⁵ V.Greenwood 2016, How Science is Putting a New Face on Crime Solving, National Geographic

le forze di Polizia; che ci sia una educazione¹⁶ sia nella popolazione generale che negli organi di Polizia nell' interpretazione dei dati forniti; che ci sia una corretta divulgazione dei dati ed infine che il DNA Phenotyping sia sempre usato insieme ad altri strumenti di indagine.

Per una corretta divulgazione, il VISAGE suggerisce di non comunicare i risultati della Fenotipizzazione al pubblico attraverso i media, a meno che (a) non ci siano prove sostanziali per corroborarle, o (b) quando la comunicazione dei risultati al pubblico è necessaria affinché la misura abbia successo (per esempio, uno screening volontario del DNA). Nel caso in cui i risultati siano comunicati al pubblico, gli agenti delle forze dell'ordine dovrebbero dichiarare pubblicamente che i risultati sono basati su informazioni probabilistiche dal DNA e di considerare attentamente come formulare i risultati per minimizzare il rischio di stigmatizzare le minoranze e altri gruppi. Infine, in nessun caso le immagini del probabile aspetto fisico dei colpevoli basate su prove di Fenotipizzazione dovrebbero essere diffuse al pubblico.

¹⁶ N.Scudder, D.McNevin, S.F: Keity, S.J.Walsh and J.Robertson 2018 Forensic DNA Phenotyping : DEveloping a model pr ivity impact assessment

ARCHIVIAZIONE E PROTEZIONE DEI DATI

Il DNA Phenotyping, e la Genetica Forense più in generale, oltre che nell'utilizzo dei dati presentano problematiche nella loro conservazione tant'è che sono state sollevate(123) numerose critiche su violazioni dei diritti umani quali il diritto alla privacy, alla dignità dell'individuo, all'integrità fisica, la presunzione di innocenza e il diritto alla libertà.

La necessità di una corretta e sicura archiviazione dei dati è particolarmente sentita in Europa, come sancito dall'articolo 7 della Dichiarazione Universale sul Genoma Umano e i Diritti Umani:

“La confidenzialità dei dati genetici associati ad una persona identificabile, conservati o trattati a scopo di ricerca o altro, deve essere protetta nelle condizioni previste dalla legge “.

Una non corretta archiviazione di tali dati potrebbe violare la privacy degli individui coinvolti se divenissero pubblici e acuire le discriminazioni, quindi, è necessario che tali dati considerati più sensibili di altri (tanto che si parla di “eccezionalismo genetico”¹⁷), siano conservati nella maniera opportuna.

È auspicabile che vengano rispettati alcuni valori etici nella conservazione dei dati: responsabilità, trasparenza, giustizia, affidabilità e minimizzazione del rischio.¹⁸ A tale scopo sono stati proposti dal VISAGE quattro metodi differenti di conservazione dei dati

- mantenere i dati genetici nel laboratorio dove vengono analizzati
- conservare la descrizione narrativa estrapolata dai dati nel laboratorio dove sono stati analizzati
- mantenere i dati genetici in un Database centrale controllato dalle Forze di Polizia

¹⁷ T. Weichert 2017 Genetische Forensik und Datenschutz , Zeitschrift für Bürgerrechte und Gesellschaftspolitik , Journal of Civil Rights and Social Policy 123-124

¹⁸ A. Ballantyne 2018 Where is the human in the data ? A guide to ethical data use. GigaScience 7

- mantenere la descrizione narrativa estrapolata dai dati in un Database controllato dalle Forze dell'Ordine.

È preferita la conservazione in Database controllati dalle Forze di Polizia in quanto si presume che siano sottoposti a controlli più rigidi rispetto ai laboratori sebbene ogni Nazione presenti una modalità di conservazione differente.

A prescindere dalla modalità, il VISAGE afferma che deve essere rispettato il maggior rigore possibile: i dati devono essere conservati crittografati, in una stanza chiusa a cui solo pochi addetti ai lavori hanno accesso, deve essere proibita la riproduzione e si deve garantire uno stretto controllo da parte delle forze dell'ordine.

Questo viene ribadito anche dall'articolo 7 delle Dichiarazione del Genoma Umano e dei Diritti Umani che all'articolo 13 sostiene: “Le responsabilità inerenti alle attività dei ricercatori, in special modo il rigore, la prudenza, l'onestà intellettuale e l'integrità nel condurre le ricerche come pure nella presentazione e nell'uso dei risultati, dovrebbero essere oggetto di attenzione particolare nel quadro delle ricerche sul genoma umano, tenuto conto delle loro implicazioni etiche e sociali. “

Il mantenimento di tali dati è necessario a fini forensi, ma è anche utile a fini di ricerca e per migliorare i calcoli di verosimiglianza.

Una volta che il dato contenuto nel database si rivela utile nel risolvere un crimine, si è ipotizzato di poterlo distruggere per minimizzare il rischio di violazione di privacy; se invece i casi giudiziari rimangono aperti i dati devono essere conservati per tempistiche differenti in base alle leggi dei singoli Paesi.

Resta aperto il dibattito invece su come e se conservare i dati genetici di un individuo rivelatosi poi innocente.

Il caso emblematico per ora rimane il caso “S and Marper r vs United Kingdom”¹⁹: la Corte Europea dei diritti dell'uomo ha ritenuto che la detenzione di campioni di DNA di individui arrestati ma successivamente

¹⁹ Corte EDU, sentenza S. e Marper contro Regno Unito del 4 dicembre 2008,

assolti, o che le accuse contro di loro vengono ritirate, costituisce una violazione del diritto di privacy ai sensi della Convenzione europea (art.8)²⁰ dei diritti dell'uomo.

In questo specifico caso la Corte Europea ha affermato che “La natura generalizzata e indiscriminata dei poteri di ritenzione delle impronte digitali, dei campioni cellulari e dei profili del DNA di persone sospettate ma non condannate per reati, non riesce a trovare un giusto equilibrio tra gli interessi pubblici e privati concorrenti. Di conseguenza, il mantenimento ha costituito un’ingerenza sproporzionata con il diritto dei ricorrenti al rispetto della vita privata e non può essere considerato necessario in una società democratica.”

Analogamente²¹ in Francia per la sentenza “Aycaguer contro la Francia”: la Corte europea dei diritti dell’uomo²² ha contestato il disciplinamento francese perché il regime attuale di conservazione dei profili del DNA nel registro FNAEG non offre una protezione sufficiente all’interessato, sia per la durata di conservazione sia per l’assenza di possibilità di cancellazione.

Il VISAGE consiglia che il software deve essere eseguito solo su computer non collegati a Internet e che dovrebbe memorizzare solo le informazioni essenziali per la garanzia della qualità, la documentazione e la previsione durante l’analisi (principio di minimizzazione dei dati).

Sono comunque necessarie delle linee guida internazionali per stabilire le modalità più sicure per la conservazione dei dati e che siano comunque garantite necessità e proporzionalità per bilanciare il valore della conservazione del DNA da parte dello Stato, come strumento di indagine sul crimine contro la “natura incredibilmente intima del materiale che rivela così tanto più dell’identità della persona profilata.” (124)

²⁰ Articolo 8 Della Convenzione Europea dei Diritti dell’uomo:

²¹ Modifica della legge sui profili del DNA (Attuazione della mozione 15.4150 Vitali «Nessuna protezione per gli assassini e gli stupratori» e del postulato 16.3003 della Commissione degli affari giuridici del Consiglio nazionale «Analisi dei termini di conservazione dei profili del DNA»)

²² Corte EDU, sentenza Aycaguer contro Francia del 22 giugno 2017

ANALOGIE E DIFFERENZE CON IL TESTIMONE OCULARE

Nello svolgimento delle indagini vengono utilizzati numerosi strumenti, tra cui i testimoni oculari definiti come le “le persone che si presume siano a conoscenza di fatti rilevanti, ai quali hanno assistito di persona, ai fini di una causa giudiziaria”.

Da tempo i testimoni oculari hanno un ruolo importante nella risoluzione dei crimini: sono in grado di fornire una descrizione, più o meno dettagliata, delle caratteristiche fisiche del sospettato (quali altezza indicativa, età indicativa, colore e taglio dei capelli, colore degli occhi ...) che possono essere utilizzate dalle Forze di Polizia.

Per analogia quindi il Dna Phenotyping viene definito anche “Testimone Biologico” (7) perché grazie al materiale genetico è in grado di predire le caratteristiche fisiche della persona ricercata in misura maggiore e più precisa (125) e perché poggia su metodi scientifici e quindi verificabili.

Entrambe le tipologie di testimoni non sono però affidabili al 100%: il testimone oculare(126) potrebbe fornire una errata descrizione intenzionalmente o meno, seppur in base a pregiudizi inconsci, errata visualizzazione o soggettività della percezione (non è raro, infatti, che due differenti testimoni oculari di uno stesso crimine descrivano il sospettato in maniera diversa); la Fenotipizzazione anche non ha massima affidabilità in quanto fornisce risultati in termini probabilistici e non univoci.

Tuttavia, va sottolineato che mentre il testimone oculare ha una percentuale di errore non nota, la percentuale di errore della fenotipizzazione è nota sin dall’inizio.

Un ulteriore differenza tra le due tipologie di testimonianze è che il testimone oculare può essere interrogato più volte ²³, mentre l'analisi del DNA Phenotyping fornisce un'unica risposta.

²³ J.G.Cino, 2017 Tackling Technical debt: Managing advances in DNA technology that outpace the evolution of law AM.Crim:L. Rev

Infine il testimone oculare può dare informazioni ulteriori quali l'abbigliamento, ma soprattutto può indicare la presenza e/o la sede di cicatrici e tatuaggi (127), particolarmente utili in quanto molto personali e che non possono essere ovviamente individuate tramite Fenotipizzazione.

Per queste differenze e limiti ambedue le metodiche possono avere un ruolo nella risoluzione del crimine, specie se le descrizioni del testimone oculare e del DNA Phenotyping corrispondono.

Sebbene ci siano delle differenze tra i testimoni oculari e "il testimone biologico", sono presenti anche numerose analogie il che giustificherebbe, almeno secondo Kayser, l'utilizzo della Fenotipizzazione anche da un punto di vista etico in quanto il testimone oculare è eticamente accettato(7), ma non tutti concordano con tale visione: secondo altri studiosi infatti si conferisce troppa importanza al DNA Phenotyping che a differenza dei testimoni oculari (la cui importanza nel sistema giudiziario è nota da tempo)(128), non ha una efficacia ancora ben definita.

In definitiva per le differenze precedentemente citate il VISAGE consiglia che le forze dell'ordine non trattino il DNA Phenotyping analogamente alla testimonianza oculare (cioè un "testimone oculare biologico") o a qualsiasi altro tipo di prova, ma piuttosto considerino la tecnologia come uno strumento a sé stante, che deve essere valutato in base a criteri scientifici indipendenti.

BIAS

L'Accademia Nazionale delle Scienze degli USA (129) ha discusso “le potenziali distorsioni ed errori nell'osservazione umana “ ed ha osservato che l' interpretazione umana potrebbe essere significativamente “contaminata dall'errore o dalla minaccia di bias “.

Il DNA Phenotyping, allo stato dell'arte, presenta varie possibilità di errore.

In primis come ribadito più volte tale tecnica non è di certezza bensì probabilistica: è quindi necessario che, per poter comunicare i risultati alle forze dell'ordine, sia presente un alto valore predittivo, ma sussiste il problema che non è presente un valore soglia per poter definire il valore predittivo “alto”. Esiste una ricca letteratura sulla comunicazione dell'incertezza/ rischio (130) ma che si concentra più sul *come* comunicare piuttosto che sul *quando*.

In secundis il risultato dipende dai set di markers utilizzati (90) in quanto gli algoritmi infatti sono stati addestrati su determinati set che spesso sono differenti tra le varie nazioni e spesso anche tra i vari laboratori in una stessa nazione: questo fornisce un ulteriore bias in quanto erroneamente gli algoritmi vengono considerate come “macchine della verità”, mentre in realtà dipendono dai dati con i quali sono stati addestrati (131).

Inoltre, tali set di markers spesso non sono omogenei in quanto non tutte le popolazioni sono rappresentate allo stesso modo nei vari set.

Ne consegue che alcune popolazioni sono sottorappresentate nei set e quindi meno probabilmente indagate e altre invece sono più rappresentate nei set e quindi maggiormente indagate. Questo è un ulteriore bias che contribuisce alla discriminazione di determinate popolazioni (132).

Discriminazione che si può verificare (102) anche nei casi in cui una popolazione abbia una determinata caratteristica più facilmente identificabile, dal punto di vista genetico, rispetto alla popolazione che non

presenta tale caratteristica, problematica che non si pone con il testimone oculare che hanno la stessa capacità di descrivere ogni tratto.

Un altro bias è costituito dalla possibile presenza di un campione misto ovvero di diversi campioni biologici di persone sconosciute in quantità sconosciute, il che aumenta la probabilità che un sospetto non possa essere escluso dalla corrispondenza fornendo, quindi, una ulteriore ridotta affidabilità, spesso sottovalutata, come nel caso (133) R v Berry, R v Wenitong (2007), in cui gli imputati sono stati giudicati colpevoli di omicidio di un compagno di prigionia. Parte della prova contro di loro era un calzino contenente un campione di DNA misto di almeno quattro persone sconosciute. Entrambi gli imputati si sono appellati contro l'ammissione del DNA prelevato dal calzino, ma la Corte d'Appello ha accettato l'analisi soggettiva del perito, ammettendo la prova.

Per ridurre queste possibilità di errore è necessario stabilire delle linee guida sui set dei marker da utilizzare e che tutte le popolazioni siano rappresentate allo stesso modo : il VISAGE a tal riguardo consiglia che la Fenotipizzazione dovrebbe essere consentita solo per quei test fenotipici del DNA che sono stati tecnicamente e scientificamente convalidati e che l'istruzione e l'addestramento specifici del contesto per interpretarne i risultati dovrebbero essere forniti a tutti gli agenti delle forze dell'ordine e/o ad altri agenti che trattano casi di persone non identificate.

USO IMPROPRIO DELLA TECNOLOGIA

Un ulteriore problema nell'utilizzo della tecnica del DNA Phenotyping consiste nell'uso improprio della tecnologia, cioè un utilizzo non necessariamente illegale, ma eticamente o politicamente scorretto.

In caso di uso improprio della tecnologia si potrebbe minare la privacy della popolazione generale: per evitare ciò deve essere rispettato il principio di proporzionalità²⁴ secondo cui l'entità dell'ingerenza nei diritti fondamentali comportata da un provvedimento coercitivo deve corrispondere alla gravità del reato per cui la tecnica può essere impiegata mentre per gran parte dei reati la lesione del bene giuridico non è tale da giustificare il ricorso alla fenotipizzazione.

Per questa motivazione in caso di reati minimi la Fenotipizzazione non dovrebbe essere usata, in quanto la bilancia rischi/benefici penderebbe a favore dei rischi mentre deve essere utilizzata in caso di reati gravi e non altrimenti risolvibili laddove la bilancia rischi/benefici penderebbe a favore dei benefici.

Va altresì specificato che accuse simili di uso improprio della tecnologia furono mosse in maniera analoga nel dibattito sull'introduzione delle telecamere a circuito chiuso negli edifici e nelle strade. A distanza di anni, tuttavia, come sottolinea il VISAGE, è noto a tutti che tali telecamere abbiano avuto un ruolo importante nella sicurezza, sia come deterrente, sia per individuare i responsabili dei crimini.

Per uso improprio della tecnologia, inoltre, si intende sia la possibilità che i dati personali siano ceduti a privati che potrebbero utilizzarli a proprio piacimento e vantaggio sia la minaccia che il DNA Phenotyping possa essere usato come strumento di sorveglianza politica, che minerebbe la sacrosanta libertà di pensiero della popolazione.

Infine, per uso improprio si può intendere anche una condotta illegale: ricordiamo che durante un processo penale è fondamentale determinare se

²⁴ Trattato sull'Unione Europea, articolo 5

le prove sono ammissibili in tribunale. Se un'analisi genetica è stata condotta illegalmente questo può inficiarne l'ammissibilità. Gli avvocati della difesa dovrebbero avere il potere di chiedere l'esclusione delle prove di Fenotipizzazione ottenute senza una giusta procedura, anche se il sospetto colpevole è stato arrestato e la sua identità è stata verificata. Questo avrà anche l'effetto di assicurare che le forze dell'ordine e i procuratori mantengano il giusto processo per quanto riguarda il trattamento delle Fenotipizzazione.

In conclusione, è necessario stabilire leggi e linee guida per indicare i casi in cui è necessario utilizzare il DNA Phenotyping e i casi in cui non deve essere utilizzato, nonché per stabilire che i dati siano correttamente conservati e secretati cioè non disponibili a privati o a governi.

RELAZIONE CON IL NE BIS IN IDEM

In numerosissimi Paesi vale il principio del “Ne bis in idem” (letteralmente “non due volte per la medesima cosa”) ovvero che un giudice non può esprimersi due volte nella sua stessa azione, se si è già formata la cosa giudicata. Le motivazioni sono numerose: il sistema giudiziario non può vessare indefinitamente un cittadino sulla stessa circostanza; lo Stato e i suoi organi hanno mezzi economici e poteri di persecuzione più ampi di quanti il cittadino ne abbia di difesa; l'essere esposti senza garanzia alla pubblica accusa fu, e potrebbe essere se non regolamentato, uno strumento di tirannia ;il cittadino ha il diritto di sapere che il giudizio a cui è stato sottoposto è finale, e non soggetto a ulteriori indagini e cambiamenti.

In Italia ciò è sancito dall'articolo 649 “divieto di un secondo giudizio “del CCP che afferma

“1. L'imputato prosciolto o condannato con sentenza o decreto penale divenuti irrevocabili non può essere di nuovo sottoposto a procedimento penale per il medesimo fatto, neppure se questo viene diversamente considerato per il titolo, per il grado o per le circostanze, salvo quanto disposto dagli articoli 69 comma 2 e 345.

2. Se, ciò nonostante, viene di nuovo iniziato procedimento penale, il giudice in ogni stato e grado del processo pronuncia sentenza di proscioglimento o di non luogo a procedere, enunciandone la causa nel dispositivo.

Le eccezioni sono rarissime: casi in cui c'è stata una dichiarazione di morte del reo erronea o delitti commessi per finalità di terrorismo o di eversione dell'ordine costituzionale (art septies decreto-legge 8/1991) la cui revisione è possibile se le sentenze sono state applicate per effetto di dichiarazioni false o reticenti.

In numerose altre nazioni il principio è simile e prende nome di “double jeopardy”.

Tale divieto di doppia incriminazione vale anche per nazioni differenti, facenti parte dell'Unione Europea: l'art. 50 della carta di Nizza sancisce

che «una persona che sia stata giudicata con sentenza definitiva in una parte contraente non può essere sottoposta a un procedimento penale per i medesimi fatti in un'altra parte contraente a condizione che, in caso di condanna, la pena sia stata eseguita o sia effettivamente in corso di esecuzione attualmente o, secondo la legge della parte contraente di condanna, non possa più essere eseguita “e da ciò deriva un “ne bis in idem comunitario.”

Negli anni, anche grazie all'introduzione di tecnologie più sofisticate, la situazione è cambiata. Infatti l'analisi del DNA permette la ri-analisi dei campioni di DNA, che può risultare in nuove e convincenti prove forensi e può essere una prova di scagionamento per una persona condannata ingiustamente (134), o può fornire nuove prove convincenti contro una persona accusata(135).

Tradizionalmente(97), in base alla regola del double jeopardy, o regola della doppia incriminazione, qualsiasi nuova e convincente prova del DNA dopo un'assoluzione di un accusato, non può essere usata né in un nuovo processo né in un appello contro l'assoluzione basata su nuove prove. Tuttavia, nel 2006 le giurisdizioni australiane, New South Wales, Queensland e South Australia si sono unite a Inghilterra e Galles nell'introdurre riforme alla regola della doppia condanna: un'assoluzione non fornisce più una protezione completa contro la doppia condanna e prove nuove e convincenti possono portare a capovolgere un'assoluzione nei reati gravi e può essere ordinato un nuovo processo (136).

Le riforme introdotte si allontanano dalla definitività di un'assoluzione, verso la condanna, con una maggiore enfasi sulla vittima e sulla comunità più ampia (136), sostenendo la preoccupazione principale del modello legale di Corns nel condannare i colpevoli. Questo modello e la riforma della regola del double jeopardy possono portare inoltre a riforme legislative delle attuali pratiche di distruzione post-accusa dei campioni di DNA, e obbligarne invece la conservazione.

CAPITOLO 3

**PANORAMICA SULLE
LEGISLAZIONI VIGENTI IN
EUROPA**

Il secondo capitolo dei limiti dell'utilizzo del DNA Phenotyping è legato alle problematiche di natura legislativa in quanto, per poter essere utilizzato, sono necessarie specifiche leggi: leggi che tuttavia sono carenti in numerosi Stati o sono state redatte antecedentemente all'introduzione di tale tecnica per cui lasciano alcune disposizioni interpretabili in maniera ambigua. Infatti, mentre gli sviluppi scientifici nella ricerca sul DNA sono rapidi, i legislatori in molti Paesi sono lenti nell'adottare un regime legale completo che istruisca e fissi i limiti per stabilire come le forze dell'ordine possono utilizzare il DNA e da ciò ne consegue che in molti Paesi sussistono dubbi sulla portata e, in alcuni casi, sulla legalità del condurre ricerche fenotipiche.

Allo stato attuale le varie Nazioni presentano legislazioni particolarmente differenti tra loro: in alcune vige una esplicita regolamentazione che consente l'utilizzo del Dna Phenotyping; in altre vi è una esplicita regolamentazione che lo proibisce e in altre ancora, come l'Italia, non sono presenti leggi esplicite sulla Fenotipizzazione, per cui si fa riferimento alle leggi inerenti all'utilizzo del DNA standard a fini forensi e che quindi non sono di univoca interpretazione.

Laddove, infatti, la regolamentazione è carente o semplicemente implicita, diversi stakeholder come le forze dell'ordine e gli studiosi di diritto possono interpretare la situazione giuridica in modo diverso: ciò spiega perché tale tecnica viene utilizzata solo in pochi Stati.

Affinché ci sia un maggior utilizzo si rende necessario promulgare delle leggi mirate che riguardino sia l'utilizzo del Dna Phenotyping a fini forensi che la conservazione dei dati genetici. Tali leggi sono necessarie anche per ridurre le problematiche di privacy e discriminazione precedentemente nominate.

Si rende necessario stilare delle linee guida europee ed internazionali per l'utilizzo di tale tecnica che poi dovranno essere trasferite nelle legislazioni delle singole nazioni: uno degli obiettivi del trattato di Prüm, redatto nel 2005 da alcuni paesi membri dell'Unione Europea è questo.

LEGISLAZIONI EUROPEI VIGENTI

Allo stato attuale, l'Unione Europea presenta numerose leggi che limitano l'utilizzo e la diffusione del DNA Phenotyping e riguardano principalmente la libertà personale e la privacy, argomenti molto sentiti e dibattuti in Europa.

A proposito della libertà personale e della privacy, la Carta dei Diritti fondamentali dell'Unione Europea sancisce che “Ognuno ha il diritto che la propria vita privata sia rispettata” (Art.7) e che “i dati personali siano protetti” (Art.8).

Questo è confermato anche dall'articolo 16 del Trattato sul funzionamento dell'Unione Europea (TFEU) che sancisce che “chiunque ha diritto alla protezione dei dati personali che lo riguardano”.

Il Dna Phenotyping , se erroneamente utilizzato, può minare tali diritti della popolazione per cui occorre che un suo eventuale utilizzo su larga scala rispetti la privacy, a cui l' Europa riserva particolare attenzione(137).

Il quadro di protezione dei dati dell'Unione europea (UE) sta attraversando una transizione fondamentale. Finora il regime generale di protezione dei dati dell'UE è stato sotto forma di direttiva, il che significa che gli Stati membri dell'UE hanno dovuto "tradurre" le disposizioni della Direttiva nel diritto nazionale (Direttiva 95/46/CE sulla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali e sulla libera circolazione di tali dati).

Il nuovo regime di protezione dei dati - Regolamento Generale sulla protezione dei dati (GDPR) entrato in vigore nel 2016 e applicabile da maggio 2018 -assume invece la forma di un Regolamento, il che significa che è direttamente applicabile in tutti i paesi membri, senza richiedere il recepimento nelle legislazioni nazionali: ciò ha portato ad una maggiore armonizzazione della protezione dei dati in tutta l'UE. Il GDPR (o regolamento europeo sulla protezione dei dati) è quindi il testo di riferimento.

La direttiva più importante è la 679/2016 ed è relativa alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali ed ha abrogato la precedente direttiva 95/46.

I punti salienti della direttiva 679/2016 sono:

Art.1 “Il presente regolamento stabilisce norme relative alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché norme relative alla libera circolazione di tali dati. Il presente regolamento protegge i diritti e le libertà fondamentali delle persone fisiche, in particolare il diritto alla protezione dei dati personali. “

Art.4 “ I “dati personali” sono qualsiasi informazione relativa a una persona fisica identificata o identificabile ; una persona fisica identificabile è una persona che può essere identificata, direttamente o indirettamente, in particolare mediante riferimento a un identificativo come il nome, un numero di identificazione, dati relativi all'ubicazione, un o a uno o più elementi specifici relativi all'identità fisica, fisiologica, genetica, mentale, economica, culturale o sociale di tale persona fisica”.

Art.5 1. “I dati personali sono:

a) trattati in modo lecito, corretto e trasparente nei confronti dell'interessato («liceità, correttezza e trasparenza»);

b) raccolti per finalità determinate, esplicite e legittime, e successivamente trattati in modo che non sia incompatibile con tali finalità; un ulteriore trattamento dei dati personali a fini di archiviazione nel pubblico interesse, di ricerca scientifica o storica o a fini statistici non è, conformemente all'articolo 89, paragrafo 1, considerato incompatibile con le finalità iniziali («limitazione della finalità»);

c) adeguati, pertinenti e limitati a quanto necessario rispetto alle finalità per le quali sono trattati («minimizzazione dei dati»);

d) esatti e, se necessario, aggiornati; devono essere adottate tutte le misure ragionevoli per cancellare o rettificare tempestivamente i dati inesatti rispetto alle finalità per le quali sono trattati («esattezza»);

e) conservati in una forma che consenta l'identificazione degli interessati per un arco di tempo non superiore al conseguimento delle finalità per le

quali sono trattati; i dati personali possono essere conservati per periodi più lunghi a condizione che siano trattati esclusivamente a fini di archiviazione nel pubblico interesse, di ricerca scientifica o storica o a fini statistici, conformemente all'articolo 89, paragrafo 1, fatta salva l'attuazione di misure tecniche e organizzative adeguate richieste dal presente regolamento a tutela dei diritti e delle libertà dell'interessato («limitazione della conservazione»);

f) trattati in maniera da garantire un'adeguata sicurezza dei dati personali, compresa la protezione, mediante misure tecniche e organizzative adeguate, da trattamenti non autorizzati o illeciti e dalla perdita, dalla distruzione o dal danno accidentali («integrità e riservatezza»).

Art.9 -1. "È vietato trattare dati personali che rivelino l'origine razziale o etnica, le opinioni politiche, le convinzioni religiose o filosofiche, o l'appartenenza sindacale, nonché trattare dati genetici, dati biometrici intesi a identificare in modo univoco una persona fisica, dati relativi alla salute o alla vita sessuale o all'orientamento sessuale della persona.

Il paragrafo 1 non si applica se si verifica uno dei seguenti casi:

a) l'interessato ha prestato il proprio consenso esplicito al trattamento di tali dati personali per una o più finalità specifiche, salvo nei casi in cui il diritto dell'Unione o degli Stati membri dispone che l'interessato non possa revocare il divieto di cui al paragrafo 1:

(...)

f) il trattamento è necessario per accertare, esercitare o difendere un diritto in sede giudiziaria o ogniqualvolta le autorità giurisdizionali esercitino le loro funzioni giurisdizionali;

g) il trattamento è necessario per motivi di interesse pubblico rilevante sulla base del diritto dell'Unione o degli Stati membri, che deve essere proporzionato alla finalità perseguita, rispettare l'essenza del diritto alla protezione dei dati e prevedere misure appropriate e specifiche per tutelare i diritti fondamentali e gli interessi dell'interessato;

j) il trattamento è necessario a fini di archiviazione nel pubblico interesse, di ricerca scientifica o storica o a fini statistici in conformità dell'articolo 89, paragrafo 1, sulla base del diritto dell'Unione o nazionale, che è proporzionato alla finalità perseguita, rispetta l'essenza del diritto alla protezione dei dati e prevede misure appropriate e specifiche per tutelare i diritti fondamentali e gli interessi dell'interessato.

Art.22-1. “L'interessato ha il diritto di non essere sottoposto a una decisione basata unicamente sul trattamento automatizzato, compresa la profilazione, che produca effetti giuridici che lo riguardano o che incida in modo analogo significativamente sulla sua persona. “

Art 23 “1. Il diritto dell'Unione o dello Stato membro cui è soggetto il titolare del trattamento può limitare, mediante misure legislative, la portata degli obblighi e dei diritti di cui agli articoli da 12 a 22 e 34, nonché all'articolo 5, nella misura in cui le disposizioni ivi contenute corrispondano ai diritti e agli obblighi di cui agli articoli da 12 a 22, qualora tale limitazione rispetti l'essenza dei diritti e delle libertà fondamentali e sia una misura necessaria e proporzionata in una società democratica per salvaguardare:

- a) la sicurezza nazionale;
- b) la difesa;
- c) la sicurezza pubblica;
- d) la prevenzione, l'indagine, l'accertamento e il perseguimento di reati o l'esecuzione di sanzioni penali, incluse la salvaguardia contro e la prevenzione di minacce alla sicurezza pubblica;”

Art.25- 1. “Tenendo conto dello stato dell'arte e dei costi di attuazione, nonché della natura, dell'ambito di applicazione, del contesto e delle finalità del trattamento, come anche dei rischi aventi probabilità e gravità diverse per i diritti e le libertà delle persone fisiche costituiti dal trattamento, sia al momento di determinare i mezzi del trattamento sia all'atto del trattamento stesso, il titolare del trattamento mette in atto misure tecniche e organizzative adeguate, quali la pseudominimizzazione, volte ad attuare in modo efficace i principi di protezione dei dati, quali la minimizzazione, e a

integrare nel trattamento le necessarie garanzie al fine di soddisfare i requisiti del presente regolamento e tutelare i diritti degli interessati.

2. Il titolare del trattamento mette in atto misure tecniche e organizzative adeguate a garantire che siano trattati, per impostazione predefinita, solo i dati personali necessari per ogni specifica finalità del trattamento. Tale obbligo vale per la quantità dei dati personali raccolti, la portata del trattamento, il periodo di conservazione e l'accessibilità. In particolare, dette misure garantiscono che, per impostazione predefinita, non siano resi accessibili dati personali a un numero indefinito di persone fisiche senza l'intervento della persona fisica."

Art 37 1. "Il titolare del trattamento e il responsabile del trattamento designano sistematicamente un responsabile della protezione dei dati ogniqualvolta:

a) il trattamento è effettuato da un'autorità pubblica o da un organismo pubblico, eccettuate le autorità giurisdizionali quando esercitano le loro funzioni giurisdizionali;

b) le attività principali del titolare del trattamento o del responsabile del trattamento consistono in trattamenti che, per loro natura, ambito di applicazione e/o finalità, richiedono il monitoraggio regolare e sistematico degli interessati su larga scala; oppure

c) le attività principali del titolare del trattamento o del responsabile del trattamento consistono nel trattamento, su larga scala, di categorie particolari di dati personali di cui all'articolo 9 o di dati relativi a condanne penali e a reati di cui all'articolo 10.

Il responsabile della protezione dei dati è tenuto al segreto o alla riservatezza in merito all'adempimento dei propri compiti, in conformità del diritto dell'Unione o degli Stati membri. "

E 39 –1". Il responsabile della protezione dei dati è incaricato almeno dei seguenti compiti:

a) informare e fornire consulenza al titolare del trattamento o al responsabile del trattamento nonché ai dipendenti che eseguono il trattamento in merito agli obblighi derivanti dal presente regolamento

nonché da altre disposizioni dell'Unione o degli Stati membri relative alla protezione dei dati;

b) sorvegliare l'osservanza del presente regolamento, di altre disposizioni dell'Unione o degli Stati membri relative alla protezione dei dati nonché delle politiche del titolare del trattamento o del responsabile del trattamento in materia di protezione dei dati personali, compresi l'attribuzione delle responsabilità, la sensibilizzazione e la formazione del personale che partecipa ai trattamenti e alle connesse attività di controllo;

c) fornire, se richiesto, un parere in merito alla valutazione d'impatto sulla protezione dei dati e sorvegliarne lo svolgimento ai sensi dell'articolo 35;

d) cooperare con l'autorità di controllo; e

e) fungere da punto di contatto per l'autorità di controllo per questioni connesse al trattamento, tra cui la consultazione preventiva di cui all'articolo 36, ed effettuare, se del caso, consultazioni relativamente a qualunque altra questione.”

Poiché tale regolamentazione riguarda la privacy in generale e non solo nell'ambito forense, ai fini della raccolta e dell'archiviazione di informazioni per usi di polizia e forensi, una "lex specialis" (138) alla più generale Direttiva UE sulla Protezione dei Dati, è entrata in vigore a maggio 2016.

Essa è La “Direttiva 2016/680 sulla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali di autorità competenti ai fini dell'applicazione della legge”.

I punti salienti in materia di Privacy sono

Art.11 “È pertanto opportuno per i settori in questione che una direttiva stabilisca le norme specifiche relative alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali da parte delle autorità competenti a fini di prevenzione, indagine, accertamento e perseguimento di reati o esecuzione di sanzioni penali, incluse la salvaguardia contro la prevenzione di minacce alla sicurezza pubblica, nel rispetto della natura specifica di tali attività. Tali autorità competenti possono includere non solo autorità pubbliche quali le autorità giudiziarie, la polizia o altre autorità incaricate dell'applicazione della legge, ma anche qualsiasi altro organismo

o entità incaricati dal diritto dello Stato membro di esercitare l'autorità pubblica e i poteri pubblici ai fini della presente direttiva. Qualora tale organismo o entità trattino dati personali per finalità diverse da quelle della presente direttiva, si applica il regolamento (UE) 2016/679.

Il regolamento (UE) 2016/679 si applica pertanto nei casi in cui un organismo o un'entità raccolgano dati personali per finalità diverse e procedano a un loro ulteriore trattamento per adempiere un obbligo legale cui sono soggetti. Ad esempio, a fini di indagine, accertamento o perseguimento di reati, gli istituti finanziari conservano determinati dati personali da essi trattati, e li trasmettono solo alle autorità nazionali competenti in casi specifici e conformemente al diritto dello Stato membro.

Un organismo o un'entità che trattano dati personali per conto di tali autorità entro l'ambito di applicazione della presente direttiva dovrebbero essere vincolati da un contratto o altro atto giuridico e dalle disposizioni applicabili ai responsabili del trattamento a norma della presente direttiva; l'applicazione del regolamento (UE) 2016/679 rimane invece impregiudicata per le attività di trattamento svolte dal responsabile del trattamento di dati personali al di fuori dell'ambito di applicazione della presente direttiva. “

Art.42 “Dovrebbero essere messe a disposizione dell'interessato almeno le seguenti informazioni: l'identità del titolare del trattamento, l'esistenza del trattamento, le finalità del trattamento, il diritto di proporre reclamo e l'esistenza del diritto dell'interessato di chiedere al titolare del trattamento l'accesso ai dati e la rettifica o la cancellazione degli stessi ovvero la limitazione del trattamento. Ciò potrebbe avvenire sul sito web dell'autorità competente. Inoltre, in casi specifici e per consentire l'esercizio dei suoi diritti, l'interessato dovrebbe essere informato della base giuridica del trattamento e del periodo di conservazione dei dati, nella misura in cui tali ulteriori informazioni siano necessarie, tenuto conto delle specifiche circostanze in cui i dati vengono trattati, per garantire un trattamento corretto nei confronti dell'interessato.”

Art.43 “Una persona fisica dovrebbe avere il diritto di accedere ai dati raccolti che la riguardano e di esercitare tale diritto facilmente e a intervalli ragionevoli, per essere consapevole del trattamento e verificarne la liceità.

È pertanto opportuno che ogni interessato abbia il diritto di conoscere e ottenere comunicazioni in relazione alla finalità del trattamento, al periodo per il quale i dati sono trattati e ai destinatari dei dati, anche quelli nei paesi terzi. Qualora tali comunicazioni comprendano informazioni sull'origine dei dati personali, le informazioni non dovrebbero rivelare l'identità delle persone fisiche, in particolare fonti riservate. Affinché tale diritto sia rispettato, è sufficiente che l'interessato sia in possesso di una sintesi completa di tali dati in forma intelligibile, cioè in una forma che gli consenta di venire a conoscenza di tali dati e di verificare che siano esatti e trattati conformemente alla presente direttiva, in modo tale che possa esercitare i diritti conferitigli dalla presente direttiva. Detta sintesi potrebbe essere fornita in forma di copia dei dati personali oggetto del trattamento.

Art.44 Gli Stati membri dovrebbero poter adottare misure legislative intese a ritardare, limitare o escludere la comunicazione di informazioni all'interessato o a limitare, in tutto o in parte, l'accesso di questi ai suoi dati personali nella misura e per la durata in cui ciò costituisca una misura necessaria e proporzionata in una società democratica, tenuto debito conto dei diritti fondamentali e dei legittimi interessi della persona fisica interessata, per non compromettere indagini, inchieste o procedimenti ufficiali o giudiziari, per non compromettere la prevenzione, l'indagine, l'accertamento e il perseguimento di reati o l'esecuzione di sanzioni penali, per proteggere la sicurezza pubblica o la sicurezza nazionale o per tutelare i diritti e le libertà altrui. È opportuno che il titolare del trattamento valuti, mediante un esame concreto e individuale di ciascun caso, se si debba applicare una limitazione parziale o totale del diritto di accesso.

Il GDPR e la direttiva di Polizia hanno finalità simili ma alcune caratteristiche differenti(138).

La direttiva di Polizia, che riguarda più nello specifico il trattamento dei dati personali nell'ambito forense, presenta un carattere più restrittivo.

Infatti in essa i diritti di informazione degli interessati nell'ambito della Direttiva sulla Polizia sono più limitati di quelli di informazione degli interessati ai sensi del regime GDPR come sancisce nell'art.10 “Nella dichiarazione n. 21, relativa alla protezione dei dati personali nel settore della cooperazione giudiziaria in materia penale e della cooperazione di polizia, allegata all'atto finale della conferenza intergovernativa che ha adottato il trattato di Lisbona, la conferenza riconosce che potrebbero rivelarsi necessarie, in considerazione della specificità dei settori in questione, norme specifiche sulla protezione dei dati personali e sulla libera circolazione di dati personali nei settori della cooperazione giudiziaria in materia penale e della cooperazione di polizia, in base all'articolo 16 TFUE.

“

Nonostante questa maggiore restrizione la direttiva di polizia , con l'articolo 23 sancisce altresì che “ È opportuno che per dati genetici si intendano i dati personali relativi alle caratteristiche genetiche, ereditarie o acquisite, di una persona fisica che forniscono informazioni uniche sulla fisiologia o sulla salute della persona fisica considerata, ottenuti dall'analisi di un campione biologico della persona fisica in questione, in particolare dall'analisi dei cromosomi, dell'acido desossiribonucleico (DNA) o dell'acido ribonucleico (RNA), ovvero dall'analisi di un altro elemento che consenta di ottenere informazioni equivalenti. Tenuto conto della complessità e del carattere sensibile delle informazioni di natura genetica, il rischio di utilizzo improprio e di riutilizzo per varie finalità non autorizzate da parte del titolare del trattamento è elevato. In linea di principio dovrebbe essere vietata qualunque discriminazione basata su caratteristiche genetiche. “

Quest'ultima frase vale a dire “la discriminazione basata su caratteristiche genetiche dovrebbe in linea di principio essere vietata” indica che è necessaria una giustificazione di interesse pubblico molto forte se viene utilizzata la discriminazione basata su caratteristiche genetiche. Quanto deve essere forte questa giustificazione presumibilmente dipende anche dall'interpretazione della frase "discriminazione basata sulla caratteristiche genetiche” in questo contesto. Se interpretato come indebita

discriminazione genetica, cioè l'uso delle caratteristiche genetiche nella distribuzione di diritti e doveri senza un motivo valido - poi della Polizia la direttiva non è in conflitto con l'uso di FDP di per sé.

Tuttavia, la direttiva di polizia sottolinea che devono comunque essere seguiti tali principi: minimizzazione dei dati, controllabilità, trasparenza, facilità di utilizzo, riservatezza, qualità e limitazione all'uso dei sistemi informatici a scopi diversi.

Informazioni fondamentali sono contenute anche nella Dichiarazione universale sul Genoma e sui Diritti Umani del 1997, adottata all'unanimità e per acclamazione dalla Conferenza generale dell'Unesco nella sua 29° sessione l'11 novembre 1997 e approvata dalla Assemblea generale dell'Onu il 9 dicembre 1998, nell'ambito delle celebrazioni per il cinquantenario della Dichiarazione universale dei diritti umani.

Primo strumento universale nella sfera della bioetica, espone i principi etici e giuridici che devono guidare il progresso della ricerca genetica e le sue applicazioni. L'obiettivo è trovare un equilibrio fra la libertà della ricerca scientifica e la tutela della dignità e la libertà umana, di fronte al pericolo di potenziali derive della ricerca biomedica.

I punti salienti di tale Dichiarazione sono:

- Art. 5: "a) Una ricerca, una cura o una diagnosi, che verta sul genoma di un individuo, può essere effettuata solo dopo una analisi rigorosa e preliminare dei rischi e dei vantaggi potenziali collegati e in conformità a ogni altra prescrizione prevista dalla legislazione nazionale.

b) In tutti i casi sarà raccolto il consenso preliminare, libero e informato dell'interessato. Se questo ultimo non è in grado di esprimerlo, il consenso o l'autorizzazione, guidati dal suo interesse superiore, saranno ottenuti conformemente alla legge. (...)

e) Se conformemente alla legge una persona non è in grado di esprimere il proprio consenso, si può effettuare una ricerca sul suo genoma solo a condizione che questa porti un beneficio diretto alla sua salute, fatte salve le autorizzazioni e le misure di protezione prescritte dalla legge. Una ricerca che non apporti un beneficio diretto alla salute della persona può essere

realizzata solo eccezionalmente, con la massima prudenza, facendo attenzione a ridurre al minimo i rischi ed i disagi per l'interessato, e se questa ricerca è effettuata nell'interesse della salute di altre persone appartenenti allo stesso gruppo di età o che si trovino nelle stesse condizioni genetiche, e con la riserva che tale ricerca venga condotta nelle condizioni previste dalla legge e sia compatibile con la protezione dei diritti individuali della persona interessata.

Art.14 “Gli Stati dovrebbero adottare le misure appropriate per favorire le condizioni intellettuali e materiali propizie al libero esercizio delle attività di ricerca sul genoma umano e per prendere in considerazione le implicazioni etiche, giuridiche, sociali ed economiche di queste ricerche, nel quadro dei principi previsti dalla presente Dichiarazione “

Art.15 “Gli Stati dovrebbero adottare le misure appropriate per determinare il quadro del libero esercizio delle attività di ricerca sul genoma umano nel rispetto dei principi previsti dalla presente Dichiarazione, al fine di garantire il rispetto dei diritti dell'uomo, delle libertà fondamentali e della dignità umana e la protezione della salute pubblica. Dovrebbero altresì assicurarsi che i risultati di tali ricerche non servano a fini non pacifici. “

Art 21 “Gli Stati dovrebbero adottare le misure appropriate per incoraggiare tutte le azioni di ricerca, formazione e diffusione dell'informazione tali da rafforzare la presa di coscienza delle responsabilità della società e di ciascuno dei suoi membri di fronte ai problemi fondamentali, riguardo alla difesa della dignità umana, che la ricerca, come pure le applicazioni che ne derivano, possono sollevare nei campi della biologia, della genetica e della medicina. Su questo argomento essi dovrebbero favorire un ampio dibattito aperto a livello internazionale, assicurando la libera espressione delle diverse correnti di pensiero socioculturali, religiose e filosofiche. “

Art.68 1. Il comitato europeo per la protezione dei dati («comitato») è istituito quale organismo dell'Unione ed è dotato di personalità giuridica.

2. Il comitato è rappresentato dal suo presidente.

3. Il comitato è composto dalla figura di vertice di un'autorità di controllo per ciascuno Stato membro e dal garante europeo della protezione dei dati, o dai rispettivi rappresentanti.

Art 89 1. Il trattamento a fini di archiviazione nel pubblico interesse, di ricerca scientifica o storica o a fini statistici è soggetto a garanzie adeguate per i diritti e le libertà dell'interessato, in conformità del presente regolamento. Tali garanzie assicurano che siano state predisposte misure tecniche e organizzative, in particolare al fine di garantire il rispetto del principio della minimizzazione dei dati. Tali misure possono includere la pseudonimizzazione, purché le finalità in questione possano essere conseguite in tal modo. Qualora possano essere conseguite attraverso il trattamento ulteriore che non consenta o non consenta più di identificare l'interessato, tali finalità devono essere conseguite in tal modo.

Oltre alle direttive Europee ogni Stato però presenta specifiche legislazioni.

Tab.3 Samuel, G, Prainsack, B (2018) “The regulatory landscape of forensic DNA phenotyping in Europe VISAGE”, dove vengono analizzate le situazioni legislative e le discussioni del DNA Phenotyping in numerosi stati dell’Unione Europea.

Table 1: Legal permissibility and practice of FDP in EU member states and international countries*

EU member states	Explicit FDP legislation?	Implicit FDP legislation?	FDP practiced?	Policy discussions about FDP underway?
Belgium	No	Current law forbids using coding markers for identification purposes, though there is dispute regarding whether FDP is practiced for "identification purposes" and therefore whether it is actually forbidden	For ancestry	At university/institutional level, not political level in terms of what an explicit legislation for FDP would look like
Bulgaria	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown
Croatia	No	No	No	No, and no plans to implement in law
Cyprus	No	No	No	No
Czech Republic	No	No	1 + appearance trait predictions	No
Denmark	No	Unknown	No, but experimental use in a few selected identification cases	No
Estonia	No	No	No	Unknown
Finland	No	No	No	Yes
Greece	No	Yes - 200A of Criminal Code	No	No
Hungary	No	Yes - Decree 12/2016 (V.4.) of the Ministry of Interior – within this Decree, all testing for genetic markers, including those genetic marker sets associated with phenotypes are permitted	1 + appearance trait predictions	No
Ireland	No	Yes - Criminal Justice (Forensic and DNA database Act) 2014 - within this Act DNA profiling is restricted to non-coding areas	No	No

EU member states	Explicit FDP legislation?	Implicit FDP legislation?	FDP practiced?	Policy discussions about FDP underway?
Italy	No	No	Ancestry	No
Latvia	No	Respondent thinks it is not, but there is no legal precedent for use of FDP	No	No
Lithuania	No	No	No	No
Luxembourg	No	Yes - A-N ° 163: Act of 25 August 2006 on procedures for identification by DNA in criminal matters and amending the Code of Criminal Procedure - Art. 48-3	No	No
Malta	No	No	No	No
Portugal	No	No	No	No
Romania	Unknown	Unknown	Unknown	Unknown
Slovakia	Act no.417/2002, § 2, a, f, § 4. New paragraphs are active since May 2018**	N/A	1 + appearance trait predictions	No
Slovenia	No	No	No – though laboratories are capable of doing the analysis	No

Ulteriori nazioni stanno modificando i propri ordinamenti per poter regolamentare il DNA Phenotyping.

A tal riguardo, infatti, il VISAGE sostiene che dato il potenziale di danno che può derivare dall'uso della Fenotipizzazione, per minimizzare il rischio di violazioni della privacy, per garantire il rispetto della dignità umana e la non discriminazione, e massimizzare la trasparenza, c'è il dovere per i legislatori di regolamentarne esplicitamente l'uso. Gli strumenti esistenti come il principio di precauzione, o la proporzionalità, dicono come pesare le diverse poste in gioco, ma mentre sono principi utili, non sono prescrittivi e non possono fornire una guida concreta.

La regolamentazione è necessaria per informare gli agenti delle forze dell'ordine su quali circostanze è appropriato usare la tecnologia e per quali tratti fenotipici.

Il VISAGE inoltre consiglia in quali casi adoperare il DNA Phenotyping in modo tale da poter costituire una guida per gli ordinamenti della varie nazioni: in particolare suggerisce che la Fenotipizzazione sia usata solo in casi penali che indagano su crimini gravi (come specificato nel codice penale di una giurisdizione) che hanno causato gravi danni fisici a un individuo, compresi l'omicidio, la violenza sessuale e atti terroristici, e che questo sia sottoscritto nella regolamentazione di ogni specifica nazione.

PAESI BASSI

I Paesi Bassi sono l'unica nazione in Europa che autorizzano espressamente l'utilizzo del DNA Phenotyping: le regolamentazioni riguardanti tale tecnica sono incluse nel codice di Procedura Penale.

Dopo la scoperta del DNA Phenotyping sono state modificate e aggiunte alcune disposizioni di legge in quanto la legge precedente era stata redatta in un'epoca antecedente la scoperta dello stesso.

L'emendamento in questione risale al 2003 e rende i Paesi Bassi i veri apripista in Europa.

Gli articoli di riferimento del codice di Procedura penale sono: il 138a che è stato modificato e il 151d e il 195 f che sono stati aggiunti.

In particolare, il 151d sancisce che:

1 Il pubblico ministero può, nell'interesse dell'indagine, disporre il test del DNA finalizzato a stabilire le caratteristiche personali osservabili esternamente del sospettato o della vittima sconosciuta.

2. Il test del DNA può essere finalizzato esclusivamente all'accertamento del sesso, razza o altre caratteristiche personali osservate esternamente designate da specifico decreto. (...)

4. Il test del DNA può essere disposto solo in caso di sospetto di grave reato come definito nella sezione 67(1).

5. Possono essere stabilite ulteriori regole relative alle modalità di svolgimento del test del DNA dal Decreto Governativo.

Ciò è ribadito anche nella sezione 195 f.

Di fatto il giudice può richiedere lo studio del DNA in un caso grave per risalire al sesso, alla razza e alle "caratteristiche fisiche". Tali caratteristiche fisiche non sono state ben delineate il che ha portato ad una interpretazione ambigua.

Il ministro della Giustizia Olandese ha cercato di porre fine a questa interpretazione ambigua affermando che “Sono considerate caratteristiche fisiche tutte quelle caratteristiche visibili dalla nascita”²⁵.

Tale tentativo non è andato completamente a buon fine in quanto non ha permesso di valutare la possibilità o meno di utilizzare il parametro dell'età.

L'interpretazione ambigua è inoltre complicata dal decreto Reale che sancisce nello specifico quali siano le caratteristiche fisiche che possono essere usate in base all'attendibilità dei vari markers.

Al momento dell'emendamento solo lo studio della presenza/assenza dei capelli rossi era considerato attendibile e quindi attuabile. Ma con il passare degli anni sono stati introdotti markers attendibili anche per il colore degli occhi e dei capelli. È stato necessario quindi modificare i decreti rispettivamente nel 2012 e nel 2017.

Attualmente, quindi, in Olanda si studiano: sesso, discendenza geografica, colore dei capelli e colore degli occhi.

Con la validazione di altri markers in futuro (come il colore della pelle la cui procedura legale è già in corso) si presuppone che la legislazione olandese emanerà decreti per ulteriori caratteristiche fisiche che potranno essere analizzate conferendo nuovamente ai Paesi Bassi il ruolo di apripista non solo nell'introduzione ma anche nell'utilizzo sempre più preciso del DNA Phenotyping In Europa.

Infatti, la Fenotipizzazione è usata da anni dalle forze di polizia olandesi specie per restringere il numero dei possibili sospettati in crimini gravi in cui gli altri mezzi a disposizione hanno fallito.

I Paesi Bassi infatti sono anche stati tra i primi ad utilizzare tale tecnica nel caso dell'omicidio e stupro della sedicenne Marianne Vastra. Data l'età della ragazza tale crimine fece molto scalpore.

Inizialmente(139) furono accusati dei richiedenti asilo che si trovavano in una struttura nelle vicinanze della scena del delitto generando atti di violenza e rivolte, acuendo quel fenomeno di discriminazione razziale. Soltanto tredici anni dopo grazie alla fenotipizzazione si riuscì a risalire

²⁵ Zie Kamerstukken II 2001/2002

all'autore del delitto, un agricoltore olandese. Tale caso diede un grande impulso allo sviluppo dell'utilizzo di tale tecnica che raccolse sempre di più anche una approvazione sociale.

Oltre alle leggi sull'utilizzo, l'Olanda presenta regolamentazioni anche nella conservazione dei dati in un database nazionale. L' Articolo 14 infatti afferma che “Esiste un database del DNA per i casi penali che mira a promuovere l'individuazione, il perseguimento e la punizione dei reati e l'identificazione di un'identità.”

L' Olanda rimane quindi l'apripista e l'innovatrice in fatto di legislazioni nell'utilizzo del DNA Phenotyping e la conservazione dei dati.

In futuro molto probabilmente verranno analizzate anche ulteriori caratteristiche fisiche e si scioglierà il dubbio riguardante la possibilità di studiare o meno l'età.

FRANCIA

A differenza dei Paesi Bassi in Francia non vi è una esplicita legislazione che consente il Phenotyping: vi è al contrario una rigida legislazione che ne vieta l'utilizzo.

L'articolo 16-10 del Codice civile afferma che "lo studio delle caratteristiche genetiche di una persona può unicamente essere intrapreso per scopi medici o se inquadrato in un progetto di ricerca scientifica. È inoltre necessario ottenere il consenso esplicito".

La fenotipizzazione del DNA è quindi legale ma solo per scopi medici o per finalità di ricerca scientifica e previo consenso.

Ciò significa che in ambito forense non è attuabile perché il consenso non può essere ricevuto.

Ciò è ribadito anche dall'articolo 226-25 del Codice penale sancisce che "(...)chi effettua analisi genetiche vietate è punibile con un anno di reclusione" e da una specifica circolare ²⁶ del Consiglio Costituzionale, la più alta autorità costituzionale in Francia, che aveva vietato ai magistrati di usare la Fenotipizzazione nei casi penali.

Legalmente, quindi, l'utilizzo della Fenotipizzazione è vietato in Francia, o almeno così è stato fino al 2014.

Nel 2014 infatti ci fu un caso giudiziario di uno stupratore seriale per cui un magistrato chiese lo studio del DNA Phenotyping e la Corte di Cassazione con l'arret 3280 del 25 Giugno 2014 sancì che "potevano essere utilizzati i marcatori per poter predire il colore degli occhi, dei capelli e della pelle del DNA trovato nella scena del crimine. "

La Corte affermò inoltre che tale analisi poteva essere effettuata e non contraddiceva l'articolo 16-10, precedentemente citato, del Codice civile poiché non vi era alcun tentativo di identificare una malattia, quindi, non era necessario il consenso informato.

²⁶ CRIM-PJ N 08-28. H5 tome 4, giugno 2011

Questa sentenza della Corte di Cassazione ha ribaltato la legislazione vigente in Francia in materia di DNA Phenotyping e può essere considerata una base legale per future leggi che permetteranno esplicitamente di applicare tale processo.

Nonostante l'assenza di una legge specifica, attualmente la Fenotipizzazione viene utilizzata in Francia nei casi gravi quali omicidio e stupro in cui non vi è una corrispondenza nei database, sebbene rimangano ambiguità su quali parametri possano essere utilizzati in quanto appunto è assente una legge specifica.

Legge assente anche per quanto riguarda la conservazione dei dati genetici che allo stato dell'arte non può essere effettuata se non per le sequenze di DNA non codificante.

POLONIA

La Polonia è uno degli Stati Europei in cui il DNA Phenotyping viene utilizzato più frequentemente: ciò è possibile perché non esiste nessuna legge che vieta l'utilizzo di tale tecnica, ma allo stesso modo non è presente nessuna legge che la consente.

Di fatto il materiale legislativo polacco in sede di Fenotipizzazione è molto scarso.

Gli unici articoli che contengono una minima regolamentazione dell'utilizzo del DNA Forense sono l'articolo 1 delle Legge di Polizia che sancisce che “I compiti principali della polizia comprendono... la gestione di una banca dati con informazioni sui risultati dell'analisi dell'acido desossiribonucleico (DNA)” e l'articolo 20 “La polizia può raccogliere, elaborare e utilizzare a fini di rilevamento e informazione [...]. i dati personali dei cittadini, con riserva nel caso di dati del codice genetico, di cui può usare solo le regioni non codificanti del genoma”.

Viene quindi posta l'attenzione sulla differenza tra regioni codificanti e non codificanti il DNA: tuttavia tale distinzione è piuttosto ambigua in quanto la parte di legge sul DNA non codificante si riferisce solo alla conservazione dei dati senza specificare nulla sull'applicazione degli stessi.

Per questo attualmente in Polonia si utilizzano sia le regioni non codificanti che le codificanti, sia nelle indagini sia come prova, in quanto il Codice di Procedura Penale non ne limita l'utilizzo.

L' utilizzo del DNA Phenotyping in Polonia è molto esteso anche perché gode di un importante appoggio popolare e viene frequentemente richiesto da Magistrati o dalle forze dell'Ordine nei casi complessi: i parametri analizzati, non essendovi alcuna restrizione, sono: età, discendenza biogeografica e tutte le caratteristiche fisiche.

La conservazione dei dati genetici è maggiormente regolamentata e possono essere conservate solo le regioni non codificanti.

Si rende necessaria una legge per risolvere le ambiguità e la discrepanza tra le leggi inerenti alla conservazione e all'applicazione, per poterne regolamentare l'utilizzo.

SPAGNA

Anche in Spagna non è presente una specifica legislazione che vieta l'utilizzo del Dna Phenotyping e allo stesso modo non sono presenti leggi specifiche che lo consentono.

Le uniche leggi vagamente rilevanti sono: la legge di ricerca biomedica, tuttavia, destinata ad applicazioni cliniche che quindi è al di fuori dell'ambito penale e forense, e la legge 15/1999 che tratta la protezione dei dati personali: nessuna legge, tuttavia, è specifica per il DNA Phenotyping e ciò consente che venga praticata in Spagna.

Frequentemente i magistrati spagnoli richiedono il ricorso a tale metodica e ciò è possibile perché, come sancisce l'articolo 456 del Codice di Procedura Penale, "è compito del giudice concordare sulle perizie se sono necessarie conoscenze scientifiche o artistiche se ritenute rilevanti per il caso." Per cui la Spagna è una delle Nazioni europee in cui più frequentemente si ricorre alla Fenotipizzazione.

A partire dalla prima volta in cui fu usato (nel 2004 in occasione dell'attentato alle stazioni ferroviarie di Madrid (140)) è stato usato centinaia di volte, anche per casi internazionali.

Attualmente, in virtù dell'assenza di restrizioni, vengono usati tutti i parametri: età, discendenza biogeografica e caratteristiche fisiche.

La conservazione dei dati invece è vietata come sancisce la legge 10/2007.

La Spagna è considerata una delle nazioni più innovatrici in Europa per quanto riguarda la Fenotipizzazione. Il dibattito è molto aperto ed è in discussione la possibilità di una legge che consenta esplicitamente il suo utilizzo.

SVEZIA

Discorso simile alle due nazioni precedenti può essere fatto per la Svezia.

Nonostante una recente (2015) riorganizzazione della autorità di Polizia svedese non sono ancora presenti leggi specifiche per l'utilizzo della Fenotipizzazione.

Il dibattito in Svezia è comunque molto acceso: si è discusso ampiamente sulla necessità di legiferare ma è stato ritenuto troppo precoce in virtù dei numerosi punti deboli del DNA Phenotyping.

Tuttavia, in Svezia si riconosce l'utilità di tale metodica per la risoluzione di casi criminali complessi per cui appositamente, non è stata promulgata neanche una legge che ne vieti l'utilizzo.

La legge di riferimento dell'ordinamento svedese è "La legge sui Dati di Polizia "che al Capitolo 5 regola la gestione e l'elaborazione dei dati provenienti del DNA, senza entrar nello specifico del DNA Phenotyping, affermando che "Il Centro Nazionale Forense è autorizzato a trattare i dati personali se richiesto in ordine a [...] generare rapporti di intelligence forense con lo scopo di facilitare il lavoro di prevenire o rilevare attività criminali, o indagare e perseguire reati".

Non vi è un chiaro riferimento alla Fenotipizzazione in quanto nel momento della pubblicazione della legge tale metodica era ancora troppo recente, ma fonti autorevoli affermano che tale legge è stata anche promulgata per poter evitare l'utilizzo dello stesso, in attesa di maggiore attendibilità dei test per promulgare una legge specifica.

Questa *vacatio legis* consente idealmente l'utilizzo della Fenotipizzazione senza neanche specificare quali parametri utilizzare in quanto devono essere utilizzati i parametri più affidabili al momento di necessità e non stabiliti a priori.

Stabilire i parametri specifici con una legge frenerebbe il ricorso a quei parametri che si sono resi più affidabili nel tempo o richiederebbe la promulgazione di una ulteriore legge.

Attualmente la Svezia usa già il Dna Phenotyping seppur inviando i campioni da analizzare a laboratori esteri, non essendo ancora adeguati i propri laboratori: l'obiettivo, oltre a quello di promulgare una specifica legge, è principalmente quello di attrezzare i laboratori per poter svolgere le analisi genetiche autonomamente.

REGNO UNITO

Allo Stato attuale il Regno Unito non dispone di leggi che consentono né che vietano l'utilizzo del DNA Phenotyping e quindi lo utilizzano, seppur raramente.

La Fenotipizzazione può essere richiesta dalla polizia a propria discrezione e nessuna richiesta formale deve essere fatta ai tribunali. Qualsiasi uso da parte della polizia richiede secondo l'ordinamento inglese una stretta supervisione: l'accreditamento di qualsiasi processo di laboratorio forense, infatti, deve essere ricevuto da UKAS (l'organismo nazionale di accreditamento per il Regno Unito), e qualsiasi uso di DNA Phenotyping (o qualsiasi altra tecnica forense) deve prima essere negoziato e discusso con UKAS.

Infatti, nel Regno Unito sebbene non siano presenti leggi specifiche, le tecnologie forensi sono supervisionate da una serie di comitati di governo.

Attualmente nonostante il servizio di scienze forensi del Regno Unito sia stato il primo a sviluppare un test, la Fenotipizzazione è usata raramente e solo come ultima risorsa.

Non essendo presenti restrizioni, ogni parametro può essere utilizzato; non sono vigenti, inoltre, leggi sulla conservazione dei dati ottenuti dal DNA Phenotyping per cui sono necessarie linee guida e successive leggi per l'utilizzo e la conservazione dei dati.

AUSTRIA

L'Austria è in prima linea(86) nello sviluppo della genetica forense, tuttavia attualmente il DNA Phenotyping non è applicato nel territorio austriaco in quanto le leggi che regolano l'utilizzo del Dna sono di interpretazione piuttosto ambigua.

Le leggi alla base di questa ambiguità sono contenute nelle “Leggi sulla polizia di Sicurezza” che nella sezione 67 sanciscono che “Le informazioni genetiche ottenute mediante misure di identificazione possono essere analizzate solo per la finalità del servizio di identificazione” e che “siano utilizzate solo quelle parti del DNA necessarie per l'identificazione”.

In questa e nelle altre leggi causa dell'ambiguità (come l'articolo 124 del Codice di Procedura Penale) non vi è nessuna menzione sulle tecniche che possono essere utilizzate per l'identificazione.

Le leggi sulla polizia di Sicurezza sono state redatte nel 1999, cioè prima dell'introduzione del Dna Phenotyping, il che spiega come mai non sia citato per cui neanche in Austria sono presenti leggi che vietino esplicitamente il ricorso tale tecnica.

Tuttavia, il dibattito è piuttosto acceso specie dopo che il custode del DNA austriaco e delle banche dati biometriche presso il Ministro dell'Interno ha dichiarato che la Fenotipizzazione può essere considerata vietata.

Per queste motivazioni attualmente la fenotipizzazione non viene usata in Austria.

GERMANIA

La Germania ha avuto approccio più attendista nell'utilizzo dei dati genetici in ogni contesto.

Fino a pochi anni fa il Dna Phenotyping era vietato: la legislazione di riferimento era la sezione 81e del Codice di Procedura Penale che sanciva che “Nessuna analisi del DNA, esclusa quella relativa al sesso, è consentita” e “che le informazioni diverse da quelle richieste per stabilire il sesso non possono essere accertate in sede di esame.”

Ciò era stato confermato anche dalla Corte costituzionale Federale e dalla la sezione 81 del Codice di Procedura Penale che affermava nello specifico anche che le informazioni del DNA Phenotyping non potevano essere utilizzate come criterio per definire la popolazione target negli screening (dove la polizia chiede ai cittadini di fornire campioni di DNA volontari per aiutare nelle indagini).

La legislazione tedesca in materia, rispetto alle legislazioni delle altre nazioni, era piuttosto rigida e non ammetteva ambiguità.

Il dibattito sulla modifica di tali leggi è stato piuttosto acceso specie dopo la proposta di legge portata nel 2017 dallo stato di Baden-Wurtemberg ed ha portato, nel 2018, ad una riforma della legge federale sulle procedure penali.

In particolare la sezione 81d afferma che “I materiale ottenuto mediante misure ai sensi dell'articolo 81a o dell'articolo 81c può essere sottoposto ad analisi molecolari e genetiche al fine di stabilire il profilo del DNA, la discendenza e il sesso della persona e questi dati possono essere confrontati con materiale di riferimento nella misura in cui ciò sia necessario per stabilire i fatti.”, mentre l' articolo 81 e è stato modificato e ora sancisce che “...gli esami ai sensi dell'articolo 81e (1) possono essere ordinati solo dal tribunale e, in circostanze urgenti, dal pubblico ministero e dai suoi investigatori”.

Difatto il DNA Phenotyping è consentito in Germania per la previsione del colore della pelle, degli occhi e dei capelli e così come per l'età.

COOPERAZIONE INTERNAZIONALE

Affinché vi sia un maggiore sviluppo e maggior utilizzo del DNA Phenotyping è necessaria una collaborazione Europea ed internazionale ed una condivisione dei dati sia a fini di ricerca che soprattutto a fini forensi.

Questa è favorita e regolamentata dal Capo V del GDPR.

Art 45 1. “Il trasferimento di dati personali verso un paese terzo o un'organizzazione internazionale è ammesso se la Commissione ha deciso che il paese terzo, un territorio o uno o più settori specifici all'interno del paese terzo, o l'organizzazione internazionale in questione garantiscono un livello di protezione adeguato. In tal caso il trasferimento non necessita di autorizzazioni specifiche.

2. Nel valutare l'adeguatezza del livello di protezione, la Commissione prende in considerazione in particolare i seguenti elementi:

a) lo stato di diritto, il rispetto dei diritti umani e delle libertà fondamentali, la pertinente legislazione generale e settoriale (anche in materia di sicurezza pubblica, difesa, sicurezza nazionale, diritto penale e accesso delle autorità pubbliche ai dati personali), così come l'attuazione di tale legislazione, le norme in materia di protezione dei dati, le norme professionali e le misure di sicurezza, comprese le norme per il trasferimento successivo dei dati personali verso un altro paese terzo o un'altra organizzazione internazionale osservate nel paese o dall'organizzazione internazionale in questione, la giurisprudenza nonché i diritti effettivi e azionabili degli interessati e un ricorso effettivo in sede amministrativa e giudiziaria per gli interessati i cui dati personali sono oggetto di trasferimento;

b) l'esistenza e l'effettivo funzionamento di una o più autorità di controllo indipendenti nel paese terzo o cui è soggetta un'organizzazione internazionale, con competenza per garantire e controllare il rispetto delle norme in materia di protezione dei dati, comprensiva di adeguati poteri di esecuzione, per assistere e fornire consulenza agli interessati in merito

all'esercizio dei loro diritti e cooperare con le autorità di controllo degli Stati membri; e

c) gli impegni internazionali assunti dal paese terzo o dall'organizzazione internazionale in questione o altri obblighi derivanti da convenzioni o strumenti giuridicamente vincolanti come pure dalla loro partecipazione a sistemi multilaterali o regionali, in particolare in relazione alla protezione dei dati personali.”

In Europa questa necessità di collaborazione è particolarmente sentita.

L'obiettivo è un utilizzo dei dati genetici il più uniforme possibile. A tal riguardo è stato stilato nel 2005 il trattato di Prum la cui finalità è quella di aumentare le misure di coordinamento in materia di indagini giudiziarie e prevenzione dei reati.

Il principale settore in cui l'accordo interviene è quello dello scambio dei dati relativi al DNA dei condannati per reati sul territorio dei paesi aderenti. Questa norma, che non è prevista dal trattato di Schengen, amplia la quantità e la tipologia di informazioni che possono essere scambiate tra le forze di polizia.

Fanno parte del Trattato di Prum Austria, Belgio, Francia, Germania, Lussemburgo, Spagna, Paesi Bassi. L'Italia vi ha aderito nel 2007.

CAPITOLO 4

**PANORAMICA SULLE
LEGISLAZIONI VIGENTI IN
ITALIA**

COSTITUZIONE

In Italia attualmente il DNA Phenotyping non è adoperato in quanto sono assenti leggi specifiche, come in molti altri paesi dell'Unione Europea.

Nell' eventualità di una introduzione della Fenotipizzazione in Italia occorre considerare una serie di leggi inerenti la libertà, la privacy, l'utilizzo del materiale genetico e le varie sentenze emanate nel corso degli anni.

I caposaldi da considerare sono l'articolo 2 della Costituzione che recita: "La Repubblica riconosce e garantisce i diritti inviolabili dell'uomo, sia come singolo sia nelle formazioni sociali ove si svolge la sua personalità..."

e soprattutto l' Art.13 della Costituzione che sancisce che:

"la libertà personale è inviolabile. Non è ammessa forma alcuna di detenzione, di ispezione o perquisizione personale, né qualsiasi altra restrizione della libertà personale, se non per atto motivato dell'Autorità giudiziaria e nei soli casi e modi previsti dalla legge".

LEGISLAZIONI PRECEDENTI 85/2009

Prima di poter eventualmente introdurre il DNA Phenotyping in Italia è necessaria quindi una revisione delle varie leggi emanate nel corso degli anni.

La base di partenza può essere considerato l'articolo 4 del Regio Decreto del 18 giugno 1931 n.773 che afferma "L'autorità di pubblica sicurezza ha facoltà di ordinare che le persone pericolose o sospette e coloro che non sono in grado o si rifiutano di provare la loro identità siano sottoposti a rilievi segnaletici. "

Ben oltre 30 anni dopo, con la sentenza del 12 febbraio 1960 il Pretore di Busto Arsizio condannava il signor Salvatore Ciciriello alla pena di 15 giorni di arresto, per la contravvenzione di cui agli artt. 4 e 17 del T.U. delle leggi di pubblica sicurezza perché si rifiutava di sottoporsi ai rilievi segnaletici disposti nei suoi confronti dalla locale Autorità di pubblica sicurezza.

Avverso tale sentenza il Ciciriello proponeva appello dinanzi al Tribunale di Busto Arsizio e nei motivi presentati a sostegno del gravame sollevava la questione di legittimità costituzionale dell'art. 4 del citato T.U. di pubblica sicurezza in relazione all'art. 13 della Costituzione, in quanto i rilievi segnaletici tenderebbero ad attuare una restrizione personale che non può essere disposta senza la preventiva autorizzazione dell'Autorità giudiziaria. Il Tribunale di Busto Arsizio, in sede di appello, ritenuta la questione non manifestamente infondata e rilevante ai fini della decisione della causa, sospendeva il giudizio e rimetteva gli atti alla Corte costituzionale.

L'orientamento della Corte in ordine a tale interpretazione può essere così riassunto: l'art. 13 non si riferisce a qualsiasi limitazione della libertà personale, ma a quelle limitazioni che violano il principio tradizionale dell'habeas corpus(sentenza 2/1956, sentenza 11/1956, sentenza 27/1959, sentenza 12/1960, sentenza 45/1960).Tuttavia, come risulta in

particolare dalla sentenza 11/1956 che dichiarò illegittime le disposizioni concernenti l'ammonizione, la garanzia dell'habeas corpus non deve essere intesa soltanto in rapporto alla coercizione fisica della persona, ma anche alla menomazione della libertà morale quando tale menomazione implichi un assoggettamento totale della persona all'altrui potere.

Il problema da risolvere è, dunque: se l'esecuzione dei rilievi segnaletici importi l'assoggettamento, fisico o morale, di una persona al potere dell'organo di polizia, tale da costituire una restrizione della libertà personale equiparabile all'arresto.

La Corte costituzionale nella sentenza numero 30 del 1962 ha dichiarato:” in riferimento all'art. 13 della Costituzione, l'illegittimità costituzionale dell'art. 4 della legge di pubblica sicurezza nella parte in cui prevede rilievi segnaletici che comportino ispezioni personali ai sensi della stessa norma costituzionale. “

Altra sentenza fondamentale è la 54 del 1986 che riguarda il giudizio di legittimità costituzionale degli articoli 146,314 e 317 del codice di procedura penale in riferimento all'articolo 13 della Costituzione.

La questione di legittimità veniva sollevata dal giudice del Tribunale di Torino in un caso coinvolgente un individuo (Lucci Chiarissi Ugo) rifiutatosi di prestarsi al prelievo ematico disposto dal Giudice Istruttore.

Le considerazioni in diritto da fare sono che da una parte “non è esatto che il Giudice incontri limite alcuno ai suoi poteri dispositivi in materia penale e ad i mezzi per attuarli perché l'ordinamento giuridico va letto nel contesto della Costituzione “, dall' altra “si evince che la Costituzione consente sia la detenzione che qualsiasi altra restrizione della libertà personale proprio e soltanto se vi sia atto motivato dall'autorità giudiziaria e nei soli casi previsti dalla legge.”.

Poiché le ragioni relative alla giustizia penale e all'accertamento della verità che la concerne rientrano sicuramente tra i “casi” previsti dalla legge e la perizia medico-legale è altrettanto certamente uno dei “modi” legittimi mediante i quali è lecito al giudice previa congrua motivazione (sentenze nn.156/1967 e 64/1970) attuare una qualsiasi restrizione della libertà

personale, la corte ha dichiarato non fondata la questione di legittimità costituzionale in riferimento all'articolo 13.

Di fatto secondo tale sentenza il prelievo, contro la volontà dell'imputato, non va contro l'articolo 13 della Costituzione: ciò è molto utile anche nell'ottica di una eventuale legge specifica sul DNA Phenotyping.

La questione si ripresentò alcuni anni dopo con la sentenza 238 /1996 della Corte costituzionale.

Tale sentenza riguarda il giudizio di legittimità costituzionale dell'art 224 comma 2 del codice di procedura penale.

Tale articolo recita "Il giudice dispone la citazione del perito e dà gli opportuni provvedimenti per la comparizione delle persone sottoposte all'esame del perito. Adotta tutti gli altri provvedimenti che si rendono necessari per l'esecuzione delle operazioni peritali."

Grazie a questo inciso l'accertamento coattivo è stato a lungo effettuato.

Tale giudizio di legittimità fu promosso dal giudice per le indagini preliminari presso il tribunale di Civitavecchia nel procedimento penale a carico di Gregori Fabio.

Il caso fu piuttosto particolare.

Il 2 febbraio 1995 Jessica Gregori, figlia di Fabio, che allora aveva cinque anni, sostenne di aver visto un liquido, che sembrava sangue, scendere dagli occhi della Madonnina, lungo le guance. Avvertì il padre e questi, dopo aver avvisato la moglie, riferì poco dopo l'accaduto a don Pablo, che si recò subito dai Gregori, constatando di persona il fenomeno dando così origine a fenomeni di pellegrinaggio religioso.

A seguito di una denuncia del Codacons²⁷ per abuso della credulità popolare e truffa", la statua viene posta sotto sequestro dal magistrato²⁸.

Il 24 febbraio 1995 fu effettuata una TAC che esclude la presenza di marchingegni o altre anomalie all'interno della statuetta mentre i risultati degli esami del liquido prelevato dalla statuetta concludevano che "le tracce

²⁷ [La fabbrica dei miracoli](#), La Repubblica 3 marzo 1995

²⁸ La Repubblica, 10 aprile 1995.

di apparenza ematica riscontrate sul volto e sul collo della statua della Madonna sottoposte all' esame sono risultate tracce di sangue umano maschile. L'esame macroscopico e radiologico della statua non ha evidenziato la presenza di anomalie all'infuori delle tracce ematiche" per cui fu chiesto ai componenti maschili della famiglia Gregori di sottoporsi a un prelievo di materiale genetico volto a comparare il loro profilo con "il sangue della statua". Tutti i componenti si rifiutarono.

Qui si inserisce la sentenza 238 del 1996 che dichiara l'illegittimità costituzionale dell'art. 224, comma 2, del codice di procedura penale nella parte in cui consente che il giudice, nell'ambito delle operazioni peritali, disponga misure che comunque incidano sulla libertà personale dell'indagato o dell'imputato o di terzi, al di fuori di quelle specificamente previste nei "casi" e nei "modi" dalla legge.

Più nel dettaglio tale sentenza sottolineava che "avendo l'indagato manifestato la volontà di non sottoporsi al prelievo ematico, il mezzo di prova comporta inevitabilmente l'uso di mezzi coercitivi che impongono la privazione della libertà personale e la sottoposizione del soggetto ad accertamenti invasivi del suo corpo."

La Corte sottolineava inoltre che "... (in riferimento alla sentenza 54.1986) ha sì già legittimato il prelievo ematico coattivo con riferimento alle norme del codice di procedura penale abrogato, la questione può non di meno essere riproposta nel mutato assetto processuale del nuovo codice. Infatti, l'articolo 224 del codice di procedura penale consente in modo del tutto generico la possibilità di omettere un provvedimento coattivo per assicurare il compimento della perizia e prevede la facoltà del giudice di disporre gli opportuni provvedimenti per la comparizione delle persone sottoposte all'esame del perito e di adottare tutti gli altri provvedimenti che si rendono necessari per l'esecuzione delle operazioni peritali. Invece la norma costituzionale, riconoscendo la inviolabilità della libertà personale, non consente restrizione alcuna della stessa se non per atto motivato dall'autorità giudiziaria e nei soli casi e modi previsti dalla legge; e ciò

implica la necessaria “tipizzazione” delle possibilità di restrizione della libertà personale.”

È quindi operante nel caso della garanzia della riserva di legge che implica l’esigenza di tipizzazione dei “casi e modi” in cui la libertà personale può essere legittimamente compressa e ristretta. Ne segue che- fino a quando il legislatore non sarà intervenuto ad individuare i tipi di misure restrittive della libertà personale che possono dal giudice essere disposte allo scopo di consentire (anche contro la volontà della persona assoggettata all’esame) l’espletamento della perizia ritenuta necessaria ai fini processuali, nonché a precisare i casi ed i modi in cui le stesse possono essere adottate- nessun provvedimento di tal genere potrà essere disposto.

Come notato in dottrina²⁹, «all’interno degli atti genericamente limitativi della libertà personale, si è iniziato a distinguere l’atto coercitivo, ossia limitativo ‘soltanto’ della libertà personale intesa in senso tradizionale – come può essere l’ispezione o la perquisizione – rispetto all’atto invasivo, all’accertamento corporale, limitativo anche della libertà corporale, come può essere il prelievo ematico». In mancanza di un celere intervento legislativo, l’interprete veniva chiamato ad una difficile distinzione, tra atto invasivo ed atto non invasivo.³⁰

Si sono rese necessarie quindi nuove leggi o modifiche di quelle esistenti.

²⁹ Gialuz, L’accesso al corpo tramite strumenti diagnostici, in *Le indagini atipiche*, a cura di Sclafati, Giappichelli, 2014.

³⁰ Ad esempio, se il limite della invasività è individuato nel superamento della barriera fisica del corpo, l’analisi di parti distaccate – quali capelli, peli, sangue già prelevato per accertamenti medici, saliva – non è soggetta ai limiti individuati dalla Corte costituzionale, così come il prelievo di tali parti, seppur ancora adese al corpo, siccome tale operazione attiene a parti non sensibili del corpo. L’inserimento di un sondino che leda la cute sarebbe un atto invasivo, ma altrettanto potrebbe sostenersi per una microsonda da deglutire. Dubitativa la soluzione per gli accertamenti radiologici, effettuati senza lesione della cute o inserimento di sonde di qualsiasi tipo, in quanto solo la loro ripetizione, allo stato delle conoscenze scientifiche, sembra comportare una mutazione delle strutture biologiche interne. Si veda in dottrina Ubertis, *Attività investigativa e prelievo di campioni biologici*, in *Cass. Pen.*, n. 1 del 2008, p. 7; Ciliberti e De Stefano, *L’ispezione corporale e l’accertamento radiografico coattivo. Considerazioni etiche e medico-legali*, in *Riv. It. Med. Leg.*, 2007, 1, 87.

Con il decreto-legge del 27.7.2005 n. 144, convertito nella Legge del 31.7.2005, n. 155, viene introdotto il comma 2 bis nell'art. 349 c.p.p., consentendo alla Polizia Giudiziaria di procedere al prelievo coattivo di capelli o saliva a soli fini identificativi. L'articolo 10 infatti stabilisce che:

“1. All'articolo 349, del codice di procedura penale, che è l'articolo inerente l'” identificazione della persona nei cui confronti vengono svolte le indagini e di altre persone” dopo il comma 2, è inserito il seguente:

«2-bis. Se gli accertamenti indicati dal comma 2 comportano il prelievo di capelli o saliva e manca il consenso dell'interessato, la polizia giudiziaria procede al prelievo coattivo nel rispetto della dignità personale del soggetto, previa autorizzazione scritta, oppure resa oralmente e confermata per iscritto, del pubblico ministero».

Tale legge risolse in parte la questione sui poteri della Polizia Giudiziaria, ma l'anno di svolta, tuttavia, fu il 2009 ed in particolare con la legge 85 che, a seguito di una lunga gestazione segnata da una marcata inconcludenza legislativa, ha colmato il vuoto normativo determinatosi.

LEGGE 85/2009

I punti chiave di tale legge sono:

- L'articolo 24 che introduce l'articolo 224 bis del codice di procedura penale
- L'articolo 25 che introduce l'articolo 359 bis del codice di procedura penale
- L'adesione al Trattato di Prum
- L' Istituzione della Banca dati del DNA

L'articolo 224 sancisce che "il giudice dispone la citazione del perito e dà gli opportuni provvedimenti per la comparizione delle persone sottoposte all'esame del perito. Adotta tutti gli altri provvedimenti che si rendono necessari per l'esecuzione delle operazioni peritali. "

Anche in questo caso l'articolo era piuttosto generico, infatti, numerose sentenze della Cassazione Penale lo hanno evidenziato.

Tra le sentenze più importanti citiamo:

Cassazione Penale 10958/1999 "per effetto della sentenza della Corte cost. n 238 del 1996 non è più consentito al giudice disporre misure- non rispondenti a tipologie previamente individuate dalla legge, con specificazione dei casi e dei modi di attuazione – aventi incidenza sulla libertà personale dell'indagato allo scopo di assicurare anche contro la volontà della persona sottoposta all'accertamento, l'esecuzione di indagini peritali ritenute necessarie ai fini processuali.

Cassazione Penale 1472/1999 " qualora l'imputato sia stato sottoposto coattivamente a prelievo di sangue da sottoporre a perizia ematologica, il risultato della prova così conseguita - contrastando con quanto affermato dalla sentenza 238 del 1996 che ha dichiarato l'incostituzionalità dell'art 224

c.p.p. nella parte in cui consente al giudice di disporre misure aventi incidenza sulla libertà personale dell'imputato senza che siano previsti dalla legge i casi e i modi dell'espletamento di tale attività- è "inutilizzabile".

Cassazione Penale 1556/ 1997 "Non è consentito al giudice disporre nei confronti dell'imputato l'esecuzione coattiva d'una perizia ematologico-genetica. Infatti, la Corte Costituzionale con sentenza 238 del 1996 ha dichiarato illegittimo l'art 224 comma secondo ccp nella parte in cui consente al giudice, ai fini dell'espletamento d'una perizia di disporre misure aventi incidenza sulla libertà personale dell'indagato, dell'imputato o di terzi senza prevedere quali siano quelle esperibili e senza elencare i casi ed i modi in cui siano adottabili."

L'articolo 224 bis introdotto invece afferma che , comma 1, "Quando si procede per delitto non colposo, consumato o tentato, per il quale la legge stabilisce la pena dell'ergastolo o della reclusione superiore nel massimo a tre anni , per i delitti di cui agli articoli 589-bis e 590-bis del codice penale e negli altri casi espressamente previsti dalla legge, se per l'esecuzione della perizia è necessario compiere atti idonei ad incidere sulla libertà personale, quali il prelievo di capelli, di peli o di mucosa del cavo orale su persone viventi ai fini della determinazione del profilo del DNA o accertamenti medici, e non vi è il consenso della persona da sottoporre all'esame del perito, il giudice, anche d'ufficio, ne dispone con ordinanza motivata l'esecuzione coattiva, se essa risulta assolutamente indispensabile per la prova dei fatti."

Due sono i presupposti per l'emissione dell'ordinanza, l'uno attinente al tipo di reato per il quale si procede, l'altro è che l'esecuzione coattiva sia «assolutamente indispensabile per la prova dei fatti". Ovvero che vi si farà ricorso solo dopo aver verificato che, allo stato delle indagini effettuate, altre strade non sono parimenti percorribili.

Qualora l'ordinanza non incontri la spontanea adesione dell'interessato, sia l'art. 359 bis che l'art. 224 bis, prevedono la possibilità di disporre l'accompagnamento coattivo e, ulteriormente, l'esecuzione coattiva.

L'inciso contenuto nel comma sesto dell'art. 224 bis – «se, pur comparendo, rifiuti di prestare il proprio consenso» – fa capire come il legislatore preferisca, e tenti di ottenere, la prestazione del consenso. Non è esclusa la possibilità che l'ordinanza, pragmaticamente, disponga l'esecuzione coattiva lasciando salva la possibilità di una spontanea prestazione del consenso.³¹

La tipologia di accertamenti è varia, siccome l'elencazione contenuta nell'art. 224 bis – cui fa rinvio il 359 bis – appare meramente esemplificativa.

La norma parla, infatti, di «atti idonei ad incidere sulla libertà personale, quali il prelievo di capelli, di peli o di mucosa del cavo orale su persone viventi ai fini della determinazione del profilo del DNA o accertamenti medici». La norma individua due specie di atti, nel genere di quelli idonei ad incidere sulla libertà personale: quelli specificati in via meramente esemplificativa – «prelievo di capelli, di peli o di mucosa del cavo orale su persone viventi» – e finalizzati alla «determinazione del profilo del DNA», e gli accertamenti medici, questi senza una elencazione ed una direzione di scopo.

Una formula, dunque, che permette al processo penale di avvalersi del progresso della scienza e della tecnica (e quindi potenzialmente anche all'utilizzo del DNA Phenotyping...)

È temperato comunque un limite al comma 4 che afferma “Non possono in alcun modo essere disposte operazioni che contrastano con espressi divieti posti dalla legge o che possono mettere in pericolo la vita, l'integrità fisica o la salute della persona o del nascituro, ovvero che, secondo la scienza medica, possono provocare sofferenze di lieve entità.”.

La violazione di tale comma rende la prova inutilizzabile.

In mancanza di questa clausola limitativa, comunque l'ordinamento avrebbe offerto dei criteri guida, come, ad esempio, quello di cui all'art. 5 C.c., ma la sua introduzione nel corpo della norma codicistica non lascia solo il giudice di fronte alle incognite dei progressi medico/scientifici, dal momento che in tal caso la persona assume il ruolo di fonte di prova reale.

³¹ Contra G.I.P. Chieti, ordinanza del 7.6.2011, in *Giur. Mer.*, 10, 2521

In conclusione, sull'argomento, l'intervento del legislatore ha dato esatta esecuzione alle indicazioni della Corte Costituzionale: «il procedimento è giurisdizionalizzato e prevede l'assistenza tecnica del difensore. È adottato un criterio di proporzionalità, perché l'accertamento coattivo è limitato a reati di gravità medio alta. È applicato un criterio di residualità, perché l'accertamento è disposto solo quando sia assolutamente indispensabile per la prova dei fatti. È imposto un criterio di gradualità, perché il giudice deve privilegiare l'accertamento consentito dall'interessato e, se questo non è possibile, l'accertamento meno invasivo»³²

L'art 359 bis invece è inerente al prelievo coattivo di campioni biologici su persone viventi e sancisce:

“1. Fermo quanto disposto dall'articolo 349, comma 2-bis (ovvero” Se gli accertamenti indicati dal comma 2 comportano il prelievo di capelli o saliva e manca il consenso dell'interessato, la polizia giudiziaria procede al prelievo coattivo nel rispetto della dignità personale del soggetto, previa autorizzazione scritta, oppure resa oralmente e confermata per iscritto, del pubblico ministero) , quando devono essere eseguite le operazioni di cui all'articolo 224 bis e non vi è il consenso della persona interessata, il pubblico ministero ne fa richiesta al giudice per le indagini preliminari che le autorizza con ordinanza quando ricorrono le condizioni ivi previste.

2. Nei casi di urgenza, quando vi è fondato motivo di ritenere che dal ritardo possa derivare grave o irreparabile pregiudizio alle indagini, il pubblico ministero dispone lo svolgimento delle operazioni con decreto motivato contenente i medesimi elementi previsti dal comma 2 dell'articolo 224 bis, provvedendo a disporre l'accompagnamento coattivo, qualora la persona da sottoporre alle operazioni non si presenti senza addurre un legittimo impedimento, ovvero l'esecuzione coattiva delle operazioni, se la persona comparsa rifiuta di sottoporvisi. Entro le

³² Così Leo, *Il prelievo coattivo di materiale biologico*, relazione ad incontro di studi n. 5346 dal titolo “*Corso Paolo Borsellino: Tecniche di indagine e rapporti tra pubblico ministero, polizia giudiziaria, consulenti tecnici e difensori*”, organizzato dal CSM, Roma, 4-8 luglio 2011, 23.

quarantotto ore successive il pubblico ministero richiede al giudice per le indagini preliminari la convalida del decreto e dell'eventuale provvedimento di accompagnamento coattivo. Il giudice provvede con ordinanza al più presto e comunque entro le quarantotto ore successive, dandone avviso immediatamente al pubblico ministero e al difensore.

Ciò è confermato da alcune sentenze quali:

Sentenza 2476/2014 :” per quanto riguarda il prelievo di campioni biologici dalla persona sottoposta ad indagine, la Corte di Cassazione chiarisce che può essere svolta, a seconda dei casi e delle modalità, o tramite prelievo coattivo compiuto dalla P.G. quando si esaurisce nel «carpire un campione salivare o acquisire capelli o peli» oppure tramite il ricorso a tecnico (consulente o perito) nel caso in cui l'attività tecnica necessaria abbia carattere invasivo, come ad esempio quando questa avviene mediante l'acquisizione di «campioni di tessuto interno, reperti riconducibili a materiale organico non apprendibile senza l'uso di tecniche chirurgiche o senza il ricorso a competenze mediche».

Sentenza 44624/2004 rileva come «Il rifiuto dell'imputato di consegnare o lasciar prelevare materiale biologico utile alla comparazione del DNA, quando non siano state prospettate allo scopo modalità invasive o comunque lesive dell'integrità e della libertà personale, costituisce, se non motivato con giustificazioni esplicite e fondate, elemento di prova valutabile dal giudice a fini di ricostruzione del fatto, anche in qualità di riscontro individualizzante della chiamata in correità»

Sentenza affine è la 2087/2012 che riconosce come: «in tema di perizia o di accertamenti tecnici irripetibili, il prelievo del DNA della persona indagata, attraverso il sequestro di oggetti contenenti residui organici alla stessa attribuibili, non è qualificabile quale atto invasivo o costrittivo, e, essendo prodromico all'effettuazione di accertamenti tecnici, non richiede l'osservanza delle garanzie difensive, che devono, invece, essere garantite nelle successive operazioni di comparazione del consulente tecnico». In tutti questi casi il sequestro è atto garantito ai sensi degli articoli 253 e ss., 365 e ss. c.p.p., senza che sia necessario provvedere al prelievo coattivo

del DNA mediante atti di tipo invasivo. Ciò può essere molto utile nell'ottica del DNA Phenotyping.

La legge 85/2009 inoltre afferma che "Il Presidente della Repubblica e' autorizzato ad aderire al Trattato concluso il 27 maggio 2005" noto anche come Trattato di Prüm.

Il Trattato di Prüm, sottoscritto il 27 maggio 2005 da sette Stati membri dell'Unione Europea (Germania, Spagna, Francia, Austria, Belgio, Paesi Bassi e Lussemburgo), ha lo scopo di rafforzare la cooperazione di polizia in materia di lotta al terrorismo, alla criminalità transfrontaliera e all'immigrazione.

Il Trattato è aperto all'adesione degli altri Stati membri e all'art. 1 esprime l'auspicio che, sulla base dei risultati conseguiti, possa essere trasferito nell'ambito del diritto dell'UE.

L'Accordo di Prüm enumera i settori di applicazione e, in particolare, prevede disposizioni concernenti lo scambio di dati relativi a DNA e impronte digitali, lo scambio di informazioni su persone inquisite, sugli autoveicoli e i proprietari degli stessi, sul possibile utilizzo di Sky Marshalls a bordo degli aerei da parte dei Paesi che intendano avvalersi di tale strumento, sulla falsificazione di documenti, sui rimpatri congiunti e i pattugliamenti congiunti di frontiera.

Per quanto attiene alla lotta all'immigrazione clandestina è previsto anche l'invio di Ufficiali di collegamento esperti in falsi documentali nei Paesi di origine dei flussi migratori irregolari.

L'Accordo prevede, altresì, la possibilità di costituire squadre miste per forme di intervento comune nel territorio di uno degli Stati contraenti e la mutua assistenza in occasione di manifestazioni di massa, catastrofi ed altre gravi calamità.³³

Infine, per quanto riguarda la banca dati la legge in questione, articolo 5, afferma :

³³ Ministero dell'Interno

1. Al fine di facilitare l'identificazione degli autori dei delitti, presso il Ministero dell'interno, Dipartimento della pubblica sicurezza, è istituita la banca dati nazionale del DNA.

2. Presso il Ministero della giustizia, Dipartimento dell'amministrazione penitenziaria, è istituito il laboratorio centrale per la banca dati nazionale del DNA.

Tale Banca dati è stata istituita dalla legge n.85 del 2009 ma solo di recente è stata posta in grado di operare a seguito dell'approvazione del relativo Regolamento (d.P.R 7 Aprile 2016, n.87).

d.P.R 7 APRILE 2016, N.87

Il d.P.R. in questione, infatti, regola l'istituzione della banca dati nazionale del DNA e del laboratorio centrale per la banca dati nazionale del DNA.

Tale DPR "Regolamento recante disposizioni di attuazione della legge 30 giugno 2009, n. 85, concernente l'istituzione della banca dati nazionale del DNA e del laboratorio centrale per la banca dati nazionale del DNA, ai sensi dell'articolo 16 della legge n. 85 del 2009 "è allo stato attuale la legislazione più inerente al DNA Phenotyping, sebbene mai espressamente citato, e in futuro potrà essere considerato una base per una nuova legge più specifica.

I punti salienti di tale DPR sono numerosi.

Per quanto riguarda i dati personali l'Art.1 sancisce che "il trattamento dei dati personali in applicazione del presente regolamento è effettuato nel rispetto della disciplina in materia di protezione dei dati personali, in conformità al Codice in materia di protezione dei dati personali di cui al decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 196"

Per quanto riguarda i compiti della Banca dati l'Art.3 sancisce che "La Banca dati è predisposta per la raccolta ed il raffronto dei profili del DNA, secondo quanto previsto dalla legge. Per la gestione dei profili del DNA il software della Banca dati è organizzato su due livelli. Il primo livello è impiegato ai fini investigativi in ambito nazionale. Il secondo livello è impiegato anche per le finalità di collaborazione internazionale di polizia in conformità alle decisioni n. 2008/615/GAI e n. 2008/616/GAI."

Per mantenere la sicurezza dei dati contenuti nella Banca dati, problema piuttosto spinoso dal punto di vista etico, sempre l'articolo 3 sancisce che "La continuità di funzionamento della Banca dati è assicurata da uno specifico sistema secondario remoto(..)gli accessi alla Banca dati e le operazioni di trattamento dei dati sono riservati ai soli operatori abilitati e

designati incaricati del trattamento dei dati personali ai sensi dell'articolo 28 del decreto legislativo 30 giugno 2003, n. 196 e in possesso di credenziali di autenticazione previo superamento di una procedura informatica di autenticazione forte.

Alla Banca Dati è affiancato il Laboratorio centrale per la banca dei dati del DNA che è l'organo appositamente incaricato della elaborazione dei profili genetici da custodirsi presso la medesima banca, come sancisce l'articolo 4. L'ingresso a tale laboratorio è limitato e con regole simili a quelle presenti per la Banca Dati.

Tale decreto fornisce la possibilità di utilizzare tali dati in caso di persone scomparse. Infatti, l'articolo 6 afferma che "Nei casi di denuncia di scomparsa di una persona, la polizia giudiziaria acquisisce, ove ritenuto necessario, gli elementi informativi della persona scomparsa e gli oggetti ad uso esclusivo della stessa, al fine di ottenerne il profilo del DNA. Per incrementare il potere identificativo del profilo di DNA, può essere richiesto ai consanguinei di sottoporsi volontariamente al prelievo biologico. In questo caso il soggetto è sottoposto ad una procedura di identificazione mediante acquisizione dei suoi dati anagrafici e degli estremi del documento di identificazione. I dati anagrafici dei soggetti consanguinei di cui al comma 1 sono inseriti in un sottoinsieme dell'AFIS ed i profili del DNA conservati in un sottoinsieme della Banca dati consultabili solo ai fini dell'identificazione della persona scomparsa.

Le norme per la conservazione di tali dati sono piuttosto severe come severe sono le norme per il confronto tra i profili DNA. L'Articolo 10 infatti sancisce che Il raffronto tra profili di DNA è effettuato nella Banca dati in base ai loci per i quali in entrambi i profili è disponibile la stessa coppia di valori dell'allele. Al fine di dare una risposta di concordanza positiva fra profili del DNA, deve esserci una concordanza di almeno dieci loci.

Per concordanza totale si intende il caso in cui tutti i valori identificativi degli alleli dei loci raffrontati sono identici.

Per quasi concordanza si intende il caso in cui tra due profili del DNA un solo allele fra tutti quelli raffrontati è di valore diverso.

Una quasi concordanza è ammessa solo in caso di concordanza totale di almeno sette loci dei due profili del DNA raffrontati.

Tali disposizioni valgono per il territorio italiano, ma l'Italia collabora con le altre nazioni. Affinché ci sia una sempre più maggiore possibilità di utilizzo ed efficacia della genetica forense è necessaria una collaborazione internazionale. L'Italia contribuisce come sancito dall' Art 12 che afferma che “La consultazione dei profili del DNA contenuti nella Banca dati, per le finalità di cooperazione transfrontaliera di cui all'articolo 1, comma 2, è consentita ai punti di contatto esteri, in possesso delle credenziali di autenticazione e autorizzazione, per il raffronto con i profili del DNA contenuti al secondo livello della banca dati secondo quanto previsto dalle decisioni n. 2008/615/GAI e n. 2008/616/GAI, e successive modificazioni, in modalità automatizzata, nonché per finalità di collaborazione internazionale di polizia ai sensi dell'articolo 12 della legge secondo i protocolli e i canali di comunicazione codificati a livello internazionale.”

Allo stesso modo i Paesi Esteri collaborano con l'Italia come specificato nell'articolo 13 in cui si sancisce che” La polizia giudiziaria che deve ricercare un profilo del DNA in ambito internazionale formula specifica richiesta al punto di contatto nazionale. Le banche dati estere vengono consultate tramite un'applicazione del portale della Banca dati, tramite il punto di contatto nazionale, caso per caso ai sensi dell'articolo 2, lettera k) della Decisione del Consiglio dell'Unione europea n. 2008/616/GAI, secondo una codifica tecnica stabilita dal responsabile della Banca dati in conformità agli articoli 7, 8, 9, 10 e 11 della decisione del Consiglio dell'Unione europea n. 2008/616/GAI, nonché in base ai protocolli e ai canali di comunicazione internazionali e successive modificazioni.”

Questo è stato ribadito con la sentenza 39904 /2018.

Particolare attenzione è rivolta verso le tempistiche di conservazione dei dati, che rappresentano una delle questioni etiche più problematiche.

Tali tempi vengono sanciti dall' Articolo 24 e 25.

L'articolo 24 riguardo i tempi di conservazione dei campioni biologici afferma che “Il DNA estratto dai campioni biologici, dopo la sua completa tipizzazione deve essere distrutto. Le operazioni di distruzione devono essere verbalizzate da parte del personale del laboratorio operante. La parte del campione biologico non utilizzata ed il secondo campione di riserva sono conservati per un periodo di otto anni. Decorso il termine di cui al comma 3, i campioni biologici devono essere distrutti da parte del personale in servizio presso il Laboratorio centrale. Di tale operazione è redatto verbale. L'avvenuta distruzione è comunicata per via telematica all'AFIS, al fine di permettere l'aggiornamento del dato relativo all'esistenza di un precedente prelievo”.

L'articolo 25 riguardo i tempi di conservazione dei profili DNA afferma che “I profili del DNA ottenuti dai soggetti di cui all'articolo 9 della legge sono conservati per trenta anni dalla data dell'ultima registrazione di cui all'articolo 5, comma 1. Quando il profilo del DNA si riferisce a persone condannate con sentenza irrevocabile per uno o più dei reati per i quali la legge prevede l'arresto obbligatorio in flagranza, o per taluno dei reati di cui all'articolo 407, comma 2, lettera a), del codice di procedura penale, il periodo di conservazione è elevato a quaranta anni dalla data dell'ultima registrazione di cui all'articolo 5.

Il profilo del DNA ottenuto da un soggetto di cui all'articolo 9 della legge nei cui confronti, in sede di emissione di sentenza di condanna irrevocabile, sia stata ritenuta la recidiva, è conservato per quaranta anni.”

La materia oggi invece è regolata da un Decreto Interministeriale del 12 Maggio 2017 sulla “Modalità di cancellazione dei profili Del DNA, di distruzione dei campioni biologici, di immissione e di aggiornamento dei dati necessari ai fini della determinazione dei tempi di conservazione dei medesimi profili DNA.”

Tale Decreto sancisce inoltre che, divenuta irrevocabile la sentenza di assoluzione (art. 530 codice procedura penale), pronunciata con una delle seguenti formule: il fatto non sussiste; l'imputato non lo ha commesso; il fatto non costituisce reato; il fatto non è previsto dalla legge come reato; il

giudice che ha emesso la sentenza ordina d'ufficio la cancellazione del profilo del DNA dell'assolto (...) e la distruzione dei relativi campioni biologici presenti presso il Laboratorio centrale, acquisiti ai sensi dell'art. 9 della legge.

Nel sito del Ministero dell'Interno si legge come al 21 giugno 2020, quindi dopo diciotto mesi di funzionamento, sono stati analizzati circa 200.000 campioni biologici e circa 20.000 profili genetici sono stati inseriti nella Banca Dati Nazionale del DNA.

Altri 20.000 profili circa sono stati rinvenuti sulle scene dei crimini (cd. reperti), analizzati ed inseriti in banca dati.

L'utilizzo di tale strumento «ha consentito di effettuare già oltre 1000 correlazioni tra soggetti sottoposti a provvedimenti dell'autorità giudiziaria e scene del crimine (43% furti, 23 % rapine, 10% omicidio doloso, 5% violenza sessuale, 3% tentato omicidio)».

Il funzionamento della Banca Dati ha rilievo anche nelle relazioni con altri Paesi e nel sito si legge ancora che: «nel solo 2019, sono stati scambiati 487 i profili del DNA e 7 “match” a livello internazionale tra scene del crimine e soggetti noti in Svizzera e Francia».

Inoltre, «la Banca dati viene impiegata anche nella ricerca delle persone scomparse e nel riconoscimento di cadaveri non identificati. Il miglioramento delle tecniche analitiche permette, infatti, la possibilità di ottenere profili genetici anche da microtracce e non solo da fluidi biologici come avveniva in passato. Questo consente di riaprire casi rimasti insoluti da tempo con la possibilità di lavorare su reperti non ritenuti, all'epoca, idonei all'estrazione del DNA. Ben 156 sono i *cold case* risolti dal 2017 ad oggi, il più antico dei quali risale a ventuno anni fa».

Si tratta, dunque, di strumento che ha iniziato a produrre risultati numericamente anche importanti e pare facile prevedere un aumentato interesse della giurisprudenza in questo campo nei prossimi anni.

Di fatto il DNA Phenotyping non è mai espressamente citato, il che spiega come mai esso non venga utilizzato.

Nell' eventualità di un'introduzione di tale tecnica nel suolo italiano occorre prendere in considerazione i precedenti articoli della legge 85/2009 e del DPR 87/2016 e possono essere utili alcune sentenze sotto citate.

Secondo una decisione (Cassazione,2270), "in assenza di sigilli sulla cosa sequestrata, la prova è inutilizzabile se il giudice non è in grado di verificare che i campioni utilizzati non siano stati confusi o manipolati.

In occasione del processo relativo ad Amanda Knox e Raffaele Sollecito sull'omicidio di Meredith Kercher, tale evidenza non fu applicabile per uno degli imputati (Rudy Guede), ma nel caso di Knox e Sollecito le uniche due tracce utilizzate come prove forensi non offrivano alcuna garanzia di non manipolazione all'epoca del delitto.

La sentenza in questione (36080/2015) recita " Se, al contrario, si sono verificate violazioni «delle regole procedurali prescritte dai Protocolli scientifici internazionali in materia di repertazione e conservazione dei supporti da esaminare, nonché di ripetizione delle analisi» si dovrà concludere che «gli esiti di "compatibilità" del profilo genetico comparato non abbiano il carattere di certezza necessario per conferire loro una valenza indiziante, costituendo essi un mero dato processuale, privo di autonoma capacità dimostrativa e suscettibile di apprezzamento solo in chiave di eventuale conferma di altri elementi probatori»

La decisione è stata occasione per precisare che è necessario stabilire standard rigorosi e non semplici linee guida affinché la "corrispondenza" tra il campione trovato sulla scena del crimine e il DNA dell'imputato possa essere utilizzato come prova forense durante il processo.

Sull'utilizzo delle caratteristiche estrapolate dal DNA ci fu un'altra sentenza che fece scalpore.

Si tratta della sentenza della Corte di Assise d'Appello di Trieste.

La sentenza del 18 settembre 2009 sul caso Bayout. Da molti è vista come una apripista sulla predisposizione genetica alla criminalità.

Nel 2007 un cittadino algerino, Abdelmalek Bayout, uccise in modo efferato un giovane colombiano che lo aveva apostrofato quale "omosessuale" perché aveva gli occhi truccati con il kajal.

La Corte d'Appello di Trieste, preso atto del disaccordo fra il G.U.P. e il perito d'ufficio in ordine alla capacità di intendere e di volere dell'imputato ha disposto l'effettuazione di una ulteriore perizia psichiatrica. Secondo i periti, le cui conclusioni sono state fatte proprie dalla Corte, «la capacità di intendere del Bayout sarebbe stata grandemente scemata dalla estrema difficoltà, in un “quadro psichiatrico caratterizzato da una tipologia di personalità di tipo dipendente-negativistico con un importante disturbo ansioso-depressivo accompagnata da pensieri deliranti ed alterazioni del pensiero” associata a disturbi cognitivi, di interpretare correttamente la situazione nella quale si trovava pur non risultando tali deficit “di livello talmente grave da abolire la capacità d'intendere».

Il disturbo dell'imputato era stato riconosciuto anche del G.U.P. che aveva ritenuto l'imputato parzialmente capace di intendere e di volere avendo ritenuto che «la patologia da cui l'imputato era affetto avesse solamente influenzato, al più, una normale volontà di vendetta, amplificandola nell'ambito del più generale disturbo».

Oltre a questa valutazione, però, secondo la Corte, «particolarmente significative sono risultate le analisi genetiche effettuate dai periti alla “ricerca di polimorfismi genetici significativi per modulare le reazioni a variabili ambientali, fra i quali in particolare per quello che interessa nel caso di specie l'esposizione ad eventi stressanti ed a reagire agli stessi con comportamenti di tipo impulsivo”.

Tale indagine, del tutto innovativa rispetto al livello di approfondimento corrente degli accertamenti giudiziari avrebbe consentito di accertare che l'imputato “risulta possedere, per ciascuno dei polimorfismi esaminati almeno uno se non tutti e due gli alleli che, in base a numerosi studi internazionali riportato sinora in letteratura, sono stati riscontrati conferire un significativo aumento del rischio di sviluppo di un comportamento aggressivo, impulsivo (socialmente inaccettabile). In particolare, l'essere portatore dell'allele a bassa attività per il gene MAOA (MAOA-1) potrebbe rendere il soggetto maggiormente incline a manifestare aggressività se provocato o escluso socialmente. È opportuno sottolineare che tale

“vulnerabilità genetica” risulta avere un peso ancor più significativo nel caso in cui l’individuo sia cresciuto in un contesto familiare e sociale non positivo e sia stato, specialmente nelle prime decadi della vita, esposto a fattori ambientali sfavorevoli, psicologicamente traumatici o negativi”».

La Corte ha concluso che «proprio la circostanza emersa nel corso dell’ultima perizia psichiatrica e, vale a dire, che determinati “geni” presenti nel patrimonio cromosomico dell’imputato lo renderebbero particolarmente reattivo in termini di aggressività – e, conseguentemente vulnerabile – in presenza di situazioni di stress induce la Corte a rivalutare la decisione del GUP di non applicare nel massimo la riduzione di pena possibile per il difetto parziale di imputabilità. Proprio l’importanza del deficit riscontrato dai periti con queste nuovissime risultanze frutto dell’indagine genetica portano a ritenere che la riduzione possa effettivamente essere operata nella misura massima di un terzo».

Questa decisione rimane fino ad oggi isolata ma non è escluso che serva da precedente per le decisioni simile.

Un ulteriore caso che fece molto scalpore in Italia e vide nella genetica la svolta per la risoluzione dell’indagine è il caso di Yara Gambiasio, tredicenne uccisa nel bergamasco nel 2010.

Il caso ha sconvolto l’opinione pubblica italiana su una ragazza di tredici anni che è stata torturata e lasciata morire in agonia in un prato isolato e ha giustificato una forte reazione da parte della Procura della Repubblica.

Nel caso Gambirasio, l’accusa – con l’aiuto delle forze dell’ordine – ha acquisito campioni di materiale biologico di migliaia di residenti a Bergamo, per estrapolare il DNA.

Operazione estremamente costosa e complessa che però permise di individuare l’aplotipo Y di un individuo che era un familiare di colui che aveva lasciato il proprio materiale genetico sul corpo della ragazzina, il cosiddetto “Ignoto 1 “.

L’accusa è riuscita ad individuare un soggetto che potesse corrispondere al fratellastro dello stupratore e assassino della vittima, per ascendente comune. Una volta identificato l’ascendente, si è riscontrato che i suoi due

figli legittimi non erano in armonia con il profilo previsto. Gli sforzi investigativi si sono quindi concentrati sulle donne che potrebbero aver avuto una relazione adulterina con l'ascendente.

Dopo lunghe indagini, è stata identificata la madre del sospettato. Il materiale genetico del sospettato è stato ottenuto con un sotterfugio: un alcoltest.

Infatti, la Corte di Cassazione ritiene inoltre legittimo il prelievo del DNA all'insaputa dell'interessato (Sentenza 51086, Cassazione Penale), tra cui estraendo campioni da materiale organico prelevati da oggetti sequestrati all'interessato (Sentenza 49610) o ottenuto con l'occultamento (Sentenza 33076)

Infine, la Corte di Cassazione ritiene legittimo rilevare l'impronta genetica avvenuta durante il corso indagini a seguito di sequestro di oggetti dell'indagato (2087). Il campione di DNA ottenuto sequestrando oggetti contenenti residui organici "non è caratterizzato come atto invasivo o costrittivo e, essendo prodromico nello svolgimento di indagini tecniche, non richiede il rispetto delle garanzie difensive".

In Italia l'interesse in materia di genetica forense è alto, come testimoniato dalla sottoscrizione del trattato di Prum, tuttavia non sono, allo stato dell'arte, presenti leggi specifiche sulla Fenotipizzazione. In Italia attualmente, infatti, sono adoperate soltanto le metodiche "classiche" genetiche, ampiamente regolate sia nell'utilizzo che nella conservazione dei dati, ma, allo stato attuale, non sono ancora presenti legislazioni specifiche sulla Fenotipizzazione che quindi non viene utilizzata.

L'auspicio è che vengano emanate al più presto una legge per l'utilizzo del DNA Phenotyping e una sulla conservazione dei dati, facendo riferimento alle sentenze sopra citate e alle analoghe leggi vigenti nei Paesi Europei.

CAPITOLO 5

STUDIO SPERIMENTALE

SCOPO DELLO STUDIO

L'obiettivo di tale studio è quello di valutare la performance di un pannello di 41 SNPs per la predizione del fenotipo su campioni di DNA degradato mediante l'utilizzo della piattaforma *Ion PGM System*.

La selezione degli SNPs è stata fatta prendendo in considerazione i 41 loci già utilizzati nel HIrisPlex-S, precedentemente descritto, per la predizione della pigmentazione.

L'utilizzo degli SNPs conferisce un vantaggio dal momento che permette di ridurre la lunghezza della regione da amplificare.

La validazione del pannello ha previsto delle prove con DNA di individui a fenotipo noto per verificarne l'efficienza. Successivamente sono stati eseguiti dei test di sensibilità con il DNA di controllo 2800M diluito a 5ng/ μL , 0,5 ng/ μL , 0,1 ng/ μL , 0,05 ng/ μL e 0,025 ng/ μL utilizzando un numero diverso di cicli di amplificazione (21,23 e 25), per valutare la quantità minima da utilizzare per ottenere un profilo completo.

Sono stati utilizzati dei campioni di DNA da campioni a fenotipo noto e campioni forensi, utilizzando diverse matrici biologiche.

Per questo studio è stata utilizzata la tecnica *Massive Parallel Sequencing* (NGS o MPS) perché permette di ottenere una grande quantità di dati in una sola corsa.

MATERIALI E METODI

1 DISEGNO DEL PANNELLO NGS

Il sequenziamento NGS o MPS consente il sequenziamento in parallelo di moltissime sequenze di DNA con un elevato potere risolutivo. Tale pannello è rappresentato dall'insieme di primers che servono per amplificare le regioni genomiche d'interesse. In particolare, il pannello designato e utilizzato in questo studio è costituito da 35 coppie di primers in grado di amplificare le regioni del DNA in cui mappano i 41 SNPs selezionati.

2 UTILIZZO DELLA PIATTAFORMA ION PGM DX SYSTEM

In questo studio è stato utilizzato il sequenziatore di seconda generazione *Ion PGM™ Dx System* che sfrutta le conoscenze dei processi biochimici di sintesi del DNA con un sistema di rilevazione basato sui semiconduttori. Nello specifico in tale studio son stati utilizzati due *Ion 318™* con la caratteristica di avere 11 milioni di pozzetti, permettendo così l'elaborazione di una quantità di dati compresa tra 600 Mb e 2 Gb con un tempo di esecuzione di circa 7 ore.

3 RACCOLTA DEI CAMPIONI

3.1 Campioni a fenotipo noto

Per testare l'efficienza del pannello, sono stati selezionati 5 soggetti a fenotipo noto in modo tale da avere tutte le caratteristiche fenotipiche richieste da Hlris-Plex-S.

Fenotipo	EB	FG	CO	CT	JD
----------	----	----	----	----	----

Colore Occhi	Blu	Marroni	intermedio	Marroni	Marroni
Colore capelli	Biondi	Neri	rossi	Marroni	Neri
Colore Pelle	Pallida	Scura	Molto pallida	intermedia	Molto scura

Tab.4 Campioni a fenotipo noto

3.2 Campioni forensi

I campioni forensi selezionati sono quattro e derivano da diversi casi trattati nel laboratorio di cui è stata fatta l'identificazione ed è possibile confrontare il fenotipo atteso con quello ottenuto.

Codice Campione	Fonte Biologica
5672-2	Dente
5880	Sangue, autopsia
6821-1B	Dente
6916	Dente

Tab.5 Campioni forensi e fonte biologica

4 ESTRAZIONE

4.1 Estrazione manuale con *QIAamp DNA mini blood mini*

Per quanto riguarda i campioni di controllo a fenotipo noto l'estrazione è stata di tipo manuale, secondo la procedura descritta dal protocollo *QIAamp DNA Mini Blood Mini Handbook*.

Per i campioni a fenotipo noto è stato fatto un prelievo mediante tampone buccale, questo viene inserito in una provetta da 2 ml tagliandolo poco sopra la parte cotonata. All'interno della provetta vengono aggiunti 400 µl di *Buffer* ATL, 20 µl di Proteinasi K e 400 µl di *Buffer* AI e agitati per 15 secondi.

I campioni con il *buffer* di lisi vengono messi ad incubare per 10 minuti a 56 °C nell'agitatore riscaldato. Dopo aver fatto una breve centrifugazione per raccogliere eventuali gocce, ciascun tampone viene fatto asciugare mediante centrifugazione grazie ad un apposito *Spin Basket* per 2 minuti a 12000 rpm in modo tale da raccogliere tutto il lisato all'interno della provetta.

Al lisato vengono aggiunti 400 ml di etanolo, viene mescolato utilizzando il *vortex* seguita da una breve centrifugazione. Vengono prelevati 700 ml dalla soluzione e inseriti nella colonnina nell'apposito *collection tube*, viene fatta una centrifugazione di un minuto a 8000 rpm. Il filtrato viene gettato e i restanti 700 ml vengono trasferiti nella colonnina facendo nuovamente una centrifugazione di un minuto a 8000 rpm, in modo tale da far legare il DNA alla membrana di silice, gettando il filtrato.

La colonnina viene trasferita in un nuovo *collection tube* e vengono fatti due lavaggi: 500 ml di *buffer AW1* vengono inseriti nella colonnina e viene fatta una centrifugazione a 8000 rpm per un minuto, il filtrato viene gettato e la colonnina trasferita in un *collection tube* pulito aggiungendo 500 ml di *buffer AW2* e centrifugando 3 minuti a 14000 rpm, in modo tale da rimuovere eventuali residui contaminanti. L'ultimo passaggio è l'aggiunta di 100 ml di *buffer AE* e una centrifugazione di un minuto a 8000 rpm per eluire il DNA.

4.2 Estrazione automatizzata con MAXWELL FSC DNA IQ

Dal momento che con la prima estrazione manuale i campioni a fenotipo noto sono venuti poco concentrati, ad eccezione di CO e CT, è stato opportuno procedere con una successiva estrazione da altri campioni rilevati sempre da questi soggetti. Con questa metodica sono stati estratti anche i campioni forensi 6916, 5672-2, 5880, 6821-1B. In questo caso è stato eseguito il protocollo di estrazione *Maxwell*, secondo il quale a ciascun tampone viene aggiunta una soluzione costituita da 386 ml di *Casework Estration Buffer*, 10 ml di proteinasi K e 4 ml di 1-tioglicerolo per raggiungere un volume finale di 400 ml. I tamponi vengono poi messi nel *termomixer* a 56°C per 30 minuti.

Al termine di questa incubazione, con l'utilizzo di uno *Spin basket* i tamponi vengono asciugati mediante centrifugazione per 2 minuti a 12000 rpm in modo da raccogliere tutto il liquido. In seguito, vengono aggiunti 200 ml di *buffer* di lisi e l'intero contenuto viene trasferito all'interno delle cartucce da inserire nello strumento. Infine, in appositi *elution tubes* (provette da 0,5 ml) vengono aggiunti 50 µl di *Elution Buffer* dove verrà eluito l'estratto di DNA.

Le cartucce e gli *elution tubes* vengono inseriti all'interno dello strumento con la configurazione LEV (*Low elution Volume*).

Al termine della procedura, della durata di circa 30 minuti, gli estratti sono tenuti in frigorifero a -20 °C.

5 QUANTIFICAZIONE

5.1 Quantificazione *e-gel agarose gels with sybr safe*

Il campione CT è stato quantificato con tale metodica che consiste nella preparazione di un gel di agarosio al 2% in cui far avvenire l'elettroforesi per la determinazione della taglia delle regioni amplificate e per la loro quantificazione. Il volume massimo del campione da caricare è 20 µl con una concentrazione tra 200 e 100 ng di DNA.

Per l'allestimento della corsa è necessario anche un *DNA molecular weight marker* che viene diluito 1:20 e caricati 10 µl .

Al termine della corsa sono visibili le bande generate dal *DNA molecular weight marker* e dai campioni.

5.2 Quantificazione con il *qubit 2.0*

La quantificazione dei campioni FG, EB, JD, CO è stata effettuata mediante fluorimetro *Qubit 2.0* seguendo il protocollo del *kit dsDNA Assay HS* per la preparazione dei campioni.

Questo kit è disegnato in maniera specifica e selettiva per DNA a doppia elica ed è indicato per campioni concentrati tra 10 pg/ μl e 100 ng/ μl . Si basa sulla preparazione di una *working solution* costituita da 199 μl di *Qubit dsDNA HS Buffer* e 1 μl di *Qubit dsDNA HS Reagent*, considerando queste dosi per un singolo campione. Viene preparata una soluzione totale che viene poi distribuita in aliquote, in provette apposite, da 0,5 ml tante quante sono i campioni, più due standard forniti dal kit, il controllo positivo e il controllo negativo. In particolare, per la preparazione dei due standard sono necessari 190 μl di *working solution* e 10 μl dei relativi *Qubit dsDNA HS Standard #1* e *Qubit dsDNA Standard#2*; per i campioni vengono distribuiti 198 μl di *working solution* e 2 μl di campione, così come per il controllo positivo, il DNA 2800M a concentrazione nota di 10 ng/ μl . Il controllo negativo è costituito dalla sola *working solution* per verificare che non risultino contaminati i reagenti. Gli standard forniti permettono di creare una retta di calibrazione necessaria allo strumento, per quantificare i campioni poiché sono a concentrazione nota di 0 ng / μl lo standard 1, 10 ng/ μl lo standard 2.

5.3 Quantificazione con *Plexor HY*

Per i campioni forensi, la quantificazione è stata effettuata con tale kit, utilizzando lo strumento *Corbet Rotor Gene 6000 Series Detection System*, seguendo il protocollo *Plexor HY System for the Corbet Rotor-Gene 6000 Series Detection System*.

Per la preparazione dei campioni è stato utilizzato lo strumento automatico *QIAgility* in modo da ridurre i passaggi manuali che potrebbero comportare una ridotta precisione. Tale tecnologia si basa sulla specifica interazione tra due nucleotidi modificati: uno dei due primer per la reazione di PCR contiene il nucleotide modificato iso-DC cui presenta legato all'estremità 5' una sonda fluorescente, mentre l'altro primer non presenta alterazioni. Il nucleotide iso-dGTP presente nella soluzione di reazione con gli altri deossinucleotidi e modificato con il *quencher dabcyf*.

L'iso- dGTP legante il *quencher*, durante la reazione di amplificazione si lega nel sito complementare all'iso-dC causando la riduzione di fluorescenza della sonda legata al primer e misurata per consentire la quantificazione.

Il *Plexor HY* presenta tre sonde:

- 1) Verde: rileva un target del DNA autosomico. Amplifica una regione di 99 paia di basi sul cromosoma 17 ed è utilizzata come indicatore della totale quantità di DNA umano nel campione.
- 2) Gialla: il primer amplifica una regione specifica di 133 paia di basi sul cromosoma Y, come indicatore della presenza di DNA maschile.
- 3) Arancione: rileva la presenza di IPC, il controllo interno di PCR. Il primer specifico amplifica una sequenza di DNA di 150 paia di basi, aggiunta nella soluzione di reazione ad ogni campione. Se dai risultati della quantificazione l'IPC non risulta amplificato, significa che nel campione sono presenti inibitori di PCR che impediscono la reazione.

Per la reazione è necessario preparare sette diluizioni dello standard di controllo concentrato 50ng/ml.

La presenza degli standard è necessaria allo strumento *Corbett Rotor-Gene 6000* per assegnare la concentrazione ai campioni. Inoltre, è presente un controllo negativo NTC, in cui al posto del campione viene inserito il TE e serve per verificare lo stato dei reagenti e la non contaminazione. Poiché la preparazione è stata fatta dallo strumento

automatico *QIAgility*, le provette dei reagenti e i campioni, sono state inseriti all'interno del macchinario, insieme alle provette da 0,2 ml dove viene messo il prodotto finale per ciascun campione. La procedura dura 15 minuti, poi le provette da 0,2 μ l sono inserite in un apposito rotore nel *Corbett- Rotor Gene*.

6 PROVE DI SENSIBILITA'

Le prove di sensibilità servono a stabilire la concentrazione minima di DNA al di sotto della quale non si ottengono più risultati affidabili. Tali prove si basano sul diluire un DNA a concentrazione nota per arrivare a diverse concentrazioni e, dopo il sequenziamento, verificare la concentrazione soglia, al di sotto della quale si ha perdita di informazioni.

Per questo studio le diluizioni sono state fatte a partire dal DNA 2800M concentrato 10 ng/ μ l , partendo dalla formula $C_i V_i = C_f V_f$, dove C è la concentrazione iniziale e finale e V il volume iniziale e finale.

7 MASSIME PARALLEL SEQUENCING

La preparazione delle librerie è stata fatta secondo il protocollo *Precision ID Panels with Ion PGM System* che consiste in una serie di passaggi che, a partire dall'estratto di DNA, preparano il campione al sequenziamento.

7.1 Amplificazione delle regioni target

Poiché siamo in presenza di due pool di primers concentrati 2X maiuscolo, il protocollo seguito per la preparazione della reazione della PCR è quello riportato sul manuale MAN006735, revisione C.0 *Ion Ampliseq DNA and RNA Library Preparation*. Per ciascun campione varia la quantità di DNA da inserire a seconda della concentrazione del campione.

Campione	DNA in μl	H2O in μl	Concentrazione in ng
FG	2,5	3,5	10
CO	1	5	10
JD	5	1	9,5
CT	2	4	10
EB	1,5	4,5	11,25
5762-2	6	-	0,338
5880	6	-	0,240
6916	6	-	0,144
6821-1B	6	-	0,053

Tab.6 Volumi di acqua e DNA utilizzati nell'allestimento della PCR e concentrazione totale inserita per la reazione.

Per ciascun campione sono stati prelevati 5,5 μl di mix, ottenendo due provette per lo stesso campione. In una di queste sono state aggiunte 5 μl di *primer pool 1*, nell'altra 5 μl di *primer pool 2*.

L'amplificazione è stata fatta secondo specifiche temperature e tempi utilizzando il termociclatore Verity.

Terminata l'amplificazione, i due pool vengono uniti in una unica provetta creando un unico campione.

La reazione è stata eseguita a 21 cicli per i campioni a fenotipo noto e per alcune prove di sensibilità; la reazione a 25 cicli è stata usata per altri campioni a fenotipo noto e altre prove di sensibilità; a 23 cicli invece sono stati amplificati i campioni forensi.

8 DIGESTIONE PARZIALE DEGLI AMPLICONI

In seguito all'amplificazione si procede con una digestione parziale degli ampliconi, con un taglio della sequenza dei primers ad opera della *FuPa reagent*. Vengono aggiunti 2 μl di reagente ad ogni campione ed inseriti nel termociclatore Verity.

9 LIGAZIONE DEI BARCODE

I *barcode Ion Xpress* per essere utilizzati devono essere diluiti 1:4 in una soluzione con acqua ed adattatore. Da questa soluzione si prelevano 2 µl per il passaggio successivo ed i 2 µl restanti si conservano a -20 °C per essere utilizzati per altre librerie entro dieci giorni. In questa fase si verifica l'unione del barcode, dell'adattatore e del P1 agli ampliconi. Ad ogni campione si aggiunge un barcode diverso, il che ci permetterà di risalire al campione all'interno della libreria, terminato il sequenziamento.

L'adattatore e il P1 sono sequenze necessarie per i passaggi successivi. Durante la preparazione di questa reazione è fondamentale rispettare l'ordine di aggiunta dei reagenti e mantenere la DNA ligasi in ghiaccio. Ottenuta la reazione, le provette vengono poste nel termociclatore Veriti.

10 PURIFICAZIONE DELLE LIBRERIE

Tale fase serve per rimuovere ciò che è in eccesso agli ampliconi da sequenziare ed è costituita da passaggi.

1 Aggiungere a ciascun campione 45 µl di resina magnetica che permette l'adesione del DNA sulla superficie delle particelle.

2 La soluzione si lascia in incubazione per 5 minuti a temperatura ambiente e 2 su uno stendino magnetico in modo da creare un pellet di resina con il DNA legato

3 Si recupera il surnatante e si aggiungono 150µl di etanolo e si ruotano le provette

4 Viene rimosso il surnatante e si aggiungono altri 150µl di etanolo.

5 dopo aver lasciato asciugare la resina si aggiungono 50 µl di TE lasciandolo incubare.

6 Le provette vengono inserite nello stendino magnetico e il surnatante che contiene il campione viene raccolto e conservato.

11 QUANTIFICAZIONE qPCR DELLE LIBRERIE

Ora le librerie devono essere quantizzate per determinare la concentrazione degli amplificati per ogni campione.

Si diluiscono le librerie 1:100 in 200 μ l e si preparano tre standard a partire dal DNA di controllo non diluito di *E.Coli DH10B Ion Control Library* a concentrazione nota di 68 pM fornito dal kit.

Per ogni campione, standard e controllo negativo, la preparazione consiste nell'aggiunta di 10 μ l di *Ion Library TaqMan qPCR Mix*, 1 μ l di *Ion Library TaqMan Quantitaion Assay*, 20x e 9 μ l di campione, acqua o standard.

Quando le provette sono inserite nel rotore e nello strumento *Rotor Gene 6000 PCR System* al pc devono essere impostati i parametri e la corsa.

12 EMULSION PCR CON ION ONE TOUCH 2

Ottenuti i risultati dalla quantificazione qPCR, si effettuano delle diluizioni delle librerie con il TE per portarle alla concentrazione di 8 pM. Per ogni campione vengono prelevati 3 μ l costituendo un pool equimolecolare. Al termine i reagenti e il pool equimolecolare vengono aggiunti in quantità e in ordine stabiliti nella provetta da 2 ml contenente 800 μ l di *Ion PGM Hi-Q View Reagent Mix*.

Preparata la soluzione si carica il campione nello strumento, si mescola con un *vortex* per 5 secondi e poi si inserisce nell'apposito *OneTouch Reaction Filter*, si preleva la soluzione, la si inserisce nel reaction Filter e si avvia la corsa.

Al termine di questa si rileva un pellet rosa rappresentato dalle ISP. Ogni biglia presenterà un solo tipo di amplicone sulla sua superficie. Tutti gli

ampliconi hanno una estremità legata all'ISP e l'altra una molecola di biotina necessaria per il successivo arricchimento.

Si rimuove la *Recovery Solution*, si aggiungono 500µl di *Ion OneTouch WashSolution*, si trasferisce il contenuto in un'unica provetta che viene centrifugata e a questo punto viene rimosso tutto il surnatante lasciando 100 µl.

13 ARRICCHIMENTO E PURIFICAZIONE DELLE LIBRERIE CON ION ONE TOUCH ES

Mediante tale processo si ottiene la selezione delle ISP monoclonali. Le ISPS che presentano legato un amplicone vengono legate dalle biglie rivestite da streptavidina attraverso il primer di biotina, biotina presente in un solo filamento del DNA dell'amplicone e ciò permette il legame.

Le ISPs vengono processate dall' *Ion OneTouch ES* per il processo di arricchimento.

La *Melt-Off Solution* permette di separare le ISPs dalle biglie della resina. Al termine della reazione in soluzione resteranno le ISPs leganti un singolo filamento di DNA. Si elimina il surnatante, si rimuove la provetta dallo standino magnetico e viene mescolata con il vortex e centrifugato.

A questo punto si possono riempire i pozzetti della strip a sua volta inserita nello strumento e la corsa può partire.

Al termine la provetta da 0,2 ml viene chiusa e invertita 5 volte.

14 CARICAMENTO DEL CHIP E SEQUENZIAMENTO CON ION PGM SYSTEM

Si inserisce il nome dei campioni con il numero del *barcode*, il kit utilizzato per la preparazione delle librerie, il numero di flussi da far effettuare allo strumento, la taglia massima degli ampliconi ed altre informazioni di analisi.

Dopo aver verificato la correttezza del PH dei reagenti, si procede con il caricamento *ION 318 Chip*. Vengono aggiunti 12 µl di *sequencing primers* e si pone la provetta nel termociclatore.

A conclusione del processo, si seleziona il piano preparato online all'inizio del sequenziamento.

RISULTATI

Disegno del Pannello NGS

Dopo aver inserito tutti i dati necessari alla realizzazione del pannello, il software fornisce il disegno richiesto insieme ad altre informazioni quali eventuali SNPs mancanti, il genoma di riferimento, la lunghezza di ciascun amplicone e la lunghezza dell'insert, che è la lunghezza della regione di interesse (in tale studio è di 117 paia di basi come lunghezza media).

Il pannello selezionato per tale studio contiene un totale di 35 ampliconi per 41 SNPs e due pools di primers, il primo con 20 ampliconi, il secondo con 15.

Pool	Amplicon_ID	rs Name	Genome	Chr	Amplicon Start	Insert Start	Insert Stop	Amplicon Stop	Amplicon size	Insert size
Pool 1	AMPL7153140342	rs1805009	hg19	chr16	89986510	89986533	89986660	89986683	173	127
Pool 1	AMPL7153140359	rs1800407	hg19	chr15	28230210	28230232	28230355	28230377	167	123
Pool 1	AMPL7153140369	rs1426654	hg19	chr15	48426365	48426394	48426511	48426539	174	117
Pool 1	AMPL7153140382	rs12896399	hg19	chr14	92773547	92773576	92773697	92773719	172	121
Pool 1	AMPL7153140396	rs12203592	hg19	chr6	396235	396257	396378	396407	172	121
Pool 1	AMPL7153140401	rs16891982	hg19	chr5	33951595	33951620	33951747	33951769	174	127
Pool 1	AMPL7153140656	rs1470608	hg19	chr15	28288027	28288053	28288173	28288201	174	120
Pool 1	AMPL7153803430	rs12821256	hg19	chr12	89328249	89328275	89328395	89328423	174	120
Pool 1	AMPL7153856793	rs2378249	hg19	chr20	33218021	33218043	33218173	33218195	174	130
Pool 1	AMPL7154013740	rs312262906	hg19	chr16	89985647	89985669	89985783	89985806	159	114
Pool 1	AMPL7157295451	rs12913832	hg19	chr15	28365521	28365551	28365625	28365648	127	74
Pool 1	AMPL7157406548	rs1805006; rs2228479	hg19	chr16	89985870	89985891	89986025	89986044	174	134
Pool 1	AMPL7157901368	rs1545397	hg19	chr15	28187713	28187741	28187857	28187887	174	116
Pool 1	AMPL7160210638	rs3114908	hg19	chr16	89383671	89383693	89383808	89383830	159	115
Pool 1	AMPL7160230053	rs6059655	hg19	chr20	32665661	32665686	32665809	32665832	171	123
Pool 1	AMPL7160354538	rs683	hg19	chr9	12709197	12709226	12709339	12709366	169	113
Pool 1	AMPL7160975245	rs1042602	hg19	chr11	88911608	88911633	88911759	88911781	173	126
Pool 1	AMPL7161964243	rs17128291	hg19	chr14	92882739	92882761	92882891	92882913	174	130
Pool 1	AMPL7161964244	rs6497292	hg19	chr15	28496052	28496081	28496196	28496219	167	115
Pool 1	AMPL7163291477	rs1126809	hg19	chr11	89017899	89017930	89018031	89018062	163	101
Pool 2	AMPL7153140349	rs1110400; rs11547464; rs1805007; rs1805008; rs201326893; rs885479	hg19	chr16	89986030	89986050	89986179	89986198	168	129
Pool 2	AMPL7153140365	rs1667394	hg19	chr15	28530148	28530171	28530279	28530307	159	108
Pool 2	AMPL7153140376	rs1129038	hg19	chr15	28356733	28356755	28356881	28356903	170	126
Pool 2	AMPL7153140386	rs1393350	hg19	chr11	89010956	89010984	89011101	89011130	174	117
Pool 2	AMPL7153140579	rs8051733	hg19	chr16	90024109	90024131	90024260	90024282	173	129
Pool 2	AMPL7153268967	rs28777	hg19	chr5	33958887	33958909	33959026	33959056	169	117
Pool 2	AMPL7153359820	rs1805005	hg19	chr16	89985769	89985788	89985909	89985929	160	121
Pool 2	AMPL7153531759	rs4959270	hg19	chr6	457620	457643	457770	457794	174	127
Pool 2	AMPL7160226302	rs6119471	hg19	chr20	32785179	32785204	32785272	32785303	124	68
Pool 2	AMPL7160354513	rs2402130	hg19	chr14	92801112	92801137	92801264	92801286	174	127
Pool 2	AMPL7161639897	rs1800414	hg19	chr15	28196950	28196977	28197097	28197122	172	120
Pool 2	AMPL7161915654	rs2238289	hg19	chr15	28453149	28453171	28453243	28453273	124	72
Pool 2	AMPL7161964240	rs3212355	hg19	chr16	89984323	89984345	89984461	89984484	161	116
Pool 2	AMPL7161964241	rs12441727	hg19	chr15	28271676	28271698	28271820	28271848	172	122
Pool 2	AMPL7161964242	rs10756819	hg19	chr9	16857980	16858005	16858131	16858154	174	126

Tab.7 Risultati del pannello dei primers disegnato appositamente per tale studio. Nelle prime due colonne sono indicati tutti gli ampliconi presenti e in quale pool si trovano.

rsName: gli SNPs utilizzati

Genome: genoma di riferimento

Chr: la posizione cromosomica

Amplicon Start e Stop: inizio e fine dell'amplicone

Insert start/Insert Stop: inizio e fine della regione insert

Amplicon size: lunghezza dell'amplicone

Insert size: lunghezza del relativo insert

risultati della quantificazione del DNA estratto

Con E-Gel Agarose Gels With SyBR Safe: Per il campione CT una concentrazione di 5 ng/ml

Con Qubit 2.0 : Tolto il campione CO, i risultati emersi indicavano una bassa concentrazione di DNA ed è stato ritenuto opportuno procedere con una seconda estrazione con Maxwell FSC DNA IQM

Campione	Lettura 1 in pg/μl	Lettura 2 in pg/μl
FG	0,97	0,87
CO	24,0	25,0
JD	2,58	2,54
EB	3,74	3,90

Tab.8

Campione	Lettura 1 in pg/μl	Lettura 2 in pg/μl
FG	4,08	4,11
JD	1,89	1,90
EB	7,45	7,60

Tab.9

Con Plexor

Campione	DNA Autosomico in pg/μl
5762-2	0,0564
5880	0,04
6821-1B	0,00889
6916	0,024

Tab.10

Risultati della quantificazione delle librerie per MPS

Campione	qPCR-1	q-PCR-2	Media	Concentrazione
FG	2,7	2,59	2,648	264,783
CO	1,17	1,44	1,308	130,795
JD	11,09	14,06	12,577	1257,746
EB	10,11	11,07	10,591	1059,052
CT	1,76	2,55	2,154	215,395
6916	0,312			31,167
5672-2	0,051			5,095
5880	0,123			12,254
6821	0,103			10,285

Tab.11

Risultati del sequenziamento e del coverage

Campione	Barcode	Mapped reads	On target	Mean Depth	Uniformity
FG-2	IonXpress001	135821	91.0%	3492	98.32
CO-2	IonXpress002	109945	95.27	3018	98.32
JD-2	IonXpress003	134241	94.16	3590	98.32
EB-2	IonXpress004	92195	93.39	2451	98.32
CT-2	IonXpress004	233420	96.76	6499	98.32
FG-1	IonXpress060	26	15.38	0.127	97.76
CO-1	IonXpress061	16	25.00	0.123	97.76
JD-1	IonXpress062	2	100.00	0.046	99.11
EB-1	IonXpress063	5	20.00	0.017	99.67
CT-1	IonXpress064	11	27.27	0.068	98.71
6916	IonXpress20	166173	84.25	3907	98.34
5672-2	IonXpress21	32551	23.03	192.8	40.97
5880	IonXpress22	100723	36.82	832	83.08
6821	IonXpress23	62614	58.27	796.1	98.44

Tab.12 Per ciascun campione vengono indicati il barcode assegnato in ciascuno dei due chip, le mapped reads, ovvero le basi che mappano sul genoma h19 di riferimento, e di queste viene indicata anche la percentuale on target che mappa nella regione di interesse. Inoltre per ciascun campione viene indicato il mean depth che rappresenta il

coverage medio degli ampliconi per ciascun campione e l'uniformity cioè l'uniformità del sequenziamento del campione.

Risultati della determinazione del genotipo dei campioni

I genotipi dei campioni sono stati ottenuti mediante il *software Genotyper* che permette per ogni campione l'elenco dei loci ricercati e il genotipo.

- Campioni a fenotipo noto

I campioni a fenotipo noto selezionati sono cinque e sono stati amplificati a 21 e 25 cicli. Per ogni campione è stato confrontato il genotipo ottenuto con gli allei richiesti da HirisPlex-S, creando il file.csv da caricare sul sito per ottenere i risultati della predizione.

SNPs	Campione				
	FG-2	CO-2	EB-2	JD-2	CT-2
rs312262906	CC	CC	CC	CC	CC
rs11547464	GG	GG	GG	GG	GG
rs885479	GG	GG	GG	GG	GG
rs1805008	CC	CC	CC	CC	CC
rs1805005	GG	GG	GT	GG	GG
rs1805006	CC	CC	CC	CC	CC
rs1805007	CC	CT	CC	CC	CC
rs1805009	GG	CG	GG	GG	GG
rs201326893	CC	CC	CC	CC	CC
rs2228479	GG	GG	GG	GG	GG
rs1110400	TT	TT	TT	TT	TT
rs28777	CC	AA	AA	CC	AC
rs16891982	CC	GG	GG	CC	CG
rs12821256	TT	TT	TT	TT	TT
rs4959270	CC	AC	AC	AC	AC
rs12203592	CC	CC	CC	CC	CC
rs1042602	CC	AA	AA	CC	AC
rs1800407	CC	CC	CC	CC	CC
rs2402130	AG	AA	AG	GG	AG
rs12913832	AA	AG	GG	AA	AA
rs2378249	AA	AG	AA	AA	AA
rs12896399	GG	GG	GT	GG	GG
rs1393350	GG	GG	GG	GG	GG
rs683	AC	AC	AC	AC	AC
rs3114908	CC	CC	CT	CC	CC
rs1800414	TT	TT	TT	TT	TT
rs10756819	GG	AG	AG	GG	AG
rs2238289	AG	AG	AA	GG	AG
rs17128291	AA	AA	AA	AA	AA
rs6497292	AG	AG	AA	GG	AA
rs1129038	CC	CT	TT	CC	CC
rs1667394	CC	CT	TT	CC	CT
rs1126809	GG	GG	GG	GG	GG
rs1470608	TT	GT	GT	TT	GG

rs1426654	GG	AA	AA	GG	AA
rs6119471	CG	CC	CC	CG	CC
rs1545397	AA	AA	AA	AA	AA
rs6059655	GG	GG	GG	GG	AG
rs12441727	AG	AG	AG	GG	GG
rs3212355	CC	CC	CC	CC	CC
rs8051733	AG	AG	AG	AA	AG

Tab.13 Genotipi dei campioni a fenotipo noto amplificati a 25 cicli. In blu è segnalato un polimorfismo segnalato COV.

I risultati per i fenotipi ottenuti sono riportati in tab.14: per ciascun campione vengono indicate le probabilità di predizione del fenotipo per il colore degli occhi, dei capelli con la relativa sfumatura e per il colore della pelle. Per

ciascun campione è evidenziata la probabilità più alta di predizione per ogni fenotipo.

	FG 2	CO 2	JD 2	EB 2	CT 2
PBlueEye	1.29E-09	0.0503227453285594	1.29E+09	0.911091001897925	5.94E+09
PIntermediateEye	0.00209115064725449	0.113551136871884	0.00209115064725449	0.0565970336881105	0.00530513160027342
PBrownEye	0.997895931320417	0.836126117799557	0.097895931320417	0.0323119644139641	0.994635448356375
Full AUC BlueEye	0.938973644229622	0.938973644229622	0.938973644229622	0.938973644229622	0.938973644229622
Full AUC IntermediateEye	0.736088610355666	0.736088610355666	0.736088610355666	0.736088610355666	0.736088610355666
Full AUC BrownEye	0.94607779085541	0.94607779085541	0.94607779085541	0.94607779085541	0.94607779085541
Numb missingSNPs Eye	0	0	0	0	0
Name missingSNPs Eye	0	0	0	0	0
AUC Loss BlueEye	0	0	0	0	0
AUC Loss IntermediateEye	0	0	0	0	0
AUC Loss BrownEye	0	0	0	0	0
PBlondHair	0.00304279533153829	0.0099599313780864	0.00288378862931913	0.522315390947617	0.0212080579389256
PBrownHair	0.31854255062188	0.0221765451918178	0.351288846179945	0.443729709361036	0.547722591471228
PRedHair	1.83E-09	0.96752455234812	3.18E+09	0.0120349815143516	0.000157609722017208
PBlackHair	0.678396396639133	0.00302909322253192	0.645795557127132	0.0219199181569958	0.43091174086783
Full AUC BlondHair	0.81328159107446	0.81328159107446	0.81328159107446	0.81328159107446	0.81328159107446
Full AUC BrownHair	0.741065453474718	0.741065453474718	0.741065453474718	0.741065453474718	0.741065453474718
Full AUC RedHair	0.928933015939974	0.928933015939974	0.928933015939974	0.928933015939974	0.928933015939974
Full AUC BlackHair	0.859248131984826	0.859248131984826	0.859248131984826	0.859248131984826	0.859248131984826
Numb missingSNPs Hair	0	0	0	0	0
Name missingSNPs Hair	0	0	0	0	0
AUC Loss BlondHair	0	0	0	0	0
AUC Loss BrownHair	0	0	0	0	0
AUC Loss RedHair	0	0	0	0	0
AUC Loss BlackHair	0	0	0	0	0
PLightHair	0.00301126432003085	0.968990745804865	0.00291138226131771	0.95656932490959	0.0344365837636061
PDarkHair	0.996988735679969	0.0310192541951349	0.997088617738682	0.0434306759094097	0.965563416236394
Full AUC HairShade	0.905443611371445	0.905443611371445	0.905443611371445	0.905443611371445	0.905443611371445
Numb missingSNPs HairShade	0	0	0	0	0
Name missingSNPs HairShade	0	0	0	0	0
AUC Loss HairShade	0	0	0	0	0
PVeryPaleSkin	1.24E-07	0.0565786973296769	5.01E-08	0.0201720324487346	0.00503959426657829
PPaleSkin	3.96E-11	0.393091391753483	3.31E-11	0.4539626780095095	0.0071577121939046
PIntermediateSkin	1.00E+09	0.544066504361382	6.73E+08	0.515212660182081	0.89762354540215
PDarktoBlackSkin	0.0382685032775151	0.00626176276957711	0.00982777025436259	0.00445745459639951	2.40E+05
Full AUC VeryPaleSkin	0.829983448209477	0.829983448209477	0.829983448209477	0.829983448209477	0.829983448209477
Full AUC PaleSkin	0.762796346988106	0.762796346988106	0.762796346988106	0.762796346988106	0.762796346988106
Full AUC IntermediateSkin	0.783304272013948	0.783304272013948	0.783304272013948	0.783304272013948	0.783304272013948
Full AUC DarktoBlackSkin	0.980616700828803	0.980616700828803	0.980616700828803	0.980616700828803	0.980616700828803
Numb missingSNPs Skin	0	0	0	0	0
Name missingSNPs Skin	0	0	0	0	0
AUC Loss VeryPaleSkin	0	0	0	0	0
AUC Loss PaleSkin	0	0	0	0	0
AUC Loss IntermediateSkin	0	0	0	0	0
AUC Loss DarktoBlackSkin	0	0	0	0	0

Tab.14 Risultati della predizione del fenotipo dei campioni noti. In giallo è evidenziata la probabilità maggiore per ogni tratto.

A questo punto sono stati confrontati i risultati ottenuti della predizione con quelli attesi (tab.15). Le discrepanze riscontrate riguardano principalmente il colore della pelle per i campioni FG, CO ed EB; questo può derivare da un errore soggettivo al momento della selezione dei campioni. Infatti, sono stati scelti in base a osservazioni e giudizi personali ed essendo un numero limitato di soggetti l'errore di campionamento è più alto.

Per quanto riguarda il campione CO-2 selezionato per il colore "intermedio" degli occhi, il fenotipo ottenuto indica un'elevata probabilità del colore marrone. Questo è dovuto al fatto che il colore "intermedio" comprende tutte le sfumature comprese tra il blu e il marrone e gli SNPs

determinanti le colorazioni intermedie non sono stati ancora definiti, al contrario degli SNPs che determinano il colore marrone e blu. Di conseguenza le sfumature del colore verde non vengono mai predette da Hiris-Plex-S con una probabilità elevata.

Fenotipo	FG-2		CO-2		JD-2		EB-2		CT-2	
	Atteso	Ottenuto	Atteso	Ottenuto	Atteso	Ottenuto	Atteso	Ottenuto	Atteso	Ottenuto
Blue eye colour							1,000	0,911		
Intermediate eye colour			1,000							
Brown eye colour	1,000	0,998		0,836	1,000	0,998			1,000	0,995
Blond hair colour							1,000	0,522		
Brown hair colour									1,000	0,548
Red hair colour			1,000	0,967						
Black hair colour	1,000	0,678			1,000	0,646				
Light hair			1,000	0,969			1,000	0,956		
Dark hair	1,000	0,997			1,000	0,997			1,000	0,965
Very pale skin colour			1,000							
Pale skin colour							1,000			
Intermediate skin colour				0,544				0,515	1,000	0,898
Dark skin colour	1,000									
Dark to Black skin colour		0,962			1,000	0,990				

Tab.15 Confronto tra i fenotipi attesi e quelli ottenuti. Per i fenotipi attesi viene indicato “1,000” come probabilità del 100% del fenotipo corrispondente, mentre nei fenotipi ottenuti vengono riportati i valori probabilistici della predizione del fenotipo.

- Campioni forensi

I campioni forensi selezionati appartengono a persone scomparse la cui identificazione è stata eseguita mediante i classici marcatori STRs. I caratteri fenotipici noti di tali soggetti sono stati di seguito comparati con i risultati delle predizioni genetiche eseguite nel presente studio.

Il campione 6916 appartiene ad una donna scomparsa il cui corpo è stato ritrovato dopo 18 mesi in avanzato stato di decomposizione. In seguito all'identificazione è stato possibile stabilire le caratteristiche fenotipiche della donna. Occhi azzurri, capelli castano chiaro e pelle intermedia.

SNPs	Genotipo	Fenotipo		
		CON	SENZA	
rs312262906	CC	PBlueEye	0.911091001897925	0.911091001897925
rs11547464	GG	PIntermediateEye	0.0565970336881105	0.0565970336881105
rs885479	GG	PBrownEye	0.0323119644139641	0.0323119644139641
rs1805008	CC	Full AUC BlueEye	0.938973644229622	0.938973644229622
rs1805005	GG	Full AUC IntermediateEye	0.736088610355666	0.736088610355666
rs1805006	CC	Full AUC BrownEye	0.94607779085541	0.94607779085541
rs1805007	CC	Numb missingSNPs Eye	0	0
rs1805009	GG	Name missingSNPs Eye		
rs201326893	CC	AUC Loss BlueEye	0	0
rs2228479	AG	AUC Loss IntermediateEye	0	0
rs1110400	TT	AUC Loss BrownEye	0	0
rs28777	AA	PBlondHair	0.591342521665171	0.591342521665171
rs16891982	GG	PBrownHair	0.35144737342996	0.35144737342996
rs12821256	TT	PRedHair	0.00861376259868924	0.00861376259868924
rs4959270	CC	PBlackHair	0.04859634230618	0.04859634230618
rs12203592	CC	Full AUC BlondHair	0.81328159107446	0.81328159107446
rs1042602	AC	Full AUC BrownHair	0.741065453474718	0.741065453474718
rs1800407	CC	Full AUC RedHair	0.928933015939974	0.928933015939974
rs2402130	AG	Full AUC BlackHair	0.859248131984826	0.859248131984826
rs12913832	GG	Numb missingSNPs Hair	0	0
rs2378249	AG	Name missingSNPs Hair		
rs12896399	GT	AUC Loss BlondHair	0	0
rs1393350	GG	AUC Loss BrownHair	0	0
rs683	AC	AUC Loss RedHair	0	0
rs3114908	CT	AUC Loss BlackHair	0	0
rs1800414	TT	PLightHair	0.887570564827365	0.887570564827365
rs10756819	AA	PDarkHair	0.112429435172635	0.112429435172635
rs2238289	AA	Full AUC HairShade	0.905443611371445	0.905443611371445
rs17128291	AA	Numb missingSNPs HairShade	0	0
rs6497292	AA	Name missingSNPs HairShade		
rs1129038	TT	AUC Loss HairShade	0	0
rs1667394	TT	PVeryPaleSkin	0.0318189951770569	0.0321345089744575
rs1126809	GG	PPaleSkin	0.480712462519744	0.480785083519278
rs1470608	GG	PIntermediateSkin	0.487142892433099	0.486756089431635
rs1426654	AA	PDarkSkin	0.000280670100321155	0.000275669251580257
rs6119471	CC	PDarktoBlackSkin	4.50E+09	4.86E+09
rs1545397	AA	Full AUC Very PaleSkin	0.829988448209477	0.829988448209477
rs6059655	GG	Full AUC PaleSkin	0.762796346988106	0.762796346988106
rs12441727	GG	Full AUC IntermediateSkin	0.783304272013948	0.783304272013948
rs3212355	CC	Full AUC DarkSkin	0.980616700828803	0.980616700828803
rs8051733	AA	Full AUC DarktoBlackSkin	0.993473368342079	0.993473368342079
		Numb missingSNPs Skin	0	1
		Name missingSNPs Skin		rs6119471_C
		AUC Loss VeryPaleSkin	0	0.000639199075856411
		AUC Loss PaleSkin	0	0.000842417839248655
		AUC Loss IntermediateSkin	0	0.000508573089217479
		AUC Loss DarkSkin	0	0.00101001099129605
		AUC Loss DarktoBlackSkin	0	0.00019171459531564

Tab.16 Genotipo e probabile fenotipo del campione 6916. “CON” indica la predizione tenendo conto di tutti gli alleli tipizzati, “SENZA” indica la predizione effettuata escludendo i loci segnalati. I loci segnalati sono indicati con diversi colori. COV in azzurro.

Il campione 5672-2 appartiene ad un uomo ritrovato semicarbonizzato. Il fenotipo a cui è stato possibile risalire descrive un individuo con gli occhi e i capelli marroni e la pelle chiara.

	Genotipo	Fenotipo		
SNPs	5672-2	CON	SENZA	
rs312262906	NN			
rs11547464	GG			
rs885479	GG			
rs1805008	CC			
rs1805005	GG			
rs1805006	NN			
rs1805007	CC			
rs1805009	CG			
rs201326893	CC			
rs2228479	NN			
rs1110400	TT			
rs28777	AA			
rs16891982	NN			
rs12821256	NN			
rs4959270	AC			
rs12203592	NN			
rs1042602	NN			
rs1800407	NN			
rs2402130	AA			
rs12913832	AA			
rs2378249	NN			
rs12896399	NN			
rs1393350	GG			
rs683	NN			
rs3114908	CT			
rs1800414	TT			
rs10756819	GG			
rs2238289	AG			
rs17128291	NN			
rs6497292	AG			
rs1129038	CC			
rs1667394	CT			
rs1126809	NN			
rs1470608	-			
rs1426654	NN			
rs6119471	CC			
rs1545397	NN			
rs6059655	NN			
rs12441727	AG			
rs3212355	CC			
rs8051733	AG			
		PBlueEye	0.00126969362398816	0.00126969362398816
		PIntermediateEye	0.0265368858103393	0.0265368858103393
		PBrownEye	0.972193420565673	0.972193420565673
		Full AUC BlueEye	0.938973644229622	0.938973644229622
		Full AUC IntermediateEye	0.736088610355666	0.736088610355666
		Full AUC BrownEye	0.94607779085541	0.94607779085541
		Numb_missingSNPs Eye	4	4
		Name_missingSNPs Eye	rs16891982 C/rs1220359	rs16891982 C/rs1220359
		AUC Loss BlueEye	0.0212394878057525	0.0212394878057525
		AUC Loss IntermediateEye	0.0559024678480173	0.0559024678480173
		AUC Loss BrownEye	0.0216571327401852	0.0216571327401852
		PBlondHair	0.0825640691656931	0.122363237251795
		PBrownHair	0.63569492686201	0.561454514007627
		PRedHair	0.0886739103339635	0.00216967610490051
		PBlackHair	0.193067093638333	0.314012572635677
		Full AUC BlondHair	0.81328159107446	0.81328159107446
		Full AUC BrownHair	0.741065453474718	0.741065453474718
		Full AUC RedHair	0.928933015939974	0.928933015939974
		Full AUC BlackHair	0.859248131984826	0.859248131984826
		Numb_missingSNPs Hair	10	12
		Name_missingSNPs Hair	rs312262906 A/rs180500	rs312262906 A/rs180500
		AUC Loss BlondHair	0.0616201794809597	0.0730348047538191
		AUC Loss BrownHair	0.0591279775517605	0.0635406955835585
		AUC Loss RedHair	0.0212413746346448	0.0480327387229923
		AUC Loss BlackHair	0.0190427474391713	0.0221895598347629
		PLightHair	0.234708626608348	0.288369364674038
		PDarkHair	0.765291373391652	0.711630635325962
		Full AUC HairShade	0.905443611371445	0.905443611371445
		Numb_missingSNPs HairShade	9	11
		Name_missingSNPs HairShade	rs1805006 A/rs2228479	rs1805006 A/rs1805009
		AUC Loss HairShade	0.0379334582942814	0.0397610121836911
		PVeryPaleSkin	0.00597949475712191	0.00994038790695766
		PPaleSkin	0.135510004993449	0.1999966879764
		PIntermediateSkin	0.389586816834211	0.479819525452806
		PDarkSkin	0.0944129478123646	0.105301054752041
		PDarktoBlackSkin	0.374510735602853	0.204942343911796
		Full AUC VeryPaleSkin	0.829988448209477	0.829988448209477
		Full AUC PaleSkin	0.762796346988106	0.762796346988106
		Full AUC IntermediateSkin	0.783304272013948	0.783304272013948
		Full AUC DarkSkin	0.980616700828803	0.980616700828803
		Full AUC DarktoBlackSkin	0.993473368342079	0.993473368342079
		Numb_missingSNPs Skin	16	20
		Name_missingSNPs Skin	rs1805006 A/rs2228479	rs1805006 A/rs2228479
		AUC Loss VeryPaleSkin	0.0827531767423987	0.0990065460146343
		AUC Loss PaleSkin	0.0227142662760723	0.0400708751540753
		AUC Loss IntermediateSkin	0.0474944991074022	0.0737223398513693
		AUC Loss DarkSkin	0.0126399904940142	0.019851171909612
		AUC Loss DarktoBlackSkin	0.00358422939067804	0.00344252729848704

Tab.17 Genotipo e probabile fenotipo del campione 5672-2. “CON” indica la predizione tenendo conto di tutti gli alleli tipizzati, “SENZA” indica la predizione effettuata escludendo i loci segnalati. I loci segnalati sono indicati con diversi colori: MAF in giallo, PPC in verde, NOC in arancione.

Il campione 5880 è stato estratto da un soggetto di sesso femminile ritrovato dopo 5 mesi sul fondale del Lago di Garda. La donna aveva i capelli e gli occhi marroni e la pelle chiara. Il genotipo è piuttosto complesso e i risultati dell'analisi del fenotipo sono concordanti tra di loro e con il fenotipo stesso.

SNPs	Genotipo	Fenotipo		
			CON	SENZA
rs312262906	CC	PBlueEye	0.000581137548334932	0.000683636879871985
rs11547464	GG	PIntermediateEye	0.0171921981976172	0.0172202862973107
rs885479	GG	PBrownEye	0.982226664254048	0.982096076822817
rs1805008	CC	Full_AUC_BlueEye	0.938973644229622	0.938973644229622
rs1805005	GG	Full_AUC_IntermediateEye	0.736088610355666	0.736088610355666
rs1805006	CC	Full_AUC_BrownEye	0.94607779085541	0.94607779085541
rs1805007	CC	Numb_missingSNPs_Eye	0	1
rs1805009	GG	Name_missingSNPs_Eye		rs12896399_T
rs201326893	CC	AUC_Loss_BlueEye	0	0.0104288817779967
rs2228479	GG	AUC_Loss_IntermediateEye	0	0.0267449727796022
rs1110400	TT	AUC_Loss_BrownEye	0	0.00558492758538165
rs28777	AA	PBlondHair	0.119031078485536	0.119031078485536
rs16891982	GG	PBrownHair	0.536377871154686	0.536377871154686
rs12821256	TT	PRedHair	0.000372489822914296	0.000372489822914296
rs4959270	-	PBlackHair	0.344218560536863	0.344218560536863
rs12203592	CC	Full_AUC_BlondHair	0.81328159107446	0.81328159107446
rs1042602	CC	Full_AUC_BrownHair	0.741065453474718	0.741065453474718
rs1800407	CC	Full_AUC_RedHair	0.928933015939974	0.928933015939974
rs2402130	AA	Full_AUC_BlackHair	0.859248131984826	0.859248131984826
rs12913832	AA	Numb_missingSNPs_Hair	1	1
rs2378249	AA	Name_missingSNPs_Hair	rs4959270_A	rs4959270_A
rs12896399	GT	AUC_Loss_BlondHair	0.00166626243026902	0.00166626243026902
rs1393350	GG	AUC_Loss_BrownHair	0.000664555451974969	0.000664555451974969
rs683	AC	AUC_Loss_RedHair	0.00236350076837388	0.00236350076837388
rs3114908	CT	AUC_Loss_BlackHair	0.000778285699486569	0.000778285699486569
rs1800414	TT	PLightHair	0.262922217720119	0.262922217720119
rs10756819	AA	PDarkHair	0.737077782279881	0.737077782279881
rs2238289	AG	Full_AUC_HairShade	0.905443611371445	0.905443611371445
rs17128291	AA	Numb_missingSNPs_HairShade	1	1
rs6497292	AG	Name_missingSNPs_HairShade	rs4959270_A	rs4959270_A
rs1129038	CC	AUC_Loss_HairShade	0.00108950328022495	0.00108950328022495
rs1667394	CT	PVeryPaleSkin	0.00411945385899467	0.00397389901595259
rs1126809	GG	PPaleSkin	0.0874973421874371	0.0864080507915164
rs1470608	GT	PIntermediateSkin	0.421585613710221	0.434283714027982
rs1426654	AA	PDarkSkin	0.447535530645184	0.424465433186542
rs6119471	CC	PDarktoBlackSkin	0.039262059598163	0.0508689029780065
rs1545397	AA	Full_AUC_VeryPaleSkin	0.829988448209477	0.829988448209477
rs6059655	GG	Full_AUC_PaleSkin	0.762796346988106	0.762796346988106
rs12441727	AA	Full_AUC_IntermediateSkin	0.783304272013948	0.783304272013948
rs3212355	CC	Full_AUC_DarkSkin	0.980616700828803	0.980616700828803
rs8051733	GG	Full_AUC_DarktoBlackSkin	0.993473368342079	0.993473368342079
		Numb_missingSNPs_Skin	0	2
		Name_missingSNPs_Skin		rs12896399_T/rs3114908_T
		AUC_Loss_VeryPaleSkin	0	-7.70E+08
		AUC_Loss_PaleSkin	0	0.000169083865596664
		AUC_Loss_IntermediateSkin	0	0.000762859633827828
		AUC_Loss_DarkSkin	0	0.000935745477230632
		AUC_Loss_DarktoBlackSkin	0	0.00042510627656022

Tab.18 Genotipo e probabile fenotipo del campione 5880. “CON” indica la predizione tenendo conto di tutti gli alleli tipizzati, “SENZA” indica la predizione effettuata escludendo i loci segnalati. I loci segnalati sono indicati con diversi colori: MAF in giallo, PPC in verde.

Il campione 6821-1B è di una ragazza di origini bengalesi le cui ossa sono state ritrovate otto anni dopo la sua scomparsa.

SNPs	Genotipo			Fenotipo	
	6821-1B	6821-1B2	6821		
rs312262906	CC	CC	CC	PBlueEye	2.77E+09
rs11547464	GG	GG	GG	PIntermediateEye	0.00269445873870197
rs885479	AG	AG	AG	PBrownEye	0.997277835661769
rs1805008	CC	CC	CC	Full_AUC_BlueEye	0.938973644229622
rs1805005	GG	GG	GG	Full_AUC_IntermediateEye	0.736088610355666
rs1805006	CC	CC	CC	Full_AUC_BrownEye	0.94607779085541
rs1805007	CC	CC	CC	Numb_missingSNPs_Eye	0
rs1805009	GG	GG	GG	Name_missingSNPs_Eye	
rs201326893	CC	CC	CC	AUC_Loss_BlueEye	0
rs2228479	GG	AG	GG	AUC_Loss_IntermediateEye	0
rs1110400	TT	TT	TT	AUC_Loss_BrownEye	0
rs28777	CC	CC	CC	PBlondHair	0.00184240292384622
rs16891982	CC	CC	CC	PBrownHair	0.230618089652834
rs12821256	TT	TT	TT	PRedHair	1.21E+09
rs4959270	CC	CC	CC	PBlackHair	0.767527442372878
rs12203592	CC	CC	CC	Full_AUC_BlondHair	0.81328159107446
rs1042602	CC	CC	CC	Full_AUC_BrownHair	0.741065453474718
rs1800407	CC	CC	CC	Full_AUC_RedHair	0.928933015939974
rs2402130	AA	AA	AA	Full_AUC_BlackHair	0.859248131984826
rs12913832	AG	AA	AA	Numb_missingSNPs_Hair	0
rs2378249	AG	AG	AG	Name_missingSNPs_Hair	
rs12896399	GT	GT	GT	AUC_Loss_BlondHair	0
rs1393350	GG	GG	GG	AUC_Loss_BrownHair	0
rs683	CC	CC	CC	AUC_Loss_RedHair	0
rs3114908	CT	CT	CT	AUC_Loss_BlackHair	0
rs1800414	TT	TT	TT	PLightHair	0.00182418104471238
rs10756819	AA	AA	AA	PDarkHair	0.998175818955288
rs2238289	AA	AA	AA	Full_AUC_HairShade	0.905443611371445
rs17128291	AA	AA	AA	Numb_missingSNPs_HairShade	0
rs6497292	AA	AA	AA	Name_missingSNPs_HairShade	
rs1129038	CC	CC	CC	AUC_Loss_HairShade	0
rs1667394	CT	TT	TT	PVeryPaleSkin	0.000826957950055474
rs1126809	AG	GG	GG	PPaleSkin	0.00270747345604722
rs1470608	GT	GT	GT	PIntermediateSkin	0.0731748103480216
rs1426654	AA	AA	AA	PDarkSkin	0.91728975197038
rs6119471	NN	CC	CC	PDarktoBlackSkin	0.00600100627549634
rs1545397	AT	AT	AT	Full_AUC_VeryPaleSkin	0.829988448209477
rs6059655	GG	GG	GG	Full_AUC_PaleSkin	0.762796346988106
rs12441727	AG	AG	AG	Full_AUC_IntermediateSkin	0.783304272013948
rs3212355	CC	CC	CC	Full_AUC_DarkSkin	0.980616700828803
rs8051733	AG	AG	AG	Full_AUC_DarktoBlackSkin	0.993473368342079
				Numb_missingSNPs_Skin	0
				Name_missingSNPs_Skin	
				AUC_Loss_VeryPaleSkin	0
				AUC_Loss_PaleSkin	0
				AUC_Loss_IntermediateSkin	0
				AUC_Loss_DarkSkin	0
				AUC_Loss_DarktoBlackSkin	0

Tab.19 Genotipo e probabile fenotipo del campione 6821-1B. E' inserito il genotipo della replica 6821-1B2 e del profilo consenso 6821. Il fenotipo riportato è quello ottenuto dal profilo consenso. I loci segnalati sono indicati con diversi colori: MAF in giallo, COV in azzurro.

DISCUSSIONE

Lo studio del DNA Phenotyping in genetica forense è stato implementato nel corso degli anni, a partire dal 2001 con la validazione di Irisplex, poi di HirisPlex fino a Hiris-Plex-S con 41 SNPs per la predizione del colore di occhi, capelli e pelle.

Gli studi di validazione di questi tre sistemi hanno sempre usato la tecnica di sequenziamento SNApshot mediante elettroforesi capillare, ma con tale metodica non è possibile sequenziare i 41 SNPs contemporaneamente per cui è stata introdotta la *Massive Parallel Sequencing* che permette di processare più campioni in una singola corsa e per ciascuno di essi più regioni e consente di ottenere risultati migliori soprattutto per campioni poco concentrati o contenenti DNA degradato(141).

La tecnologia MPS è stata usata in tale studio e il sequenziamento è stato effettuato con l'*Ion Personal Genome Machine System* con la tecnologia *Ion Torrent*.

Per poter validare il pannello è stato necessario effettuare delle prove di sensibilità condotte con il DNA 2800M diluito a 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,025 ng/μl e amplificato a 21,23,25 cicli.

Dalle prove di sensibilità è possibile notare come l'aumento del numero dei cicli comporti un aumento del numero dei polimorfismi tipizzati, ma allo stesso tempo aumenta anche il numero di artefatti, per cui è preferibile utilizzare 23 cicli poiché i risultati ottenuti sembrano essere un compromesso tra i 21 e 25 cicli.

Per gli amplificati a 25 cicli i valori del coverage sono compresi tra 2451 (EB) e 6499 (CT): la genotipizzazione per ciascun campione risulta essere completa, ad eccezione del locus rs6119471 che per CO, JD ed EB viene segnalato come COV. In seguito all'ottenimento dei risultati sulla probabilità di predizione del fenotipo, questi sono stati confrontati con i fenotipi attesi.

Per quanto riguarda il colore degli occhi il fenotipo atteso corrisponde con quello ottenuto ad eccezione del campione CO: è stata ottenuta la

probabilità dello 0,863 del colore marrone quando il fenotipo atteso sarebbe stato il colore intermedio, anche se ciò è dovuto al fatto che gli SNPs determinanti tale tipo di colorazione non sono stati ancora definiti.

Per il colore dei capelli e la loro sfumatura non ci sono discrepanze tra il fenotipo atteso e quello ottenuto, mentre il colore della pelle è la caratteristica che più differisce. Il campione CO è stato selezionato come “very pale skin” secondo la classificazione di Fitzpatrick ma dai risultati appartiene alla categoria intermedia per 0,544. Il campione EB selezionato come “pale skin” è risultato anche esso nella categoria intermedia per 0,515. Infine, il campione FG è stato selezionato per la categoria “dark skin” essendo un individuo di colore, tuttavia il fenotipo ottenuto è stato per lo 0,962 “dark to black skin”. Tali discrepanze nel colore della pelle possono essere imputabili a un errore soggettivo al momento della selezione dei campioni; infatti sono stati scelti in base ad osservazioni e giudizi personali, ed essendo un numero limitato di soggetti l’errore di campionamento è più elevato. Inoltre, per quanto riguarda il campione FG, è possibile fare ulteriori considerazioni: il soggetto ha origini eritree quindi il suo fenotipo “dark to black skin” previsto da Hiris-Plex-S probabilmente rispecchia le caratteristiche della popolazione di appartenenza.

Per quanto riguarda i campioni forensi, la quantità di estratto aggiunta alla reazione di amplificazione è stata per tutti di 6 µl permettendo ai campioni di superare la soglia minima di 0,1 ng, tranne che per il campione 6821-1B in cui la quantità raggiunta è di 0,053 ng.

La tipizzazione del campione 6916 (estratto da ossa) è risultata completa ad eccezione dell’rs6119471 segnalato come COV e la predizione è stata effettuata sia considerandolo nel profilo che escludendolo.

I risultati sono concordanti nel colore blu degli occhi (0,912) e nel colore biondo dei capelli (0,591). Ciò che varia è la percentuale di predizione nel colore intermedio della pelle, che però risulta essere inconcludente in entrambi i casi, perché nessuna delle categorie supera il p-value di 0,5.

La predizione ottenuta nel colore degli occhi e dei capelli per tale campione corrisponde alle caratteristiche del fenotipo.

Il campione 5880 (estratto da sangue) presenta un solo polimorfismo non tipizzato. I fenotipi ottenuti sono concordanti per tutte le caratteristiche fornendo una predizione degli occhi marroni (0.982), capelli marroni (0,536) e il colore della pelle inconcludente in entrambi i casi perché nessuna delle categorie supera il p-value di 0,5. Confrontando il fenotipo ottenuto tramite DNA Phenotyping con il fenotipo noto del soggetto si ha concordanza per il colore di capelli ed occhi.

Per il campione 6821-1B (estratto da ossa rinvenute nel 2018, ma datate 2010) di cui è stata fatta la replica 6821-1B sono state ottenute due tipizzazioni che sono state confrontate per ottenere un profilo consenso quanto più completo possibile.

Dalla predizione si ha un'elevata concordanza con il fenotipo di riferimento: occhi marroni, (0,997), capelli neri (0,767) e pelle scura "dark skin" (0,917).

Il campione 5672-2 (estratto da un dente appartenente ad un cadavere semicarbonizzato) ha creato più problemi: infatti dei 23 polimorfismi segnalati, ben 17 non sono stati tipizzati. Nonostante ciò, le predizioni fenotipiche che si ottengono con i due metodi di esclusione sono concordanti per il colore marrone degli occhi (0,972) e il colore marrone degli occhi (0,636 e 0,651). I risultati sulla pelle sono inconcludenti poiché nessuna delle cinque categorie supera il valore di 0,5 del p-value.

Per poter trarre delle conclusioni sulla migliore efficacia del pannello su uno specifico tipo di campione è necessario effettuare ulteriori analisi ampliando il numero di campioni per ciascuna matrice biologica. Alla luce di questi risultati il pannello risulta essere funzionante per campioni freschi estratti da tampone buccale o da sangue, mentre l'efficacia diminuisce nei campioni forensi ritrovati in acqua e gli estratti di ossa ed è ancora più bassa nel campione 5772-2 trovato semicarbonizzato.

Tuttavia, il pannello disegnato appositamente risulta essere utilizzabile nelle indagini forensi con matrici di diversa natura.

CONCLUSIONE

Dal punto di tecnico, la Fenotipizzazione Forense ha permesso di comprendere meglio varie caratteristiche fenotipiche (età, discendenza biogeografica, colore di occhi, capelli e pelle, ma anche altezza, caratteristiche del viso) e i dati di associazione genotipo-fenotipo hanno portato allo sviluppo del primo strumento forense validato per la previsione simultanea del colore dei capelli, degli occhi e della pelle nel 2018 (HIrisPlex-S) (142) che utilizza la tecnologia Massive Paralle Sequencing mediante un pannello di 41 SNPs.

La predizione effettuata mediante il web tool HIris-Plex-S utilizzando le tipizzazioni generate dal pannello mediante MPS risulta essere verosimile e attendibile in base al confronto tra il fenotipo ottenuto e quello atteso dei campioni a fenotipo noto.

La previsione di tali caratteristiche può fornire importanti aiuti in campo forense qualora l'utilizzo del "DNA" standard basato sulle Short Tandem Repeat (STR) non sia informativo per cui può essere utile nei casi, di reati gravi, difficilmente risolvibili. Il DNA Phenotyping è tuttavia ostacolato ad oggi dalla scarsità di dati di associazione genomica su larga scala e dalla limitata conoscenza dei determinanti genetici: ciò indica l'inevitabilità di studi futuri per l'identificazione di nuovi marcatori genetici per la previsione accurata del fenotipo o delle EVC attraverso lo studio di associazione genome-wide (GWAS) in diverse popolazioni globali.(142)

Dal punto di vista etico-legislativo, nella scelta dell'utilizzo di una determinata tecnica occorre sempre valutarne i benefici e i costi e il Dna Phenotyping non fa eccezione: i benefici sono principalmente pratici e sociali; i costi sono etici ed economici.

I benefici pratici (103) (143) maggiori di tale tecnica sono l'individuazione dei criminali nei casi irrisolti o la riduzione dei tempi di indagine, impedendo loro di commettere altri crimini, il che si traduce in una riduzione del numero dei reati.

Inoltre, la Fenotipizzazione permetterebbe di ridurre il numero dei sospetti nelle indagini e di fornire un aiuto in caso di fallimento degli altri

strumenti investigativi e potrebbe agire anche come deterrente nello svolgimento di un crimine.

Di riflesso il vantaggio è una maggiore fiducia della popolazione nelle Forze di Polizia e una maggiore sicurezza pubblica che contribuirebbe al benessere sociale.

Tali vantaggi giustificano l'utilizzo della Fenotipizzazione quando necessario.

Di contro i costi, economici ed etici, ed i limiti sono molteplici.

Innanzitutto, il Dna Phenotyping non è uno strumento perfetto, ma probabilistico: probabilità può essere addirittura ridotta in caso di alterazioni dell'aspetto fisico della persona coinvolta (101)³⁴ (chirurgia plastica, lenti a contatto colorate, utilizzo di cosmetici, calvizie, parrucche, cambiamento del colore dei capelli). Ciò non è sempre noto alla popolazione e neanche agli inquirenti e per "l'effetto CSI" si tende a dare maggior credito alle prove genetiche rispetto alle altre.

Inoltre, la Fenotipizzazione lavora con i dati di gruppi di persone che condividono un particolare tratto visibile, o una gamma di tratti visibili. Per un'indagine criminale questo significa che persone dall'aspetto simile sono raggruppate in una "popolazione sospetta"(144) .Una volta inclusi in essa, questi cittadini devono essere esclusi al fine di restringere il numero dei potenziali rei: una modalità per ottenere l'esclusione è lo screening di massa del DNA (145) con tutte le ulteriori problematiche annesse (inversione dell'onere della prova, presunzione di innocenza...).

Per questi motivi la Fenotipizzazione deve essere usata sempre in associazione ad altre tecniche o risorse investigative e mai come unica fonte investigativa.

I costi sono quindi numerosi.

Prima di capire il rapporto costi/benefici bisogna però valutare quanto il DNA Phenotyping sia utile singolarmente.

³⁴ S.Karberg 2018 Phenotyping : The hidden mugshot in a culprit's DNA. European Biotechnology

La valutazione della sua efficacia, non abbinata ad altre risorse, è piuttosto difficile (101) in quanto appunto non dovrebbe essere mai usato singolarmente.

Uno studio controllato non è uno strumento fattibile per la valutazione del DNA Phenotyping, date le questioni etiche riguardanti chi potrebbe essere considerato un gruppo di controllo; è necessario, come suggerisce il VISAGE, un organismo di supervisione nazionale democraticamente legittimato e che la valutazione sia retrospettiva e osservazionale.

Il dibattito verte quindi sulla necessità di utilizzare un metodo che fornisce un risultato probabilistico e che comporta numerose implicazioni etiche quali discriminazioni, violazione di privacy, diritto a non sapere.

Questi limiti rendono necessaria una maggior accuratezza dei test utilizzati prima di poterla applicare su larga scala (146).

In base a queste considerazioni, la Fenotipizzazione deve essere applicata in tutti quei casi, specie se gravi, in cui gli altri strumenti forensi non hanno permesso di individuare il responsabile.

Affinchè il DNA Phenotyping sia applicato nei modi e tempi corretti, senza ledere i diritti della popolazione, si rendono necessarie leggi specifiche nelle varie Nazioni che ancora non ne presentano, come l'Italia.

Leonardo d'Errico

BIBLIOGRAFIA

Samuel, G, Prainsack, B (2018) The regulatory landscape of forensic DNA phenotyping in Europe VISAGE

Samuel, G, Prainsack, B (2019) Societal, ethical, and regulatory dimensions of forensic DNA phenotyping. VISAGE

Samuel, G, Prainsack, B (2020). Report on recommendations to address the ethical and societal challenges of FDP. VISAGE

H. Westermark / A. Aronovitz / J. Curran / I. Fausch / J. Fournier / L. Hohenecker / A. Kleczewski / I. Pretelli / R. Polanco Lazo / K. Topaz Druckman / C. Viennet / F. Went / J. Zheng, The Regulation of the Use of DNA in Law Enforcement, current to : 28.08.2020

1. Liu F, Zhong K, Jing X, Uitterlinden A, Hendriks A, Drop SL s, et al. Update on the predictability of tall stature from DNA markers in Europeans. *Forensic Sci Int Genet.* 1 giugno 2019;42.
2. Pm S, B P, M K. The Use of Forensic DNA Phenotyping in Predicting Appearance and Biogeographic Ancestry. *Dtsch Arzteblatt Int [Internet].* 23 dicembre 2019 [citato 4 maggio 2022];51–52(51–52). Disponibile su: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31941575/>
3. Stranger BE, Stahl EA, Raj T. Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. *Genetics.* febbraio 2011;187(2):367–83.
4. Wray NR, Yang J, Hayes BJ, Price AL, Goddard ME, Visscher PM. Pitfalls of predicting complex traits from SNPs. *Nat Rev Genet.* luglio 2013;14(7):507–15.
5. Kayser M, Schneider PM. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations. *Forensic Sci Int Genet.* giugno 2009;3(3):154–61.
6. Toom V, Wienroth M, M'charek A, Prainsack B, Williams R, Duster T, et al. Approaching ethical, legal and social issues of emerging forensic DNA phenotyping (FDP) technologies comprehensively: Reply to «Forensic DNA phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes» by Manfred Kayser. *Forensic Sci Int Genet.* maggio 2016;22:e1–4.

7. Kayser M. Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. *Forensic Sci Int Genet.* settembre 2015;18:33–48.
8. Pośpiech E, Karłowska-Pik J, Marcińska M, Abidi S, Andersen JD, Berge M van den, et al. Evaluation of the predictive capacity of DNA variants associated with straight hair in Europeans. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2015;19:280–8.
9. Liu F, Chen Y, Zhu G, Hysi PG, Wu S, Adhikari K, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies 8 novel loci involved in shape variation of human head hair. *Hum Mol Genet.* 1 febbraio 2018;27(3):559–75.
10. Pośpiech E, Chen Y, Kukla-Bartoszek M, Breslin K, Aliferi A, Andersen JD, et al. Towards broadening Forensic DNA Phenotyping beyond pigmentation: Improving the prediction of head hair shape from DNA. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2018;37:241–51.
11. Xiong Z, Dankova G, Howe LJ, Lee MK, Hysi PG, de Jong MA, et al. Novel genetic loci affecting facial shape variation in humans. *eLife.* 26 novembre 2019;8:e49898.
12. Marcińska M, Pośpiech E, Abidi S, Andersen JD, van den Berge M, Carracedo Á, et al. Evaluation of DNA variants associated with androgenetic alopecia and their potential to predict male pattern baldness. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127852.
13. Liu F, Hamer MA, Heilmann S, Herold C, Moebus S, Hofman A, et al. Prediction of male-pattern baldness from genotypes. *Eur J Hum Genet.* giugno 2016;24(6):895–902.
14. Hagenaaars SP, Hill WD, Harris SE, Ritchie SJ, Davies G, Liewald DC, et al. Genetic prediction of male pattern baldness. *PLOS Genet.* 14 febbraio 2017;13(2):e1006594.
15. Aulchenko YS, Struchalin MV, Belonogova NM, Axenovich TI, Weedon MN, Hofman A, et al. Predicting human height by Victorian and genomic methods. *Eur J Hum Genet EJHG.* agosto 2009;17(8):1070–5.
16. Liu F, Hendriks AEJ, Ralf A, Boot AM, Benyi E, Säwendahl L, et al. Common DNA variants predict tall stature in Europeans. *Hum Genet.* maggio 2014;133(5):587–97.
17. Yengo L, Sidorenko J, Kemper KE, Zheng Z, Wood AR, Weedon MN, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies for height and body mass index in ~700000 individuals of European ancestry. *Hum Mol Genet.* 15 ottobre 2018;27(20):3641–9.
18. Cole JB, Manyama M, Kimwaga E, Mathayo J, Larson JR, Liberton DK, et al. Genomewide Association Study of African Children Identifies Association of SCHIP1 and PDE8A with Facial Size and Shape. *PLOS Genet.* 25 agosto 2016;12(8):e1006174.
19. Claes P, Roosenboom J, White JD, Swigut T, Sero D, Li J, et al. Genome-wide mapping of global-to-local genetic effects on human facial shape. *Nat Genet.* marzo 2018;50(3):414–23.

20. Cha S, Lim JE, Park AY, Do JH, Lee SW, Shin C, et al. Identification of five novel genetic loci related to facial morphology by genome-wide association studies. *BMC Genomics*. 19 giugno 2018;19(1):481.
21. Shaffer JR, Orlova E, Lee MK, Leslie EJ, Raffensperger ZD, Heike CL, et al. Genome-Wide Association Study Reveals Multiple Loci Influencing Normal Human Facial Morphology. *PLOS Genet*. 25 agosto 2016;12(8):e1006149.
22. Peng F, Zhu G, Hysi PG, Eller RJ, Chen Y, Li Y, et al. Genome-Wide Association Studies Identify Multiple Genetic Loci Influencing Eyebrow Color Variation in Europeans. *J Invest Dermatol*. luglio 2019;139(7):1601–5.
23. Schneider PM, Prainsack B, Kayser M. The Use of Forensic DNA Phenotyping in Predicting Appearance and Biogeographic Ancestry. *Dtsch Arzteblatt Int*. 23 dicembre 2019;51–52(51–52):873–80.
24. Bradbury C, Köttgen A, Staubach F. Off-target phenotypes in forensic DNA phenotyping and biogeographic ancestry inference: A resource. *Forensic Sci Int Genet*. gennaio 2019;38:93–104.
25. Phillips C, de la Puente M. The analysis of ancestry with small-scale forensic panels of genetic markers. *Emerg Top Life Sci*. 24 settembre 2021;5(3):443–53.
26. Hopman R. Opening up forensic DNA phenotyping: the logics of accuracy, commonality and valuing. *New Genet Soc*. 1 ottobre 2020;39(4):424–40.
27. Heidegger A, Xavier C, Niederstätter H, de la Puente M, Pośpiech E, Pisarek A, et al. Development and optimization of the VISAGE basic prototype tool for forensic age estimation. *Forensic Sci Int Genet*. settembre 2020;48:102322.
28. Weidner CI, Wagner W. The epigenetic tracks of aging. *Biol Chem*. 1 novembre 2014;395(11):1307–14.
29. Hannum G, Guinney J, Zhao L, Zhang L, Hughes G, Sada S, et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell*. 24 gennaio 2013;49(2):359–67.
30. Florath I, Butterbach K, Müller H, Bewerunge-Hudler M, Brenner H. Cross-sectional and longitudinal changes in DNA methylation with age: an epigenome-wide analysis revealing over 60 novel age-associated CpG sites. *Hum Mol Genet*. 1 marzo 2014;23(5):1186–201.
31. Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet*. giugno 2018;19(6):371–84.
32. Woźniak A, Heidegger A, Piniewska-Róg D, Pośpiech E, Xavier C, Pisarek A, et al. Development of the VISAGE enhanced tool and statistical models for epigenetic age estimation in blood, buccal cells and bones. *Aging*. 11 marzo 2021;13(5):6459–84.
33. Levine ME, Lu AT, Quach A, Chen BH, Assimes TL, Bandinelli S, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging*. 18 aprile 2018;10(4):573–91.

34. Spólnicka M, Pośpiech E, Pepłowska B, Zbieć-Piekarska R, Makowska Ż, Pięta A, et al. DNA methylation in ELOVL2 and C1orf132 correctly predicted chronological age of individuals from three disease groups. *Int J Legal Med.* gennaio 2018;132(1):1–11.
35. Lu AT, Quach A, Wilson JG, Reiner AP, Aviv A, Raj K, et al. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging.* 21 gennaio 2019;11(2):303–27.
36. Naue J, Hoefsloot HCJ, Kloosterman AD, Verschure PJ. Forensic DNA methylation profiling from minimal traces: How low can we go? *Forensic Sci Int Genet.* marzo 2018;33:17–23.
37. Kosmadaki MG, Stratigos AJ, Antoniou C, Katsambas A. DNA polymorphisms: what they are and their role in human pigmentation. *Actas Dermosifiliogr.* dicembre 2009;100 Suppl 2:84–7.
38. Parra EJ. Human pigmentation variation: evolution, genetic basis, and implications for public health. *Am J Phys Anthropol.* 2007;Suppl 45:85–105.
39. Liu F, Wen B, Kayser M. Colorful DNA polymorphisms in humans. *Semin Cell Dev Biol.* luglio 2013;24(6–7):562–75.
40. Lango Allen H, Estrada K, Lettre G, Berndt SI, Weedon MN, Rivadeneira F, et al. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. *Nature.* 14 ottobre 2010;467(7317):832–8.
41. Valverde P, Healy E, Jackson I, Rees JL, Thody AJ. Variants of the melanocyte-stimulating hormone receptor gene are associated with red hair and fair skin in humans. *Nat Genet.* novembre 1995;11(3):328–30.
42. Schaffer JV, Bolognia JL. The melanocortin-1 receptor: red hair and beyond. *Arch Dermatol.* novembre 2001;137(11):1477–85.
43. Naysmith L, Waterston K, Ha T, Flanagan N, Bisset Y, Ray A, et al. Quantitative measures of the effect of the melanocortin 1 receptor on human pigmentary status. *J Invest Dermatol.* febbraio 2004;122(2):423–8.
44. Shriver MD, Parra EJ, Dios S, Bonilla C, Norton H, Jovel C, et al. Skin pigmentation, biogeographical ancestry and admixture mapping. *Hum Genet.* aprile 2003;112(4):387–99.
45. Kanetsky PA, Swoyer J, Panossian S, Holmes R, Guerry D, Rebbeck TR. A polymorphism in the agouti signaling protein gene is associated with human pigmentation. *Am J Hum Genet.* marzo 2002;70(3):770–5.
46. Bonilla C, Boxill LA, Donald SAM, Williams T, Sylvester N, Parra EJ, et al. The 8818G allele of the agouti signaling protein (ASIP) gene is ancestral and is associated with darker skin color in African Americans. *Hum Genet.* aprile 2005;116(5):402–6.
47. Graf J, Hodgson R, van Daal A. Single nucleotide polymorphisms in the MATP gene are associated with normal human pigmentation variation. *Hum Mutat.* marzo 2005;25(3):278–84.

48. Soejima M, Koda Y. Population differences of two coding SNPs in pigmentation-related genes SLC24A5 and SLC45A2. *Int J Legal Med.* gennaio 2007;121(1):36–9.
49. Branicki W, Brudnik U, Draus-Barini J, Kupiec T, Wojas-Pelc A. Association of the SLC45A2 gene with physiological human hair colour variation. *J Hum Genet.* 2008;53(11–12):966–71.
50. Lamason R, Mohideen P, Mest J, Wong A, Norton H, Aros M, et al. SLC24A5, a putative cation exchanger, affects pigmentation in zebrafish and humans. *Science* 310, 1782–1786. *Science.* 1 gennaio 2006;310:1782–6.
51. Alaluf S, Barrett K, Blount M, Carter N. Ethnic variation in tyrosinase and TYRP1 expression in photoexposed and photoprotected human skin. *Pigment Cell Res.* febbraio 2003;16(1):35–42.
52. Jacobs LC, Wollstein A, Lao O, Hofman A, Klaver CC, Uitterlinden AG, et al. Comprehensive candidate gene study highlights UGT1A and BNC2 as new genes determining continuous skin color variation in Europeans. *Hum Genet.* febbraio 2013;132(2):147–58.
53. Branicki W, Liu F, van Duijn K, Draus-Barini J, Pośpiech E, Walsh S, et al. Model-based prediction of human hair color using DNA variants. *Hum Genet.* aprile 2011;129(4):443–54.
54. Stokowski RP, Pant PVK, Dadd T, Fereday A, Hinds DA, Jarman C, et al. A genomewide association study of skin pigmentation in a South Asian population. *Am J Hum Genet.* dicembre 2007;81(6):1119–32.
55. Eiberg H, Troelsen J, Nielsen M, Mikkelsen A, Mengel-From J, Kjaer KW, et al. Blue eye color in humans may be caused by a perfectly associated founder mutation in a regulatory element located within the HERC2 gene inhibiting OCA2 expression. *Hum Genet.* marzo 2008;123(2):177–87.
56. Duffy DL, Montgomery GW, Chen W, Zhao ZZ, Le L, James MR, et al. A three-single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of OCA2 explains most human eye-color variation. *Am J Hum Genet.* febbraio 2007;80(2):241–52.
57. Cook AL, Chen W, Thurber AE, Smit DJ, Smith AG, Bladen TG, et al. Analysis of cultured human melanocytes based on polymorphisms within the SLC45A2/MATP, SLC24A5/NCKX5, and OCA2/P loci. *J Invest Dermatol.* febbraio 2009;129(2):392–405.
58. Kayser M, Liu F, Janssens ACJW, Rivadeneira F, Lao O, van Duijn K, et al. Three genome-wide association studies and a linkage analysis identify HERC2 as a human iris color gene. *Am J Hum Genet.* febbraio 2008;82(2):411–23.
59. Liu F, Wollstein A, Hysi PG, Ankra-Badu GA, Spector TD, Park D, et al. Digital quantification of human eye color highlights genetic association of three new loci. *PLoS Genet.* 6 maggio 2010;6(5):e1000934.

60. Sturm RA, Duffy DL, Zhao ZZ, Leite FPN, Stark MS, Hayward NK, et al. A single SNP in an evolutionary conserved region within intron 86 of the *HERC2* gene determines human blue-brown eye color. *Am J Hum Genet.* febbraio 2008;82(2):424–31.
61. Alonso S, Izagirre N, Smith-Zubiaga I, Gardeazabal J, Díaz-Ramón JL, Díaz-Pérez JL, et al. Complex signatures of selection for the melanogenic loci *TYR*, *TYRP1* and *DCT* in humans. *BMC Evol Biol.* 29 febbraio 2008;8:74.
62. Edwards M, Bigham A, Tan J, Li S, Gozdzik A, Ross K, et al. Association of the *OCA2* Polymorphism His615Arg with Melanin Content in East Asian Populations: Further Evidence of Convergent Evolution of Skin Pigmentation. *PLoS Genet.* 5 marzo 2010;6(3):e1000867.
63. Sulem P, Gudbjartsson DF, Stacey SN, Helgason A, Rafnar T, Jakobsdottir M, et al. Two newly identified genetic determinants of pigmentation in Europeans. *Nat Genet.* luglio 2008;40(7):835–7.
64. Han J, Kraft P, Nan H, Guo Q, Chen C, Qureshi A, et al. A Genome-Wide Association Study Identifies Novel Alleles Associated with Hair Color and Skin Pigmentation. *PLOS Genet.* 16 maggio 2008;4(5):e1000074.
65. Duffy DL, Iles MM, Glass D, Zhu G, Barrett JH, Höiom V, et al. *IRF4* variants have age-specific effects on nevus count and predispose to melanoma. *Am J Hum Genet.* 9 luglio 2010;87(1):6–16.
66. Eriksson N, Macpherson JM, Tung JY, Hon LS, Naughton B, Saxonov S, et al. Web-based, participant-driven studies yield novel genetic associations for common traits. *PLoS Genet.* 24 giugno 2010;6(6):e1000993.
67. Nan H, Kraft P, Qureshi AA, Guo Q, Chen C, Hankinson SE, et al. Genome-wide association study of tanning phenotype in a population of European ancestry. *J Invest Dermatol.* settembre 2009;129(9):2250–7.
68. Spichenok O, Budimlija ZM, Mitchell AA, Jenny A, Kovacevic L, Marjanovic D, et al. Prediction of eye and skin color in diverse populations using seven SNPs. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2011;5(5):472–8.
69. Ruiz Y, Phillips C, Gomez-Tato A, Alvarez-Dios J, Casares de Cal M, Cruz R, et al. Further development of forensic eye color predictive tests. *Forensic Sci Int Genet.* gennaio 2013;7(1):28–40.
70. Walsh S, Liu F, Ballantyne KN, van Oven M, Lao O, Kayser M. IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Sci Int Genet.* giugno 2011;5(3):170–80.
71. Walsh S, Liu F, Wollstein A, Kovatsi L, Ralf A, Kosiniak-Kamysz A, et al. The HirisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. *Forensic Sci Int Genet.* gennaio 2013;7(1):98–115.

72. Walsh S, Wollstein A, Liu F, Chakravarthy U, Rahu M, Seland JH, et al. DNA-based eye colour prediction across Europe with the IrisPlex system. *Forensic Sci Int Genet.* maggio 2012;6(3):330–40.
73. Mengel-From J, Børsting C, Sanchez JJ, Eiberg H, Morling N. Human eye colour and HERC2, OCA2 and MATP. *Forensic Sci Int Genet.* ottobre 2010;4(5):323–8.
74. Valenzuela RK, Henderson MS, Walsh MH, Garrison NA, Kelch JT, Cohen-Barak O, et al. Predicting phenotype from genotype: normal pigmentation. *J Forensic Sci.* 1 marzo 2010;55(2):315–22.
75. Pneuman A, Budimlija ZM, Caragine T, Prinz M, Wurmbach E. Verification of eye and skin color predictors in various populations. *Leg Med Tokyo Jpn.* marzo 2012;14(2):78–83.
76. Kukla-Bartoszek M, Pośpiech E, Spólnicka M, Karłowska-Pik J, Strapagiel D, Żądzińska E, et al. Investigating the impact of age-dependend hair colour darkening during childhood on DNA-based hair colour prediction with the HIrisPlex system. *Forensic Sci Int Genet.* settembre 2018;36:26–33.
77. Jablonski NG, Chaplin G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 maggio 2010;107(Suppl 2):8962–8.
78. Jablonski NG, Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *J Hum Evol.* luglio 2000;39(1):57–106.
79. Brenner M, Hearing VJ. The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. *Photochem Photobiol.* 2008;84(3):539–49.
80. Walsh S, Chaitanya L, Breslin K, Muralidharan C, Bronikowska A, Pospiech E, et al. Global skin colour prediction from DNA. *Hum Genet.* luglio 2017;136(7):847–63.
81. Chaitanya L, Breslin K, Zuñiga S, Wirken L, Pośpiech E, Kukla-Bartoszek M, et al. The HIrisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation. *Forensic Sci Int Genet.* luglio 2018;35:123–35.
82. Walsh S, Lindenbergh A, Zuniga SB, Sijen T, de Knijff P, Kayser M, et al. Developmental validation of the IrisPlex system: determination of blue and brown iris colour for forensic intelligence. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2011;5(5):464–71.
83. Walsh S, Chaitanya L, Clarisse L, Wirken L, Draus-Barini J, Kovatsi L, et al. Developmental validation of the HIrisPlex system: DNA-based eye and hair colour prediction for forensic and anthropological usage. *Forensic Sci Int Genet.* marzo 2014;9:150–61.
84. Söchtig J, Phillips C, Maroñas O, Gómez-Tato A, Cruz R, Alvarez-Dios J, et al. Exploration of SNP variants affecting hair colour prediction in Europeans. *Int J Legal Med.* settembre 2015;129(5):963–75.

85. Maroñas O, Phillips C, Söchtig J, Gomez-Tato A, Cruz R, Alvarez-Dios J, et al. Development of a forensic skin colour predictive test. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2014;13:34–44.
86. Montague S. Genetic Suspects: Global Governance of Forensic DNA Profiling and Databasing. *Yale J Biol Med.* settembre 2011;84(3):326.
87. Breslin K, Wills B, Ralf A, Ventayol Garcia M, Kukla-Bartoszek M, Pospiech E, et al. HirisPlex-S system for eye, hair, and skin color prediction from DNA: Massively parallel sequencing solutions for two common forensically used platforms. *Forensic Sci Int Genet.* novembre 2019;43:102152.
88. Jäger AC, Alvarez ML, Davis CP, Guzmán E, Han Y, Way L, et al. Developmental validation of the MiSeq FGx Forensic Genomics System for Targeted Next Generation Sequencing in Forensic DNA Casework and Database Laboratories. *Forensic Sci Int Genet.* 1 maggio 2017;28:52–70.
89. Caliebe A, Walsh S, Liu F, Kayser M, Krawczak M. Likelihood ratio and posterior odds in forensic genetics: Two sides of the same coin. *Forensic Sci Int Genet.* maggio 2017;28:203–10.
90. Liu F, van Duijn K, Vingerling JR, Hofman A, Uitterlinden AG, Janssens ACJW, et al. Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes. *Curr Biol CB.* 10 marzo 2009;19(5):R192-193.
91. Schouwey K, Beermann F. The Notch pathway: hair graying and pigment cell homeostasis. *Histol Histopathol.* maggio 2008;23(5):609–19.
92. Takeda K, Takahashi NH, Shibahara S. Neuroendocrine Functions of Melanocytes: Beyond the Skin-Deep Melanin Maker. *Tohoku J Exp Med.* 2007;211(3):201–21.
93. Rosengren Pielberg G, Golovko A, Sundström E, Curik I, Lennartsson J, Seltenhammer MH, et al. A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nat Genet.* agosto 2008;40(8):1004–9.
94. Chen Y, Branicki W, Walsh S, Nothnagel M, Kayser M, Liu F, et al. The impact of correlations between pigmentation phenotypes and underlying genotypes on genetic prediction of pigmentation traits. *Forensic Sci Int Genet.* gennaio 2021;50:102395.
95. King TE, Fortes GG, Balaesque P, Thomas MG, Balding D, Delser PM, et al. Identification of the remains of King Richard III. *Nat Commun.* 2 dicembre 2014;5:5631.
96. Feenberg A, Feenberg A. *Transforming technology: a critical theory revisited.* New York, N.Y: Oxford University Press; 2002. 218 pag.
97. Oosthuizen T, Howes LM. The development of forensic DNA analysis: New debates on the issue of fundamental human rights. *Forensic Sci Int Genet.* gennaio 2022;56:102606.

98. Wise JA. The new scientific eyewitness: The role of DNA profiling in shaping criminal justice [Internet] [Thesis]. UNSW Sydney; 2008 [citato 5 maggio 2022]. Disponibile su: <http://hdl.handle.net/1959.4/41275>
99. MacCormick N. Rhetoric and The Rule of Law: A Theory of Legal Reasoning [Internet]. Oxford: Oxford University Press; 2005 [citato 5 maggio 2022]. 304 pag. (Law, State, and Practical Reason). Disponibile su: <https://oxford.universitypressscholarship.com/10.1093/acprof:oso/9780199571246.001.0001/acprof-9780199571246>
100. Stewart, Cameron --- «The Rule of Law and the Tinkerbell Effect: theoretical Considerations, Criticisms and Justifications For the Rule of Law» [2004] MqLawJl 7; (2004) 4 Maquarie Law Journal 135 [Internet]. [citato 5 maggio 2022]. Disponibile su: <http://classic.austlii.edu.au/au/journals/MqLawJl/2004/7.html>
101. Williams R, Wienroth M. Social and ethical aspects of forensic genetics: A critical review. *Forensic Sci Rev.* luglio 2017;29(2):145–69.
102. Koops EJ, Schellekens MHM. Forensic DNA phenotyping: Regulatory issues. *Columbia Sci Technol Law Rev.* 2008;9(1):158–202.
103. Ossorio PN. About face: forensic genetic testing for race and visible traits. *J Law Med Ethics J Am Soc Law Med Ethics.* 2006;34(2):277–92.
104. Matheson S. DNA Phenotyping: Snapshot of a Criminal. *Cell.* 25 agosto 2016;166(5):1061–4.
105. Scudder N, McNevin D, Kelty SF, Walsh SJ, Robertson J. Massively parallel sequencing and the emergence of forensic genomics: Defining the policy and legal issues for law enforcement. *Sci Justice J Forensic Sci Soc.* marzo 2018;58(2):153–8.
106. M'charek A. Silent witness, articulate collective: DNA evidence and the inference of visible traits. *Bioethics.* novembre 2008;22(9):519–28.
107. Lazer D. DNA and the criminal justice system: the technology of justice. Cambridge, Mass.: MIT Press; 2004.
108. Ray T. Push for Forensic DNA Phenotyping, Ancestry Testing in Germany Raises Discrimination Concerns. :7.
109. Zieger M, Utz S. About DNA databasing and investigative genetic analysis of externally visible characteristics: A public survey. *Forensic Sci Int Genet.* 14 maggio 2015;17:163–72.
110. M'charek A, Toom V, Prainsack B. Bracketing off population does not advance ethical reflection on EVCs: A reply to Kayser and Schneider. *Forensic Sci Int Genet.* gennaio 2012;6(1):e16–7.
111. Tsao H, Chin L, Garraway LA, Fisher DE. Melanoma: from mutations to medicine. *Genes Dev.* 1 giugno 2012;26(11):1131–55.

112. Brown KM, MacGregor S, Montgomery GW, Craig DW, Zhao ZZ, Iyadurai K, et al. Common sequence variants on 20q11.22 confer melanoma susceptibility. *Nat Genet.* luglio 2008;40(7):838–40.
113. Mocellin S, Nitti D. Vitamin D receptor polymorphisms and the risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancer.* 1 novembre 2008;113(9):2398–407.
114. Barrett JH, Iles MM, Harland M, Taylor JC, Aitken JF, Andresen PA, et al. Genome-wide association study identifies three new melanoma susceptibility loci. *Nat Genet.* 9 ottobre 2011;43(11):1108–13.
115. Macgregor S, Montgomery GW, Liu JZ, Zhao ZZ, Henders AK, Stark M, et al. Genome-wide association study identifies a new melanoma susceptibility locus at 1q21.3. *Nat Genet.* 9 ottobre 2011;43(11):1114–8.
116. Falchi M, Bataille V, Hayward NK, Duffy DL, Bishop JAN, Pastinen T, et al. Genome-wide association study identifies variants at 9p21 and 22q13 associated with development of cutaneous nevi. *Nat Genet.* agosto 2009;41(8):915–9.
117. Koops B, Schellekens M, Prinsen MM. Wanted : a Tall Blond Dutchman. Does the Netherlands Set the Stage in Regulating Forensic DNA Phenotyping? 2006;
118. Etter B. The contribution of forensic science to miscarriage of justice cases. *Aust J Forensic Sci.* 1 dicembre 2013;45(4):368–80.
119. Hocking, Barbara Ann; McCallum, Hamish; Smith, Alison; Butler, Chris --- «DNA, Human Rights and the Criminal Justice System» [1997] *AUJHRights* 11; (1997) 3(2) *Australian Journal of Human Rights* 208 [Internet]. [citato 7 maggio 2022]. Disponibile su: <http://classic.austlii.edu.au/au/journals/AUJHRights/1997/11.html>
120. Baskin DR, Sommers IB. Crime-Show-Viewing Habits and Public Attitudes Toward Forensic Evidence: The “CSI Effect” Revisited. *Justice Syst J.* 1 gennaio 2010;31(1):97–113.
121. Thompson WC, Taroni F, Aitken CGG. How the probability of a false positive affects the value of DNA evidence. *J Forensic Sci.* gennaio 2003;48(1):47–54.
122. Full article: Forensic DNA phenotyping in Europe: views “on the ground” from those who have a professional stake in the technology [Internet]. [citato 5 maggio 2022]. Disponibile su: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14636778.2018.1549984>
123. Guillen M, Lareu MV, Pestoni C, Salas A, Carracedo A. Ethical-Legal Problems of DNA Databases in Criminal Investigation [Internet]. 220584. 2000 [citato 7 maggio 2022]. Disponibile su: <https://repository.library.georgetown.edu/handle/10822/516409>
124. Donnelly S. Forensic Science in a Human Rights Framework. *Aust J Forensic Sci.* 1 marzo 2012;44(1):93–103.

125. MacLean CE. Creating a Wanted Poster from a Drop of Blood: Using DNA Phenotyping to Generate an Artist's Rendering of an Offender Based Only on DNA Shed at the Crime Scene. *Hamline Law Rev.* 2013;36:31.
126. Nayak BP, Khajuria H. Eyewitness testimony: probative value in criminal justice system. *Egypt J Forensic Sci.* 3 gennaio 2019;9(1):2.
127. Fox D. The Second Generation of Racial Profiling. *Cent Health Law Policy Bioeth* [Internet]. 1 gennaio 2010; Disponibile su: https://digital.sandiego.edu/law_chlb_research_scholarship/27
128. Innes M. Investigating Murder: Detective Work and the Police Response to Criminal Homicide [Internet]. Oxford: Oxford University Press; 2003 [citato 7 maggio 2022]. 234 pag. (Clarendon Studies in Criminology). Disponibile su: <https://oxford.universitypressscholarship.com/10.1093/acprof:oso/9780199259427.001.0001/acprof-9780199259427>
129. Council NR. Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward. *CrimRxiv* [Internet]. 1 luglio 2009 [citato 7 maggio 2022]; Disponibile su: <https://www.crimrxiv.com/pub/z6cvxsr8>
130. Communicating uncertainty about facts, numbers and science | Royal Society Open Science [Internet]. [citato 5 maggio 2022]. Disponibile su: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsos.181870>
131. Kraemer F, van Overveld K, Peterson M. Is there an ethics of algorithms? *Ethics Inf Technol.* 1 settembre 2011;13(3):251–60.
132. Lipphardt V, Lipphardt A, Buchanan N, Surdu M, Toom V, Wienroth M, et al. OPEN LETTER ON CRITICAL APPROACHES TO FORENSIC DNA PHENOTYPING AND BIOGEOGRAPHICAL ANCESTRY. *STSFreiburg Ger.* 27 aprile 2017;
133. (jade.io) - R v Berry [2007] VSCA 202 - BarNet Jade - BarNet Jade [Internet]. [citato 9 maggio 2022]. Disponibile su: <https://jade.io/article/72183>
134. The Federal Role in the Innocence Movement in America - Keith A. Findley, 2017 [Internet]. [citato 7 maggio 2022]. Disponibile su: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1043986216673009>
135. Smith M, Urbas G. A century of science in Australian criminal trials. *Aust Bar Rev.* 2019;47:72–85.
136. Hamer D. The Expectation of Incorrect Acquittals and the «New and Compelling Evidence» Exception to Double Jeopardy. *Crim Law Rev Lond Engl.* 1 febbraio 2009;
137. Purtova N. The law of everything. Broad concept of personal data and future of EU data protection law. *Law Innov Technol.* 2 gennaio 2018;10(1):40–81.
138. Purtova N. Between GDPR and the Police Directive: Navigating Through the Maze of Information Sharing in Public-Private Partnerships. *SSRN Electron J.* 1 gennaio 2017;

139. Jong L, M'charek A. The high-profile case as «fire object»: Following the Marianne Vaatstra murder case through the media. *Crime Media Cult.* dicembre 2018;14(3):347–63.
140. Phillips C, Prieto L, Fondevila M, Salas A, Gómez-Tato A, Alvarez-Dios J, et al. Ancestry analysis in the 11-M Madrid bomb attack investigation. *PloS One.* 11 agosto 2009;4(8):e6583.
141. Bruijns B, Tiggelaar R, Gardeniers H. Massively parallel sequencing techniques for forensics: A review. *Electrophoresis.* novembre 2018;39(21):2642–54.
142. Dabas P, Jain S, Khajuria H, Nayak BP. Forensic DNA phenotyping: Inferring phenotypic traits from crime scene DNA. *J Forensic Leg Med.* maggio 2022;88:102351.
143. Smith M, URBAS G. Regulating New Forms of Forensic DNA Profiling under Australian Legislation: Familial Matching and DNA Phenotyping. *Aust J Forensic Sci.* 2012;44(1):1–19.
144. Cole SA, Lynch M. The Social and Legal Construction of Suspects. *Annu Rev Law Soc Sci.* 2006;2(1):39–60.
145. Washington HA. Base assumptions? Racial aspects of US DNA forensics. In: Hindmarsh R, Prainsack B, curatori. *Genetic Suspects* [Internet]. Cambridge: Cambridge University Press; 2010 [citato 7 maggio 2022]. pag. 63–84. Disponibile su: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9780511778193A014/type/book_part
146. Haga SB. Policy Implications of Defining Race and More by Genome Profiling. 2006;15.