Institutul National de Medicina Legala "Mina Minovici"

Adresa: Sos. Vitan-Birzesti 9, Sector 4, 042122 Bucuresti
Telefon: 004021. 332 12 17; **Fax:** 004021. 334 62 60;
E-mail: contact@legmed.ro **WEB SITE:** http://www.legmed.ro
Cont: RO98.TREZ.7045.069X.XX00.0183 – Trezoreria Sector 4 Bucuresti
INML este operator date cu caracter personal inregistrat cu nr. 2200/2005 la Avocatul Poporului

WWW.LUMEAJUSTITIEI.RO
LUJU.RO

JUDECATORIA TG. SECUIESC
JUDEȚUL COVASNA

INREGISTRAT LA NR. ____
- 6 -06- 2011
TA ____

cod POI- A15 Filiații F7 ed. 1, rev 0

LABORATOR GENETICA*
Tel: 021 3321217 int 202

A15/73/11.05.2011
27.05.2011

Catre,
AUTORITATEA JUDECATOREASCA
JUDECATORIA TARGU SECUIESC
Referitor la dosarul nr.6466/4/2009

La adresa dvs. privind dosarul nr.6466/4/2009 va inaintam Raportul de Expertiza Medico-Legala – Examen ADN solicitat.

Taxa de expertiza in valoare de 2700 lei a fost achitata de CHIRILA MAGDALENA.

Prof. Univ. Dr. Dan Dermengiu
DIRECTOR GENERAL INML

RAPORT DE EXPERTIZA MEDICO-LEGALA

- EXAMEN ADN -

Subsemnații Dr. Ligia Barbarii – medic primar legist, Dr. Elena Neagu – medic specialist Genetica Medicala si Georgiana Girbea – biochimist principal, in baza adresei dvs. am efectuat in cadrul Laboratorului de Genetica al INML examenul ADN solicitat, constatand urmatoarele:

Istoric: Din adresa privind dosarul nr.6466/4/2009 reiese ca s-a solicitat stabilirea, in baza examenului ADN, a relatiei de inrudire biologica intre minora CHIRILA MARIA LIGIA si numitul BERBECARU TRAIAN IOAN.

Obiectivele expertizei: Stabilirea relatiei de inrudire biologica intre minora CHIRILA MARIA LIGIA si numitul BERBECARU TRAIAN IOAN, investigat in calitate de prezumtiv tata biologic.

Descrierea probelor care au facut obiectul examenului ADN:

In cadrul Laboratorului de Genetica al INML Bucuresti, in data de 16.05.2011 si in prezenta partilor au fost prelevate urmatoarele probe biologice:

Nr crt	Nume / Prenume	Calitatea	Esantion saliva	Indicativ proba la recoltare (inscris pe eticheta)
1.	CHIRILA MAGDALENA	mama	3 tampoane bucale	M1656
2.	CHIRILA MARIA LIGIA	copil	3 tampoane bucale	C1656
3.	BERBECARU TRAIAN IOAN	prezumtiv tata biologic	3 tampoane bucale	PT1656

* proba de saliva este recoltata de pe fata interna a obrazului pe suport de vata de bumbac steril, in tub inchis

*Laboratorul detine Certificate de Excelenta la Trialurile Europene de Verificare a Performantelor de Lucru in Testarea ADN a Paternitatii 2002-2010. Certificatele de Excelenta sunt eliberate de Societatea Internationala de Genetica Judiciara (International Society of Forensic Genetics – Paternity Testing English Working Group).

Metoda de analiza:

Pentru necesitatile analizei genetice au fost prelevate urmatoarele probe :

1. un tampon bucal din esantionul de saliva recoltata de la numita CHIRILA MAGDALENA – proba notata DN44
2. un tampon bucal din esantionul de saliva recoltata de la minora CHIRILA MARIA LIGIA – proba notata DN45
3. un tampon bucal din esantionul de saliva recoltata de la numitul BERBECARU TRAIAN IOAN – proba notata DN46

Restul probelor biologice care nu au fost supuse analizei au fost conservate in laborator conform recomandarilor metodologice privitoare la conservarea probelor biologice in vederea examenului ADN.

1. Extractia ADN:

In vederea analizei genetice s-a procedat la extractia materialului genetic dupa cum urmeaza:

Nr crt	Esantion Nume / Prenume	Indicativ proba	Extractie ADN	
			Denumire metoda	Protocol
1.	CHIRILA MAGDALENA	DN44	Chelex	incubare in sol Chelex 5% la 56°C/30min., fierbere la 100°C/8 min, centrifugare
2.	CHIRILA MARIA LIGIA	DN45		
3.	BERBECARU TRAIAN IOAN	DN46		

2. Analiza amplificarii genice:

2.1 Metoda amplificarii genice prin reactia polimerizarii in lant (PCR) consta in principiu in repetarea unui ciclu de reactii, cu durata de 1-3 minute fiecare. Repetarea ciclurilor conduce la o multiplicare exponenţială a secvenţei ADN de interes.

Metoda PCR cuprinde trei etape principale:

- prima etapa: consta in denaturarea moleculei de ADN cu producerea de ADN monocatenar: separarea celor 2 catene complementare se face prin incalzire la peste 90 °C

- a doua etapa: corespunde reperarii la nivelul ADN, cu ajutorul amorselor oligonucleotidice (primeri), a secventelor ADN tinta - care fac obiectul analizei prin amplificare; fiecare pereche de amorse se cupleaza specific la capetele unei secvente tinta de ADN monocatenar, la temperaturi cuprinse intre 50-65 °C, pentru a initia urmatoarea etapa de reactie;

- a treia etapa: este reprezentata de sinteza de noi catene de ADN, complementare cu matritele originale, proces declansat si condus in mediul de reactie specific de enzima ADN Taq-polimeraza, la temperatura de 72 °C.

Secventele tinta de ADN supuse reactiei de polimerizare in lant sunt multiplicate de un numar foarte mare de ori, rezultand dupa 20 de cicluri de reactie circa 1 milion de copii ale secventelor tinta in mediul de reactie. Pornind de la secventele de ADN amplificat se realizeaza determinarea genotipurilor corespunzatoare diferitelor regiuni din genomul uman.

2.2 Analiza amplificarii genice a ADN nuclear

Amplificarea secventelor tinta s-a realizat pornind de la ADN extras cu ajutorul unui termocycler GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) si a kitului de amplificare dupa cum urmeaza:

Nr crt	Esantion	Indicativ proba	Metoda de amplificare	
			Denumire kit amplificare	Protocol
1.	CHIRILA MAGDALENA	DN44	PowerPlex16HS System (Promega)	conform recomandarilor producatorului
2.	CHIRILA MARIA LIGIA	DN45		
3.	BERBECARU TRAIAN IOAN	DN46		

3. Vizualizarea si identificarea produsilor de reactie

S-a realizat prin electroforeza capilara si detectie fluorescenta automata LASER cu ajutorul unui echipament de analiza genetica automatizat ABI Prism 3100- Avant Genetic Analyser (Applied Biosystems) avand incorporat un soft de analiza specific tip GeneMapper v.3.2 (Applied Biosystems).

REZULTATE:

1. Genotipurile (profilele ADN) determinate plecand de la probele notate DN44, **DN45 si DN46** sunt indicate in **Tabelul 1** din **Anexa 1.**

2. Studiul comparativ al celor trei genotipuri evidentiate indica **faptul ca pentru urmatorii loci:** D3S1358, TH01, D18S51, Penta_E, D16S539,Penta_D, vWA, D8S1179 **si** TPOX **alela paterna din** profilul minoraui CHIRILA MARIA LIGIA nu poate proveni de la numitul BERBECARU TRAIAN IOAN,

WWW.LUMEAJUSTITIEI.RO

investigat in calitate de prezumtiv tata biologic. Prin urmare, numitul BERBECARU TRAIAN IOAN se exclude de la filiatia biologica a minorei CHIRILA MARIA LIGIA.

NOTA: Conform legilor clasice ale transmiterii caracterelor ereditare, acestea se mostenesc in proportii perfect egale de la parintii biologici, respectiv 50% de la mama si 50% de la tata. Dintre cele doua caractere (*alele*) ce se evidentiaza la nivelul unui marker (locus) ADN al unei persoane, una este de provenienta materna (*alela materna*), iar cealalta de provenienta paterna (*alela paterna*).

3. Alelele transmise copilului de catre tatal biologic comparativ cu alelele persoanei investigate in calitate de prezumtiv tata biologic sunt prezentate in **Tabelul 2** din **Anexa 1**.

CONCLUZII:

1. Analiza comparativa a profilelor ADN determinate pornind de la esantioanele de saliva apartinand numitilor:

- CHIRILA MAGDALENA
- CHIRILA MARIA LIGIA
- BERBECARU TRAIAN IOAN

exclude de la paternitate pe numitul BERBECARU TRAIAN IOAN in ce priveste minora CHIRILA MARIA LIGIA la nivelul locilor ADN: D3S1358, TH01, D18S51, Penta_E, D16S539,Penta_D, vWA, D8S1179 si TPOX.

2. Numitul BERBECARU TRAIAN IOAN nu este tatal biologic al minorei CHIRILA MARIA LIGIA.

Dr. Ligia Barbarii	Dr. Elena Neagu	Georgiana Girbea
Medic primar legist	Medic specialist Genetica Medicala	Biochimist principal
Dr. BÂRBĂRII LIGIA-ELENA	Dr. Elena NEAGU	
Medic primar legist	medic specialist	
Doctor în ştiinţe medicale	Genetică Medicală	
cod 70044	cod: D24453	

Prezentul raport este redactat pe 3 pagini, cu mentiunea ca Anexa 1 face parte integranta din raport. Red/Dact: KN

WWW.LUMEAJUSTITIEI.RO

WWW.LUMEAJUSTITIEI.RO
LUJ.RO

ANEXA nr.1

Tabel nr.1 *cu genotipurile obtinute pentru locii ADN investigati cu ajutorul kitului PowerPlex16HS (Promega)*

		Saliva CHIRILA MAGDALENA	Saliva CHIRILA MARIA LIGIA	Saliva BERBECARU TRAIAN IOAN
	Indicativ proba	**DN44**	**DN45**	**DN46**
Locus ADN	D3S1358	14,16	16,18	15,16
	TH01	6,8	6,8	9.3,9.3
	D21S11	30,30	30,30	28,30
	D18S51	15,20	15,20	16,18
	Penta_E	7,10	10,10	7,12
	D5S818	10,13	11,13	11,12
	D13S317	8,11	8,12	12,13
	D7S820	10,12	10,12	8,12
	D16S539	11,12	11,13	10,11
	CSF1PO	10,10	10,11	10,11
	Penta_D	9,15	9,11	9,15
	vWA	15,18	18,18	14,17
	D8S1179	13,16	14,16	11,12
	TPOX	12,12	9,12	8,8
	FGA	23,25	22,25	22,22
	Amelogenin	XX	XX	XY

Tabel nr.2 *cuprinzand alelele transmise copilului de catre tatal biologic comparativ cu alelele persoanei investigate in calitate de prezumtiv tata biologic:*

		Alela transmisa copilului de tatal biologic	Alelele persoanei investigate (prezumtiv tata biologic)
Locus ADN	D3S1358	18	15,16
	TH01	6 sau 8	9.3,9.3
	D21S11	30	28,30
	D18S51	15 sau 20	16,18
	Penta_E	10	7,12
	D5S818	11	11,12
	D13S317	12	12,13
	D7S820	10 sau 12	8,12
	D16S539	13	10,11
	CSF1PO	11	10,11
	Penta_D	11	9,15
	vWA	18	14,17
	D8S1179	14	11,12
	TPOX	9	8,8
	FGA	22	22,22