

TESTO CONCESSO DA CARABINIERI INVESTIGAZIONI SCIENTIFICHE



L'Indagine Biologica: il DNA

Introduzione

L'indagine di tipo biologico ha assunto un ruolo di primaria importanza con la scoperta dei polimorfismi del DNA. L'enorme potenzialità dell'indagine genetica, è data dal fatto che non esistono due persone che siano geneticamente identiche, fatta eccezione per il caso di gemelli omozigoti. La possibilità di individuare le differenze tra le "impronte genetiche" di ciascun individuo e quindi la possibilità di stabilire inequivocabilmente l'identità di un soggetto rispetto a qualsiasi altro esistente o esistito ha fatto assumere all'indagine di tipo biologico un ruolo di primaria importanza. Molti casi giudiziari, infatti, sono stati risolti grazie alla biologia forense che ha permesso l'identificazione del colpevole sulla base di indagini condotte su macchie di sangue, capelli, frammenti di pelle o altre tracce rinvenute sulla scena del delitto o su effetti personali dell'indagato.

Cenni sulla biologia forense

Dalla comparazione dei polimorfismi genici del DNA è possibile identificare una persona con margini d'errore infinitamente piccoli. I profili genetici sono rilevabili su ogni fluido o tessuto biologico contenente cellule nucleate. Essendo l'acqua il veicolo portante delle cellule, i substrati più utili sono costituiti in genere da tutte le superfici assorbenti: così come l'esperto dattiloscopista ricerca le superfici lisce per le impronte palmari e digitali, il biologo forense generalmente predilige substrati adsorbenti dove maggiore è la possibilità di una positiva estrazione di materiale genetico.

La deperibilità rappresenta il limite principale dell'utilizzo del DNA per scopi forensi. Per impedire la proliferazione dei microorganismi decompositori (batteri, muffe, funghi, ecc.), responsabili del deterioramento della traccia biologica, il reperto può essere sia essiccato sia congelato: nel primo caso, con l'evaporazione dell'acqua viene distrutta la vita dei microorganismi; nel secondo caso, viene rallentata la velocità di proliferazione microbica al punto da renderla pressoché assente.

L'introduzione di una nuova tecnologia, denominata PCR (Reazione di Polimerizzazione a Catena), ha rivoluzionato questo settore: tale metodica offre la possibilità di analizzare il DNA su campioni biologici altamente degradati (per esempio: frammenti cadaverici in avanzato stato di decomposizione) in quanto vengono amplificate solo specifiche porzioni di DNA di dimensioni notevolmente ridotte e non l'intero corredo genico. L'amplificazione consiste in una sintesi in vitro del DNA estratto anche in quantità minima (miliardesimi di grammo) dalle tracce repertate sul luogo del reato, sintesi simile, in taluni aspetti principali, a quella che avviene normalmente in natura.

L'operatore di P.G. addetto al repertamento tenga sempre presente che da una traccia, anche se impercettibile e degradata, è possibile giungere all'identificazione analitica della vittima o dell'autore del reato.

La molecola del DNA

La più importante caratteristica che accomuna tutte le forme viventi, dagli organismi unicellulari quali i batteri, alle piante, agli organismi complessi quali l'uomo, è la presenza della molecola del DNA "Acido Desossiribo Nucleico". In questa molecola sono codificate tutte le

informazioni genetiche che determinano la struttura morfologica, fisiologica e biochimica di un organismo vivente, è possibile definire il DNA come il “codice della vita”.

L'acido deossi ribo-nucleico è contenuto all'interno delle cellule e precisamente in un compartimento racchiuso da membrana denominato nucleo, ed è soggetto a cambiamenti nella sua organizzazione strutturale a seconda che la cellula si trovi in fase di divisione o abbia viceversa completato il ciclo di divisione cellulare e sia quindi in interfase.

Struttura chimica e molecolare del DNA

La struttura della molecola del DNA è quella di un polimero a quattro diversi monomeri, i *deossi-ribonucleotidi trifosfato*, costituiti a loro volta da una molecola di zucchero, il *deossi-ribosio*, legata ad un gruppo fosfato a cui si aggiunge una delle quattro basi azotate che distinguono in altrettante categorie i *deossi-ribonucleotidi*.

La polimerizzazione dei monomeri avviene mediante un'esterificazione (legame che prevede l'eliminazione di una molecola di acqua) tra il gruppo idrossile (OH) presente in posizione 3' del deossiribosio e la molecola di acido fosforico di un secondo monomero, con le basi azotate posizionate perpendicolarmente all'asse del legame. La struttura finale della molecola del DNA è a “doppia elica”: i due singoli filamenti si appaiano mediante legami idrogeno a bassa energia che si instaurano tra le quattro basi azotate (Adenina, Guanina, Citosina e Timina)¹.

Gli appaiamenti possono avvenire solo tra Adenina e Timina mediante la formazione di due legami idrogeno e tra Citosina e Guanina che si appaiano formando tre legami idrogeno. Questi legami sono a bassa energia per cui possono essere facilmente spezzati somministrando calore; al tempo stesso, essendo specifici, consentono la rinaturazione delle due singole eliche nel momento in cui vengono meno le condizioni di denaturazione; infine, conferiscono una curvatura alla doppia elica del DNA facendole assumere la classica conformazione elicoidale destrorsa. I legami estere tra il deossi-ribosio e il fosfato, sono invece legami ad alta energia e costituiscono l'ossatura della molecola.

La struttura della molecola del DNA, quindi, può essere paragonata ad una scala a chiocciola con la ringhiera formata dall'asse ribo-fosforico e i gradini costituiti dalle basi omologhe appaiate mediante la formazione dei legami idrogeno.

James D. WATSON e Francis CRICK, insieme a Maurice H. F. WILKINS furono i primi a scoprire la struttura del DNA e per tale scoperta furono insigniti del premio Nobel per la medicina nel 1962.

Organizzazione del DNA all'interno della cellula

Nella molecola di acido nucleico, il DNA si presenta costantemente associato a proteine e organizzato in modo strutturalmente diverso a seconda che la cellula sia in interfase o in divisione. Le proteine che legano il DNA sono principalmente rappresentate dalle cosiddette *proteine istoniche*: queste quattro classi di polipeptidi (denominate H2A, H2B, H3 e H4) si associano in duplice copia a formare un istone attorno al quale si avvolgono 140 paia di basi della molecola di DNA. Questo complesso DNA-proteine è definito *nucleosoma* e costituisce l'unità strutturale che organizza, nella cellula, il genoma. Insieme alle istoniche, vi sono altre proteine che legano la molecola di acido nucleico quali le proteine dello “Scaffold” (scheletro) che determinano la conformazione ad “anse” del materiale genetico e lo organizzano in “cromosomi” all'atto della divisione cellulare. Il DNA delle cellule in interfase, sempre associato alle proteine precedentemente descritte, si presenta in forma non condensata -appare come una massa di fibrille che aderisce in alcuni punti alla membrana nucleare- e prende il nome di *cromatina*: la cromatina viene a sua volta distinta in *euromatina* che costituisce la porzione di materiale genetico codificante che viene trascritta, ed *eterocromatina* ovvero la porzione priva di informazione genetica che non viene trascritta.

Il DNA delle cellule in interfase, sempre associato alle proteine precedentemente descritte, si presenta in forma non condensata -appare come una massa di fibrille che aderisce in alcuni punti alla membrana nucleare- e prende il nome di *cromatina*: la cromatina viene a sua volta distinta in *euromatina* che costituisce la porzione di materiale genetico codificante che viene

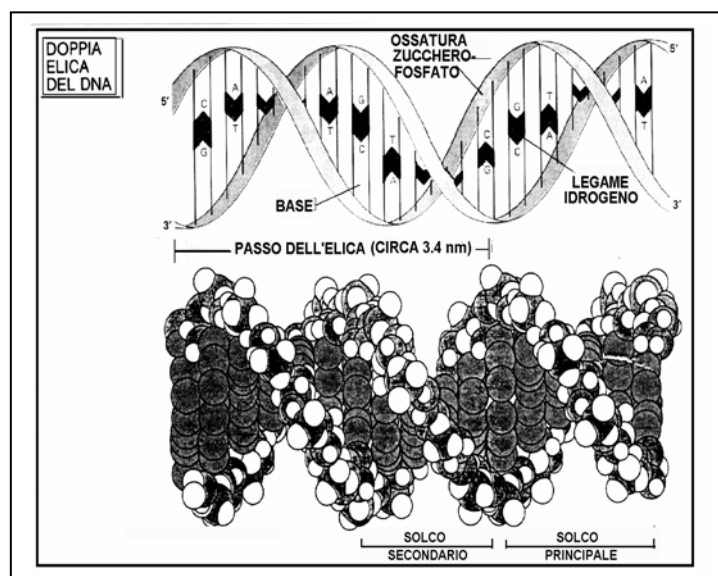
¹ Adenina e Guanina vengono definite basi “puriniche” e sono costituite da due anelli ciclici esterificati, rispettivamente a 5 e a 6 atomi di carbonio; Citosina e Timina sono definite basi “pirimidiniche” e sono costituite da un solo anello a 6 atomi di carbonio.

trascritta, ed *eterocromatina* ovvero la porzione priva di informazione genetica che non viene trascritta.

Quando la cellula entra nel ciclo di divisione mitotica o meiotica, la cromatina si condensa a formare i cromosomi che sono la forma più compatta in cui si può organizzare il materiale genetico. I cromosomi sono costituiti da due cromatidi fratelli identici che vengono mantenuti uniti a livello di una struttura definita *centromero*: il numero, la forma e le caratteristiche morfo-strutturali dei cromosomi (bandeggio, posizione del centromero), costituiscono il *cariotipo* di un individuo.

Esso varia tra organismi appartenenti a specie diverse e può essere diverso anche tra individui appartenenti alla stessa specie qualora i soggetti presentano anomalie cromosomiche accompagnate, di solito, da gravi forme di patologie ereditarie.

Il cariotipo normale per la specie umana prevede, per le cellule somatiche, ovvero per le cellule che non fanno parte della linea germinale e che quindi non sono destinate a dare origine ai gameti (spermatozoi ed ovocellule), che la cromatina sia organizzata in 23 coppie di



cromosomi omologhi (assetto *diploide*); i gameti, invece, presentano in ciascun nucleo 23 cromosomi (uno per ciascuna coppia di omologhi), in modo da ricostituire il normale assetto *diploide* all'atto della fusione del gamete maschile con quello femminile.

Replicazione, trascrizione e traduzione del materiale genetico

Durante le fasi di differenziazione e sviluppo dell'organismo, le cellule che compongono un essere vivente, a partire dallo zigote, subiscono una serie di divisioni (*mitosi*). Le mitosi devono essere precedute da una duplicazione del materiale genetico finalizzata a garantire la trasmissione in ciascuna delle cellule figlie dello stesso materiale genetico della cellula di origine. Il DNA, quindi, deve subire un processo di *replicazione* tale per cui, nella cellula prossima alla divisione, si deve trovare una quantità di materiale genetico doppia rispetto a quella normalmente presente. Grazie a questa duplicazione, ogni cromosoma della cellula in divisione risulta costituito da due cromatidi fratelli perfettamente identici che all'atto della separazione mitotica confluiscono in ciascuna delle due cellule figlie. Mediante la riproduzione, attraverso l'unione dei gameti, il materiale genetico di un individuo viene trasmesso di generazione in generazione; gli eventi di mutazione spontanea e - nel caso di riproduzione sessuale - di ricombinazione genetica *Crossing-Over*, garantiscono la "variabilità genetica"

nell'ambito della specie consentendo una maggiore capacità di adattamento all'ambiente e quindi una maggiore probabilità di sopravvivenza della specie stessa.

Il processo di formazione dei gameti, noto come *meiosi*, prevede due successive divisioni cellulari precedute da un solo evento di replicazione del materiale genetico; con la prima divisione meiotica avviene la separazione dei cromatidi fratelli mentre con la seconda avviene la separazione dei cromosomi omologhi con conseguente dimezzamento del patrimonio genetico (da *diploide* diviene *aploide*). Grazie al contributo di entrambi i gameti parentali, all'atto della formazione dello zigote viene ricostituito il normale assetto *diploide* caratteristico delle specie a riproduzione sessuata. La replicazione del DNA che precede entrambi gli eventi di mitosi e meiosi consiste nell'apertura della doppia elica in alcuni punti (*forche di replicazione*) per mezzo di enzimi specifici e la polimerizzazione su ciascuno dei singoli filamenti originari di un filamento complementare ad opera di un altro enzima, la *DNA-polimerasi*. Questo tipo di replicazione è definito *semiconservativo* in quanto porta alla formazione di due catene di DNA ciascuna costituita da un filamento neosintetizzato e da un filamento stampo originario.

L'informazione genetica che si ottiene dalla sintesi delle proteine, deve essere portata all'esterno del nucleo cellulare (*citoplasma*: porzione compresa tra la membrana nucleare e la membrana esterna delimitante la cellula); il trasporto dell'informazione avviene attraverso la *trascrizione* dei geni in una seconda molecola di acido nucleico, simile ma non uguale alla molecola di DNA.

Si tratta dell'*acido ribonucleico* o RNA che, in tutti i tre tipi (mRNA; tRNA; rRNA), differisce dalla molecola del DNA per il fatto che:

è strutturata in singolo filamento, contrariamente al DNA che si presenta in filamento doppio;

presenta il ribosio, anziché il deossiribosio, come zucchero costituente i nucleotidi;

presenta come base azotata complementare dell'adenina l'uracile anziché la timina.

La sintesi delle molecole di acido nucleico avviene utilizzando come stampo i geni del DNA; una molecola di RNA contiene di solito l'informazione relativa a un solo gene o comunque a un numero limitato di geni e viene polimerizzata da un enzima specifico, la RNA-polimerasi. Le dimensioni delle molecole di RNA sono tali da consentire, in associazione con proteine specifiche, il passaggio delle stesse attraverso i pori della membrana. Una volta giunta nel citoplasma, l'informazione contenuta nelle molecole di RNA deve essere tradotta per permettere la sintesi delle proteine e degli enzimi necessari all'ottimale svolgimento di tutte le funzioni metaboliche dell'organismo.

Per capire come avviene il passaggio da acido nucleico a proteina è necessario introdurre il concetto di "codice genetico" e di "sintesi proteica".

Il codice genetico può essere definito come la chiave di lettura del lunghissimo testo a quattro lettere (basi azotate: A, T, G, C) della molecola di DNA; nella traduzione, le lettere che vengono lette tre alla volta si presentano in 64 (4^3) diverse possibili combinazioni. Queste unità di lettura vengono definite *codoni*.

La sintesi proteica è il processo metabolico che porta alla formazione di quelle che sono le principali molecole costituenti un organismo: le proteine. Si tratta di polimeri costituiti da unità elementari, denominati aminoacidi, legati tra loro mediante la formazione di legami estere. Questi monomeri sono presenti nel citoplasma delle cellule, complessati con una piccola molecola di RNA definita t-RNA (RNA transfer) specifica per ciascun aminoacido. La sintesi proteica avviene sui *ribosomi* che sono dei complessi citoplasmatici formati da proteine specifiche ("proteine ribosomiali") associate con molecole di RNA definite r-RNA (RNA ribosomiale).

I 20 aminoacidi presenti in natura sono identificati ciascuno da uno o più codoni del codice genetico, ad eccezione di tre codoni che hanno la funzione di "stop" (UAA, AUG, UGA) in quanto determinano la fine della sintesi proteica. La traduzione del messaggio genetico avviene in corrispondenza di un ribosoma al quale si lega una molecola di mRNA (RNA messaggero) che contiene l'informazione relativa a uno o più geni. La molecola di mRNA sulla superficie del ribosoma espone il suo primo codone, il quale viene riconosciuto e legato da una molecola di tRNA attraverso il suo anticodone complementare; ciascun tipo di tRNA porta un aminoacido specifico. Durante la traduzione, l'mRNA scorre attraverso il ribosoma che permette a ciascuno dei suoi codoni di legare il corrispondente tRNA; ciò avvenuto, il ribosoma

media il trasferimento dell'aminoacido portato dal tRNA all'estremità della catena proteica in allungamento.

Il termine della traduzione è provocato da un codone di stop, il quale agisce in modo indiretto determinando il rilascio della proteina neosintetizzata dal ribosoma.

L'interazione specifica tra codone e anticodone consente di tradurre il codice genetico, espresso come sequenze di nucleotidi, in corrispondenti sequenze di aminoacidi che costituiscono le proteine dell'organismo. In questo contesto, possiamo considerare il ribosoma, mRNA e tRNA come un'interfaccia che collega i geni con le proteine.

II DNA mitocondriale

Come già accennato, il nucleo cellulare non è l'unica struttura da cui può essere estratto acido nucleico: anche in un altro compartimento, noto come "mitocondrio", è contenuta parte del materiale genetico rinvenibile all'interno di una cellula eucariote (nucleata). Questa porzione di genoma, nota come "DNA mitocondriale" o "mt-DNA", a differenza del DNA nucleare è presente in copie il cui numero non è fisso, ma varia a seconda del tipo di cellula. Per questa sua peculiarità, la molecola di mt-DNA si è rivelata particolarmente utile in ambito forense, in quanto da essa è possibile ottenere DNA in quantità sufficiente per poter effettuare una tipizzazione. Va inoltre considerato che la struttura circolare e chiusa rende tale molecola più resistente del DNA nucleare ai fattori di degradazione ai quali spesso i reperti biologici sono esposti.

La filogenesi mitocondriale

L'ipotesi più accreditata fa risalire l'origine dei mitocondri ad un evento di endosimbiosi che si sarebbe stabilito tra una cellula eucariote (e quindi nucleata), e un batterio (che viceversa è un organismo procariote ovvero non nucleato). Questa endosimbiosi sarebbe avvenuta immediatamente dopo l'evoluzione della cellula eucariote, prima ancora dell'evento di divergenza evolutiva che ha portato alla separazione tra animali e piante.

La diversificazione di questi organelli è tale da permettere una ricostruzione filogenetica dell'evoluzione basata sulla percentuale di diversità che si può riscontrare a livello mitocondriale. In particolare, la "filogenesi mitocondriale" offre in alcuni casi la possibilità di stabilire una relazione tra le proprie varianti con l'origine etnica (e in alcuni casi geografica), dei campioni analizzati. Questo avvalorava l'ipotesi, confermata da sempre più riscontri, che le mutazioni si siano accumulate nel genoma mitocondriale in epoche preistoriche, dopo il fenomeno di migrazione che portò alla colonizzazione dei vari continenti da parte della popolazione ancestrale che abitava il continente Africano.

La struttura dei mitocondri

Il mitocondrio consiste in un "organello" a forma cilindrica allungata che rientra in quella categoria di strutture definite "compartimenti cellulari" caratterizzate da un rivestimento fosfolipidico-proteico tipico delle membrane cellulari. In particolare, il mitocondrio è costituito da due porzioni interne racchiuse da una doppia membrana ad altissima specializzazione che presiede la produzione di energia metabolica sotto forma di una molecola denominata "adenosina-tri-fosfato" o ATP. La porzione di mitocondrio compresa tra le due membrane, definita "spazio intermembrana", ha una composizione chimico-fisica estremamente simile a quella del citoplasma cellulare; la membrana interna, molto più selettiva, racchiude lo "spazio della matrice" all'interno del quale si ripiega a formare una serie di rilievi denominati "creste" che, aumentando fino ad un massimo di cinque volte la superficie della membrana, formano il supporto per la "catena respiratoria", ovvero per quella serie di proteine che catalizzano i passaggi della reazione che determina la produzione di energia sotto forma di ATP. Il numero di creste mitocondriali risulta pertanto variabile a seconda del tipo di cellula e della funzione a cui questa è deputata.

La sintesi energetica si basa su un processo chemiosmotico che prevede il trasporto di elettroni ad alta energia -derivati dall'ossidazione di un substrato in forma ridotta (contenente cioè atomi di idrogeno), il "Nucleotinamide-adenil-di-nucleotide" o più semplicemente NADH- lungo la catena respiratoria; il passaggio di questi elettroni produce energia che viene sfruttata per pompare "protoni" (molecole di H⁺) nello spazio intermembrana. Ne deriva l'instaurarsi di un gradiente elettrochimico tra le due facce della membrana interna che può essere a sua volta

impiegato per sintetizzare molecole di ATP. Quest'ultima reazione viene condotta dall'*ATP sintetasi*, una proteina ubicata nella membrana mitocondriale interna che utilizza l'energia del gradiente protonico per catalizzare la reazione di sintesi dell'ATP mediante un processo definito di *fosforilazione ossidativa* dell'*adenosina-di-fosfato* (ADP) alla quale viene esterificata una terza molecola di fosfato inorganico mediante formazione di un legame ad alta energia ($ADP + P_i \rightarrow ATP$). Il numero di mitocondri presenti in una cellula, quindi, è estremamente variabile non solo tra individui diversi ma anche, in uno stesso individuo, tra cellule diverse le quali devono produrre diversi quantitativi di energia metabolica a seconda della funzione alla quale sono destinate. Questi organelli poi non sono sintetizzati ex novo ma prendono origine dall'accrescimento e dalla divisione di quelli già esistenti.

Tale processo solitamente avviene nella fase del ciclo "*interfase*" in cui la cellula non si divide.

Ereditarietà materno-lineare del genoma mitocondriale

A differenza del DNA nucleare, il genoma mitocondriale presente nelle cellule di un individuo non deriva dal contributo genetico di entrambi i genitori ma viene trasmesso solamente per via materna. Questo tipo di eredità, definita "materno-lineare", deriva dal fatto che solamente nella cellula uovo è presente il citoplasma completo di tutti gli organelli -mitocondri compresi, quindi-, mentre lo spermatozoo non possiede se non in piccole tracce una matrice citoplasmatica e resenta i mitocondri solo a livello del "colletto" ovvero tra la testa e il flagello. Questi mitocondri forniscono l'energia per il movimento del flagello ma non costituiscono il patrimonio genetico dello zigote, in quanto solamente la testa dello spermatozoo entra nell'ovocellula. Per le indagini genetiche è pertanto necessario tener conto del fatto che il mt-DNA di un individuo è riconducibile a quello della madre, della nonna materna e così via procedendo a ritroso lungo le generazioni.

Il genoma mitocondriale

Nel corso dell'evoluzione, alcuni dei geni del mt-DNA si sono trasferiti nel genoma nucleare attraverso un evento di trasposizione e ricombinazione con il DNA del nucleo, e questo spiega la presenza in quest'ultimo di alcuni geni estremamente simili a geni batterici. I mitocondri traggono, pertanto, sia dal genoma mitocondriale che, in misura maggiore, dal genoma nucleare gli elementi necessari al loro metabolismo; i geni del mt-DNA vengono trascritti e tradotti all'interno dell'organello su "ribosomi mitocondriali", mentre i fattori proteici derivanti da geni nucleari vengono sintetizzati sui ribosomi presenti nel citoplasma e successivamente trasportati nel mitocondrio.

Il genoma mitocondriale è rappresentato da una molecola di DNA circolare strutturata a doppia elica, costituita da un filamento ricco di basi puriniche definito "catena pesante" o "catena H" (heavy), e da un filamento complementare ricco di basi pirimidiniche definito "catena leggera" o "catena L" (light); questa molecola è presente in più copie all'interno dell'organello e le sue dimensioni variano tra le diverse specie eucariotiche costituendo, come visto, un criterio di valutazione filogenetica. Anche la percentuale relativa di mt-DNA rispetto al totale del genoma cellulare costituisce un parametro caratteristico di specie e, per quello che riguarda i mammiferi, questo valore non raggiunge l'1%.

A tutt'oggi non è stata ancora del tutto compresa l'organizzazione del DNA all'interno del mitocondrio e la sua eventuale interazione con fattori proteici, anche se risulta evidente l'assenza di proteine istoniche e un'organizzazione del genoma che si avvicina maggiormente a quella riscontrabile in alcune specie batteriche piuttosto che a quella della cromatina eucariotica.

Il genoma mitocondriale umano è costituito da circa 16.500 paia di basi e la sua sequenza è stata completamente determinata nel 1981 da S. Anderson. I geni in esso contenuti codificano per 2 r-RNA (RNA ribosomiali) del mitocondrio, 22 t-RNA (RNA transfer) sempre del mitocondrio e per 13 proteine mitocondriali. Oltre alla porzione codificante, il DNA mitocondriale comprende poi una porzione non interessata da geni denominata "D-loop" (displacement loop) che funge da sito di controllo per la replicazione e trascrizione. Questa porzione di genoma è a sua volta suddivisa in due regioni ipervariabili, denominate HVR-1 (avente lunghezza di circa 400 paia di basi) e HVR-2 (avente lunghezza di circa 380 paia di basi), le quali rappresentano approssimativamente il 6% del genoma mitocondriale.

Queste due regioni di controllo presentano un livello molto elevato di eterogeneità genetica, e proprio questa loro peculiarità le rende particolarmente utili per indagini di tipo forense, mirate a stabilire l'eventuale appartenenza ad un determinato individuo delle tracce biologiche in esame. Questa grande eterogeneità genetica è alimentata dal fatto che il DNA mitocondriale varia con un tasso di mutazione che è stato stimato essere dalle 6 alle 17 volte superiore a quello osservato per il genoma nucleare; questa differenza dipende soprattutto del fatto che, mentre per il DNA nucleare esistono sistemi di riparazione enzimatica estremamente sofisticati, in grado di correggere la maggior parte degli errori che la polimerasi introduce durante la fase di replicazione e di porre rimedio ad altri danni ai quali può essere soggetta la molecola genomica, per l'mt-DNA questi sistemi non sono altrettanto sofisticati ed efficaci.

Biologia molecolare e sue applicazioni in ambito forense

La scoperta della molecola del DNA e la comprensione dei principali meccanismi che ne regolano il funzionamento hanno aperto la strada ad una nuova branca della biologia, la biologia molecolare che in questi ultimi venti anni, con l'avvento di nuove tecniche di indagine, ha avuto un notevole sviluppo rendendo applicabili tecniche di studio e di intervento sul genoma che fino a qualche anno fa apparivano utopiche.

La biologia molecolare in ambito medico

Gli sforzi maggiori della ricerca sono rivolti a scoprire le possibilità di intervento sul genoma per curare le malattie genetiche ereditarie. Molti geni sono stati "mappati", cioè è stata identificata la loro posizione nell'ambito del genoma attraverso l'individuazione delle *coordinate genetiche* (numero di cromosoma e precisa posizione nella quale il gene si colloca). Per alcuni di questi geni è stata scoperta la sequenza nucleotidica che ha permesso di identificare il relativo prodotto proteico facendo comprendere la funzione che il particolare gene ricopre nel metabolismo dell'individuo.

Nel caso delle malattie genetiche, le porzioni codificanti del genoma sono interessate da mutazioni che ne compromettono, o comunque ne limitano, la funzionalità determinando la carenza o il non ottimale funzionamento di determinati prodotti proteici. Per alcune malattie genetiche si è riusciti ad identificare la mutazione o le mutazioni che le determinano, consentendo in alcuni casi di supplire farmacologicamente ai prodotti proteici carenti.

Attualmente, la ricerca in ambito genetico-medico è finalizzata alla determinazione delle possibilità di sostituzione o "riparazione" delle porzioni di DNA affette da mutazione. La strada che si sta percorrendo prevede l'impiego di "vettori" genetici (molecole di acido nucleico contenenti il gene da sostituire) che siano in grado di inserirsi nel genoma di un individuo mediante un evento di *ricombinazione* tra sequenze di DNA omologhe. Le conoscenze acquisite e gli enormi progressi fatti alimentano la speranza che questo obiettivo possa essere raggiunto in tempi non troppo lunghi.

La biologia molecolare in ambito forense

Sulla base del fatto che il genoma umano presenta un'enorme variabilità, tanto da rendere ogni individuo geneticamente diverso da qualsiasi altro essere vivente o vissuto, la biologia molecolare trova vasto impiego anche in ambito forense e, in generale, nel campo della medicina legale.

La possibilità di riscontrare due individui geneticamente diversi varia a seconda del *locus* (porzione di genoma) che viene comparato. Mentre vi sono loci che, appartenendo alla porzione codificante del genoma (eucromatina), risultano altamente conservati, altri loci, compresi nella porzione non codificante del genoma (eterocromatina), presentano un alto livello di variabilità risultando, quindi, i più utili ai fini forensi.

L'indagine condotta su queste porzioni ipervariabili del DNA permette di ricondurre una qualsiasi traccia biologica all'individuo che l'ha lasciata. La possibilità di arrivare alla tipizzazione genetica a partire da una traccia biologica è determinata dal fatto che, come già accennato, ogni singola cellula contiene all'interno del proprio nucleo l'intero patrimonio genetico di un individuo. Dato che il DNA è una molecola relativamente stabile e poco reattiva, è solitamente possibile isolarla dalle altre componenti biologiche in tracce molto vecchie o alterate.

Le attuali metodiche di estrazione e di analisi della molecola di DNA consentono di ottenere ottimi risultati anche da una minima quantità di materiale biologico: da una traccia di sangue o

di un altro liquido biologico del diametro di pochi millimetri, da piccoli frammenti di tessuto organico, da capelli o altre formazioni pilifere. In particolare, per quanto riguarda i capelli, è stata messa a punto ed è attualmente in fase di perfezionamento una metodica che si basa sull'analisi del DNA mitocondriale.

La biologia molecolare ha dato un contributo spesso determinante alle indagini di Polizia Giudiziaria: le tracce dalle quali sino a pochi anni fa sembrava impensabile poter trarre qualcosa di utile, oggi permettono di determinare in modo assolutamente certo l'identità dei colpevoli o degli individui presenti sulla scena del crimine risolvendo casi che altrimenti sarebbero rimasti insoluti. In alcuni casi si è riusciti ad ottenere risultati che hanno permesso di identificare i colpevoli dalle tracce biologiche delle vittime presenti sugli indumenti o su altri effetti personali nonostante gli indumenti utilizzati per compiere l'azione criminosa fossero stati lavati e non recassero più alcuna traccia visibile ad occhio nudo. In molti casi si riesce a risalire ai colpevoli di delitti o di aggressioni grazie al ritrovamento di tracce.

Limiti etici alla manipolazione genetica

La scoperta della molecola del DNA, assieme alla scoperta dell'energia atomica, è stata senza dubbio, dal punto di vista scientifico, la più rivoluzionaria della storia dell'umanità e di conseguenza, come tutte le grandi scoperte, può essere utilizzata per scopi positivi ma offre al contempo delle potenzialità di intervento sugli esseri viventi praticamente illimitate. Questa potente arma nelle mani dei ricercatori può essere controllata solamente ponendo dei precisi limiti etici ed esercitando severi controlli sulla sperimentazione, anche se non è semplice stabilire fino a che punto è lecito spingersi per cambiare il destino di un essere vivente e quale sia il confine oltre il quale non si può più parlare di scienza in quanto viene meno il rispetto della natura e della specie umana.