

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

13 RM Y-STR LOKUSUNUN MULTİPLEKS ANALİZİ VE MUTASYON ORANLARININ SAPTANMASI

Mustafa Ürün AY

**ADLİ TIP ANABİLİM DALI TEZLİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ayşe SERİN**

ADANA-2018

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI

13 RM Y-STR LOKUSUNUN MULTİPLEKS ANALİZİ VE MUTASYON ORANLARININ SAPTANMASI

Mustafa Ürün AY

**ADLİ TIP ANABİLİM DALI TEZLİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ayşe SERİN**

ADANA - 2017Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
TYL-2016-7550 No'lu proje ile desteklenmiştir.

Tez No:.....
ADANA-2018

KABUL VE ONAY

Adli Tıp Anabilim Dalı

Adli Tıp Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan
“13 RM Y-STR Lokusunun Multipleks Analizi Ve Mutasyon Oranlarının Saptanması”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: / / 2018

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Ayşe SERİN
Çukurova Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Behnan Alper
Çukurova Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Dilek BATTAL
Mersin Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun / / tarih ve sayılı
kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Behice DURGUN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

ETİK BEYANI



TEŞEKKÜR

Bilgi, birikim ve tecrübesiyle tezin bütün aşamalarında sonsuz destek olan ve her aşamada yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. Ayşe Serin'e,

Bilimsel hazırlık aşamasında ve laboratuvar çalışmalarında, zaman gözetmeksizin yardımına koşan, hiçbir desteğini esirgemeyen, sonsuz sabır ve anlayış gösteren Dr.Bio. Hüsniye Canan ve Ayça Ulubay'a,

Eğitim ve tez dönemim içerisinde gösterdikleri ilgi ve destekleri için Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mete Korkut Gülmen ile öğretim üyeleri Prof. Dr. Behnan Alper, Prof. Dr. Necmi Çekin, Prof. Dr. Ahmet Hilal ve Doç. Dr. Nebile Dağlıoğlu'na,

Üzerimde büyük emekleri olan Sayın Prof.Dr. Cahit Erdem'e, Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Sulanç'a ve Prof.Dr. Ferit Kargın'a,

Bana her zaman maddi ve manevi destek olan anneme ve babama,

TYL-2016-7550 proje kodlu Yüksek Lisans Tez Araştırma Fonuyla tezin gerçekleştirilmesinde katkıda bulunan Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonuna,

Sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Mustafa Ürün AY

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
DENKLEMLER DİZİNİ	ix
ALLEL FREKANS VE HAPLOTİP ÇEŞİTLİLİĞİ TABLOLARI	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Y Kromozomunun Genel Özellikleri	4
2.3. STR'lerin Yapısı ve Y-STR'lar	5
2.3.1. Y-STR Lokuslarının Adli Analizlerde Kullanımı	8
2.4. Çalışmada Kullanılan RM Y-STR Lokusları	10
2.5. Adli DNA Analizi Aşamaları	12
2.5.1. DNA Ekstraksiyonu	12
2.5.2. DNA Miktarı Ölçümü	13
2.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	14
2.5.4. Elektroforez	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Gereçler	18
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar	18
3.1.2. Kullanılan Cihazlar Ve Malzemeler	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Primerlerin Hazırlanması	22
3.2.2. Primer dizaynı ve multipleks geliştirme	22

3.2.3.	Multipleks PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	23
3.2.4.	Örneklerin Hazırlanması ve Elektroforez.....	25
3.2.5.	Alel tanımlama ve genotiplendirme.....	25
3.2.6.	Allelik Ladder Üretilmesi.....	28
3.2.7.	Tekrarlanabilirlik.....	29
3.2.8.	Hassasiyet.....	29
3.2.9.	İstatistiksel Hesaplamalar.....	29
4.	BULGULAR.....	31
4.1.	Multipleks PCR Optimizasyonu.....	31
4.2.	Allel Frekans Oranları.....	37
4.3.	Haplotip Çeşitliliği (HD) ve Ayrım Kapasitesi (Discrimination Capacity-DC)..	37
4.4.	Lokusların Ayrım Kapasitesi (Genetic Diversity-GD).....	37
4.5.	Mutasyon Oranları ve Özellikleri.....	37
5.	TARTIŞMA.....	40
5.1.	Multipleks PCR Optimizasyonu ve Allelik Ladder.....	40
5.2.	Mutasyon Oranları, Yapısı ve Elektroforegram.....	45
6.	SONUÇ.....	52
EKLER.....		54
KAYNAKLAR.....		67

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 1. ⁷¹ . Y-STR belirteçleri; Ticari Y-STR kitleri ve Ticari olmayan Y-STR setleri.....	7
Tablo 2. ^{24,59,90-93} . RM Y-STR lokusları.....	11
Tablo 3. ²⁵ . PCR döngü/ürün tablosu.	15
Tablo 4. RM Y-STR primerler ve multipleks konsantrasyonları.	19
Tablo 5. Yfiler 007 Kontrol DNA RM Y-STR profili.	27
Tablo 6. 6-FAM, VIC, NED ve PET boylarıyla işaretlenmiş allellerin maksimum ve minimum uzunlukları (size).	32
Tablo 7. 13 RM Y-STR lokuslarının mutasyon oranları.....	38
Tablo 8. Mutasyon Profilleri.....	39
Tablo 9. Mutasyon Oranlarının Karşılaştırılması.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:	Sayfa No:
Şekil 1. Real Time PCR, TaqMan® Prob Yöntemi	14
Şekil 2. PCR aşamaları.....	16
Şekil 3. Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700.....	25
Şekil 4. TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient	25
Şekil 5. Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer Kapiller Elektroforez Cihazı	26
Şekil 6. Applied Biosystem 3130 Data Collection v3.0 programında ham veri görüntüsü	26
Şekil 7. Allelik Ladder elektroforegramı.	33
Şekil 8. RM Allelik Ladder 1.....	33
Şekil 9. RM Allelik Ladder 2.....	35
Şekil 10. RM Allelik Ladder 3.....	36
Şekil 11. Optimizasyon sonrası elektroforegram-1.....	42
Şekil 12. Optimizasyon sonrası elektroforegram-2.....	43
Şekil 13. Optimizasyon sonrası elektroforegram-3.....	44
Şekil 14. DYF404S1 lokusu Örnek 25, 26 elektroforegram.....	48
Şekil 15. DYF404S1 lokusu Örnek 73, 74 elektroforegram.....	49
Şekil 16. DYS576 lokusu Örnek 65, 66 elektroforegram.....	50

DENKLEMLER DİZİNİ

<u>Denklem No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Denklem 1.....	30
Denklem 2.....	30

ALLEL FREKANS VE HAPLOTİP ÇEŞİTLİLİĞİ TABLOLARI

<u>Allel Frekans Ve Haplotip Çeşitliliği Tabloları No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
a 1. DYS526 a Lokusu Allel Frekansları.....	60
a 2. DYS612 Lokusu Allel Frekansları.....	60
a 3. DYS526 b Lokusu Allel Frekansları.....	61
a 4. DYS547 Lokusu Allel Frekansları.....	61
a 5. DYS562 Lokusu Allel Frekansları.....	62
a 6. DYS576 Lokusu Allel Frekansları.....	62
a 7. DYS518 Lokusu Allel Frekansları.....	63
a 8. DYS627 Lokusu Allel Frekansları.....	63
a 9. DYS570 Lokusu Allel Frekansları.....	64
a 10. DYS449 Lokusu Allel Frekansları.....	64
a 11. DYF399S1 Lokusu Allel Frekansları.....	65
a 12. DYF404S1 Lokusu Allel Frekansları.....	66
a 13. DYF387S1 Lokusu Allel Frekansları.....	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
CI	: Credible Interval (Güven Aralığı)
DC	: Discrimination Capacity (Ayrım Kapasitesi)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Dntp	: Dinükleotid trifosfat
FBI	: Federal Bureau of Investigation (Federal Soruşturma Bürosu)
G	: Gravite
GD	: Genetic Diversity (Genetik Çeşitlilik)
HD	: Haplotype Diversity (Haplotip Çeşitliliği)
kV	: Kilo Volt
Mg⁺²	: Magnezyum iyonu
Ng	: Nanogram
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Çoklu Zincir Reaksiyonu)
Pg	: Pikogram
PSA	: Prostate Specific Antigen (Prostat Spesifik Antijen)
Rfu	: Relative Fluorescent Unit (Relatif Floresan Unitesi)
RM Y-STR	: Rapidly Mutating Y Short Tandem Repeats (Hızla Mutasyona Uğrayan Y Kromozomundaki Kısa Ardışık Tekrarlar)
Rpm	: Round per Minute (Dakikada Dönüş Sayısı)
STR	: Short Tandem Repeats (Kısa Ardışık Tekrarlar) VNTR: Variable Number of Tandem Repeats (Çeşitli Sayıda Ardışık Tekrarlar)
Y-STR	: Y - Short Tandem Repeats (Y Kromozomundaki Kısa Ardışık Tekrarlar)
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromol

ÖZET

13 RM Y-STR Lokusunun Multipleks Analizi ve Mutasyon Oranlarının Saptanması

Y kromozomu, telomer bölgelerinde bulunan psödo-otozomal bölgeleri dışında, rekombinasyona uğramaması sebebi ile Y kromozomundaki değişimler sadece mutasyonlar aracılığıyla oluşmakta ve bu mutasyonlar kişiler arasında ayırım yapabilmeyi sağlayabilmektedir.

Bu sebeple Rapidly Mutating Y-STR (RM Y-STR) adı verilen mutasyon oranları yüksek lokuslar incelenmektedir. Yapılan çalışmalarda; DYF387S1, DYF399S1, DYF403S1ab, DYF404S1, DYS449, DYS518, DYS526ab, DYS547, DYS570, DYS576, DYS612, DYS626 ve DYS627 lokuslarının adli kullanıma uygun olduğu gözlemlenmiştir. Bu 13 RM Y-STR ile dünya genelinde birçok popülasyon çalışması yapılmaktadır. Sonuçlar incelendiğinde verilerin rutin adli kullanıma uygun olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada Ç.Ü. Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda otozomal STR lokusları ile baba-oğul olduğu doğrulanan 100 örnek çiftinde 13 RM-YSTR lokusunun mutasyon oranları saptanmıştır.

Çalışma sonucunda 13 RM Y-STR lokusunun multipleks PCR'ı optimize edilmiş ve rutin kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Çalışılan 13 RM-YSTR lokusundan en yüksek ayırım gücüne sahip lokusun DYF399S1 ($GD = 0.996161$), en düşük ayırım gücüne sahip lokusun DYS576 ($GD = 0.786868$) olduğu görülmüştür. 13 lokusun haplotip çeşitliliği ise 1.000000'dir. Mutasyon oranları; DYS612 lokusunun 3.0×10^{-2} (95% CI, 0.0062-0.0852), DYF399S1 lokusunun 6.0×10^{-2} (95% CI, 0.0223-0.1260), DYS547 lokusunun 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), DYF404S1 lokusunun 3.0×10^{-2} (95% CI, 0.0062-0.0852), DYS626 lokusunun 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545), DYS576 lokusunun 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), DYS627 lokusunun 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545), DYS570 lokusunun 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), DYF387S1 lokusunun 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704) ve DYS449 lokusunun 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545)'dir. DYS526 a, DYS526 b ve DYS518 lokuslarında mutasyon gözlenmemiştir. 13 lokusun ortalama mutasyonu ise 1.77×10^{-2} (95% CI, 0.0005-0.0067)'dir.

Paternal soydaş şahısların karıştığı cinsel saldırı gibi zorlu vakalarda kimliklendirme için 13 RM Y-STR lokusu önemli sonuçlar verebilir. Ek olarak bu set zorlu soybağı davalarında ve şüphelenilen babaların paternal soydaş olduğu babalık davalarında sonuçların belirlenmesini kolaylaştıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Y-STR, RM Y-STR, Çukurova Popülasyonu, Y kromozomu, Adli Genetik Analiz, Mutasyon

ABSTRACT

Multiplex Analysis of 13 RM Y-STR Loci and Determination of Mutation Ratios

The Y chromosome changes occurs only through mutations due to this chromosome do not recombine except of the pseudo-autosomal area found in telomere areas. These mutations allow people to be distinguished between. Y chromosome constitutes an important place in paternity cases, brotherhood determination, sexual assaults and evolutionary studies.

Therefore, loci with high in mutation rates called Rapidly Mutating Y-STR (RM Y-STR) are examined. In the studies conducted, it was observed that DYF387S1, DYF399S1, DYF403S1ab, DYF404S1, DYS449, DYS518, DYS526ab, DYS547, DYS570, DYS576, DYS612, DYS626 and DYS627 loci are appropriate for forensic use. Numerous population studies are conducted worldwide with these 13 RM Y-STR. The results analyzed are shown to be suitable for routine use of forensic analysis.

In this study, mutation rates of 13 RM Y-STR will be determined by using 100 sample pairs that are confirmed to be father-son with autosomal STR loci in Ç.U. Faculty of Medicine, Department of Forensic Medicine.

At the end of the study, the multiplex PCR of 13 RM Y-STR locus was optimized and made ready for routine use.

It is seen that the locus with the highest discrimination power from the 13 RM-YSTR loci studied is DYF399S1 ($GD = 0.996161$) and the locus with the lowest discrimination power is DYS576 ($GD = 0.786868$). Mutation ratios; for DYS612 was 3.0×10^{-2} (95% CI, 0.0062-0.0852), DYF399S1 was 5.0×10^{-2} (95% CI, 0.0223-0.1260), for DYS547 was 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), for DYF404S1 was 3.0×10^{-2} (95% CI, 0.0062-0.0852), for DYS626 was 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545), for DYS576 was 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), for DYS627 was 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545), for DYS570 was 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704), for DYF387S1 was 2.0×10^{-2} (95% CI, 0.0024-0.0704) and for DYS449 was 1.0×10^{-2} (95% CI, 0.0002-0.0545). There were no mutation at DYS526 a, DYS526 b and DYS518 loci. Mean mutation ratio for 13 loci was 1.77×10^{-2} (95% CI, 0.0005-0.0067). Mean hapotype diversity for 13 locis was 1.000000.

In hard cases such as identification of suspects in sexual assault cases which involved by individuals who had same male lineage 13 RM Y-STR loci can provide crucial results. Moreover this set will facilitate to determination of hard paternity cases such as suspected fathers share same paternal lineage.

Key Words: Y-STR, RM Y-STR, Population of Çukurova, Chromosome Y, Forensic Genetical Analysis, Mutation

1. GİRİŞ

Günümüz adli genetik çalışmalarında “Kısa Ardışık Tekrarlar (Short Tandem Repeat, STR)” adı verilen mikrosatellit bölgeler sıklıkla kullanılmaktadır¹. STR’ler, 2-6 baz çifti uzunluğundaki ünitelerin bir araya gelerek ardışık tekrarı sonucu oluşan 100-400 baz çifti uzunluğunda yüksek polimorfizme sahip alanlardır²⁻⁴. Ayrım gücü çok yüksek olan bu otozomal STR setleri adli laboratuvarlarda kimliklendirme ve akrabalığın belirlenmesi alanlarında kullanılmaktadır. 13 otozomal STR seti kullanılarak yapılan istatistikî analizler sonucu, akraba olmayan iki insanın aynı STR profiline sahip olma olasılığının 10^{-15} şeklinde hesaplanması, bu bölgelerin adli kimliklendirmede yadsınamaz önemi olduğu açıkça göstermektedir^{5,6}. Bununla birlikte otozomal STR’lerin belli başlı dezavantajları da vardır. Örneğin; majör-minör komponente sahip karışımlarda, majör birleşenin diğer minör birleşeni maskeleymesi, cinsel saldırı ve benzeri olaylarda sıklıkla sorun yaratmaktadır⁷. Bu noktada diferansiyel lizis veya sitolojik inceleme gibi yöntemler denenmekte fakat bazı durumlarda başarısız sonuçlar elde edilmektedir. Özellikle olayın üzerinden belirli bir süre geçmiş olan örneklerde bu yöntemlerin büyük ölçüde yetersiz olduğu görülmektedir⁸.

Otozomal STR’lerin yetersiz kaldığı durumlarda Y kromozomu üzerindeki STR bölgelerinin kullanımı büyük avantaj sağlamaktadır^{9,10}. Erkeğe spesifik oluşu, büyük bölümünün non-rekombinant olması ve unipaternal aktarımı gibi etkenler bu kromozomu adli genetik başta olmak üzere diğer çalışmalar açısından çok kıymetli bir konuma getirmektedir^{11,12}. Y kromozomu adli çalışmalarda olduğu gibi evrimsel çalışmalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Çeşitli popülasyonlardan alınan örnekler ile Afrika’dan yola çıkan insanoğlunun dünyanın geri kalanına yayılma yolları Y kromozomu incelenerek saptanmaya çalışılmıştır¹³⁻¹⁵. Adli genetik laboratuvarında ise özellikle cinsel saldırı gibi olaylardan elde edilmiş karışık örneklerin analizinde kullanılmaktadır^{11,16,17}. Ayrıca Y-STR analizi kişiler arasındaki paternal akrabalık ilişkisini ortaya koyabilmektedir¹⁸⁻²⁰. Sağladığı büyük avantajlara rağmen Y-STR analizinin başlıca zayıflığı; olay yerinden alınan örnek sonuçlarının şüpheli şahısla uyumlu olması halinde, bu şahsın paternal erkek akrabalarının dışlanamamasıdır.¹¹. Miras ve kayıp şahıs gibi şartlarda avantaj olan bu paternal aktarım, olay yerlerinden elde edilen örneklerde dezavantaj yaratmaktadır. Birden fazla aile üyesinin katıldığı

suçlar azımsanmayacak düzeydedir^{21,22}. İlave Y-STR belirteçlerinin eklenmesiyle kombine ayırım gücü artırılarak bu problem aşılmaya çalışılmaktadır²³.

Ballantyne ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada günümüzde sıklıkla kullanılan bölgeler de dahil olmak üzere 186 Y-STR bölgesi incelenmiş ve yüksek mutasyon oranlarına sahip alanlar belirlenmiştir. Bu alanlara RM Y-STR bölgeleri adını vermişlerdir²⁴.

Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Adli Tıp Anabilim Dalı bünyesinde elde edilmiş, baba oğul olduğu Identifiler® Kit ile doğrulanmış örneklerin genomik DNA'larından 13 RM Y-STR lokusunun multipleks amplifikasyonu yapılmış, ilgili lokusların adli etkinlik değerleri ve Çukurova popülasyonundaki mutasyon oranları incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Adli hemogenetik, 1900 yılında Karl Landsteiner'in AB0 kan gruplarını tanımlayıp sınıflandırmasıyla ortaya çıkmıştır. AB0 sistemi ve serumda çözünen protein belirteçlerinin kombine analiziyle yüksek ayırım gücü sağlamıştır. Buna rağmen yöntemin çalışılması için çok miktarda örneğe ihtiyaç duyması büyük bir dezavantajdır. Ayrıca analizlerde kullanılan proteinlerin bozulmaya eğilimli olması da sıklıkla sorunlara yol açmaktadır²⁵.

1960'lar ve 1970'lerde restriksiyon enzimlerinin kullanımı, Sanger sekanslama²⁶ ve Southern Blot²⁷ gibi moleküler biyolojide yaşanan gelişmeler bilim insanlarının DNA üzerinde inceleme yapabilmesini mümkün kılmıştır. 1978'e gelindiğinde ise DNA polimorfizmleri Southern Blot²⁸ tekniğiyle saptanmış ve 1980'de ilk yüksek polimorfik lokus gösterilmiştir²⁹. 1984 yılında Alec Jeffreys, daha sonrasında ise Nakamura ve arkadaşları tarafından "Değişen Sayıda Ardışık Tekrarlar (Variable Number Tandem Repeat, VNTR)" adı verilecek olan tekrar bölgeleri ile çalışırken, bu bölgelerin adli amaçlı kullanılabileceğini fark etmiştir^{30,31}. Jeffreys tarafından geliştirilen teknik, polimorfik lokusları tespit etmek için agaroz jel elektroforezi, Southern blotlama ve prob hibridizasyonu yapılmadan önce DNA'nın ekstrakte edilmesini ve restriksiyon enzimi ile kesilmesini gerektirmekteydi. Yöntemin sonucunda X-Ray filminde (Otoradyografi) siyah bantlar görünmekteydi. Bantlar, kişiye özgü modelleri ortaya koydu ve Jeffreys buna DNA parmak izi adını verdi²⁷. VNTR'nin yüksek ayırım gücü olmasına rağmen bazı sınırları vardır. Analiz için yüksek miktarda DNA gereklidir ve bozunmuş örneklerde yöntem işe yaramamaktadır. Dahası laboratuvarlar arası karşılaştırma yapmak çok güç ve analiz çok zaman almaktadır²⁵.

Adli DNA analizlerini kökünden değiştirmiş olan buluş, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ise Kary Mullis isimli bir kimyager tarafından geliştirilmiştir. PCR yöntemi, moleküler biyolojinin tüm yönleri üzerinde derin bir etki yaratmıştır³². Bu teknik Kary Mullis'e 1993 yılında Nobel Kimya ödülünü kazandırmıştır¹. Teknik özetle, DNA'nın spesifik bölgelerinin amplifiye edilebilmesini sağlamaktadır. PCR metodu DNA analizi için gerekli olan DNA miktarını çok büyük ölçüde azaltmış, sadece bir kaç hücreden bile DNA profili çıkarabilmeyi mümkün kılmıştır. Bunların yanı sıra analiz için

harcanan süreyi de büyük ölçüde kısaltmaktadır. Bozunmuş DNA'lar üzerinde çalışmaya imkan tanımakta ve genomdaki hemen hemen tüm polimorfizmlerin analizinde kullanılabilirlerdir³³.

1990'ların başında ise Edwards ve arkadaşları tarafından STR'ler şeklinde isimlendirilen lokuslar tanımlanmıştır³⁴. Ardından STR'ler bazı adli vakalarda kullanılmaya başlanmış, 1990'ların sonuna gelindiğinde ise bütün dünyada adli laboratuvarların standart aracı olmuştur. Ticari kit haline gelmesi kullanımını daha da popüler hale getirmiştir³⁵⁻³⁷. Günümüzde ise adli genetik çalışmalarının büyük çoğunluğunu STR polimorfizm analizi oluşturmaktadır ve uzmanlara göre bu durumun yakın gelecekte değişmesi pek de mümkün görülmemektedir³⁸.

1983 yılında Vergnaud ve arkadaşları, delesyonlara bağlı anomalileri incelemek amacıyla ilk kez Y kromozomunu moleküler olarak haritalandırmıştır³⁹. 1992'de Vollrath ve arkadaşları daha detaylı bir harita ortaya koymuştur⁴⁰. Yine 1992'de Roewer ve arkadaşları tarafından Y kromozomu üzerinde "DYS19" olarak adlandırılan ilk STR bölgesi tespit edilmiştir⁴¹. O zamandan bu yana yüzlercesi daha keşfedilmiştir^{19,20,42-44}. Y-STR'lere karşı artan ilgi sebebiyle çok sayıda popülasyon çalışması yapılmış ve allel frekanslarının belirlenmesi amacıyla veri tabanları oluşturulmuştur. STR haplotiplerini karşılaştırmak için "Y Kromozom Haplotip Referans Veri Tabanı" kurulmuştur (www.yhrd.org)⁴⁵. Evrimsel ve antropolojik çalışmaların⁴⁶ yanı sıra adli amaçlı olarak günümüz laboratuvarlarında sıklıkla Y-STR belirteçleri kullanılmaktadır.

2.2. Y Kromozomunun Genel Özellikleri

60 milyon baz çiftinden oluşan Y kromozomu, insan genomunun yaklaşık %2'sine karşılık gelmektedir. 78 genin kodladığı 27 farklı proteinin sentezi bu kromozomda gerçekleşir⁴⁷. Genomdaki en küçük kromozomdur. Kısa kol "p" üzerinde PAR1 ve uzun kol "q" üzerinde PAR2 denilen, X kromozomuna homolog, pseudo-otozomal bölgeler vardır. Bu bölgeler kromozomun %5'i kadardır ve kromozomun uçlarında (telomerlerde) bulunurlar. Bunun dışında kalan kromozomun %95'i ise non-rekombinant özelliktedir ve NRY olarak adlandırılır⁴⁸. Haploit özellikte olup, mutasyonlar dışında değişmeden uni-parental (paternal) olarak kalıtılır⁴⁹.

Y kromozomu erkek eşey kromozomu olarak bilinmektedir ve erkek fenotipinin oluşmasında rol oynar. Kromozomun üzerinde yer alan SRY geni, testis gelişimini

tetikleyen ve gelişmekte olan bir fetüsün erkek olmasını sağlayan proteini kodlar⁵⁰. Bu gende görülen mutasyonlar; iskelet anomalileri, gonadal kanserler, akciğer kanseri, mesane kanseri ve özefagus kanseri gibi hastalıklarla iliřkilendirilmiřtir⁵¹⁻⁵⁶. İntronlarda görülen insersiyon, delesyon ve eşit olmayan crossing-over gibi sebepler ise polimorfizmlere neden olur^{57,58}. Bu polimorfizmler temelde Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotid Polymorphisms, SNPs) ve VNTR olarak ayrılmaktadır. VNTR'ler büyüklüklerine göre minisatellit (6 baz çiftinden büyük) ve mikrosatellit (2-6 baz çifti arası) diğer adıyla STR olarak adlandırılmaktadır⁵⁹. Polimorfizmler, evrim çalışmalarından adli analizlere kadar çeşitli bilimsel alanlarda kullanılmaktadır^{43,60-64}.

2.3. STR'lerin Yapısı ve Y-STR'lar

Kısa ardışık tekrarlar, 2-6 baz çifti uzunluğundaki bölgelerin birbiri ardına sıralanarak tekrar motifleri oluşturmasıyla ortaya çıkan DNA dizileridir. Genellikle 350 baz çiftinden daha kısa uzunluktadırlar^{2,3}. Çok sayıda STR bölgesi tanımlanmış olmakla birlikte, adli analizlerde 20 kadarı sıklıkla kullanılmaktadır.

İnsan genomu boyunca ortalama olarak her 6-10 kilobazda bir bulunan³⁴ STR lokusları, çekirdek-tekrar motif yapısına göre; basit, bileşik ve kompleks tekrarlar olarak üç şekilde kategorize edilmiştir. Basit tekrarlar; aynı uzunluk ve çekirdek-tekrar motif üniteleri içerirken, bileşik tekrarlar; iki veya daha fazla bitişik basit tekrarları içerir. Kompleks tekrarlar ise; değişken sayı ve çeşitte çekirdek-tekrar motifleri ile bu motiflerin aralarına karışan farklı motifleri de içermektedir⁶⁵⁻⁷⁰.

Örnek:

Basit STR; **D7S820**→ [GATA]_n

Bileşik STR; **D19S433**→(AAGG) (AAAG) (AAGG) (TAGG) [AAGG]_n

Kompleks STR; **FGA**→ [TTTC]₃TTTTTCT[CTTT]_nCTCC[TTCC]₂

Adli analizlerde kullanılan otozomal basit STR'lerde optimizasyon kolay ve mutasyon oranı düşüktür. Kompleks olanlar ise yüksek çeşitliliğe ve değişkenliğe sahiptir^{66,67}.

Y kromozomu üzerindeki ilk STR lokusunun keşfini 1992 yılında Roewer ve arkadaşları yapmış ve lokusa “DYS19” adını vermişlerdir⁴¹. Daha sonraki yıllarda yüzlerce lokus daha saptanmıştır.

Paternal aktarımı sebebiyle adli vakalarda kullanılan⁶⁴⁻⁷¹ Y-STR'lere karşı artan ilgi, ticari kitleri piyasaya çıkarmıştır (Tablo 1).

Örnek:

Basit Y-STR; **DYS391** → [TCTA]_n

Bileşik Y-STR; **DYS19** → [TAGA]₃ TAGG [TAGA]_n

Kompleks Y-STR; **Y-GATA-H4** → [TAGA]_nATGGATAGATTA [GATG]_p AA
[TAGA]_q

Tablo 1⁷¹. Y-STR belirteçleri; Ticari Y-STR kitleri ve Ticari olmayan Y-STR setleri

Lokuslar	Minimal Haplotip ^c	PowerPlex [®] Y ^a	AmpF/STR [®] Yfiler ^{®b}	PowerPlex [®] Y23 ^a	Yfiler [®] Plus ^b	RM Y-STR ^c
DYS19	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS385a/b	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS389I	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS389II	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS390	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS391	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS392	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS393	✓	✓	✓	✓	✓	
DYS437		✓	✓	✓	✓	
DYS438		✓	✓	✓	✓	
DYS439		✓	✓	✓	✓	
DYS448			✓	✓	✓	
DYS456			✓	✓	✓	
DYS458			✓	✓	✓	
DYS635			✓	✓	✓	
Y-GATA-H4			✓	✓	✓	
DYS481				✓	✓	
DYS533				✓	✓	
DYS549				✓		
DYS570				✓	✓	✓
DYS576				✓	✓	✓
DYS643				✓		
DYS449					✓	✓
DYS460					✓	
DYS518					✓	✓
DYS627					✓	✓
DYF387S1a/ b					✓	✓
DYS526a/b						✓
DYS547						✓
DYS612						✓
DYS626						✓
DYF399S1						✓
DYF403S1a/ b						✓
DYF404S1						✓

^a Promega, ^b Thermo Fisher Scientific, ^c Ticari olmayan set

2.3.1.Y-STR Lokuslarının Adli Analizlerde Kullanımı

Standart otozomal DNA lokuslarıyla yapılan çalışmalardaki en önemli sorun; allelik dropoutlar, az olan bileşenin, PCR ürünü çok olan bileşen tarafından maskelenmesi nedeniyle kadın-erkek karışımında ayırım yapılamamasıdır⁷². Bu gibi karışımlarda az olan bileşenin çok olan bileşene oranı 1:50'nin altındayken, az olan bileşen genellikle saptanamaz⁷³. Böyle durumlarda Y-STR çalışmalarının adli moleküler biyoloji alanında sahip olduğu büyük önem ortaya çıkmaktadır^{11,74,75}. Özellikle cinsel saldırı gibi, kadın DNA profilinin miktarca çok yüksek olduğu kadın-erkek karışımlarında Y-STR kullanımı, erkek profilinin ayırımını net bir şekilde sağlamaktadır^{16,17}. Prinz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonuçlarına göre; 400 pg erkek DNA'sı, 800 ng kadın DNA'sı içeren 1:2000 oranındaki karışık örneklerde bile Y-STR kimliklendirilmesi yapılabilmektedir¹⁷. Sibille ve arkadaşlarının araştırmasına göre, cinsel saldırılardan alınan ve spermatozoa için negatif olarak tanımlanan swablar Y-STR analizi için tekrar test edilmiş, swabların ortalama olarak 1/3'ünde Y-STR profillerinin saptanabildiğini gösterilmiştir⁸. Diğer bir çalışmada ise Dekairelle ve Hoste, diferansiyel ekstraksiyon ile elde ettikleri PSA (prostate-specific antigen) pozitif örneklerde STR analizleri yapmış ve PSA pozitif örneklerin hiç birinde otozomal STR profili saptanamadığı halde %48'inde Y-STR profili saptanmıştır⁷⁶.

Shewale ve arkadaşları azospermik ve vazektomi sonrası semen örneklerini incelenmiştir. Y-STR'leri kullanarak yaptıkları çalışmanın sonucunda, semende bulunan, epitel/lökosit gibi hücrelerden 12.5 ile 1000 ng arasında değişen miktarda DNA elde etmişlerdir. Eski ve bozunmuş semen lekelerine uygulanan diferansiyel ekstraksiyonun başarısız olmaya eğilimli olduğu da görülmektedir⁷⁷. Sitolojik inceleme sonucunun negatif olduğu, boşalmanın gerçekleşmediği, sperm sayımı yapılamayan ve/veya diferansiyel lizisin başarısız olduğu cinsel saldırı örneklerinde Y kromozomunun varlığının Y-STR'ler ile saptanması sayesinde zorlu vakalar çözülebilmektedir. Dahası, cinsel saldırı sonrasında, 2-8 gün gibi uzun bekleme süreleri içerisinde bile alınan swab örneklerinden Y-STR profilleri ortaya konabilmektedir⁸. Otozomal STR'ler ile yapılan analizler sonuçsuz kaldığında Y-STR analizlerinin soruşturmacılar için çok kritik bir delil niteliğinde olduğu açıkça görülmektedir^{9,10}.

Y-STR profillerinin haplotip doğası ve tek bir ebeveyn tarafından aktarılması sebebiyle oluşturduğu coğrafik kümeleşme sayesinde, şüpheli şahısların bulunmadığı

olaylarda saptanan lekelerden, çürümüş cesetlerden ve iskelet kalıntılarından etnik köken ayırımı yapılabilmektedir¹¹. Ayrıca Y-STR çalışmaları ile sadece izole olmuş birbirinden uzak Afrika veya Avrupa gibi metapopülasyonlar arasındaki farkları değil aynı zamanda Doğu Slavlar veya Romence konuşan Avrupalılar gibi coğrafik yakınlıktaki popülasyonlarda Y-STR haplotipleri gösterilebilmektedir⁷⁸. Uygulama, aynı zamanda bazı şüphelilerin aklanmasına da yardımcı olabilmektedir. Sadece ABD’de cinsel saldırılardan elde edilmiş fakat analiz edilmemiş 180,000 adet örnek bulunmaktadır. Diğer ülkelerde de benzer durumlar söz konusudur. Birleşik Devletler vatandaşı olan A.B. Butler Jr. örneğinde bu yöntemin önemi açıkça ortaya koyulmuştur. ABD’nin Teksas eyaletinde bir kadına tecavüz etmekten 16 yıl boyunca tutuklu kalmış, elde edilen kanıtlar 1999 yılına kadar test edilmemiş ve otozomal STR analizi yapıldığında ise testler sonuçsuz kalmıştır. Sonrasında olay yerinden alınan semen örneğine Y-STR analizi yapılmış ve lekenin Butler’e ait olmadığı ortaya çıkmıştır. 2000 yılının Ocak ayında serbest bırakılmıştır⁷⁹.

Y-STR analizinin başlıca zayıflığı, olay yerinden alınan örneklerin sonuçlarının şüpheli şahısla uyumlu olması halinde, ilgili şahsın paternal erkek akrabalarının dışlanamamasıdır¹¹. Miras ya da kayıp kişi gibi olgularda avantaj olan paternal aktarım, olay yerlerinden elde edilen bazı örneklerde görüldüğü üzere dezavantaj yaratmaktadır. Birden fazla aile üyesinin katıldığı suçlar azımsanmayacak düzeydedir²². Bunlarla birlikte aile içinde gerçekleşen cinsel saldırılarda şu an kullanılan Y-STR’ler yetersiz kalabilmektedir⁸⁰. Açıkça görülmektedir ki, erkek-kadın karışık leke gibi delillerden elde edilen Y-STR profilleri kişiye özgü ölçekte ayırım gücü sağladığında, cinsel saldırıların çözülmesi konusunda çok büyük bir adım atılmış olacaktır. Ek belirteçler yardımı ile şuan için kullanılan Y-STR’lerin ayırım gücü arttırılmaya çalışılmaktadır²³.

Tarih boyunca çeşitli sebeplerle daralan ve ardından hızla genişleyen popülasyonlar⁸¹⁻⁸⁴ ve ataerkil kültürlere sahip toplumlar Y-STR çeşitliliğinin azalmasına sebep olmasının yanı sıra günümüzde kullanılan Y-STR’lerin ayırım gücünün daha da azalmasına yol açmıştır⁸⁵⁻⁸⁸.

Nonrekombinant yapısı ve Y haplotip çeşitliliğini sağlayabilecek tek etki mekanizmasının mutasyon oluşu sayesinde yüksek mutasyon oranları görülen Y-STR’lerin kullanılması ayırım gücünün arttırılması adına uygun olacaktır. Ballantyne ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada günümüzde sıklıkla kullanılanlar da dahil

olmak üzere 186 Y-STR bölgesi incelenmiş, 120 Y-STR bölgesinde 924 mutasyon belirlenmiştir. Çalışma sonucunda hesaplanan mutasyon oranlarının 3.81×10^{-4} (95% CI, 1.38×10^{-5} ile 2.02×10^{-3}) ile 7.73×10^{-2} (6.51×10^{-2} ile 9.09×10^{-2}) arasında olduğu saptanmıştır. 173 bölgede 1×10^{-3} veya daha da az (1×10^{-4}) mutasyon oranına rastlamışlardır. Geriye kalan 13 bölgede 1×10^{-2} 'den daha fazla (%1,19 ila %7,73 ($6,51 \times 10^{-2}$ ile $9,09 \times 10^{-2}$)) mutasyon oranı ile karşılaşmışlardır²⁴. “Rapidly Mutating” (RM) Y-STR olarak tanımladıkları bu bölge, Y kromozomunun potansiyel ayırım gücünü yükseltmiştir. Bu durumu; rutinde adli amaçlı kullanılan Y-STR’lerde, her lokus için her 1000 jenerasyonda 1 mutasyon gözlemlenmekteyken, yeni panelde her 100 jenerasyonda 1 mutasyon gözlemlenmekte şeklinde de açıklamak mümkündür⁸⁹. Elde edilen bilgiler ışığında RM Y-STR’ler yalnızca uzak erkek soyları arasındaki farklılıkları saptamak için ayırım gücünü arttırmakla kalmayıp aynı zamanda yakın paternal soydaş akrabalarında ayırımını sağlayabildiği görülmüştür²¹.

2.4. Çalışmada Kullanılan RM Y-STR Lokusları

Çalışmada kullanılan RM Y-STR lokusları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2^{24,59,90-93}. RM Y-STR lokusları.

Lokus Adı	Pozisyonu (Mb)	Lokasyonu	Tekrar Motifi
DYS526 a	3.64	Yp11.2	(CCTT) _n
DYS526 b	3.64	Yp11.2	[CCCT] ₃ N ₂₀ [CTTT] _n [CCTT] _p N ₁₁₃ [CCTT] _q
DYS612	15.75	Yq11.221	[CCT] ₅ [CTT] ₁ [TCT] ₄ [CCT] ₁ [TCT] _n
DYF399S1	25.1, 26.77, 27.2	Yq11.223, Yq11.23, Yq11.2	[GAAA] ₃ N _n [GAAA] _p
DYS547	18.87	Yq11.221	[CCTT] _n T [CTTC] _p N ₅₆ [TTTC] _q N ₁₀ [CCTT] ₄ [TCTC] ₁ [TTTC] _r N ₁₄ [TTTC] ₃
DYF404S1	25.95, 28.0	Yq11.23, Yq12	[TTTC] _n N ₄₂ [TTTC] ₃
DYS626	24.41	Yq11.223	[GAAA] _n N ₂₄ [GAAA] ₃ N ₆ [GAAA] ₅ [AAA] ₁ [GAAA] _p [GAAG] ₁ [GAAA] ₃
DYF403S1 a (Çalışmadan çıkarılmıştır)	6.2, 9.65, 9.52	Yp11.2, Yp11.2, Yp11.2	[TTCT] _n N _p [TTCT] _q
DYF403S1 b (Çalışmadan çıkarılmıştır)	6.3	Yp11.2 (b)	[TTCT] ₁₂ N ₂ [TTCT] ₈ [TTCC] ₉ [TTCT] ₁₄ N ₂ [TTCT] ₃
DYS576	7.05	Yp11.2	[AAAG] _n
DYS518	17.32	Yq11.221	[AAAG] ₃ [GAAG] ₁ [AAAG] _n [GGAG] ₁ [AAAG] ₄ N ₆ [AAAG] _p N ₂₇ [AAGG] ₄
DYS627	8.65	Yp11.2	[AGAA] ₃ N ₁₆ [AGAG] ₃ [AAAG] _n N ₈₁ [AAGG] ₃
DYS570	6.68	Yp11.2	[TTTC] _n
DYF387S1	28.0, 25.9	Yq11.2, Yq11.23	[AAAG] ₃ [GTAG] ₁ [GAAG] ₄ N ₁₆ [GAAG] ₉ [AAAG] ₁₃
DYS449	8.28	Yp11.2	[TTTC] _n N ₂₂ [TTTC] ₃ N ₁₂ [TTTC] _p

2.5. Adli DNA Analizi Aşamaları

Adli DNA analizleri 4 basamakta gerçekleştirilir.

2.5.1. DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonunun iki temel hedefi vardır. Bunlardan ilki DNA profilini düzgün şekilde ortaya koyabilmek için en yüksek verimlilikte DNA'nın izole edilmesidir. Bu durum özellikle az miktardaki örneklerde ciddi önem teşkil etmektedir. İkinci hedef ise DNA'nın daha sonraki aşamalarda kullanılabilmesi için yeteri kadar saf hale getirilmesidir. Bu saflığın sağlanabilmesi, hücrede bulunan DNA harici protein yapıların denatüre edilmesi ve takibinde ortamdan uzaklaştırılması vasıtası ile gerçekleşir^{25,94,95} Olay yerinden toplanan biyolojik örneklerle yapılan adli analizlerde toplanan noktadan alınan çevresel kontaminantların da uzaklaştırılması bu aşamada olur.

DNA ekstraksiyonu için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Seçilecek olan ekstraksiyon yöntemini, örneğin türü ve miktarı gibi farklı etmenler belirlemektedir. Hız, bazı özel durumlarda otomatize olmuş ekstraksiyon prosedürü ihtiyacı⁹⁶⁻⁹⁹, örneklerden maksimum düzeyde DNA ekstrakte ederken aynı zamanda da başarılı profillemeyi engelleyecek herhangi bir PCR inhibitörünü uzaklaştıracak yöntemler gerektiren durumlar bu etmenlerden bazılarını oluşturur^{96,100,101}. Kullanılan kimyasalların sağlığa zararlı olmaması da bir başka önemli faktör sayılmaktadır.

Rutin olarak laboratuvarında en çok bilinen ve kullanılan metodlar; Chelex ekstraksiyonu, FTA ekstraksiyonu, Silika bazlı ekstraksiyondur^{95,102}.

2.5.1.1. Chelex® 100 Resin Ekstraksiyonu

Chelex reçinesi, magnezyum (Mg^{2+}) gibi DNaz koenzimi polivalent metal iyonlarına (aktivatör) çok yüksek derecede afinite duyar. Bu afinite sebebiyle polivalent metal iyonlarına kenetlenir ve çözeltiden uzaklaştırır. Uygulama yapılacak olan örnek, Chelex çözeltisinde $56^{\circ}C$ 'de 20 dakika inkübe edilir. Hemen ardından $99^{\circ}C$ 'de 8 dakika inkübasyona geçilir. Bu aşamada hücreler parçalanır ve proteinler denatüre olur. İnkübasyon sonunda santrifüj yapılır ve kirlilik pellet oluşturur. İleri aşamalar için süpernatant kullanılır.

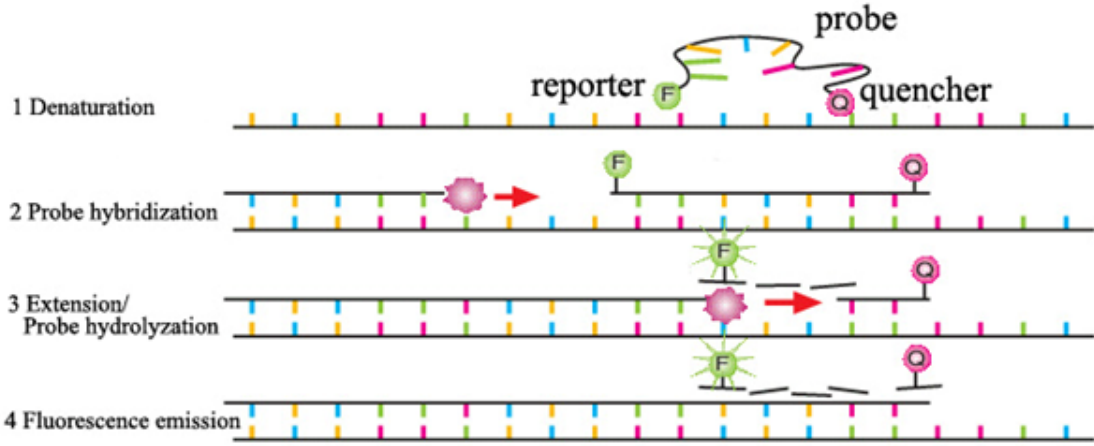
2.5.2. DNA Miktarı Ölçümü

DNA ekstraksiyonunun ardından, DNA miktarının belirlenmesi önemlidir. Doğru miktarda DNA'nın PCR'da kullanılması, en hızlı şekilde ve en iyi kalitede sonuç verir. Fazla miktarda DNA kullanımı non-spesifik pikler oluşturup yorumlamayı zorlaştırır. Bu durum düzgün bir profillemeye yapılamamasına sebeptir. Özellikle adli analizlerde ekstraksiyon sonrası elde edilen DNA, miktar tayini yapılmadan kesin olarak bilinemez. Referans örnek kullanılırken DNA miktarının ölçümü görece daha az önemlidir. Çok değişken olmadığı için, her seferinde benzer DNA miktarına ulaşılması beklenilir. Buna rağmen, birçok laboratuvar, standart analizlerinin bir parçası olarak referans örneklerdeki DNA'yı miktarsal olarak ölçmeye devam etmektedir. Örneğin ABD'de adli DNA analizlerinde, FBI'in belirlediği standartlar gereği olay yerinden elde edilen örneklerde ve referans olarak alınan örneklerde DNA miktar tayininin yapılması zorunludur^{103,104}.

Herhangi bir örnekten elde edilen DNA miktarı, ekstraksiyonun yapıldığı biyolojik materyalin türüne bağlıdır. Nükleusu olan her hücrede ortalama olarak 6 pg genomik DNA bulunmaktadır. Sıvı kanın mililitresinde 5000 ile 10000 nükleusu olan hücre, semende ise ortalama bir ejakülasyon sonrasında 2.75 ml semen üretildiği göz önüne alındığında ortalama 66 milyon civarında spermatozoa olduğu tahmin edilmektedir¹⁰⁵.

DNA kantitasyonu için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Ultraviyole spektroskopi, floresan spektroskopi, jel bazlı analiz, slot blot analizi ve real-time PCR bunlardan bazılarıdır¹⁰⁶. Adli DNA laboratuvarlarında tercih edilen miktar tayin yöntemi real time PCR'dır. Real Time PCR yapılırken SYBR I, TaqMan® Prob, Moleküler Boncuk veya Hibridizasyon Prob yöntemleri kullanılabilir¹⁰⁷. Laboratuvarımızda Applied Biosystems 7500 Real Time PCR cihazıyla TaqMan® Prob yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde 6-karboksifloresin (6-FAM, Reporter) boyasıyla 5' ucundan, 6-karboksiltetrametil-rodamin (TAMRA, Quencher) boyasıyla 3' ucundan işaretlenmiş proplar kullanılmaktadır. 6-FAM floresan ışığa yaparken, TAMRA bu ışığı fiziksel olarak yakın pozisyonda olmaları sebebiyle nötralize ederek amplifikasyon gerçekleşmeden sinyal oluşmasını engeller. Amplifikasyon sonunda Taq Polimeraz enzimi ekzonükleaz aktivitesiyle probu parçalar. Reporter ve quencher birbirinden uzaklaşır. Reporter ışığa yapar ve bu ışığa monitörize edilir. Bu

yöntem reaksiyondan eş zamanlı olarak veri almamızı sağlamaktadır. Aşağıda Şekil 1'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Real Time PCR, TaqMan® Prob Yöntemi

2.5.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

1983'te bulunmasının ardından büyük bir devrim yaratan PCR¹⁰⁸, DNA içerisinde yer alan ve dizisi bilinen iki segment arasındaki özgün bir bölgeyi enzimatik olarak çoğaltmak için uygulanan tepkimelere verilen ortak isimdir¹⁰⁹. Optimal koşullar altında, tek bir hücreden bile DNA amplifikasyonu yapabilir^{110,111}. PCR kullanımını yüksek derece bozunmuş örneklerde dahi profillemeye izin vermektedir.

Bir PCR tepkimesi için; kalıp DNA, en az iki primer (Forward ve Reverse), Taq polimeraz gibi termostabil DNA polimeraz, steril deiyonize su, iyon dengesi için magnezyum (Mg^{+2}) tampon çözeltisi ve deoksिनükleotid trifosfatlar (dNTPs) gerekmektedir.

PCR üç adımda gerçekleşir (Şekil 2);

Denatürasyon: Amplifiye edilecek DNA bölgesinin, yüksek sıcaklıkta ($95^{\circ}C$) çift zincirinin arasındaki hidrojen bağlarının koparak iki tane tek zincir haline gelmesini içeren aşamadır. Yaklaşık olarak 5 dakikada gerçekleşen ayrılma sonrası, tek zincir şeklindeki DNA kalıp olarak kullanılır.

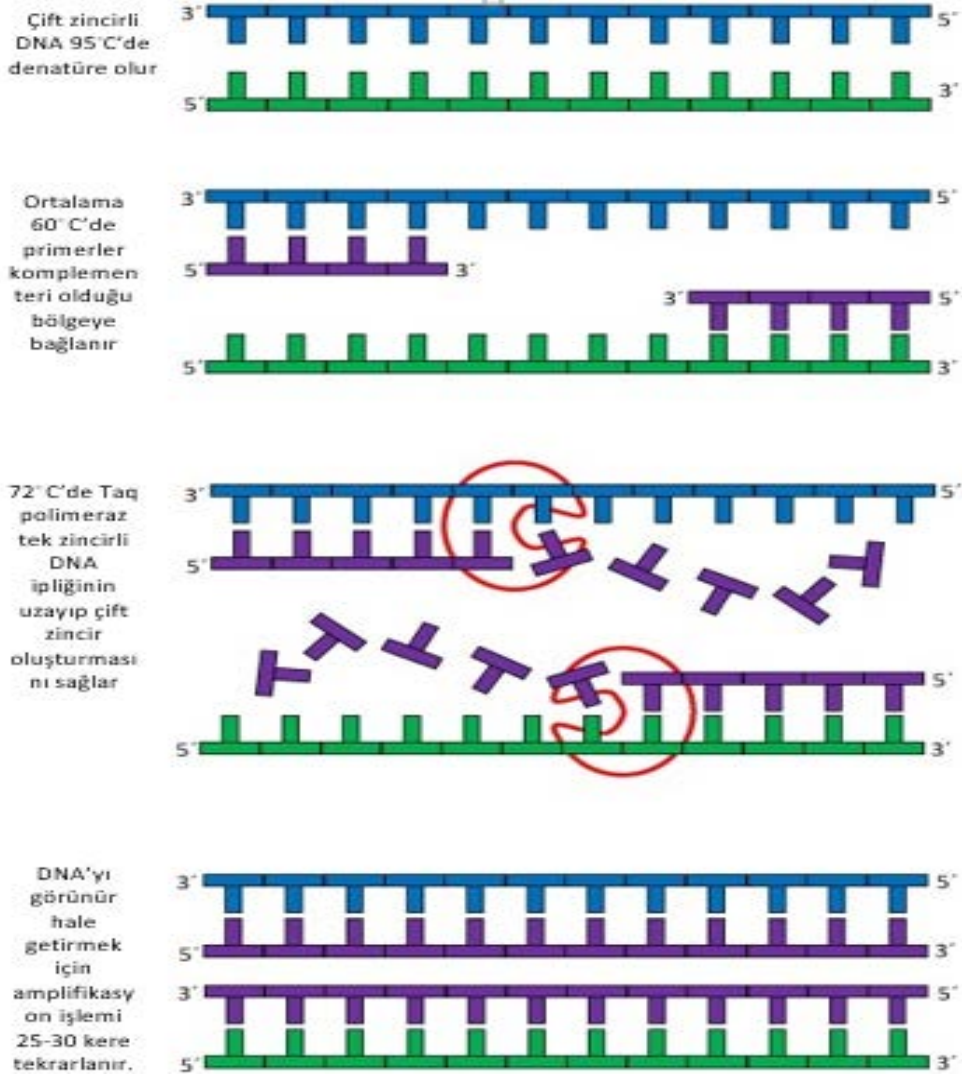
Bağlanma (Annealing): Reaksiyon ısısı $50-65^{\circ}C$ 'ye düşürülerek tek zincirli kalıp DNA'ya spesifik oligonükleotid primer bağlanması gerçekleşir. Primerin bağlanma sıcaklığı; baz dizisine, primer konsantrasyonuna ve iyonik tepkime ortamına bağlıdır.

Uzama (Extension/Elongation): 68-72°C’de gerçekleşen bu aşamada, polimeraz enzimi tarafından, kalıp DNA zincirinin 5’ ucundan 3’ ucuna doğru dNTP’lerin eklenmesi ile yeni komplementer DNA ipliği meydana gelir.

Bu üç aşama bir döngü kabul edilir ve döngü sayısı ortalama 20-35 defa tekrarlanır. Birkaç pg genomik DNA ile başlayan süreç, teorik olarak 28. döngüde 67 milyondan fazla (2^n sayıda) PCR ürünü elde edilmesiyle sonuçlanır²⁵ (Tablo 3).

Tablo 3²⁵. PCR döngü/ürün tablosu.

Döngü	PCR Ürünü
1	0
2	0
3	2
4	4
5	8
6	16
7	32
8	64
9	128
10	256
20	262144
21	524288
22	1048576
23	2097152
24	4194304
25	8388608
26	16777216
27	33554432
28	67108864



Şekil 2. PCR aşamaları.

2.5.4. Elektroferez

PCR sonrası elde edilen ampliconların uzunluklarına göre ayırımını sağlamak için uygulanan aşamadır. Prensip olarak DNA'nın negatif yüklü olmasından faydalanılır. Elektroferez için maliyet, hız ve hassaslık farklılıkları gösteren bir kaç farklı yöntem vardır. Agaroz jel elektroforezi, poliakrilamid jel elektroforezi ve kapiller jel elektroforezi bunlardan bazılarıdır. Tez çalışmasında da kullanılan kapiller jel elektroforezi en hızlı ve otomatize olmuş elektroferez yöntemlerinden biridir. Örneklerin kapillere hareketi yüksek voltajlı elektrokinetik enjeksiyon ile sağlanır. Temel olarak, PCR aşamasında farklı renklere floresans boyalarla işaretlenmiş DNA molekülleri büyüklük farkına göre floresans detektörü tarafından tespit edilir. Sonrasında floresans işaretli molekülün enjeksiyonundan detektörde tespit edildiği ana

kadar geçen süre bilgisayar tarafından ölçülüp hesaplaması yapılır. Standart değerlerle karşılaştırılması sonucu elektroferogramda pikler oluřturur¹⁰⁶.

Hem klinik hem de adli analizlerde kullanılan kapiller elektroforez, hızlı ve yüksek güvenilirlikte sonuç vermektir. Düşük düzeydeki moleküler ağırlığa sahip rnekerin tespitinde çok yararlıdır. Tüm bunların yanı sıra diğer elektroforez yöntemlerinde kullanılan toksik madde maruziyetini nlemektedir¹⁰⁶.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

A) PCR İçin Kullanılan Kimyasallar

- QIAGEN Multiplex PCR Master Mix Katalog No (Cat. No.): 206143
- QIAGEN QIAquick PCR Purification Kit Katalog No (Cat No./ID): 28106
- Su: Deiyonize, DNAaz, RNAaz free
- 6-FAM, VIC, NED, PET işaretli RM Y-STR Primerleri (Tablo 4)

Tablo 4. RM Y-STR primerler ve multipleks konsantrasyonları.

Primerler	Primer Sekans 5' – 3'	İşaretli Boya	Konsantrasyon (µM)
DYS526 F	TCTGGTGAAGTATCCAAACC	6 – FAM	0.066
DYS526 R	GGGTTACTTCGCCAGAAGGT		0.066
DYS612 F	CCCCATGCCAGTAAGAATA	6 – FAM	0.028
DYS612 R	GTGAGGGAAGGCAAAAGAAAA		0.028
DYF399S1 F	GGGTTTTACCCAGTTTGCAT	6 – FAM	0.050
DYF399S1 R	CCATGTTTTGGGACATTCCT		0.050
DYS547 F	TCCATGTTACTGCAAATAACAC	6 – FAM	0.066
DYS547 R	TGACAGAGCATAAACGTGTC		0.066
DYF403S1 F	CAAAATTCATGTGGATAATGA	VIC	-
DYF403S1 R	ACAGAGCAGGATTCATCTA		-
DYS626 F	GCAAGACCCCATAGCAAAAG	VIC	0.066
DYS626 R	AAGAAGAATTTTGGGACATGTTT		0.066
DYF404S1 F	GGCTTAAGAAATTTCAACGCATA	VIC	0.050
DYF404S1 R	CCATGATGGAACAATTGCAG		0.050
DYS576 F	GTTGGGCTGAGGAGTTCATC	NED	0.066
DYS576 R	GGCAGTCTCATTTCTGGAG		0.066
DYS518 F	GGCAACACAAGTGAAACTGC	NED	0.050
DYS518 R	TCAGCTCTTACCATGGGTGAT		0.050
DYS627 F	CTAGGTGACAGCGCAGGATT	NED	0.050
DYS627 R	GGATAATGAGCAAATGGCAAG		0.050
DYS570 F	CTGGCTGTGTCCTCCAAGTT	PET	0.066
DYS570 R	GGCAACCTAAGCTGAAATGC		0.066
DYF387S1 F	ACAGAGCTAGATTCATTTTACCC	PET	0.083
DYF387S1 R	GCCACAGTGTGAGAAGTGTGA		0.083
DYS449 F	TGGAGTCTCTCAAGCCTGTTC	PET	0.083
DYS449 R	CCATTGCACTCTAGGTTGGAC		0.083

B) Elektroforez İçin Kullanılan Kimyasallar

- Formamid: Applied Biosystems HiDi™ 25 ml
- GeneScan™ 500 LIZ® Size Standard
- Su: Deiyonize, DNAaz, RNAaz free

3.1.2 Kullanılan Cihazlar Ve Malzemeler

- Mikropipet: 10 µl, 100 µl, 200 µl hacminde mikropipetler
- Mikro Santrifüj: Hettich Universal 12F santrifüj
- Vorteks: BioSan Vortex V-1 Plus

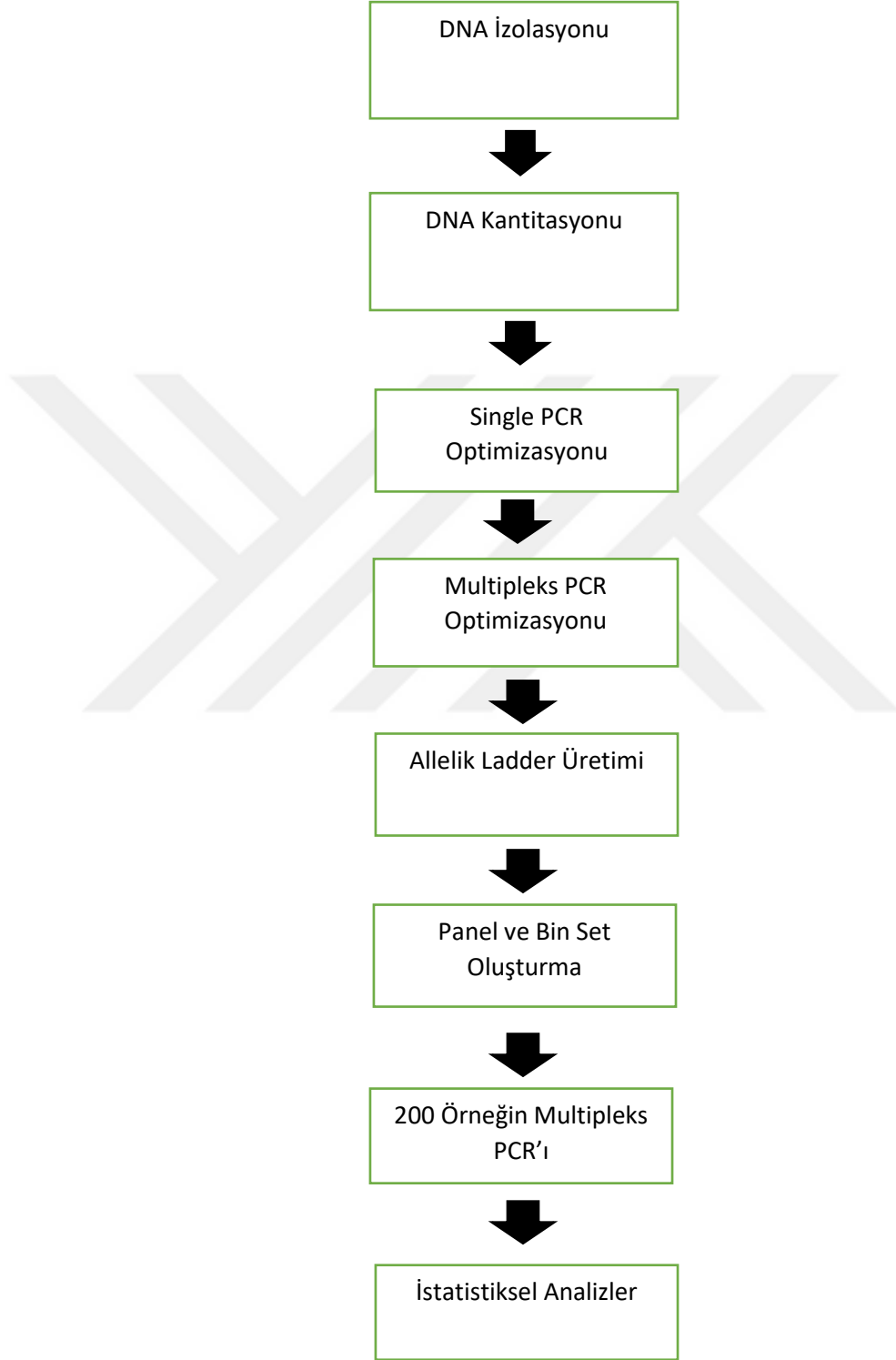
- Thermal Cycler cihazı: Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700
- TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient
- Kapiller Elektroforez cihazı: Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer
- Buzdolabı ve Derin Dondurucu: Bosch
- Tüpler: 0.2 ml'lik steril ependorf tüpler
- Pipet uçları: 10, 100 ve 200 µl'lik steril, otomatik pipet uçları
- Çeşitli büyüklükte Racklar

3.2.Yöntem

Bu çalışmada, biyolojik materyal olarak Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Adli Genetik Laboratuvarı'na gelen bireylerden alınan biyolojik örneklerin kullanılması için, Çukurova Üniversitesi Etik Kurulu'ndan 02 Eylül 2016 tarihli ve 56 sayılı toplantısında (Karar No: 13) onay alınmıştır.

Bu çalışmada baba/oğul çifti ve/veya baba soyu akrabalığı (iki erkek kardeş, amca/yeğen, dede/torun veya birinci derece kuzen olgular dahil) olan 200 kişiden alınan yanak içi sürüntü örnekleri veya parmaktan alınan birkaç damla kan örneğinden instagene matriks kullanılarak izole edilmiş genomik DNA'lar kullanılmıştır. Örnekler daha önce otozomal (Identifiler kit ile) ve gonozomal (Yfiler kit ile) STR lokusları ile baba/oğul, iki erkek kardeş veya amca/yeğen ilişkisi doğrulanmış kişilerden seçilmiştir.

Çalışmadaki iş akışı aşağıdaki diyagramda gösterilmiştir.



3.2.1. Primerlerin Hazırlanması

Liyofilize halde olan 10'ar nmol işaretli primerlere 100'er µl nükleaz free su eklenerek stok solüsyon hazırlanmıştır. Vorteks ve kısa bir spin sonrasında 0,5 ml'lik steril ependorf tüplere lokusa spesifik primer çiftlerinin her birinin Forward ve Reverse primerleri 10'ar µl olacak şekilde aktarılmış ve elde edilen 20'şer µl'lik karışımlar tekrar vorteks ve kısa bir spinin ardından kullanıma hazır hale getirilmiştir. Bu primer karışımlarından 1'er µl alınıp steril ependorf tüplere aktarılmış ve 19 µl nükleaz free su eklenmiştir. Son durumda 2.5 µM'lık primer karışımları elde edilmiştir.

3.2.2. Primer dizaynı ve multipleks geliştirme

Primer seçiminde daha önce Alghafri ve arkadaşlarının önerdiği primer çiftleri kullanılmıştır¹². Bununla birlikte, bu çalışmada primer etiketlemede literatürde belirtilen ATTO550 boyası yerine NED, Yakima Yellow yerine VIC ve AATO565 yerine PET boya kullanılmıştır.

Single PCR

Her bir primer çiftinin performansını değerlendirmek, panel ve bin setleri oluşturmak için tüm PCR primer çiftlerinde single PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyonda AmpF ℓ STR™ Yfiler™ DNA Control 007 ile daha önce Ballantyne ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 13 RM-YSTR lokusu alelleri belirlenmiş olan kontrol Türk popülasyonuna ait 2 adet örnek kullanılmıştır²¹. Single PCR'da kullanılan PCR karışımı ve PCR parametresi altta aktarılmıştır.

Single PCR Karışımı:

Master Mix:	7.5 µl
Primer Çifti:	0.083 µM
Nükleaz Free Su:	6.5 µl
Genomik DNA:	1 ng
Toplam Reaksiyon Volümü:	15 µl

PCR Parametreleri:

95°C	10 Dakika	} 12 Döngü
94°C	30 Saniye	
58°C	45 Saniye	

72°C	60 Saniye		
94°C	30 Saniye	}	20 Döngü
55°C	45 Saniye		
72°C	60 Saniye		
72°C	45 Dakika		
+4°C	∞		

3.2.3. Multipleks PCR

Optimize multiplex PCR karışımı elde edebilmek için 13 RM-YSTR lokusuna ait primer çiftlerinin farklı konsantrasyonları ile multipleks PCR denemeleri yapılmıştır. Instagene matriks (BioRad) ile izole edilen ve -20 C°'de saklanan genomik DNA örneklerinin oda sıcaklığında çözümleri sağlanmıştır. Ardından 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilerek PCR için hazır hale getirilmiştir.

Multipleks PCR optimizasyonu için önce her bir primer çiftinden FAM, VIC, NED ve PET boyaalarının floresans etkinliği göz önünde bulundurularak değişen miktarlarda (FAM 0.016 µM, VIC 0.033 µM, NED 0.05 µM, PET 0.066 µM) koyularak çalışmalara başlanmış ve lokusa ait allelerin pik yükseklik seviyelerine bağlı olarak primer çiftlerinde azaltma veya artırma yapılarak optimum pik yükseklik seviyeleri ayarlanmaya çalışılmıştır. PCR reaksiyonu için 0.2 ml'lik ependorflarda aşağıda gösterilen şekilde karışım hazırlanmış ve tüpler Thermal Cycler cihazına yerleştirilmiştir (Şekil 3, Şekil 4).

13 RM-YSTR lokusunun herbirinin yukarıdaki PCR döngü parametresinde yeterli miktarda ürün alınabilmesi nedeniyle single PCR için kullanılan PCR parametreleri multipleks PCR için de kullanılmıştır. Multipleks reaksiyonunda çoğaltılmış ürünler kapiller elektroforezde analiz edilmiştir.

Master Mix:	7.5 µl
Primerler:	
DYS526 a/b:	0.066 µM
DYS612:	0.028 µM
DYF399S1:	0.050 µM
DYS547:	0.066 µM
DYF404S1:	0.050 µM
DYS626:	0.066 µM
DYS576:	0.066 µM
DYS518:	0.050 µM
DYS627:	0.050 µM
DYS570:	0.066 µM
DYF387S1:	0.083 µM
DYS449:	0.083 µM
Nükleaz Free Su:	2.63 µl
Genomik DNA:	1 ng
Toplam Reaksiyon Volümü:	15 µl

PCR Parametreleri

95°C	10 Dakika	}	12 Döngü
94°C	30 Saniye		
58°C	45 Saniye		
72°C	60 Saniye		
94°C	30 Saniye	}	20 Döngü
55°C	45 Saniye		
72°C	60 Saniye		
72°C	45 Dakika		
+4°C	∞		



Şekil 3. Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700

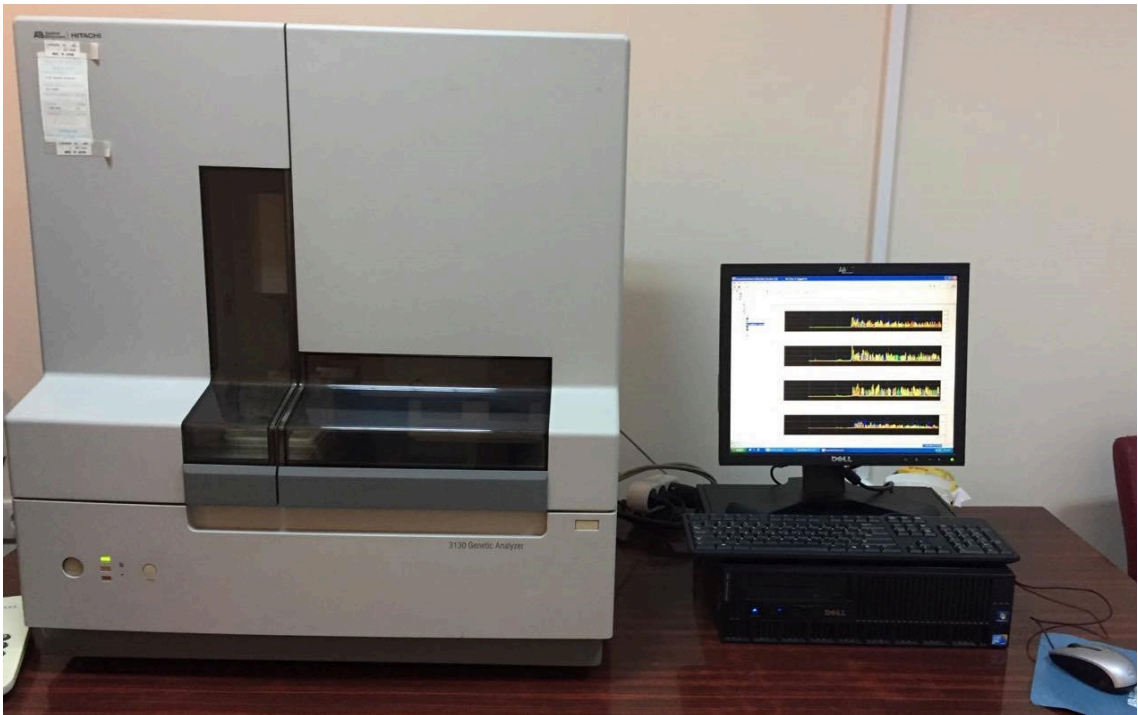


Şekil 4. TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® Gradient

3.2.4. Örneklerin Hazırlanması ve Elektroforez

Amplifikasyonu yapılmış olan örneklerin analizi için Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer kapiller elektroforez cihazı (Şekil 5) kullanılmıştır. Plate üzerindeki

uygun kuyucuklara her örnek reaksiyonu için 4.5 µl formamid, 0.15 µl LIZ 500 ile 0.5 µl PCR ürünü eklenmiştir. Benzer şekilde alelik ladder için de 4.5 µl formamid, 0.15 µl LIZ 500 ile 0.5 µl alelik ladder eklenmiştir. Hazırlanan karışımların bulunduğu plate santrifüj edilerek cihaza yüklenmiştir. Elektroforezde DS33 matrisi (Applied Biosystems) ve G5 modülü seçilmiştir. Elektroforez için örnek enjeksiyon süresi 10 saniye, fırın sıcaklığı 60°C ve güç kaynağı 1.2 kV'ye ayarlanmıştır. Örnekler 36 cm uzunluğunda kapiler kolonda, POP-7 polimeri ve 1X EDTA genetik analiz tamponunda yürütülmüştür.



Şekil 5. Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzer Kapiller Elektroforez Cihazı

3.2.5. Allel tanımlama ve genotiplendirme

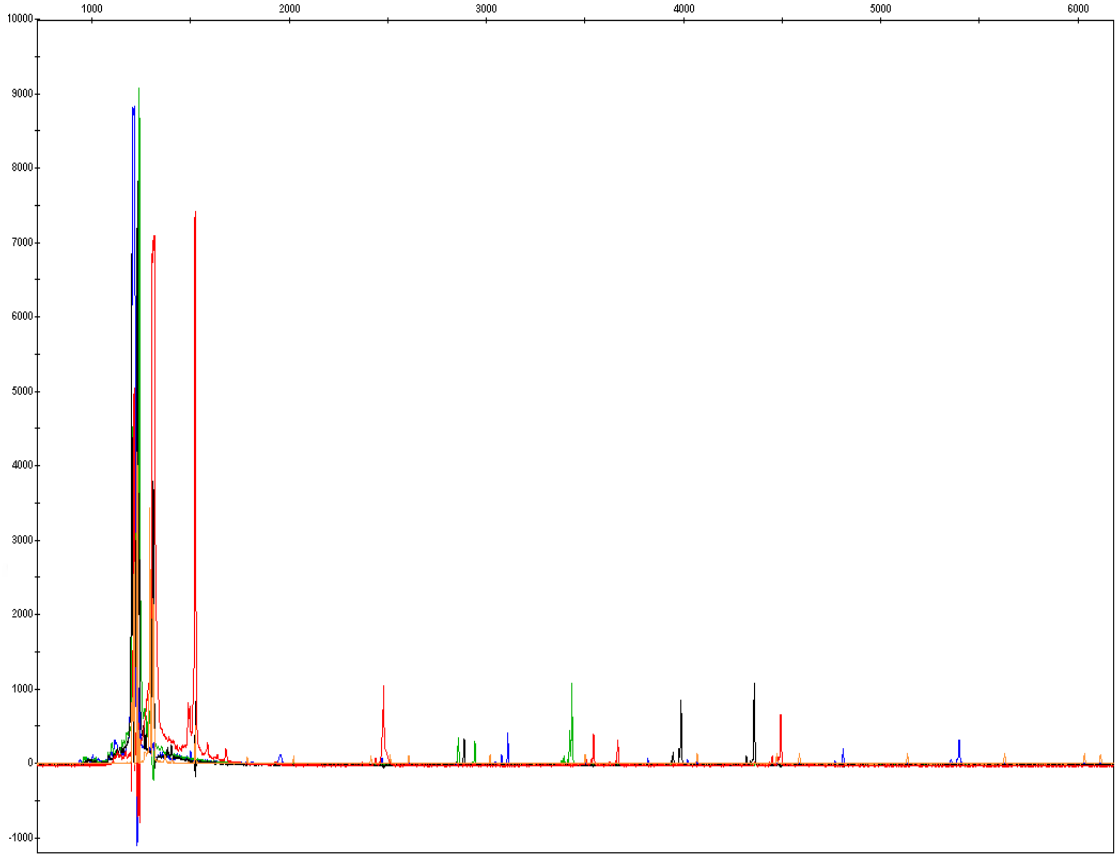
RM Y-STR multipleks ile analiz edilen lokuslara ait alellerin tanımlanmasında laboratuvarımızda hazırlanan alelik ladder kullanılmıştır. Allel dizaynında Uluslararası RM Y-STR çalışma grubunun belirlediği alel adlandırma modeli dikkate alınmıştır¹¹³. Bu grup çalışması içinde yer alan ve daha önce laboratuvarımızda alel adları belirlenmiş Türk popülasyonuna ait örneklerin single PCR ürünlerinden Allelik Ladder oluşturulmuştur¹¹³. Allelik ladder'a dahil edilen allellerin alel adları ve baz uzunlukları dikkate alınarak, GeneMapper ID v3.2 programının "Panel Manager" sekmesinden RM Y-STR paneli ve ilgili lokuslara ait bin seti oluşturulmuştur. Kapiller elektroforez işleminden elde edilen ham veriler (Şekil 6) GeneMapper ID v3.2 programında

hazırlanan bu bin seti ile değerlendirilmiştir. Allelik ladder oluşturmada kullanılan single PCR ürünlerinin pik yükseklik seviyeleri arasında çok büyük fark olması nedeniyle tüm belirteçlerin tek tüpte olabileceği bir ladder hazırlanamamıştır. Bu nedenle 3 farklı ladder grubu oluşturulabilmiştir.

Bu çalışmada ticari olarak elde edilebilen standart DNA örneği (Yfiler 007) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tablo 5’de standart DNA 007’nin 13 RM-YSTR lokusu ile oluşturulan RM Y-STR profili yer almaktadır.

Tablo 5. Yfiler 007 Kontrol DNA RM Y-STR profili.

RM Y-STR Lokusları	Yfiler 007 Kontrol DNA
DYS526 a	14
DYS526 b	36
DYS612	37
DYS547	49
DYF399S1	24-26.1
DYS626	30
DYF404S1	14-16
DYS576	19
DYS518	37
DYS627	21
DYS570	17
DYF387S1	35-37
DYS449	30



Şekil 6. Applied Biosystem 3130 Data Collection v3.0 programında ham veri görüntüsü

3.2.6. Allelik Ladder Üretimi

Her lokus için alel uzunlukları farklı olan örnekler seçilerek single PCR reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Allelik ladder üretiminde mümkün olduğunca tüm lokuslar için tek allele sahip kişilerin genomik DNA örnekleri kullanılmıştır. Single PCR için her primer setinden 2.5 µM primer kullanılmış olup, amplifikasyon multipleks PCR için kullanılan PCR parametrelerinde gerçekleştirilmiştir. Amplifiye PCR ürünleri ticari QIAGEN QIAquick PCR Purification Kit kullanılarak saflaştırılmıştır.

Saflaştırma işlemi üretici firmanın talimatlarına göre yapılmıştır¹¹⁴. Talimatlar doğrultusunda saflaştırma; PCR ürününün 5 katı kadar PB tamponu PCR ürününün üzerine eklendi ve karıştırıldı. Karışımın tamamı QIAquick kolonlarına aktarıldı. 17900 G'de 1 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpündeki artık sıvı atıldı. Kolona 750 µl PE tamponu eklendi. Ardından 17900 G'de 1 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpündeki artık sıvı atıldı. 17900 G'de 1 dakika santrifüj işlemi kolona ekleme yapılmadan tekrarlandı ve muhtemel tampon artıklarının uzaklaşması sağlandı. Koleksiyon tüpündeki artık sıvı atıldı. Kolonun üzerine 30 µl EB tamponu eklendi. 1 dakika

beklendi. Kolon temiz bir koleksiyon tüpüne aktarıldı ve 17900 G'de 1 dakika santrifüj edildi. Koleksiyon tüpünde saflaştırılmış PCR ürünleri elde edildi.

Saflaştırılan single PCR ürünlerinin elektroforezde yürütülmesi sonrası pik yükseklik seviyeleri dikkate alınarak alel karışımı oluşturulmuştur. Bu karışımda single PCR ile üretilen allellerin her birinin pik yükseklik seviyesi dikkate alınarak ve en küçük alelin pik yükseklik seviyesinin 100 relatif floresan ünitesinin (rfu) altına düşmeyecek şekilde uygun konsantrasyonlarda PCR ürünü koyulmuştur. Hazırlanan karışımlar örneklerin elektroforezinde allelik ladder olarak kullanılmıştır. 3 farklı allelik ladder karışımı elde edilmiştir.

3.2.7. Doğruluk, Tamlık ve Tekrarlanabilirlik

Allelik ladder uzunluklarının tam ölçümü için 4 kez enjeksiyon sonrası allel uzunlukları değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede ladder içindeki her allelin ortalama uzunluğu ile bu uzunluklara ait standart sapmalar hesaplanmıştır.

Sonuçların tekrarlanabilirliğini test etmek için pozitif kontrol (Yfiler 007) ile DNA miktarı bilinen 5 örnek farklı zamanlarda tekrar çalışılarak elektroforezde yürütülmüştür.

3.2.8. Hassasiyet

DNA miktarı bilinen standart DNA örneğinin (Yfiler 007) çeşitli dilüsyonları (1 ng, 0.5 ng, 0.3 ng, 0.25 ng, 0.2 ng, 0.1 ng) hazırlanmıştır. Hazırlanan multipleks panel ile tam profil ve kısmi profil elde edebilmek için en az ne kadar DNA'ya ihtiyaç olduğu belirlenmiştir.

3.2.9. İstatistiksel Hesaplamalar

Verilerin analizi ve sonuçların değerlendirilmesi için kullanılan allelik ladderda bulunan allellerin uzunluklarının standart sapması aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

Denklem 1.

$$SD = (\sum |x - \bar{x}|^2 / n - 1)^{1/2}$$

SD: Standart Sapma (Standard Deviation)

n: Örnek Sayısı

x: Veri Değeri

\bar{x} : Ortalama

Elde edilen RM Y-STR profillerinin istatistiksel hesaplamaları aşağıdaki formül ile yapılmıştır¹¹⁵.

Denklem 2.

$$HD = n \cdot (1 - \sum p_i^2) / (n - 1)$$

HD: Haplotip Çeşitliliği (Haplotype Diversity)

n: Örnek Sayısı

p_i : i'nci allelin frekansı

Y-STR'lerdeki mutasyon oranları, 100 örnek çiftinde saptanan mutasyonların toplam mayoz sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir¹¹⁶.

Denklem 3.

$$MR = m / n$$

MR: Mutasyon Oranı

n: Toplam Mayoz Sayısı

m: Mutasyon Sayısı

Örnekler için % 95 güven aralıkları (CI), <http://statpages.info/confint.html> adresinde bulunan MS Excell Makrosu kullanılarak binom dağılımı ile tahmin edilmiştir. Elde edilen mutasyon tahminleri, daha önceki bir çalışmada bildirilen mutasyon oranları ile karşılaştırılmıştır²⁴.

4. BULGULAR

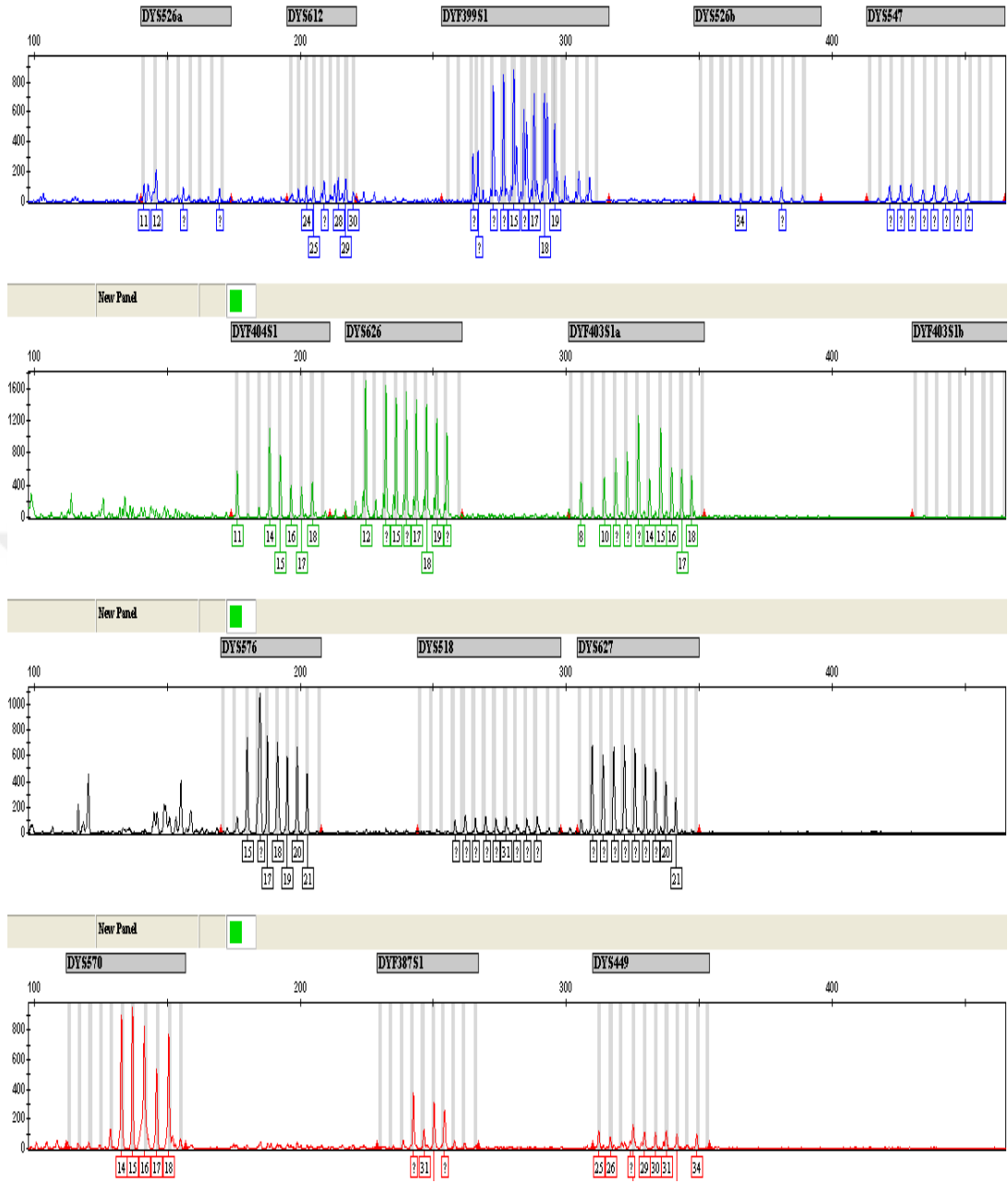
4.1. Multipleks PCR Optimizasyonu

Genomik DNA'lardan, DYS526 a/b, DYS612, DYF399S1, DYS547, DYF404S1, DYS626, DYF403S1 a/b, DYS576, DYS518, DYS627, DYS570, DYF387S1 ve DYS449 RM Y-STR lokuslarının optimal amplifikasyon koşullarında farklı DNA ve primer konstrasyonlarında PCR denemeleri yapılmıştır. Daha sonra ABI 3130 Genetic Analyzer otomatik kapiller elektroforez cihazı ile elde edilen ampliconların elektroforezi yapılmış ve elektroforegramda oluşan pikler değerlendirilmiştir. Literatürde²⁴ kontrol DNA olarak kullanılan Yfiler ticari kitinin kontrol DNA'sı olan 007 kontrolünün 13 RM Y-STR profili bilinmektedir. 007 kontrol DNA'sı ve optimizasyon denemelerinde kullanılan örneklerden oluşan bir allelik ladder oluşturulmuştur. Öncelikle tek bir karışım halinde üretilmeye çalışılmış elektroforegram görüntüsü Şekil 7'da gösterilmiştir. Elektroforegramda da görüldüğü üzere optimal tek bir allelik ladder karışımı dengeli şekilde üretilenmemiştir. 3 adet farklı karışımla üretilen allelik ladder karışımı ise Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10'da gösterilmiştir. 4 farklı zamanda enjeksiyonu yapılmış allelik ladder karışımlarının elektroforegramları incelenmiş, lokuslarda ki allellerin uzunlukları (size) belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Her allelin standart sapması ve lokuslardaki her bir allelin ortalama uzunluğu hesaplanmış, EKLER bölümünün a (1-13) kısmında gösterilmiştir. DYS526a lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 140.39 – 154.09, DYS526b lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 358.18 - 373.52, DYS547 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 425.99 - 438.66, DYS612 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 199.49 - 220.38, DYF399S1 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 264.61 - 295.17, DYF404S1 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 176.29 – 204.51, DYS626 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 224.20 – 247.04, DYS576 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 179.96 – 202.40, DYS518 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 265.29 – 276.86, DYS627 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 309.12 – 325.18, DYS570 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 132.84 – 150.51, DYF387S1 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 242.17 – 257.60 ve DYS449 lokusunun allellerinin ortalama uzunluk değeri 312.02 – 337.51 aralığındadır.

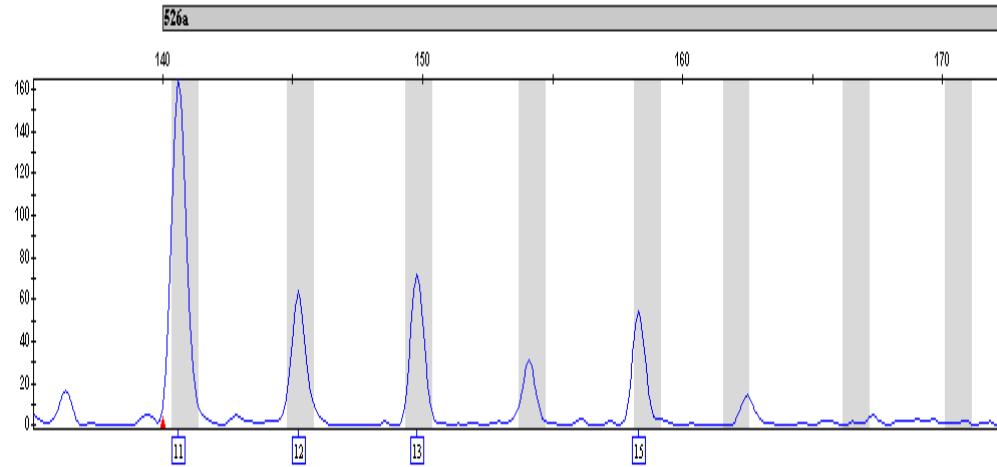
Optimizasyon için yapılan çalışmalarda tüm genotiplendirmenin yapılabilmesi için gereken minimum genomik DNA miktarı 0.25 ng olarak saptanmıştır. Verimli bir multipleks PCR için belirlenmiş olan primer konsantrasyonları ve diğer bileşenler Tablo 4'te gösterilmiştir. Analiz eşik değeri 50 rfu şeklinde belirlenmiştir. Farklı primer konsantrasyonları ile denenen multipleks amplifikasyonlarda DYF403S1a/b lokusuna ait allelerin genotiplendirilmesinde sorunlar yaşanmıştır. Multipleks reaksiyonda DYF403S1a lokusu allelleri kısmen genotiplendirilebilirken, 403S1b allelerine ait pik yükseklik seviyeleri 50 rfu'nun üzerine ulaşamamıştır. Bu nedenle bu lokus multipleks analizden çıkarılmıştır. Tablo 6'da 6-FAM, VIC, NED ve PET boyalarıyla etiketlenen lokuslara ait allellerin maksimum minimum uzunlukları (size) gösterilmiştir.

Tablo 6. 6-FAM, VIC, NED ve PET boyalarıyla işaretlenmiş allellerin maksimum ve minimum uzunlukları (size).

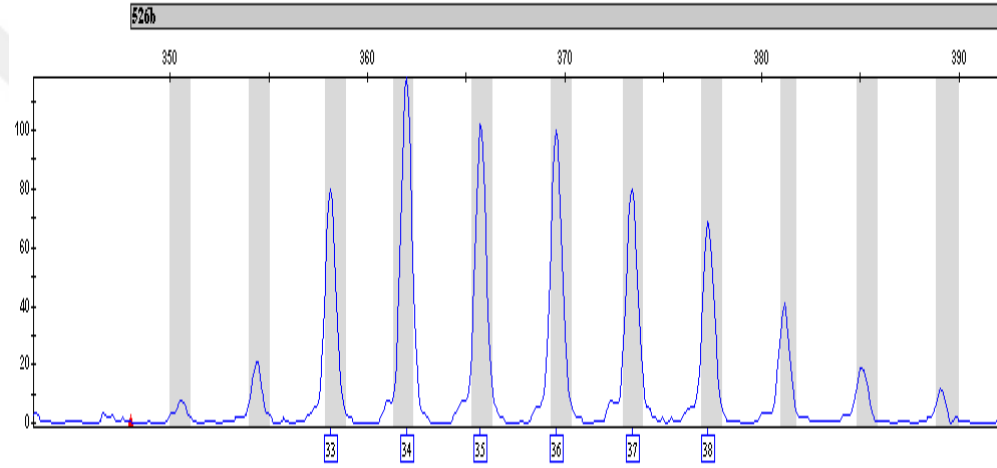
6-FAM	Minimum	Maksimum
DYS526 a	11(136.85)	18(166.66)
DYS526 b	31(350.50)	41(389.23)
DYS612	32(193.32)	41(220.00)
DYS547	43(417.97)	52(455.58)
DYF399S1	16(259.50)	29.1(311.50)
VIC		
DYS626	25(224.33)	34(259.70)
DYF404S1	11(180.34)	17(204.34)
NED		
DYS576	15(179.99)	21(202.54)
DYS518	35(257.42)	44(293.00)
DYS627	16(309.00)	24(341.00)
PET		
DYS570	15(129.00)	22(159.13)
DYF387S1	33(234.00)	41(266.00)
DYS449	25(312.47)	36(357.00)



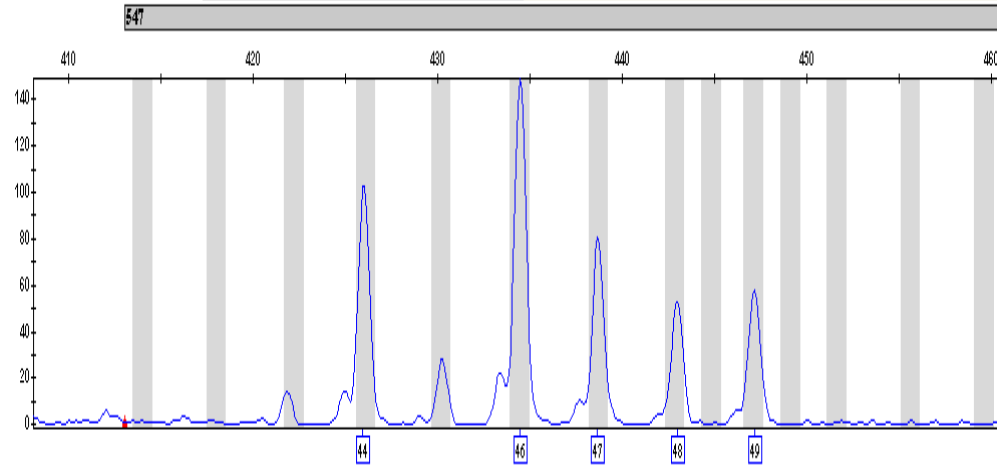
Şekil 7. Allelik Ladder elektroforegramı.



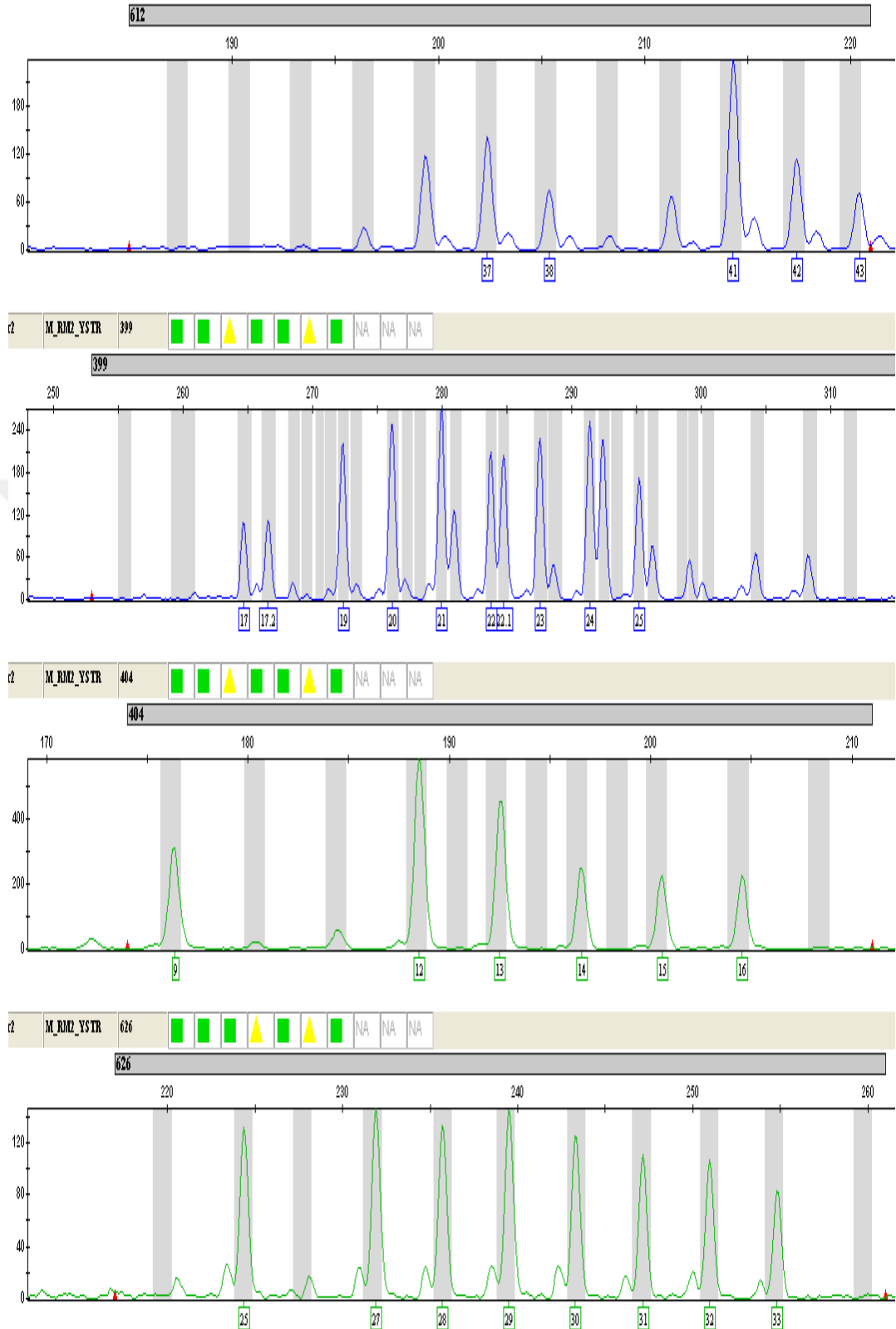
rl(626)54 M_RML_YSTR 526b ■ ■ ■ ▲ ■ ▲ ■ NA NA NA



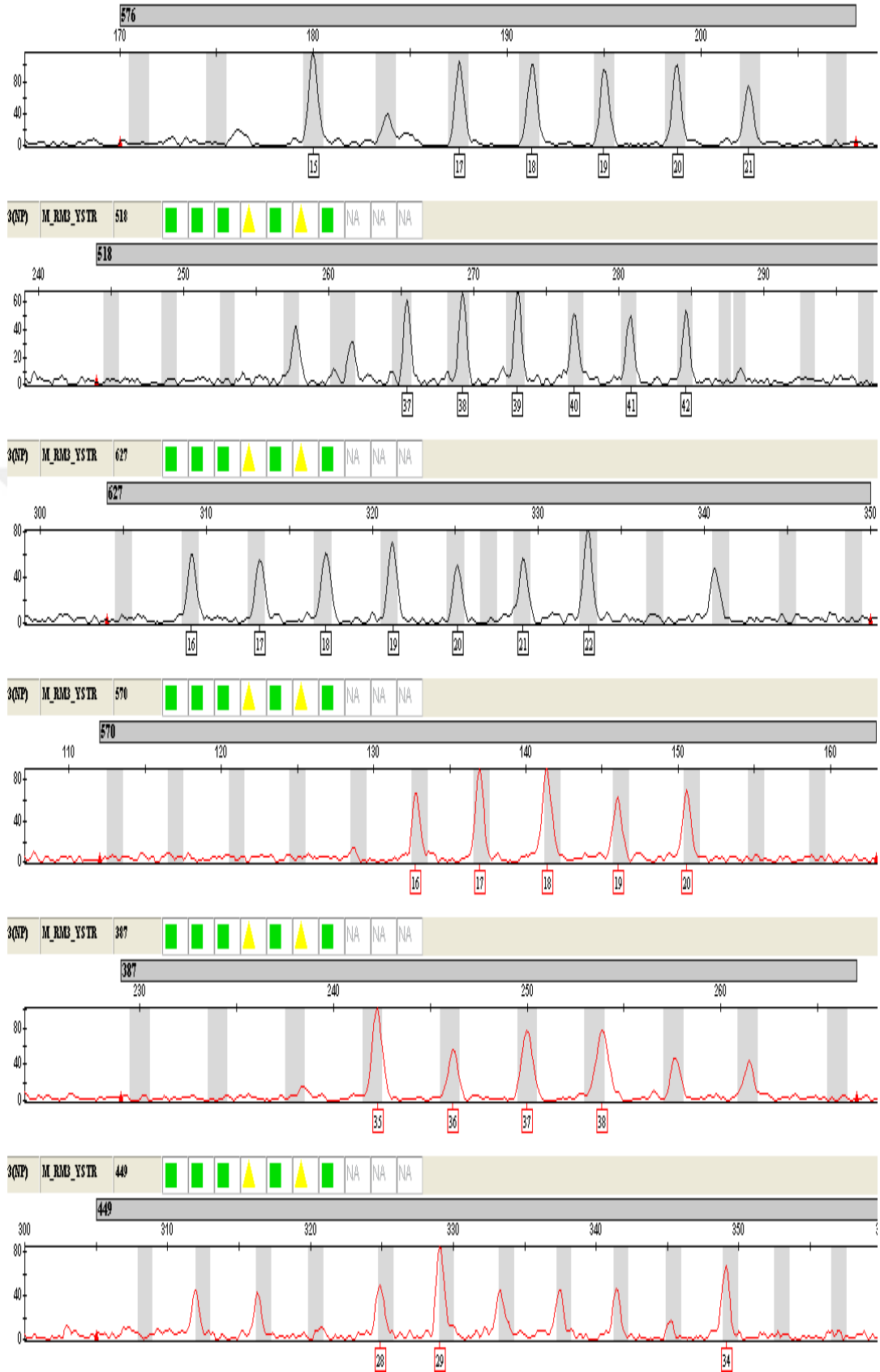
rl(626)54 M_RML_YSTR 547 ■ ■ ▲ ▲ ■ ▲ ■ NA NA NA



Şekil 8. RM Allelik Ladder 1.



Şekil 9. RM Allelik Ladder 2.



Şekil 10. RM Allelik Ladder 3.

4.2. Allel Frekans Dağılım Oranları

100 kişi ile yapılan popülasyon çalışmasında 13 RM Y-STR lokusuna ait alleller frekansları hesaplanmıştır. Çalışmada DYS526a lokusunda 8 allel (11-18), DYS612 lokusunda 10 allel (32-41), DYS526b lokusunda 11 allel (31-41), DYF399S1 lokusunda 29 allel (16-29.1), DYS547 lokusunda 12 allel (43-52), DYF404S1 lokusunda 10 allel (11-17), DYS626 lokusunda 11 allel (null dahil, (0)25-31), DYS576 lokusunda 8 allel (15-21 (duplike 17-18 dahil)), DYS518 lokusunda 11 allel (35-44), DYS627 lokusunda 10 allel (16-24), DYS570 lokusunda 8 allel (15-22), DYF387S1 lokusunda 9 allel (33-41), DYS449 lokusunda 12 allel (25-36) belirlenmiştir. Popülasyonda allellerin lokuslara göre görülme sıklığı EKLER bölümünün b (1-13) kısmında gösterilmiştir.

4.3. Haplotip Çeşitliliği (HD) ve Ayrım Kapasitesi (Discrimination Capacity-DC)

Çalışılan 100 örnek içinde tüm haplotipler benzersiz olduğundan, HD ve DC değerleri 1'dir.

$$HD = 1.0$$

4.4. Lokusların Ayrım Kapasitesi (Genetic Diversity-GD)

Her bir lokusun ayrım kapasitesi EKLER bölümünün b (1-13) kısmında gösterilmiştir. Çalışılan 13 RM-YSTR lokusundan en yüksek ayrım gücüne sahip lokusun DYF399S1 (GD = 0.996161), en düşük ayrım gücüne sahip lokusun DYS576 (GD = 0.786868) olduğu görülmüştür.

4.5. Mutasyon Oranları ve Özellikleri

100 paternal soydaş çift ile yapılan çalışma sonucu elde edilen mutasyon oranları Tablo 7'de gösterilmiştir. Çalışmada 19 çiftte toplam 23 adet mutasyon gözlemlenmiş, bunların 14 (%60.87) tanesi baba-oğul arasında olup, 9 (%39.13) tanesi ise diğer (amca-yeğen, ağabey-kardeş) paternal soydaş kişiler arasında gözlemlenmiştir (Tablo 8). Baba-oğul çiftleri arasında görülen 14 mutasyonun 13'ünde tek, 1'inde ise çoklu (2) tekrar ünitesi değişimi gözlemlenmiştir. Tekrar üniteleri kayıp/kazanç ilişkisi bakımından incelendiğinde ise 10 mutasyonun babadan oğula geçişinde tekrar ünite kaybı görülmüştür. Bu kayıpların 9'u tek tekrar ünitesi kaybı şeklinde olup 1'i çoklu (2) tekrar

ünitesi kaybı şeklinde gerçekleşmiştir. 5 mutasyon ise tek tekrar ünitesi kazancı şeklinde görülmüştür. Ek olarak bu gruptaki çiftlerden birinde birden fazla lokusta (2) mutasyon görülmüştür. Bu mutasyon her iki lokusta da babadan oğula geçişte tek tekrar ünitesi kaybı şeklinde gözlemlenmiştir. Diğer paternal soydaş çiftler arasında görülen 9 mutasyonun 8'si tek tekrar ünite değişimi şeklinde olup 1 tanesi çoklu (2) tekrar ünite değişimi şeklindedir. Bu gruba dahil olan çiftlerin 3'ünde multiple (2) lokusta mutasyon gözlemlenmiştir. Birden fazla lokusta gerçekleşen mutasyonlarda tek tekrar ünite değişimi görülmektedir. Çalışılan lokuslardan DYS526a, DYS526b ve DYS518'de mutasyon gözlenmemiştir. Geri kalan lokuslardaki mutasyon oranları %1-6 arasında değişkenlik göstermektedir. 13 RM Y-STR'lerin ortalama mutasyon oranı ise %1.77 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 7. 13 RM Y-STR lokuslarının mutasyon oranları.

Lokus	Mutasyon Oranı (%)	Güven aralığı (%95)
DYS526 a	0.00	-
DYS526 b	0.00	-
DYS612	3.00	0.0062-0.0852
DYF399S1	6.00	0.0223-0.1260
DYS547	2.00	0.0024-0.0704
DYF404S1	3.00	0.0062-0.0852
DYS626	1.00	0.0002-0.0545
DYS576	2.00	0.0024-0.0704
DYS518	0.00	-
DYS627	1.00	0.0002-0.0545
DYS570	2.00	0.0024-0.0704
DYF387S1	2.00	0.0024-0.0704
DYS449	1.00	0.0002-0.0545
Ortalama	1.77	0.0005-0.0067

Tablo 8. Mutasyon Profilleri.

Örnek No	Akrabalık	Mutasyon 1	Mutasyon 2	Mutasyon (Kayıp/Kazanç)
001	Baba	21-23-27.1	-	Kayıp
002	Çocuk	20-23-27.1	-	
017	Baba	49	-	Kayıp
018	Çocuk	48	-	
025	Baba	14-14-16	-	Kazanç
026	Çocuk	14-15-16	-	
033	Baba	20	17	Kayıp - Kayıp
034	Çocuk	19	16	
035	Amca	19-22-25.1	-	-
036	Yeğen	18-22-25.1	-	
039	Baba	21-25-25.1	-	Kazanç
040	Çocuk	22-25-25.1	-	
045	Baba	46	-	Kazanç
046	Çocuk	47	-	
057	Ağabey	36-38	20-23.1-25	Duplikasyon
058	Kardeş	38	20-24.1-25	
065	Baba	18	-	Duplikasyon/Triplikasyon
066	Çocuk	17-18-18	-	
073	Baba	16-16	-	Kayıp
074	Çocuk	15-16	-	
075	Baba	38	-	Kazanç
076	Çocuk	39	-	
085	Ağabey	21.1-23	32	-
086	Kardeş	22.1-23	31	
127	Baba	37-38	-	Kayıp
128	Çocuk	36-37	-	
139	Ağabey	18	-	-
140	Kardeş	19	-	
147	Baba	33	-	Kazanç
148	Çocuk	34	-	
155	Baba	19-21-23.1	-	Kayıp
156	Çocuk	19-21-22.1	-	
157	Ağabey	19	-	-
158	Kardeş	20	-	
171	Ağabey	36	37-38	-
172	Kardeş	37	37-39	
179	Baba	14-16	-	Kayıp
180	Çocuk	14-15	-	

5. TARTIŞMA

Adli olgularda birden fazla aile üyesinin katıldığı suçlar azımsanmayacak düzeyde olduğu düşünülmektedir. Örneğin çocuklara karşı işlenen cinsel saldırı vakalarında saldırganların %34'ü aile üyeleridir¹¹⁷. Bu gibi biyolojik materyallerin kimliklendirilmesinde rutin analizlerde kullanılan otozomal ve gonozomal STR lokusu analizleri çoğu zaman yeterli olmamaktadır. Yenilerde normal Y-STR lokuslarına oranla mutasyon oranları daha yüksek olan ve RM-YSTR olarak adlandırılan gonozomal STR lokuslarının yakın akrabaların ayırımını sağlayabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır^{24,112,113,118-120}.

RM-Y-STR lokuslarının adli analizlerde kullanılabilmesi için ise çeşitli validasyon çalışmaları yapılmıştır. Yapılan validasyon çalışmalarından birisi seçilen lokusların multipleks amplifikasyona uygunluğunun test edilmesidir. Bu çalışmalarda 13 RM-YSTR lokusunun üç ayrı multipleksle amplifiye edildiği çalışmalar yanında, 13 lokusun tek reaksiyonda analiz edilebildiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Olay yerinde bulunan biyolojik materyaller genellikle çok az olduğundan, adli analizler için seçilen çok sayıdaki belirtecin az miktardaki örnekten bir defada analizinin yapılabilmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada 13 lokusun tek tüpte çoğaltılabildiği bir multipleks reaksiyonun yapılabilmesi hedeflenmiştir.

5.1. Multipleks PCR Optimizasyonu ve Allelik Ladder

Çalışmanın ilk aşamasında multipleks amplifikasyon optimizasyonu için DNA miktarı bilinen standart DNA örnekleri kullanılmıştır (Yfiler 007 ve DNA miktarı bilinen bir başka genomik DNA). Multipleks PCR optimizasyonu için önce her bir primer çiftinden 6-FAM, VIC, NED ve PET boyaalarının floresans etkinliği göz önünde bulundurularak değişen miktarlarda (6-FAM 0.016 µM, VIC 0.033 µM, NED 0.05 µM, PET 0.066 µM) koyularak çalışmalara başlanmış ve lokusa ait allelerin pik yükseklik seviyelerine bağlı olarak primer çiftlerinde azaltma veya arttırma yapılarak optimum pik yükseklik seviyeleri ayarlanmıştır.

Allelik ladder üretmek için yapılan bazı denemeler 0.1 – 0.3 µM gibi yapılmıştır. Yüksek primer konsantrasyonlarının kullanılması multipleks PCR'da beklenildiği gibi elektroforegram görüntüsünde spesifik olmayan piklerin oluşumu ve

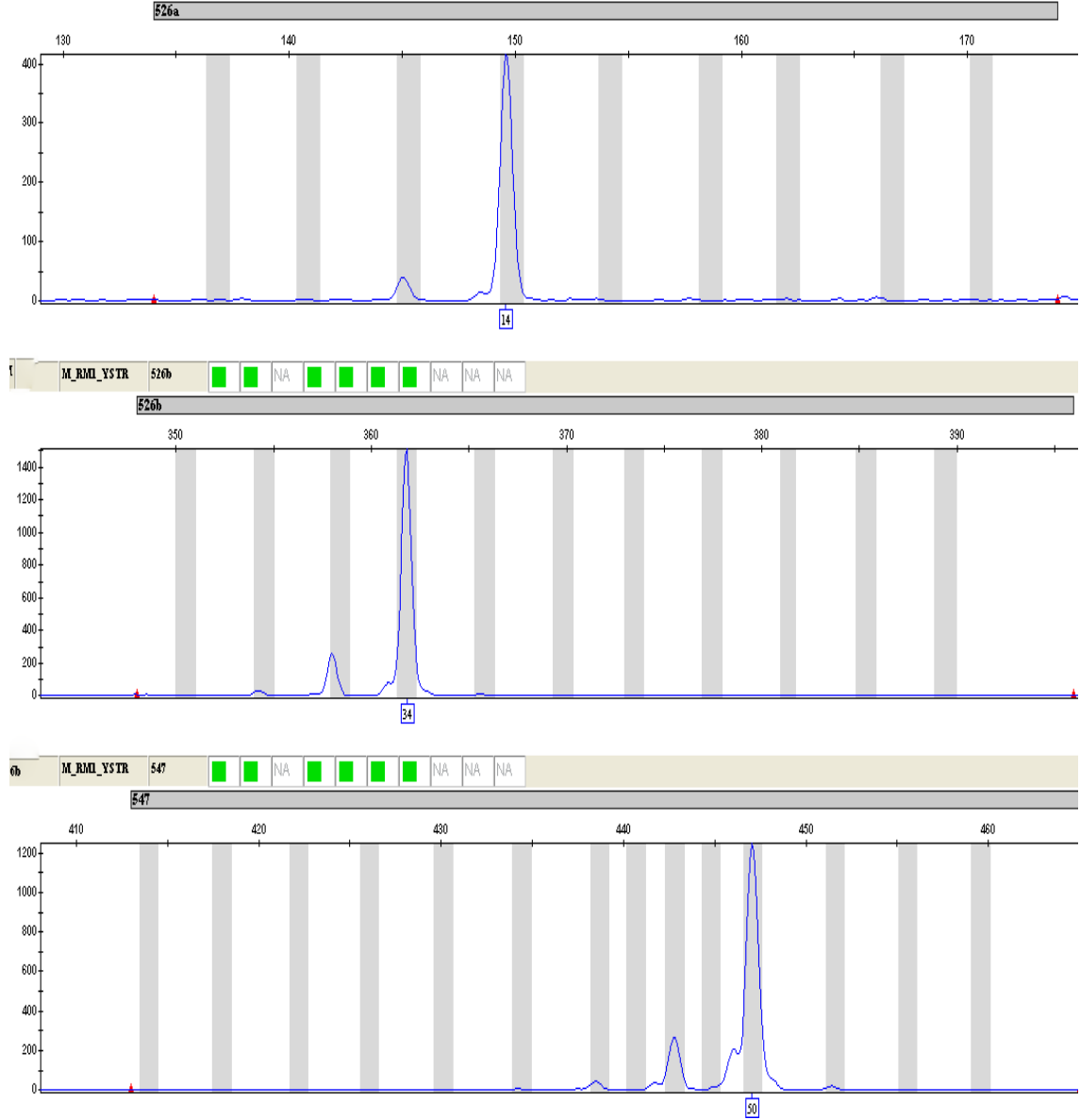
elektroforez rezolüsyonunun bozulması gibi pik kalitesi açısından çeşitli sorunlar yaratmıştır. Daha düşük konsantrasyonlar denendiğinde pik kalitesinin iyileştiği, çok daha düşük konsantrasyonlarda ise piklerin hedeflenen pik yükseklik seviyelerine (50 rfu) ulaşamadığı gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada multipleks PCR için belirlenen primer konsantrasyonları ile literatürde^{24,112} multipleks PCR için belirtilen primer konsantrasyonları arasında kısmi farklılıklar bulunmaktadır. Bunun farklılığın PCR cihazlarındaki performans farklılığı sebebiyle olabileceği düşünülmektedir.

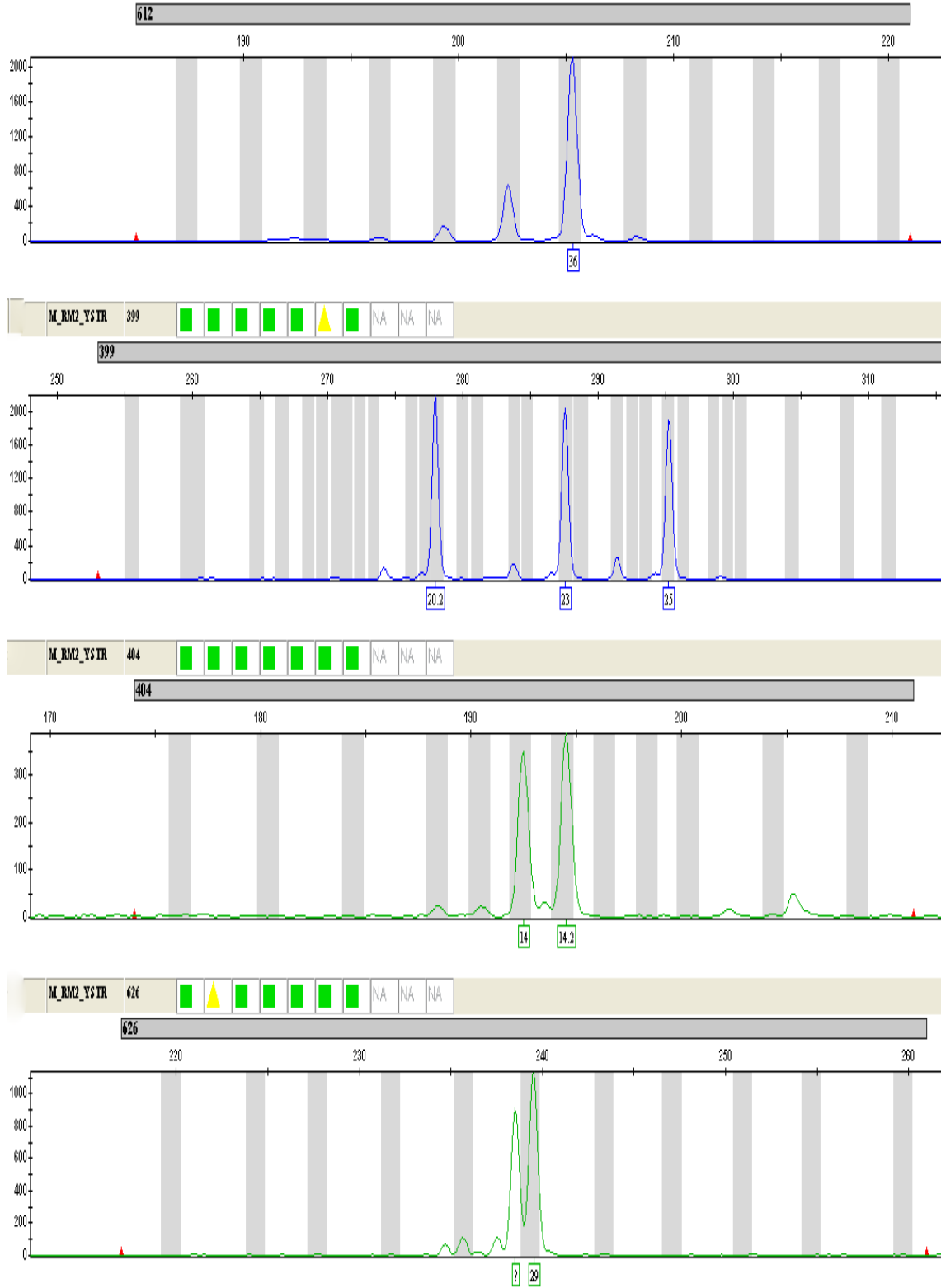
Multipleks optimizasyon çalışmasında DYF403S1a/b lokusuna ait allelerin tanımlanmasında zorluklar yaşanmıştır. DYF403S1a'ya ait allel pikleri kısmen tanımlanabilirken, DYF403S1b lokusunda pik yükseklikleri daima 50 rfu'nun altında kalmıştır. Bu lokusa ait allelerin değerlendirmesinde yaşanan problemler nedeniyle multipleks içinden çıkarılmıştır. Diğer lokusların tamamında mevcut PCR protokolü ve primer konsantrasyonunda allel pik yükseklik seviyeleri 50 rfu'nun üzerinde ölçülmüştür (Şekil 11, 12, 13). DYF403S1a/b lokusu alellerinin multipleks amplifikasyona uygunluğu konusunda sorun yaşandığını belirten başka çalışmalar da bulunmaktadır. Üç ayrı multipleks amplifikasyonun test edildiği global düzeyde yapılan bir çalışmada bazı merkezlerin DYF403S1a ve b alellerini tanımladıklarında sorun yaşadığı görülmektedir. Bir başka literatürde de DYF403S1a/b lokusunun 4 kopya allelik olması sebebiyle alelleri arasında çakışmalara sebep olabildiği de gösterilmiştir¹¹³. Bu araştırmacılar primer tasarımını değiştirmiş ve lokusun adını revize etmiştir. Adlandırma alt gruplara ayırma şeklinde yapılmış olup DYF403S1a, DYF403S1b1 ve DYF403S1b2 olarak son halini almıştır. Araştırmacılar 2 farklı multipleks PCR kullanarak sağlıklı sonuç alınabildiğini bildirmişlerdir¹²¹. Bu çalışmada multipleks amplifikasyon optimizasyonunda DYF403S1a/b alellerinin pik yüksekliklerinin genellikle 50 rfu ve altında kalması nedeniyle güvenli alel adlandırma yapılamayacağı gerekçesi ile DYF403S1a/b lokusunun primerleri multipleksten çıkarılmış ve hesaplamalara dahil edilmemiştir.

Bunlara ek olarak Thermo Fisher Scientific şirketi Yfiler® Ticari Kitinde, standart olarak kullanılan Y-STR setlerine, multipleks PCR'ı mümkün ve kolay optimize olan RM Y-STR setlerini eklenmiş ve yeni bir ticari kit oluşturmuştur. Yfiler® Plus Ticari Kiti adını alan bu kitte bulunan RM Y-STR setleri; DYS570, DYS576, DYS449,

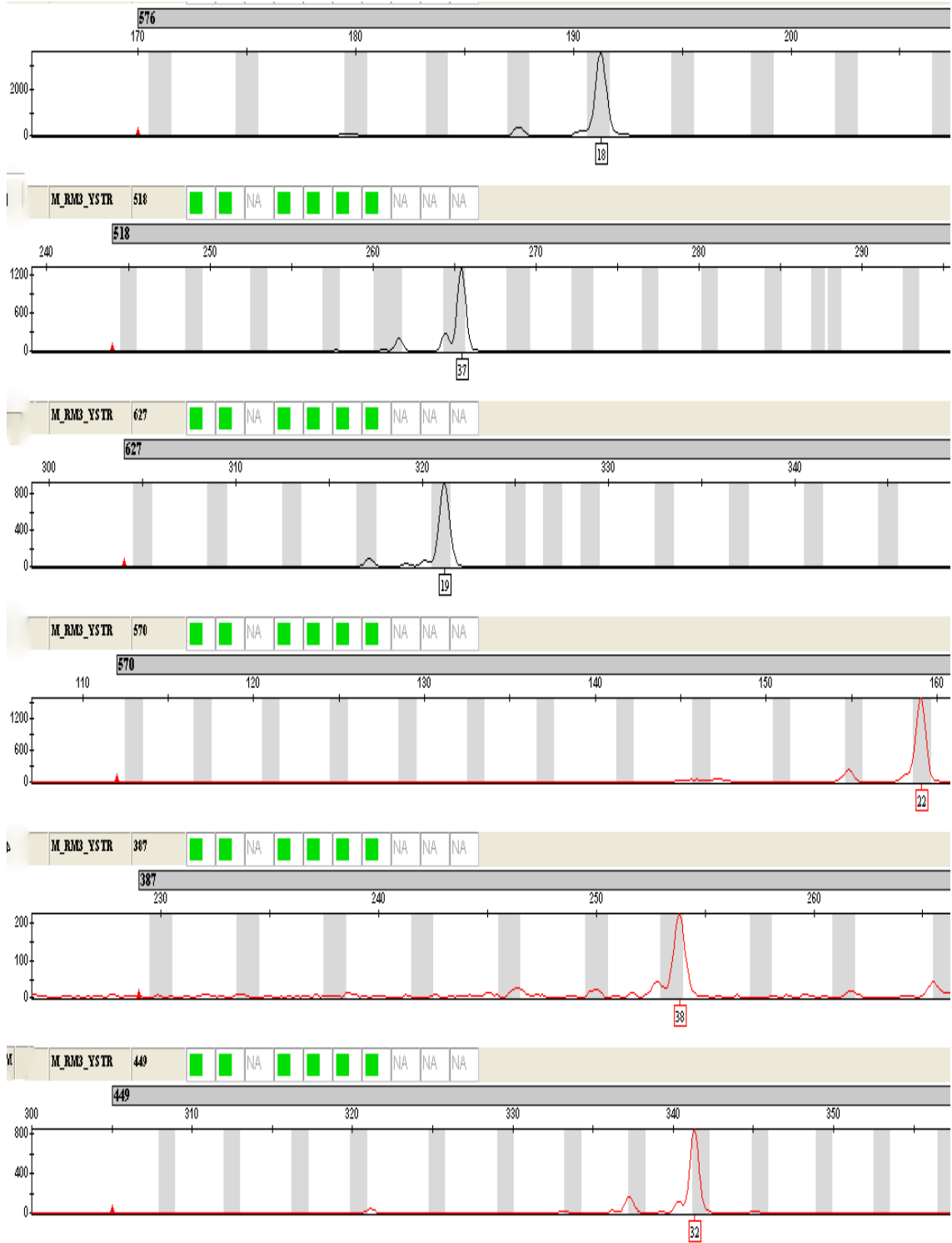
DYS518, DYS627 ve DYF387S1'dir. Şirket, RM Y-STR setlerinin eklemesinin nedenini yakın paternal akrabaların ayırımını sağlamalarındaki yüksek potansiyel olarak belirtmiştir¹²².



Şekil 11. Optimizasyon sonrası elektroforegram PANEL 1.



Şekil 12. Optimizasyon sonrası elektroforegram PANEL 2.



Şekil 13. Optimizasyon sonrası elektroforegram PANEL 3.

STR lokuslarının allel adlandırılmalarında 0.5 bp'lik sapmanın üzerindeki bir farklılık yanlış adlandırmaya neden olacağından sapmanın ± 0.5 bp sınırlarında olması istenir. Bu nedenle STR lokuslarının doğru adlandırılmasında allelik ladder oluşturma ve örneklerin allelik ladderlar ve internal kontrol belirteçler ile birlikte aynı

elektroforez koşullarında yürütülmesi oldukça önemlidir. Çalışmada ticari olarak elde edilen LIZ500 internal kontrol olarak kullanılırken, farklı allel uzunluklarına sahip kişilerin örneklerinden hazırlanan karışım da alelik ladder olarak kullanılmıştır.

Bu aşamada 100 örnekte multipleks PCR amplifikasyonu sonrası her lokus için farklı allel uzunluklarına sahip kişilerin örneklerinden seçilerek yapılan single PCR ürünleri ile alelik ladder oluşturulmuştur. Ladder oluşturmada minimum pik yükseklik seviyesi 100 rfu olacak şekilde bir karışımın hazırlanması hedeflenmiştir. Ancak üretilen single PCR pik yükseklik seviyeleri arasında çok büyük farklılıklar olduğundan (Şekil 7) 13 RM-Y-STR lokusu için üç ayrı alelik ladder oluşturulabilmektedir (Şekil 8, 9, 10). 3 farklı allelik ladderın kapsadığı lokuslar altta sıralanmıştır:

Allelik Ladder 1: DYS526a, DYS526b, DYS547

Allelik Ladder 2: DYS612, DYF399S1, DYS626, DYF404S1

Allelik Ladder 3: DYS576, DYS518, DYS627, DYS570, DYF387S1, DYS449

Ballantyne ve arkadaşlarının çok merkezli katılım ile yaptığı çalışmada 3 ayrı PCR ve 3 ayrı alelik ladder kombinasyonu kullanmışlardır. Bu çalışmada ise tek reaksiyonda PCR yapılabilmemiş (bir lokus dışlanarak-DYF403S1a/b), ancak tüm lokuslar için tek bir ladder seti henüz oluşturulamamıştır. Üç farklı ladder örnek kaybına ve analiz süresinin uzamasına yol açmadığından analizler bu 3 farklı ladder ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan allelik ladderların 4 enjeksiyon sonrasında allellerin uzunlukları incelenmiş, ortalama allel uzunlukları belirlenmiştir. EKLER bölümünde a (1-13) kısmında gösterildiği üzere belirlenen uzunlukların ortalama standart sapmaları 0.053303 - 0.251009 aralığında olup kabul edilebilir sınırlar içerisindedir. Bununla birlikte, tüm allellerin tek ladder seti ile analiz edilebilmesi için çalışmalara devam edilecektir.

5.2. Mutasyon Oranları, Yapısı ve Elektroforegram

RM-YSTR'lerin bireysel farklılaşmadaki etkinliğini test etmek için ise 100 baba/oğul – amca/yeğen – ağabey/kardeş çifti araştırılmıştır. Baba/oğul – amca/yeğen – ağabey/kardeş çiftleri içinde toplam 23 mutasyon saptanmıştır.

Belirlenen mutasyon oranları literatürle karşılaştırıldığında bazı küçük farklılıklar görülmüştür (Tablo 9). Bu farklılıkların muhtemel sebeplerinden birinin çalışılan örnek sayısı olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada 200 kişinin DNA örneği kullanılırken, karşılaştırmanın yapıldığı çalışmada 2000 civarında kişinin DNA örneği kullanılmıştır. Diğer bir muhtemel farklılığın ise örneklerin ait olduğu popülasyonların farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir²⁴. Literatür incelendiğinde bu gibi küçük farklılıkların olmasının muhtemel olduğu belirtilmektedir⁷¹. Çalışmada elde edilen ortalama mutasyon oranı % 1.77 iken literatürde²⁴ % 1.87'tir. Tablo 9'da da belirtildiği üzere DYF403S1a ve DYF403S1b lokuslarının mutasyon oranı sırasıyla % 3.10 ve % 1.19'dur. Bu lokusların tez çalışmasından çıkarılması mutasyon oranlarında kısmi düşüş yaratmış olabileceği düşünülmektedir.

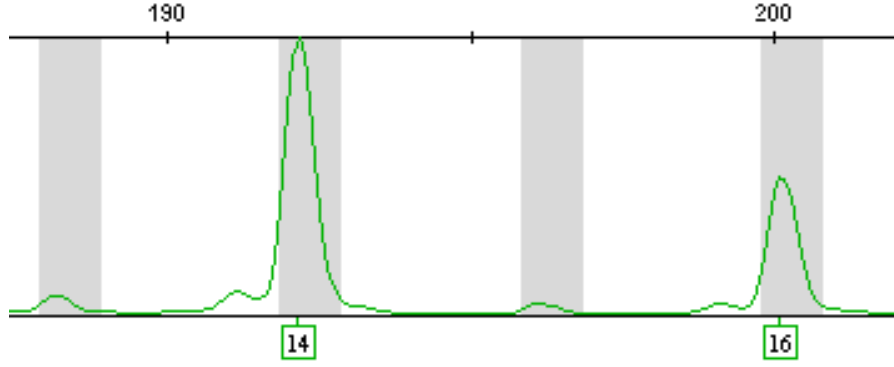
Tablo 9. Mutasyon Oranlarının Karşılaştırılması.

Lokus	Çalışmadaki Mutasyon Oranı (n = 200)	Literatürdeki Mutasyon Oranı (n = 2000)
DYS526 a	0.00	0.27×10^{-2}
DYS526 b	0.00	1.25×10^{-2}
DYS612	3.00×10^{-2}	1.45×10^{-2}
DYF399S1	6.00×10^{-2}	7.73×10^{-2}
DYS547	2.00×10^{-2}	2.36×10^{-2}
DYF404S1	3.00×10^{-2}	1.25×10^{-2}
DYS626	1.00×10^{-2}	1.22×10^{-2}
DYF403S1 a	-	3.10×10^{-2}
DYF403S1 b	-	1.19×10^{-2}
DYS576	2.00×10^{-2}	1.43×10^{-2}
DYS518	0.00	1.84×10^{-2}
DYS627	1.00×10^{-2}	1.23×10^{-2}
DYS570	2.00×10^{-2}	1.24×10^{-2}
DYF387S1	2.00×10^{-2}	1.59×10^{-2}
DYS449	1.00×10^{-2}	1.22×10^{-2}

Seçilen RM Y-STR lokuslarının bir kısmı Y kromozomu üzerinde tek kopya halinde bulunurken, bir kısmı duplikasyon/triplikasyon nedeniyle birden fazla kopyaya sahiptir. Tek allele sahip olanların adlandırılması kolay olmakla birlikte, bireysel farklılaşmadaki etkinliği düşüktür. Çok allelli lokuslar ise bireysel farklılaşmayı arttırdığından tercih edilmekle birlikte, allellerin adlandırmasında zorluklar vardır. Örneğin duplikasyon sonucu genom üzerinde oluşan birbirinin aynı iki allel kapiler elektroforezde tek alel olarak görülür. Aynı uzunluktaki iki allelin kapiler elektroforezle ayrımı yapılamadığından kişi tek bir allele sahipmiş gibi değerlendirilir. Bazı durumlarda elektroforegramdaki pik yükseklik seviyelerindeki farklılıklar dikkate alınarak bir kişide üst üste çakışan iki alelin tanımlanması mümkün olabilir^{123,124}. Mutasyon araştırmalarının yapıldığı baba/oğul karşılaştırmaları pik yükseklik seviyelerindeki değişikliklerin yorumlanabildiği durumlara örnek olarak verilebilmektedir. Bu çalışmada 100 örnek çiftinde karşılaşılan 23 mutasyondan 3 tanesinde pik yükseklik seviyeleri alellerin daha ayrıntılı değerlendirilmesine fırsat vermiştir. Bu 3 örnek çifti alta aktarılmıştır:

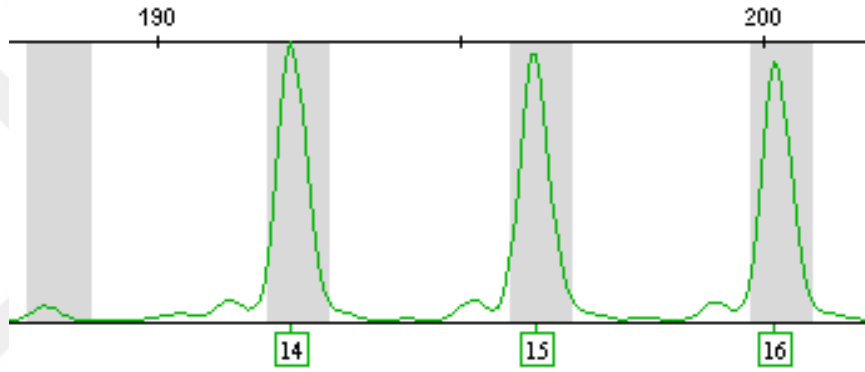
Şekil 14'te DYF404S1 lokusu allellerine ait elektroforegramda pik yükseklikleri incelendiğinde (örnek no 25 ve 26); örnek 25'in (baba) 14 ve 16 aleline sahip olduğu görülmekle birlikte, 14 olarak adlandırılan alelin pik yüksekliğinin, 16 olarak adlandırılan alelin pik yüksekliğinin yaklaşık 2 katı olduğu görülmektedir. Örnek 26 (oğul)'da ise 14, 15 ve 16 allellerinin pik sinyallerinin yüksekliklerinin aynı seviyelerde olduğu görülmektedir. Her iki olgunun pik yükseklik seviyesinden babanın 14,16 değil; 14,14,15 aleline sahip olduğu anlaşılmaktadır. Bu durumda babadan oğula geçişte 14 alelinden birinin bir tekrar ünitesi ilavesi ile 15 aleline dönüştüğü anlaşılmaktadır.

Örnek 25 Baba



14, 14, 16

Örnek 26 Oğul

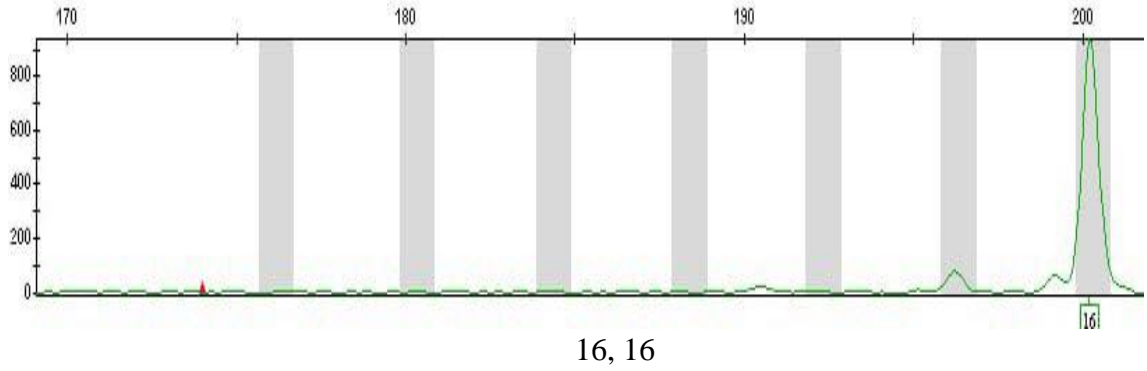


14, 15, 16

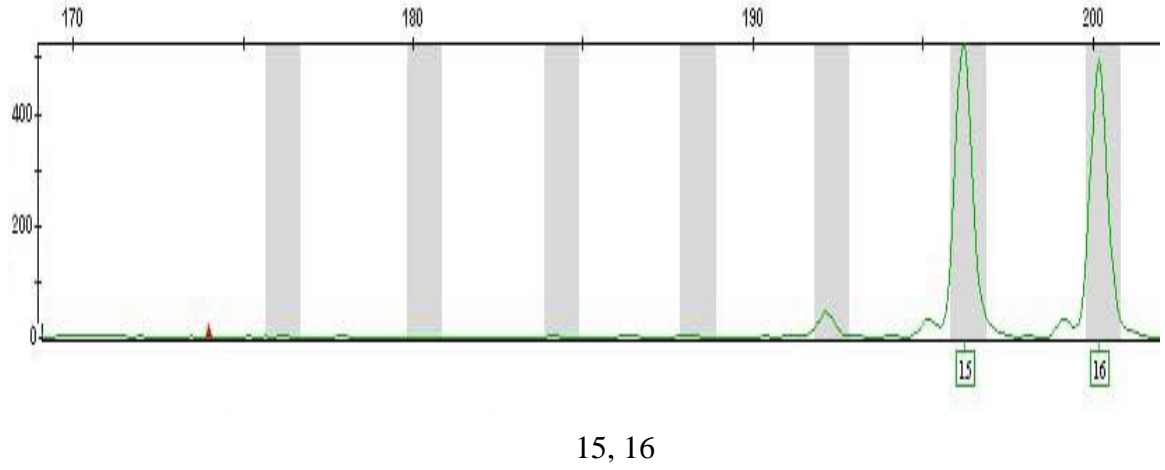
Şekil 14. DYF404S1 lokusu Örnek 25, 26 elektroforegram.

Şekil 15'te 73 ve 74 no'lu baba/oğul örneğinin ortalama 1 ng DNA kullanılarak yapılan PCR'ı sonrası DYF404S1 lokusunda babaya ait tek alel (alel 16) ve çocuğa ait iki alel (15,16) tanımlanmıştır. Alellerin pik yükseklik seviyeleri karşılaştırıldığında, babaya ait 16 alelinin pik yükseklik seviyesi çocukta tanımlanan 2 alel (alel 15 ve 16)'in pik yükseklik seviyesinin toplamı ile aynıdır. Burada pik yükseklik seviyesi babanın aslında 16,16 aleline sahip olduğunu ve oğula geçişte alellerden birinin 1 tekrar ünitesi kayba uğradığını göstermiştir. Pik yüksekliği dikkate alınmadan yapılacak bir değerlendirmede babadan oğula geçişte hem duplikasyonun olduğu hem de 1 tekrar ünitesi kaybının olduğu değerlendirilmesi kaçınılmazdır.

Örnek 73 Baba



Örnek 74 Oğul

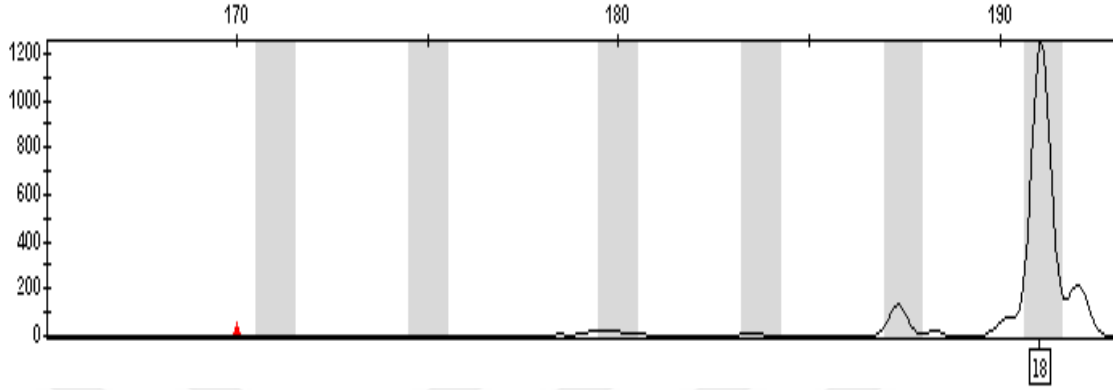


Şekil 15. DYF404S1 lokusu Örnek 73, 74 elektroforegram.

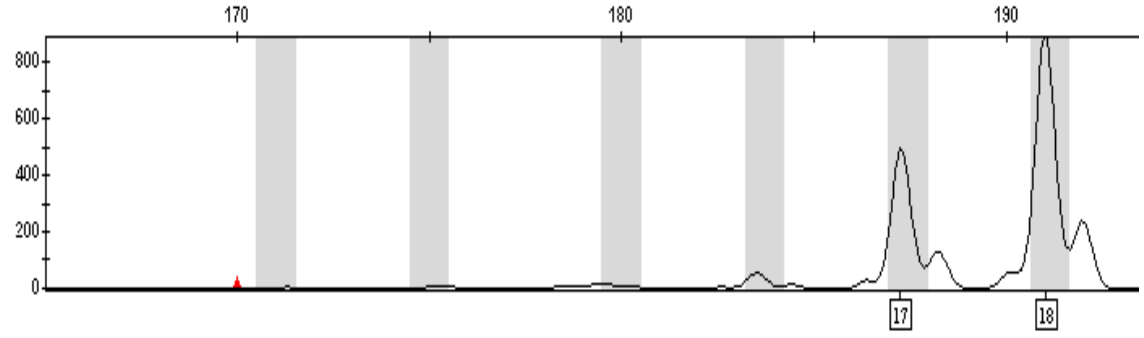
Şekil 16'da ise genomda tek alele sahip olan DYS576 lokusunda 65 no'lu örneğin (baba) 18, 66 no'lu örneğin (oğul) ise 17 ve 18 aleline sahip oldukları görülmüştür. Örnek 65'in elektroforegramı incelendiğinde 18 sinyalinin pik yüksekliğinin, 66 no'lu örnekte tanımlanan 17 ve 18 aleli pik yüksekliğinin toplamına eşit olduğu görülmektedir. Örnek 66'nın elektroforegramında görülen 18 alelinin pik yüksekliğinin ise 17 alelinin pik yüksekliğinin yaklaşık 2 katı civarında olduğu görülmektedir. Bu sinyal seviyesinden örnek 66'da DYS576 lokusunun "17,18,18" aleline sahip olabileceği anlaşılmaktadır. Ortalama 1-2 ng DNA ile yapılan PCR sonrası her iki örneğin pik yüksekliği incelendiğinde, örnek 65'de DYS576 lokusu alelinin "18", "18,18" veya "18,18,18" olabileceği öngörülmüştür. Elektroforez görüntüsünden babanın 18,18 ve çocuğun duplikasyon ve bir tekrar ünitesi kaybı ile 17,18,18 aleline sahip olabileceğini öngörülmekle birlikte; diğer muhtemel sebepler de mümkündür.

Bütün bu farklılıkları duplikasyon/triplikasyon mekanizmalarıyla açıklamak olasıdır¹²⁴. Sonuçta bu örnekte olduğu gibi mutasyon mekanizmasının tam olarak anlaşılmadığı elektroforez görüntüleri ile de karşılaşılabileceği anlaşılmıştır.

Örnek 65 Baba



Örnek 66 Oğul



17, 18, 18

Şekil 16. DYS576 lokusu Örnek 65, 66 elektroforegram.

Y kromozomu üzerinde bulunan STR lokusu alellerinde duplikasyonlarla karşılaşılması da çok yaygındır (% 50.4)¹²⁵. Bu çalışmada da tek allelli RM-YSTR lokuslarında duplikasyonlara rastlanmıştır. Bu çalışmada duplikasyon tanımlanan tek allelli lokuslar DYS612 ve DYS576'dır.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde 13 RM Y-STR lokusunun multipleks uygulamasının kişi ölçeğinde ayırım sağlayabildiği görülmüştür. Cinsel saldırı vb. olaylardan gelen leke gibi karışık örnek şüphesi olan delillerin incelenmesinde kullanılabilir. Paternal soydaş erkek bireylerin aynı suça katıldığına dair şüphe oluşması halinde deliller analiz edilip mutasyondan kaynaklanan ayırım sağlanabilir. Dahası

şüphelenilen babaların paternal soydaş olduğu bazı babalık davalarında veya karmaşık soybağı davalarında ayırım gücünü arttırmak için rutin olarak kullanılan STR setlerine ek olarak kullanılabilir.

Mutasyon oranlarının bilinmesi DNA profillerinin yorumlanması açısından çok önemlidir. Otozomal ve Y kromozomu üzerindeki STR'ler yüksek oranda polimorfik olduğu için mutasyon ihtimali her zaman göz önünde bulundurulmalıdır. Baba-oğul olduğu iddia edilen çiftler arasında 3 lokusta görülen uyumsuzlukta bile paternitenin dışlanması her zaman mümkün olmayabilmektedir^{126,127}. Bunlara ek olarak paternite veya diğer soy bağının belirlenmesi amacıyla yapılan otozomal STR analizlerinde olası bir mutasyon görülmesi kombine olasılık hesaplarında belirgin farklılıklar yaratmakta ve olasılıkları azaltmaktadır. Diğer yandan, Y-STR'lerin kullanıldığı cinsel saldırı veya diğer suçlardan elde edilmiş karışık lekelerde ise mutasyonlar, şüpheli şahısların suçla ilişkisini belirlemek adına yapılacak olan yorumlamalarda önemli bir yer teşkil etmektedir. Özellikle aynı paternal soydan gelen erkek bireylerin karıştığı cinsel saldırı vb. olaylardan elde edilen karışık örneklerin (leke, swab, vb.) DNA profilleme çalışmalarında mutasyon oranları bilinen lokusların kullanımı kişi ölçeğinde ayırım yapılması konusunda büyük katkı sağlayabilir. Mutasyon oranlarının ataerkillik gibi bazı kültürel sebeplerden dolayı popülasyonlar arası farklılık gösterebilmesi olasıdır¹²⁸. Bu gibi nedenlerle Çukurova popülasyonunda mutasyon oranlarının saptanması bir gerekliliktir.

6. SONUÇ

1. Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi Adli Tıp Anabilim Dalına başvuran 100 paternal soydaş çift ile yapılan çalışmada;

DYS526a lokusunda 8 allel ve $GD = 0.806262$,
DYS612 lokusunda 10 allel ve $GD = 0.792121$,
DYS526b lokusunda 11 allel ve $GD = 0.894545$,
DYF399S1 lokusunda 29 allel ve $GD = 0.996161$,
DYS547 lokusunda 12 allel ve $GD = 0.862222$,
DYF404S1 lokusunda 10 allel ve $GD = 0.911717$,
DYS626 lokusunda 11 allel (null dahil) ve $GD = 0.884646$,
DYS576 lokusunda 8 allel ve $GD = 0.786868$,
DYS518 lokusunda 11 allel ve $GD = 0.856767$,
DYS627 lokusunda 10 allel ve $GD = 0.846464$,
DYS570 lokusunda 8 allel ve $GD = 0.796969$,
DYF387S1 lokusunda 22 allel ve $GD = 0.961616$,
DYS449 lokusunda 12 allel ve $GD = 0.901212$ olarak belirlenmiştir.

Veriler lokusların allelik varyasyonlarının ve lokuslardaki genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermiştir.

2. 3 farklı ladder karışımı hazırlanarak rutin kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan allelik ladder anabilim dalımız adli genetik laboratuvarında RM Y-STR çalışmalarında allel adlandırmada kullanılabilir.
3. 13 RM Y-STR lokusunun tek tüpte PCR'ı gerçekleştirilmiştir. Rutin kullanım için optimizasyonu tamamlanmıştır. Böylece olay yerinden gelen az miktarda DNA içeren örneklerin kimliklendirilmesinde kullanılma olanağı sağlanmıştır.
4. 13 RM Y-STR lokusunun mutasyon oranları belirlenmiştir;

DYS526 a 0.0×10^{-2}

DYS526 b	0.0 x 10 ⁻²
DYS612	3.0 x 10 ⁻²
DYF399S1	6.0 x 10 ⁻²
DYS547	2.0 x 10 ⁻²
DYF404S1	3.0 x 10 ⁻²
DYS626	1.0 x 10 ⁻²
DYS576	2.0 x 10 ⁻²
DYS518	0.0 x 10 ⁻²
DYS627	1.0 x 10 ⁻²
DYS570	2.0 x 10 ⁻²
DYF387S1	2.0 x 10 ⁻²
DYS449	1.0 x 10 ⁻²

13 lokusun ortalama mutasyonu 1.77×10^{-2} 'dir. Tanımlanan yüksek mutasyon oranları olan lokuslar klasik Y-STR'ler ile kıyaslandığında bireyler arası varyasyon daha yüksek bulunmuştur.

5. 13 RM Y-STR lokusunun haplotip çeşitliliği çok yüksek olarak bulunmuştur. (GD=1).
6. Çalışmadan elde edilen popülasyon sonuçları anabilim dalımız adli genetik laboratuvarlarında istatistiksel hesaplamalarda kullanılacak veri tabanını oluşturmuştur.
7. 13 RM Y-STR lokusu adli kimliklendirme ve soy bağı belirleme amacıyla kullanılabilir olduğu doğrulanmıştır.

EKLER

1. ALLELİK LADDER STANDART SAPMALAR

a 1. Allelik Ladderda DYS526a lokusu için standart sapma oranları

	DYS526a			
	Allel 12	Allel 13	Allel 14	Allel 15
	140.46	145.02	149.02	153.91
	140.47	145.13	149.91	154.07
	140.58	145.19	149.78	154.10
	140.08	145.44	150.00	154.30
Ortalama				
Uzunluk	140.39	145.19	149.67	154.09
Standart				
Sapma	0.218537	0.177858	0.44754	0.160104

a 2. Allelik Ladderda DYS526b lokusu için standart sapma oranları

	DYS526b				
	Allel 33	Allel 34	Allel 35	Allel 36	Allel 37
	358.02	361.89	365.59	369.52	373.38
	358.17	362.03	365.83	369.66	373.50
	358.16	362.05	365.79	369.65	373.52
	358.38	362.31	365.99	369.89	373.71
Ortalama					
Uzunluk	358.18	362.07	368.80	369.68	373.52
Standart Sapma	0.148408	0.175119	0.16452	0.15384	0.136473

a 3. Allelik Ladderda DYS612 lokusu için standart sapma oranları

		DYS612						
		Allel 34	Allel 35	Allel 36	Allel 38	Allel 39	Allel 40	Allel 41
		199.36	202.30	205.33	211.25	214.29	217.30	220.32
		199.47	202.51	205.13	211.19	214.48	217.41	220.39
		199.54	202.29	205.27	211.34	214.57	217.50	220.47
		199.60	202.37	205.29	211.17	214.33	217.36	220.37
Ortalama								
Uzunluk		199.49	202.36	205.25	211.23	214.41	217.39	220.38
Standart Sapma		0.10308	0.10145	0.08699	0.07632	0.13048	0.08461	0.06238

a 4. Allelik Ladderda DYS547 lokusu için standart sapma oranları

		DYS547			
		Allel 45	Allel 46	Allel 47	Allel 48
		425.88	429.96	434.28	438.40
		425.88	430.02	434.39	438.56
		425.92	430.05	434.49	438.71
		426.29	430.58	434.84	439.00
Ortalama					
Uzunluk		425.99	430.15	434.50	438.66
Standart Sapma		0.199228	0.287446	0.24235	0.255261

a 5. Allelik Ladderda DYF399S1 lokusu için standart sapma oranları

DYF399S1						
	Allel		Allel	Allel	Allel	Allel
	Allel 17	17.2	Allel 19	Allel 20	Allel 21	21.1
	264.55	266.45	272.30	276.07	279.85	280.89
	264.63	266.52	272.28	276.06	279.93	280.88
	264.67	266.48	272.32	276.05	279.87	280.93
	264.62	266.46	272.17	275.94	279.82	280.79
Ortalama						
Uzunluk	264.61	266.47	272.26	276.03	279.86	280.87
Standart						
Sapma	0.049917	0.030957	0.06702	0.060553007	0.046458	0.05909
	Allel		Allel	Allel	Allel	Allel
	Allel 22	22.1	Allel 23	Allel 24	24.1	Allel 25
	283.72	284.76	287.50	291.38	292.45	295.17
	283.72	284.76	287.50	291.38	292.42	295.26
	283.70	284.76	287.54	291.37	292.42	295.20
	283.60	284.57	287.38	291.26	292.23	295.05
Ortalama						
Uzunluk	283.68	284.71	287.48	291.34	292.38	295.17
Standart						
Sapma	0.057446	0.095	0.069282	0.0585235	0.100995	0.088318

a 6. Allelik Ladderda DYF404S1 lokusu için standart sapma oranları

DYF404S1						
	Allel 10	Allel 13	Allel 14	Allel 15	Allel 16	Allel 17
	176.23	188.37	192.43	196.36	200.37	204.39
	176.29	188.49	192.47	196.53	200.47	204.50
	176.33	188.47	192.50	196.50	200.47	204.46
	176.31	188.48	192.62	196.66	200.77	204.70
Ortalama						
Uzunluk	176.29	188.45	192.50	196.51	200.52	204.51
Standart						
Sapma	0.043205	0.055603	0.081854	0.123119	0.173205	0.13301

a 7. Allelik Ladderda DYS626 lokusu için standart sapma oranları

DYS626						
Allel						
	Allel 25	Allel 27	28	Allel 29	Allel 30	Allel 31
	224.24	231.84	235.68	239.44	243.29	247.15
	224.22	231.84	235.60	239.46	243.23	247.09
	224.24	231.85	235.66	239.38	243.19	247.10
	224.12	231.72	235.48	239.23	243.09	246.85
Ortalama						
Uzunluk	224.20	231.81	235.60	293.37	243.20	247.04
Standart						
Sapma	0.057446	0.061847	0.09	0.104043	0.084063	0.134257

a 8. Allelik Ladderda DYS576 lokusu için standart sapma oranları

DYS576						
	Allel 15	Allel 17	Allel 18	Allel 19	Allel 20	Allel 21
	179.95	187.52	191.31	194.97	198.80	202.46
	180.04	187.53	191.34	195.00	198.78	202.44
	179.95	187.44	191.30	194.94	198.76	202.40
	179.91	187.53	191.23	194.93	198.64	202.30
Ortalama						
Uzunluk	179.96	187.50	191.29	194.96	198.74	202.40
Standart Sapma	0.055	0.043589	0.046547	0.031623	0.07188	0.071181

a 9. Allelik Ladderda DYS518 lokusu için standart sapma oranları

DYS518				
	Allel 37	Allel 38	Allel 39	Allel 40
	265.41	269.34	273.21	277.03
	265.28	269.19	273.08	277.02
	265.34	269.16	272.98	276.82
	265.14	268.96	272.78	276.60
Ortalama Uzunluk	265.29	269.16	273.01	276.86
Standart Sapma	0.11471	0.156285	0.181361	0.202875

a 10. Allelik Ladderda DYS627 lokusu için standart sapma oranları

	DYS627				
	Allel 16	Allel 17	Allel 18	Allel 19	Allel 20
	309.23	313.26	317.34	321.32	325.35
	309.18	313.26	317.24	321.23	325.30
	309.09	313.13	317.13	321.11	325.03
	309.01	313.09	317.12	321.10	325.04
Ortalama Uzunluk	309.12	313.18	317.20	321.19	325.18
Standart Sapma	0.097425	0.088129	0.103722	0.104881	0.168721

a 11. Allelik Ladderda DYS570 lokusu için standart sapma oranları

	DYS570				
	Allel 16	Allel 17	Allel 18	Allel 19	Allel 20
	132.70	136.96	141.35	145.93	150.38
	132.79	136.19	141.37	145.95	150.50
	132.81	136.93	141.40	146.03	150.53
	133.06	137.22	141.65	146.21	150.65
Ortalama Uzunluk	132.84	136.82	141.44	146.03	150.51
Standart Sapma	0.154272	0.442907	0.139851	0.127541	0.110905

a 12. Allelik Ladderda DYF387S1 lokusu için standart sapma oranları

	DYF387S1				
	Allel 35	Allel 36	Allel 37	Allel 38	Allel 39
	242.28	246.25	250.04	253.96	257.75
	242.18	246.14	250.04	253.92	257.63
	242.14	246.15	249.96	253.87	257.58
	242.11	245.93	249.80	253.59	257.45
Ortalama Uzunluk	242.17	246.11	249.96	253.83	257.60
Standart Sapma	0.074106	0.134505	0.113137	0.167432	0.124197

a 13. Allelik Ladderda DYS449 lokusu için standart sapma oranları

		DYS449					
		Allel 25	Allel 26	Allel 28	Allel 29	Allel 30	Allel 31
		311.86	316.14	324.81	328.98	333.14	337.31
		312.04	316.43	324.88	329.11	333.33	337.43
		311.93	316.22	324.84	329.07	333.23	337.40
		312.28	316.62	325.24	329.47	333.63	337.92
Ortalama	Uzunluk	312.02	316.35	324.94	329.15	333.33	337.51
Standart Sapma		0.183916	0.216237	0.200395	0.21531	0.212975	0.274773

2. ALLEL FREKANS VE HAPLOTİP ÇEŞİTLİLİĞİ TABLOLARI

b 1. DYS526 a Lokusu Allel Frekansları.

DYS526 a Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
11	0.010000
12	0.130000
13	0.290000
14	0.250000
15	0.160000
16	0.100000
17	0.050000
18	0.010000
GD	0.806262

b 2. DYS612 Lokusu Allel Frekansları.

DYS612 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
32	0.010000
33	0.010000
34	0.050000
35	0.110000
36	0.320000
37	0.260000
38	0.170000
39	0.020000
40	0.040000
41	0.010000
GD	0.792121

b 3. DYS526 b Lokusu Allel Frekansları.

DYS526 b Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
31	0.020000
32	0.040000
33	0.080000
34	0.090000
35	0.150000
36	0.180000
37	0.110000
38	0.120000
39	0.100000
40	0.070000
41	0.040000
GD	0.894545

b 4. DYS547 Lokusu Allel Frekansları.

DYS547 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
43	0.020000
44	0.050000
45	0.060000
46	0.100000
47	0.150000
48	0.190000
48.2	0.010000
49	0.230000
49.2	0.010000
50	0.130000
51	0.030000
52	0.020000
GD	0.862222

b 5. DYS562 Lokusu Allel Frekansları.

DYS626 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
0*	0.010000
25	0.090000
26	0.020000
27	0.060000
28	0.050000
29	0.190000
30	0.150000
31	0.140000
32	0.090000
33	0.140000
34	0.060000
GD	0.884646

*DYS626 lokusunda, örnek 185 ve 186 (baba-oğul)'da null allel gözlemlenmiştir.

b 6. DYS576 Lokusu Allel Frekansları.

DYS576 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
15	0.080000
16	0.150000
17	0.290000
17-18	0.010000
18	0.300000
19	0.130000
20	0.030000
21	0.010000
GD	0.786868

b 7. DYS518 Lokusu Allel Frekansları.

DYS518 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
35	0.040000
36	0.080000
37	0.090000
38	0.190000
39	0.230000
40	0.190000
41	0.090000
42	0.040000
43	0.020000
43.3	0.010000
44	0.020000
GD	0.856767

b 8. DYS627 Lokusu Allel Frekansları.

DYS627 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
16	0.060000
17	0.050000
18	0.080000
19	0.070000
20	0.240000
20.2	0.020000
21	0.250000
22	0.140000
23	0.060000
24	0.030000
GD	0.846464

b 9. DYS570 Lokusu Allel Frekansları.

DYS570 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
15	0.010000
16	0.190000
17	0.220000
18	0.270000
19	0.220000
20	0.070000
21	0.010000
22	0.010000
GD	0.796969

b 10. DYS449 Lokusu Allel Frekansları.

DYS449 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
25	0.060000
26	0.060000
27	0.070000
28	0.130000
29	0.140000
30	0.080000
31	0.150000
32	0.150000
33	0.040000
34	0.070000
35	0.030000
36	0.020000
GD	0.901212

b 11. DYF399S1 Lokusu Allel Frekansları.

DYF399S1 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
16	0.003571
16.1	0.003571
17	0.007143
17.2	0.007143
18	0.010714
18.1	0.003571
18.2	0.003571
19	0.050000
19.1	0.003571
20	0.039286
20.1	0.010714
20.2	0.010714
21	0.125000
21.1	0.025000
22	0.132143
22.1	0.050000
23	0.096429
23.1	0.046429
24	0.082143
24.1	0.078571
24.2	0.003571
25	0.035714
25.1	0.067857
26	0.003571
26.1	0.067857
26.2	0.003571
27.1	0.014286
28.1	0.010714
29.1	0.003571
GD	0.996161

b 12. DYF404S1 Lokusu Allel Frekansları.

DYF404S1 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
11	0.017045
12	0.028409
12.2	0.005682
13	0.119318
13.2	0.022727
14	0.295455
14.2	0.005682
15	0.289773
16	0.170455
17	0.045455
GD	0.911717

b 13. DYF387S1 Lokusu Allel Frekansları.

DYF387S1 Allelleri Ve Genetik Çeşitlilik	Frekans
33	0.008969
34	0.026906
35	0.062780
36	0.340807
37	0.201794
38	0.156951
39	0.089686
40	0.085202
41	0.026906
GD	0.961616

KAYNAKLAR

1. **JM., B.** *Advanced topics in forensic DNA typing methodology*. (Elsevier/Academic Press, **2012**).
2. **Ruitberg, C. M., Reeder, D. J. & Butler, J. M.** STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community. *Nucleic Acids Res.* **29**, 320–2 (**2001**).
3. **Lygo, J. E. et al.** The validation of short tandem repeat (STR) loci for use in forensic casework. *Int. J. Legal Med.* 107, 77–89 (**1994**).
4. **İ., S.** *Adli DNA Analizleri*. (Adalet Basım Yayım Dağıtım San ve Tic. Ltd. Şti, **2013**).
5. **Westen, A. A. et al.** Combining results of forensic STR kits: HDplex validation including allelic association and linkage testing with NGM and Identifiler loci. *Int. J. Legal Med.* 126, 781–789 (**2012**).
6. **MJ, B.** *Forensic science. Handbook of Analytical Separations*. (Elsevier, **2008**).
7. **Bieber, F. R., Buckleton, J. S., Budowle, B., Butler, J. M. & Coble, M. D.** Evaluation of forensic DNA mixture evidence: Protocol for evaluation, interpretation, and statistical calculations using the combined probability of inclusion. *BMC Genet.* 17, 1–15 (**2016**).
8. **Sibille, I. et al.** Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. *Forensic Sci. Int.* 125, 212–6 (**2002**).
9. **Betz, A. et al.** DYS STR analysis with epithelial cells in a rape case. *Forensic Sci. Int.* 118, 126–130 (**2001**).
10. **Dettlaff-Kakol, A. & Pawlowski, R.** First Polish DNA ‘manhunt’--an application of Y-chromosome STRs. *Int. J. Legal Med.* 116, 289–91 (**2002**).
11. **Roewer, L.** Y chromosome STR typing in crime casework. *Forensic Sci. Med. Pathol.* 5, 77–84 (**2009**).
12. **Bao, W. et al.** MSY2: A slowly evolving minisatellite on the human Y chromosome which provides a useful polymorphic marker in Chinese populations. *Gene* 244, 29–33 (**2000**).
13. **Hammer, M. F. et al.** Out of Africa and back again: nested cladistic analysis of human Y chromosome variation. *Mol. Biol. Evol.* 15, 427–41 (**1998**).
14. **Pena, S. D. et al.** A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nat. Genet.* 11, 15–6 (**1995**).
15. **Torroni, A. et al.** Y chromosome DNA polymorphisms in human populations: differences between Caucasoids and Africans detected by 49a and 49f probes. *Ann. Hum. Genet.* 54, 287–296 (**1990**).
16. **Parson, W., Niederstätter, H., Brandstätter, A. & Berger, B.** Improved specificity of Y-STR typing in DNA mixture samples. *Int. J. Legal Med.* 117, 109–14 (**2003**).
17. **Prinz, M., Boll, K., Baum, H. & Shaler, B.** Multiplexing of Y chromosome specific STRs and performance for mixed samples. *Forensic Sci. Int.* 85, 209–18 (**1997**).
18. **Coble, M. D. et al.** Mystery solved: the identification of the two missing Romanov children using DNA analysis. *PLoS One* 4, e4838 (**2009**).

19. **Butler, J. M.** Recent Developments in Y-Short Tandem Repeat and Y-Single Nucleotide Polymorphism Analysis. *Forensic Sci. Rev.* 15, 91–111 (2003).
20. **Mulero, J. J. et al.** Development and validation of the AmpFI STR Yfiler PCR amplification kit: a male specific, single amplification 17 Y-STR multiplex system. *J. Forensic Sci.* 51, 64–75 (2006).
21. **Ballantyne, K. N. et al.** A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. *Forensic Sci. Int. Genet.* 6, 208–218 (2012).
22. **Gershaw, C. J., Schweighardt, A. J., Rourke, L. C. & Wallace, M. M.** Forensic utilization of familial searches in DNA databases. *Forensic Sci. Int. Genet.* 5, 16–20 (2011).
23. **Purps, J. et al.** A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. *Forensic Sci. Int. Genet.* 12, 12–23 (2014).
24. **Ballantyne, K. N. et al.** Mutability of Y-chromosomal microsatellites: Rates, characteristics, molecular bases, and forensic implications. *Am. J. Hum. Genet.* 87, 341–353 (2010).
25. **Goodwin, W., Linacre, A. & Hadi, S.** *An Introduction to Forensic Genetics. Journal of Chemical Information and Modeling* 53, (2011).
26. **Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R.** DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 5463–5467 (1977).
27. **Southern, E. M.** Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98, 503–17 (1975).
28. **Kan, Y. W. & Dozy, A. M.** Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta-globin structural gene: relationship to sickle mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75, 5631–5 (1978).
29. **Wyman, A. R. & White, R.** A highly polymorphic locus in human DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 77, 6754–8 (1980).
30. **Jeffreys, A. J., Wilson, V. & Thein, S. L.** Individual-specific ‘fingerprints’ of human DNA. *Nature* 316, 76–9 (1985)
31. **Jeffreys, A. J., Wilson, V. & Thein, S. L.** Hypervariable ‘minisatellite’ regions in human DNA. *Nature* 314, 67–73 (1985)
32. **Saiki, R. K. et al.** Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230, 1350–4 (1985).
33. **Higuchi, R., von Beroldingen, C. H., Sensabaugh, G. F. & Erlich, H. A.** DNA typing from single hairs. *Nature* 332, 543–6 (1988).
34. **Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H. A. & Caskey, C. T.** DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49, 746–756 (1991).
35. **Clayton, T. M., Whitaker, J. P. & Maguire, C. N.** Identification of bodies from the scene of a mass disaster using DNA amplification of short tandem repeat (STR) loci. *Forensic Sci. Int.* 76, 7–15 (1995).
36. **Hagelberg, E., Gray, I. C. & Jeffreys, A. J.** Identification of the skeletal remains of a murder victim by DNA analysis. *Nature* 352, 427–9 (1991).

37. **Jeffreys, A. J., Allen, M. J., Hagelberg, E. & Sonnberg, A.** Identification of the skeletal remains of Josef Mengele by DNA analysis. *Forensic Sci. Int.* 56, 65–76 (1992).
38. **Gill, P., Werrett, D. J., Budowle, B. & Guerrieri, R.** An assessment of whether SNPs will replace STRs in national DNA databases--joint considerations of the DNA working group of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) and the Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM). *Sci. Justice* 44, 51–3 (2004).
39. **Vergnaud, G. et al.** A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. *Am. J. Hum. Genet.* 38, 109–24 (1986).
40. **Vollrath, D. et al.** The human Y chromosome: a 43-interval map based on naturally occurring deletions. *Science* 258, 52–9 (1992).
41. **Roewer, L., Amemann, J., Spurr, N. K., Grzeschik, K.-H. & Epplen, J. T.** Simple repeat sequences on the human Y chromosome are equally polymorphic as their autosomal counterparts. *Hum. Genet.* 89, (1992).
42. **Butler, J. M. et al.** A novel multiplex for simultaneous amplification of 20 Y chromosome STR markers. *Forensic Sci. Int.* 129, 10–24 (2002).
43. **Gusmão, L., Brion, M., González-Neira, A., Lareu, M. & Carracedo, A.** Y chromosome specific polymorphisms in forensic analysis. *Leg. Med. (Tokyo)*. 1, 55–60 (1999).
44. **Krenke, B. E. et al.** Validation of male-specific, 12-locus fluorescent short tandem repeat (STR) multiplex. *Forensic Sci. Int.* 151, 111–24 (2005).
45. No Title. Available at: www.yhrd.org.
46. **Wei, W., Ayub, Q., Xue, Y. & Tyler-Smith, C.** A comparison of Y-chromosomal lineage dating using either resequencing or Y-SNP plus Y-STR genotyping. *Forensic Sci. Int. Genet.* 7, 568–572 (2013).
47. **Skaletsky, H. et al.** The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 423, 825–837 (2003).
48. **Gršković, B., Mršić, G., Vrdoljak, A., Merkaš, S. & Anđelinović, Š.** Population Genetic Analysis of Haplotypes Based on 17 Short Tandem Repeat Loci on Y Chromosome in Population Sample from Eastern Croatia. *Croat. Med. J.* 51, 202–208 (2010).
49. **Kayser, M. et al.** Y Chromosome STR Haplotypes and the Genetic Structure of U . S . Populations of African , European , and Hispanic Ancestry Y Chromosome STR Haplotypes and the Genetic Structure of U . S . Populations of African , European , and Hispanic Ancestry. *Genome Res.* 624–634 (2003). doi:10.1101/gr.463003
50. **McElreavey, K.** *The Genetic Basis of Male Infertility*. 28, (Springer Berlin Heidelberg, 2000).
51. **Rao, E. et al.** Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat. Genet.* 16, 54–63 (1997).
52. **Lau, Y. F.** Gonadoblastoma, testicular and prostate cancers, and the TSPY gene. *Am. J. Hum. Genet.* 64, 921–927 (1999).
53. **Sauter, G. et al.** Y chromosome loss detected by FISH in bladder cancer. *Cancer Genet. Cytogenet.* 82, 163–9 (1995).
54. **de Graaff, W. E. et al.** Loss of the Y-chromosome in the primary metastasis of a male sex cord stromal tumor: pathogenetic implications. *Cancer Genet. Cytogenet.* 112, 21–5 (1999).

55. **Center, R., Lukeis, R., Vrazas, V. & Garson, O. M.** Y chromosome loss and rearrangement in non-small-cell lung cancer. *Int. J. cancer* 55, 390–3 (1993).
56. **Hunter, S., Gramlich, T., Abbott, K. & Varma, V.** Y chromosome loss in esophageal carcinoma: an in situ hybridization study. *Genes. Chromosomes Cancer* 8, 172–7 (1993).
57. **Jobling, M.** Hypervariable digital DNA codes for human paternal lineages: MVR-PCR at the Y-specific minisatellite, MSY1 (DYF155S1). *Hum. Mol. Genet.* 7, 643–653 (1998).
58. **Melez, İ. E.** *Kan Lekesi Üzerinden Adli Genetiğe Giriş: Olay Yerinden Laboratuvara.* (Nobel Tıp Kitabevleri, 2013).
59. **Butler, J.** *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology 1st Edition.* (Academic Press, 2011).
60. **Krausz, C., Quintana-Murci, L. & Forti, G.** Y chromosome polymorphisms in medicine. *Ann. Med.* 36, 573–83 (2004).
61. **Bamshad, M. et al.** Genetic evidence on the origins of {I}ndian case populations. *Genome Res.* 11, 994–1004 (2001).
62. **de Knijff, P. et al.** Chromosome Y microsatellites: population genetic and evolutionary aspects. *Int. J. Legal Med.* 110, 134–49 (1997).
63. **Underhill, P. A. & Kivisild, T.** Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu. Rev. Genet.* 41, 539–64 (2007).
64. **Kayser, M.** Uni-parental markers in human identity testing including forensic DNA analysis. *Biotechniques* 43, Sxxv-Sxxi (2007).
65. **Gettings, K. B., Aponte, R. A., Vallone, P. M. & Butler, J. M.** STR allele sequence variation: Current knowledge and future issues. *Forensic Sci. Int. Genet.* 18, 118–30 (2015).
66. **Urquhart, a, Kimpton, C. P., Downes, T. J. & Gill, P.** Variation in short tandem repeat sequences--a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *Int. J. Legal Med.* 107, 13–20 (1994).
67. **Butler, J. M. & Hill, C. R.** Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Useful for Forensic DNA Analysis. *Forensic Sci. Rev.* 24, 15–26 (2012).
68. **Altun, A.** Çukurova Yöresinde HUMVWA Lokusu Allel Frekans Dağılımı. (1999).
69. **Prahlow, J.** Forensic pathology for police, death investigators, attorneys, and forensic scientists. *Forensic Pathol. Police, Death Investig. Atty. Forensic Sci.* 1–632 (2010). doi:10.1007/978-1-59745-404-9
70. **Gill, P. et al.** Considerations from the European DNA profiling group (EDNAP) concerning STR nomenclature. *Forensic Sci. Int.* 87, 185–92 (1997).
71. **Kayser, M.** Forensic use of Y - chromosome DNA : a general overview. *Hum. Genet.* 136, 621–635 (2017).
72. **Ruano G, Brash DE, K. K.** *PCR: The first few cycles.* (2014).
73. **Holt, C. L. et al.** TWGDAM validation of AmpFISTR PCR amplification kits for forensic DNA casework. *J. Forensic Sci.* 47, 66–96 (2002).

74. **Prinz, M., Ishii, A., Coleman, A., Baum, H. J. & Shaler, R. C.** Validation and casework application of a Y chromosome specific STR multiplex. *Forensic Sci. Int.* 120, 177–88 (2001).
75. **Calacal, G. C. et al.** Identification of exhumed remains of fire tragedy victims using conventional methods and autosomal/Y-chromosomal short tandem repeat DNA profiling. *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 26, 285–91 (2005).
76. **Dekairelle, A. F. & Hoste, B.** Application of a Y-STR-pentaplex PCR (DYS19, DYS389I and II, DYS390 and DYS393) to sexual assault cases. *Forensic Sci. Int.* 118, 122–5 (2001).
77. **Shewale, J. G., Sikka, S. C., Schneida, E. & Sinha, S. K.** DNA profiling of azoospermic semen samples from vasectomized males by using Y-PLEX 6 amplification kit. *J. Forensic Sci.* 48, 127–9 (2003).
78. **Roewer, L. et al.** Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Hum. Genet.* 116, 279–291 (2005).
79. The Innocence Project. Available at: www.innocenceproject.org.
80. **Kayser, M. & de Knijff, P.** Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nat. Rev. Genet.* 12, 179–92 (2011).
81. **Kayser, M. et al.** Melanesian and Asian origins of Polynesians: mtDNA and Y chromosome gradients across the Pacific. *Mol. Biol. Evol.* 23, 2234–44 (2006).
82. **Mohyuddin, A. et al.** Y-chromosomal STR haplotypes in Pakistani populations. *Forensic Sci. Int.* 118, 141–6 (2001).
83. **Hedman, M., Pimenoff, V., Lukka, M., Sistonen, P. & Sajantila, A.** Analysis of 16 Y STR loci in the Finnish population reveals a local reduction in the diversity of male lineages. *Forensic Sci. Int.* 142, 37–43 (2004).
84. **Gayden, T. et al.** Y-STR diversity in the Himalayas. *Int. J. Legal Med.* 125, 367–75 (2011).
85. **Xue, Y. et al.** Recent spread of a Y-chromosomal lineage in northern China and Mongolia. *Am. J. Hum. Genet.* 77, 1112–6 (2005).
86. **Kayser, M. et al.** Reduced Y-chromosome, but not mitochondrial DNA, diversity in human populations from West New Guinea. *Am. J. Hum. Genet.* 72, 281–302 (2003).
87. **Oota, H., Settheetham-Ishida, W., Tiwawech, D., Ishida, T. & Stoneking, M.** Human mtDNA and Y-chromosome variation is correlated with matrilineal versus patrilineal residence. *Nat. Genet.* 29, 20–1 (2001).
88. **Zerjal, T. et al.** The Genetic Legacy of the Mongols. *Am. J. Hum. Genet.* 72, 717–721 (2003).
89. **Goedbloed, M. et al.** Comprehensive mutation analysis of 17 Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms included in the AmpFSTR® Yfiler® PCR amplification kit. *Int. J. Legal Med.* 123, 471–482 (2009).
90. **Gettings, K. B. et al.** STRSeq: A catalog of sequence diversity at human identification Short Tandem Repeat loci. *Forensic Sci. Int. Genet.* 31, 111–117 (2017).
91. **Benson, D. A. et al.** GenBank. *Nucleic Acids Res.* 41, 36–42 (2013).
92. No Title. Available at: ftp://ftp.cephb.fr/hgdp_supp9/markers-sup9.txt. (Accessed: 17th November 2017)

93. **D'Amato, M. E., Ehrenreich, L., Cloete, K., Benjeddou, M. & Davison, S.** Characterization of the highly discriminatory loci DYS449, DYS481, DYS518, DYS612, DYS626, DYS644 and DYS710. *Forensic Sci. Int. Genet.* 4, 104–110 (2010).
94. **Willard, J. M., Lee, D. A. & Holland, M. M.** Recovery of DNA for PCR amplification from blood and forensic samples using a chelating resin. *Methods Mol. Biol.* 98, 9–18 (1998).
95. **Phillips, K., McCallum, N. & Welch, L.** A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100 and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated). *Forensic Sci. Int. Genet.* 6, 282–285 (2012).
96. **Castella, V., Dimo-Simonin, N., Brandt-Casadevall, C. & Mangin, P.** Forensic evaluation of the QIAshredder/QIAamp DNA extraction procedure. *Forensic Sci. Int.* 156, 70–3 (2006).
97. **Greenspoon, S. A. et al.** Application of the BioMek 2000 Laboratory Automation Workstation and the DNA IQ System to the extraction of forensic casework samples. *J. Forensic Sci.* 49, 29–39 (2004).
98. **Montpetit, S. A., Fitch, I. T. & O'Donnell, P. T.** A simple automated instrument for DNA extraction in forensic casework. *J. Forensic Sci.* 50, 555–63 (2005).
99. **Moss, D., Harbison, S. A. & Saul, D. J.** An easily automated, closed-tube forensic DNA extraction procedure using a thermostable proteinase. *Int. J. Legal Med.* 117, 340–9 (2003).
100. **Greenspoon, S. A., Scarpetta, M. A., Drayton, M. L. & Turek, S. A.** QIAamp spin columns as a method of DNA isolation for forensic casework. *J. Forensic Sci.* 43, 1024–30 (1998).
101. **Vandenberg, N. & van Oorschot, R. A. H.** Extraction of human nuclear DNA from feces samples using the QIAamp DNA Stool Mini Kit. *J. Forensic Sci.* 47, 993–5 (2002).
102. **Sweet, D., Lorente, M., Valenzuela, A., Lorente, J. A. & Alvarez, J. C.** Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method. *Forensic Sci. Int.* 83, 167–77 (1996).
103. **Nicklas, J. A. & Buel, E.** Quantification of DNA in forensic samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 376, 1160–7 (2003).
104. **Date, E. et al.** Quality Assurance Standards for Forensic. (2011).
105. **Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N. & Skakkebaek, N. E.** Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 305, 609–13 (1992).
106. **Thormann, W., Molteni, S., Caslavská, J. & Schmutz, A.** Clinical and forensic applications of capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 15, 3–12 (1994).
107. **Günel, T.** Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. *Turkiye Klin.* 27, 763–767 (2007).
108. **Mullis, K. et al.** Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 51 Pt 1, 263–73 (1986).
109. **Boehnke, M., Arnheim, N., Li, H. & Collins, F. S.** Fine-structure genetic mapping of human chromosomes using the polymerase chain reaction on single sperm: experimental design considerations. *Am J Hum Genet* 45, 21–32 (1989).
110. **Li, H., Cui, X. & Arnheim, N.** Direct electrophoretic detection of the allelic state of single DNA molecules in human sperm by using the polymerase chain reaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 4580–4 (1990).

111. **Li, H. H. et al.** Amplification and analysis of DNA sequences in single human sperm and diploid cells. *Nature* 335, 414–7 (1988).
112. **Alghafri, R., Goodwin, W., Ralf, A., Kayser, M. & Hadi, S.** A novel multiplex assay for simultaneously analysing 13 rapidly mutating Y-STRs. *Forensic Sci. Int. Genet.* 17, 91–98 (2015).
113. **Ballantyne, K. N. et al.** Toward Male Individualization with Rapidly Mutating Y-Chromosomal Short Tandem Repeats. *Hum. Mutat.* 35, 1021–1032 (2014).
114. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=390a728a-e6fc-43f7-bf59-b12091cc4380&lang=en>. Available at: <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=390a728a-e6fc-43f7-bf59-b12091cc4380&lang=en>. (Accessed: 11th July 2018)
115. **Hobbs, J. P. A., Herwerden, L. van, Jerry, D. R., Jones, G. P. & Munday, P. L.** High genetic diversity in geographically remote populations of endemic and widespread coral reef angelfishes (genus: *Centropyge*). *Diversity* 5, 39–50 (2013).
116. **Lee HY, Chung U, Park MJ, Yoo JE, Lee HY, Shin KJ, Cho SH, Y. W.** Haplotypes and mutations of 17 Y-STR loci from Korean father-son pairs. *Korean J Leg Med.* 29, 163–180 (2005).
117. **Snyder, H. N.** Sexual assault of young children as reported to law enforcement: Victim, incident, and offender characteristics (NCJ 182990). *Bur. Justice Stat.* 1–14 (2000).
118. **Zhang, W. et al.** Haplotype diversity of 13 RM Y-STRs in Chinese Han population and an update on the allele designation of DYF403S1. *Forensic Sci. Int. Genet.* 23, e1–e9 (2016).
119. **Marchi, D. M. & Gaetano, D. C.** Development of an Italian RM Y-STR haplotype database: results of the 2013 GEFI collaborative exercise. (2014). doi:10.1016/j.fsigen.2014.10.008
120. **Adnan, A., Ralf, A., Rakha, A., Kousouri, N. & Kayser, M.** Improving empirical evidence on differentiating closely related men with RM Y-STRs: A comprehensive pedigree study from Pakistan. *Forensic Sci. Int. Genet.* 25, 45–51 (2016).
121. **Lee, E. Y. et al.** A multiplex PCR system for 13 RM Y-STRs with separate amplification of two different repeat motif structures in DYF403S1a. *Forensic Sci. Int. Genet.* 26, 85–90 (2017).
122. No Title. Available at: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4484678>.
123. **Butler, J. M. & Schoske, R.** Forensic value of the multicopy Y-STR marker DYS464. *Int. Congr. Ser.* 1261, 278–280 (2004).
124. **Butler, J. M., Decker, A. E., Kline, M. C. & Vallone, P. M.** Chromosomal duplications along the Y-chromosome and their potential impact on Y-STR interpretation. *J. Forensic Sci.* 50, 853–9 (2005).
125. **Bailey, J. A. & Eichler, E. E.** Primate segmental duplications: Crucibles of evolution, diversity and disease. *Nat. Rev. Genet.* 7, 552–564 (2006).
126. **Jacewicz, R. et al.** Non-exclusion paternity case with a triple genetic incompatibility. *Int. Congr. Ser.* 1261, 511–513 (2004).
127. **Sun, H. Y., Li, H. X., Zeng, X. P., Ren, Z. & Chen, W. J.** A paternity case with mutations at three CODIS core STR loci. *Forensic Sci. Int. Genet.* 6, e61–e62 (2012).
128. **Jobling, M. A.** In the name of the father: Surnames and genetics. *Trends Genet.* 17, 353–357 (2001).

ÖZGEÇMİŞ

Mustafa Ürün Ay, 1991 yılında Adana'da dünyaya gelmiştir. İlköğretimi Adana'da Başkent Üniversitesi Özel Başkent Okulları'nda, lise öğretimini ise İstek Vakfı Özel Değişim Okulları'nda tamamladıktan sonra 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Biyolog olarak mezun olmuştur. 2015 yılının Eylül ayında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Adli Tıp Anabilim Dalında Adli Tıp Yüksek Lisans Programına başlamıştır. Çok iyi derecede İngilizce bilmektedir.

Toplantı/Kongre/Kurs Katılımı

- 14. Adli Bilimler Kongresi – Çeşme, İzmir, Türkiye 11-14 Mayıs 2017
Sözlü Sunum: Heteropaternal ikiz kardeşlik: Bir olgu sunumu
Poster: Erken Dönem (5 Hafta + 5 Günlük) Abortusta DNA Analizi: Bir Olgu Sunumu
- 8th International Conference on Legal Medicine, Medical Negligence and Litigation in Medical Practice & 8th International Conference on Current Trends in Forensic Sciences, Forensic Medicine & Toxicology, Agra, Hindistan, 29 Eylül- 1 Ekim 2017
Poster: The Forensic Usage of Y Chromosome: Advantages, Disadvantages and Recent Developments
- 21st Triennial Meeting of The International Association of Forensic Sciences 2017, Toronto, Ontario, Canada, 21-25 Ağustos 2017
Poster: RNA/ DNA Co-Isolation and Differential Extraction of Sperm Cells in Mix Samples.
- Kan Lekesi Modelleme Analizi Eğitimi – Türkiye'nin Olay Yeri İnceleme Kapasitesinin Arttırılması Projesi (TR 13 IB JB 04) – Jandarma ve Sahil Güvenlik Akademisi, Ankara, 13-17 Şubat 2017
- XIII.Çukurova Bölgesel Adli Tıp ve Adli Tıp Uzmanları Derneği Eğitim Toplantısı, Temel ve Güncel Adli Antropoloji Kursu, 1 Nisan 2017