

**T.C.**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA**  
**ADLİ TIP ve ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**Danışman**  
**Dr. Öğretim Üyesi Özlem Bülbül Ercan**

**BEKLETİLEREK ESKİTİLMİŞ KAN ÖRNEKLERİNDE IRISPLEX SİSTEMİNİN  
STABİLİTESİNİN İNCELENMESİ**

**FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MOL. BİY. DİLARA DEVRANOĞLU**  
**İSTANBUL, 2019**

İstanbul, 5 Temmuz 2019

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
ADLİ TIP ve ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ  
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 36.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın yüksek lisans öğrencisi Dilara DEVRANOĞLU'nun

"Bekletilerek Eskitilmiş Kan Örneklerinde Irisplex Sisteminin Stabilitesinin İncelenmesi"

Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

Yukarıda adı geçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.

  
Prof. Dr. Burçak VURAL  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Ümit Naci GÜNDOĞMUŞ  
Üye

  
Doç. Dr. Gökhan ERSOY  
Üye

  
Dr. Öğr. Üyesi Özlem BÜLBÜL  
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TÜRKMEN  
Üye



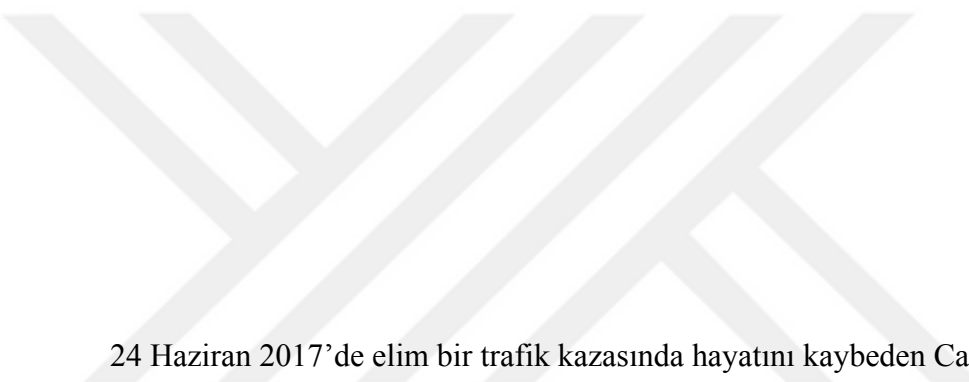
**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dilara DEVRANOĞLU

Bu tez projesi İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 41343



24 Haziran 2017’de elim bir trafik kazasında hayatını kaybeden Can Abimiz  
Prof. Dr. Can Solakoğlu’nun değerli anısına,

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>İÇİNDEKİLER</b>	vi
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	viii
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	ix
<b>SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ</b>	x
<b>1.ÖZET</b>	1
<b>2.SUMMARY</b>	3
<b>3.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	4
<b>4.GENEL BİLGİLER</b>	7
<b>4.1 Adli Amaçlı DNA Analiz Yöntemlerinin Gelişimi</b>	7
<b>4.2 Adli Bilimlerde SNP Belirteçlerinin Kullanımı</b>	9
<b>4.3 Adli Bilimlerde Kullanılan Fenotip ile İlgili SNP Markırları</b>	11
<b>4.4 İnsan Pigmentasyonu</b>	13
<b>4.4.1. Melanin</b>	13
<b>4.4.2. Genotip fenotip ilişkisi ve insan göz rengi</b>	18
<b>4.4.3. Göz rengi ile ilişkili genler ve özellikleri</b>	20
<b>4.4.4. SLC45A2 geni</b>	21
<b>4.4.5. OCA2 geni</b>	22
<b>4.4.6. HERC2 geni</b>	23
<b>4.4.7. Göz rengi tahmini ve IRISPLEX</b>	25
<b>4.5 SNP Analiz Yöntemleri</b>	28
<b>4.5.1. Minisekanslama yöntemi: SNaPshot™ (Thermo Fisher Scientific)</b>	29
<b>4.6 DNA Hasarı</b>	31
<b>4.6.1. DNA hasarı oluşum nedenleri</b>	31
<b>4.6.2. DNA hasarına neden olan çevresel etkenler</b>	31
<b>4.6.3. DNA hasarı tipleri</b>	32
<b>4.7 Ultraviyole Işık Türleri ve Zararlı Etkileri</b>	33
<b>4.7.1. Ultraviyole ışığın DNA'ya etkisi</b>	34
<b>5.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	37
<b>5.1 DNA İzolasyonu</b>	39
<b>5.2 UV Degredasyonu</b>	41
<b>5.3 DNA Miktarının Belirlenmesi</b>	42
<b>5.4 Multipleks PCR Aşaması</b>	43
<b>5.4.1. Primer dizaynı</b>	43
<b>5.4.2. PCR primer karışımının hazırlanması</b>	43
<b>5.4.3. PCR bileşenlerinin hazırlanması</b>	43
<b>5.4.4. PCR ürünlerinin saflaştırılması</b>	44
<b>5.5 Minisekanslama (SNaPshot™ Reaksiyonu)</b>	45
<b>5.5.1. Minisekanslama ürünlerinin saflaştırılması</b>	46
<b>5.5.2. Saflaştırılmış minisekanslama ürünlerinin elektroforezi ve değerlendirme</b>	46
<b>5.6 Verilerin Analizi ve Değerlendirilmesi</b>	47
<b>5.7 İstatistiksel Analiz</b>	47
<b>6.BULGULAR</b>	49
<b>6.1 Optimizasyon Çalışmaları</b>	49
<b>6.2 Kişilerin Genotiplerinin Belirlenmesi</b>	59
<b>6.3 Göz Rengi Tahmini ve İstatistiksel Analiz</b>	60

<b>7.TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	65
<b>8.KAYNAKLAR</b>	83
<b>9.EKLER</b>	89
<b>Ek 1. Bilgilendirilmiş Olur Formu</b>	89
<b>Ek 2. Etik Kurul Onayı</b>	92
<b>10.ÖZGEÇMİŞ</b>	94



**TABLULAR LİSTESİ**

	<b>Sayfa</b>
Tablo 4.1 Floresans boya ile işaretli ddNTP'ler	30
Tablo 5.1 Deneyle İçin Kullanılan Bütün Kit ve Kimyasallar	39
Tablo 5.2 DNA İzolasyonu Nanodrop Miktar Tayini Sonuçları	42
Tablo 5.3 Göz rengine ait bilgi veren 6 IRISPLEX markırının Birinci PCR primerlerinin listesi	43
Tablo 5.4 Birinci PCR bileşenleri ve miktarları(Multipleks)	44
Tablo 5.5 Birinci PCR döngü koşulları	44
Tablo 5.6 Minisekanslama primerleri ve uzunlukları	45
Tablo 5.7 GeneScan E5 modül parametreleri	46
Tablo 6.1 Altı SNP'nin (IRISPLEX) beklenen ve gözlenen büyüklükleri	50
Tablo 6.2 Bütün çalışılan örneklere ait elde edilen genotip tablosu	60
Tablo 6.3 Altı SNP markırı ile Türkiye popülasyonuna ait örneklerin IRISPLEX programıyla göz rengi tahmini analiz sonuçları	62



## ŞEKİLLER LİSTESİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.1 Nesilden nesile SNP aktarımı	10
Şekil 4.2 Bir melanosit hücresi	15
Şekil 4.3 Gözde iris, pupil ve scleranın konumu	19
Şekil 4.4 SLC45A2 Geninin 5. kromozomdaki yerleşimi	21
Şekil 4.5 OCA2 Geninin 15. kromozomdaki yerleşimi	22
Şekil 4.6 OCA2 ve HERC2 Genlerinin 15. kromozomdaki yerleşimi	24
Şekil 4.7 Walsh ve ark. göre kahve ve mavi göz renginin 6 SNP markırı ile belirlenmesi	27
Şekil 4.8 SNaPshot™ reaksiyonunun şematik gösterimi	30
Şekil 5.1 Örnek bir analiz sayfası( <a href="https://hirisplex.erasmusmc.nl/">https://hirisplex.erasmusmc.nl/</a> )	48
Şekil 6.1 9947A kodlu pozitif kontrol ile çalışılan lokusların elektroforegram görüntüsü	50
Şekil 6.2 D01 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	52
Şekil 6.3 D02 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	53
Şekil 6.4 D03 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	54
Şekil 6.5 D04 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	55
Şekil 6.6 D05 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	56
Şekil 6.7 D06 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	57
Şekil 6.8 D07 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	57
Şekil 6.9 D08 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	58
Şekil 6.10 D09 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	58
Şekil 6.11 D10 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri	59

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

<b>A</b>	Adenin
<b>AUC</b>	Area Under the Curve
<b>bç</b>	Baz Çifti
<b>C</b>	Sitozin
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>dNTP</b>	Deoksiribonükleozidtrifosfat
<b>ddNTP</b>	Dideoksiribonükleozidtrifosfat
<b>EDTA</b>	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
<b>EXO</b>	E.Coli Ekzonükleaz
<b>g</b>	Gram
<b>G</b>	Guanin
<b>HERC2</b>	Hect Domain and RCC-1 Like Domain Containing Protein 2
<b>mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mtDNA</b>	Mitokondriyal DNA
<b>NGS</b>	Yeni Nesil Dizileme
<b>nm</b>	Nanometre
<b>OCA2</b>	Oculocutaneous Albinism II
<b>PCR</b>	Polimerik Zincir Reaksiyonu
<b>RFLP</b>	Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
<b>rpm</b>	Dakikadaki Devir
<b>SAP</b>	Karides Alkalın Fosfataz
<b>SBE</b>	Tek Baz Uzama
<b>SLC45A2</b>	Çözünür Taşıyıcı Aile 45, Üye 2
<b>SNP</b>	Tek Nükleotit Polimorfizmi
<b>STR</b>	Kısa Tekrar Dizinleri
<b>T</b>	Timin
<b>TYR</b>	Tirozinaz
<b>TYRP1</b>	Tirozinaz Bağlı Protein 1
<b>TYRP2</b>	Tirozinaz Bağlı Protein 2
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>UVA</b>	Ultraviyole-A
<b>UVB</b>	Ultraviyole-B
<b>UVC</b>	Ultraviyole-C
<b>VNTR</b>	Değişken Sayılarda Ardışık Tekrar Dizinleri
<b>µl</b>	Mikrolitre

## 1. ÖZET

Tek Nükleotit Polimorfizmleri (SNP) insan genomunda en fazla bulunan genetik işaretlerdir. SNP'lerin rutin adli genetik çalışmalarında yaygın olarak kullanılan mikrosatellitlere göre çok düşük mutasyon oranına sahip olması ve analiz edilen bölgenin kısa ampikonlar olması aşırı derecede bozulmuş DNA örneklerinden DNA profilinin belirlenmesini mümkün kılmaktadır (Carracedo A., Sánchez-Diz P, 2005). Kişilerin görülebilir karakteristik özelliklerinin DNA aracılığı ile anlaşılabilmesinin adli bilimlerde kullanımı artmakta ve gelecekte rutin tanılarının arasına girmesi öngörülmektedir. Bu çalışmada, 5 yıl bekletilmiş kan lekelerinden izole edilen DNA ve 30 ve 60 dakika süre ile UV degradasyonuna uğratılmış DNA örnekleri kullanılarak göz rengini yaklaşık %90 oranında belirleyebilen 6 SNP (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350, rs12203592) ile kişilerin göz rengi analiz edilmiştir. Göz rengi tahmininde, <https://hirisplex.erasmusmc.nl/> sitesindeki multinominal lojistik regresyon model istatistiğine dayanan IRISPLEX Sistemi kullanılmıştır. Çalışmada gerekli izin ve bilgilendirilmiş onam formu onayları alınan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 10 kişiden ağız içi sürüntü ve kan örnekleri toplanmıştır. Bütün SNP markırları primer uzama temeline dayanan minisekanslama reaksiyonu ile belirlenmiştir. Reaksiyonun gerçekleşmesinde gerekli olan floresans deteksiyonu için SNaPshot™ Multiplex Kit kullanılmıştır. IRISPLEX analizi sonuçlarına göre; 5 yıl bekletilmiş ve degradasyona uğramış 10 örnekten 4'ünde alel ve lokus kaybı gözlemlenmiştir. UV degradasyonuna uğratılmış 5 örneğin 2'sinde alel kaybı gözlemlenmiştir. Diğer örneklerde herhangi bir alel ve lokus kaybı olmamıştır,

kişilerin genotip sonuçları ile göz renkleri başarıyla tahmin edilmiştir. Yapılan araştırma, yapay olarak degrade edilmiş DNA örneklerinden yüksek oranda doğru bir şekilde göz rengi tahmin edilebileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Adli Genetik, Adli Bilimler, SNP, Göz rengi, IRISPLEX



## 2. SUMMARY

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are the most present genetic markers in the human genome. The short SNP amplicon sizes are particularly useful for analysis of DNA from extremely degraded biological samples. (SNPs) can be used in the field of forensics for predicting the externally visible characteristics of a given individual based on a sample of DNA alone. This is a potentially useful tool to guide criminal investigations. In this study we tested artificially degraded DNA samples to determine accuracy of the prediction of the eye color with IRISPLEX system; a SNaPshot™ based multiplex assay based on 6 SNPs (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350, rs12203592). We used 5 years old degraded blood stains and UV degraded DNA samples (30 min to 1 hour). PCR and electrophoresis conditions were applied according to the protocol recommended by Walsh et al. (2011). Multinomial logistic regression model statistics used for eye color prediction, by using statistical approach's online portal (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>). However, allele and locus drop-out were observed 4 out of 10 in 5 years old degraded DNA samples. Of the 5 samples subjected to UV degradation, alleles were drop-out in only 2 samples. The correct calculation could not be performed in 2 of 4 samples with drop-out of allele and locus in IRISPLEX system. The rest of the the IRISPLEX analysis was successfully estimated for blue and brown eye colors. This preliminary study showed that the prediction of the eye color is highly accurate in the artificially degraded DNA samples.

**Key Words :** Forensic Genetics, Forensic Science, SNP, Eye color , IRISPLEX

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Bir suçun ispatlanabilmesi, suçlunun belirlenebilmesi ve suçun işlenme biçiminin bilinmesinin önemi hukuki açıdan çok büyüktür. Çoğu adli olayda, olaya ilişkin fiziksel kanıtların yetersiz olması, elde edilen DNA profili şüpheli profili ile eşleşmemesi veya özellikle görgü tanığının ifadesinin, olay sonrasında değişmiş ya da hatalı olarak yeniden yapılmış olması, adli olgularda rastlanabilen bir durumdur. Bunun adli hatalara neden olması kaçınılmazdır [1]. Görgü tanıklığının bile failin dış görünüşünü tanımlamada yetersiz kaldığı durumlar oldukça sık görülür. Bu gibi olaylarda ve görgü tanığının bulunmadığı olaylarda failin dış görünüşünü bilmek şüpheliye ulaşabilmek için önemlidir. Son yıllarda gözle görülebilen fiziki karakterlerin hangi genlerde ifade edildiği buldukça kişinin saç rengi, göz rengi, kel olup olmadığı, saç tellerinin kalınlığı-inceliği, saçlarının düz-dalgalı-kıvrıkcık olup olmadığı, ten rengi, tahmini boy uzunluğu tahmini olarak söylenebilmektedir. Çoğu genin ifadesi çevresel faktörlere ve yaşa bağlı olduğundan bu gen ifadeleri ‘tahmini’ bir şüpheli fotoğrafı verebilir ve failin yakalanabilmesinde kolluk kuvvetlerine kolaylık sağlar. Adli bilimlerde bu tür genetik profillemeye “moleküler görgü tanıklığı” da denilmektedir. SNP’ler genomda tek nükleotit değiştiğinde açığa çıkan DNA dizi değişiklikleridir. Tüm insan genetik değişimlerinin yaklaşık %85’ini oluştururlar. 3.2 Milyon bazlık insan genomu boyunca her 100-300 bazda açığa çıkarlar. dbSNP veri bankasının 2018 verilerine göre insan genomunda 660 milyondan fazla SNP bulunmakta ve bunların 110 milyonu ise valide edilmiş durumdadır. Bir değişimin SNP olarak düşünülebilmesi için, toplumda görülme sıklığının en az %1

olması gerekir. Her 3 SNP'den 2'si sitozinin timine değişimidir. SNP'ler genomun hem kodlama yapan hem de yapmayan bölgelerinde görülmektedir [2]. SNP'ler nesilden nesile çok fazla değişmezler. Bu da onların popülasyon çalışmalarında takip edilmelerini kolaylaştırır, bunun sonucunda moleküler antropoloji, evrim genetiği çalışmaları ve adli araştırmalarda da kullanılmaktadırlar [3]. STR lokuslarına ait PCR (Polimerik Zincir Reaksiyonu) ürünlerinin uzunluğu 300-400 bp arasındadır. Çeşitli ortam koşulları ve bekleme dolayısıyla yüksek derecede degradasyona uğramış materyallerde STR analizi zordur. SNP'ler ise adli çalışmalarda PCR ürün uzunluklarının yaklaşık olarak 150 bp olması nedeniyle avantajlıdır. SNP'ler özellikle olay yerinden az ve degrade olarak gelen biyolojik delillerin (kan lekesi, saç, kemik ve diş gibi) kimliklendirmesinde STR lokusları ile sonuç alınamadığında önemli bir alternatif sistem olarak adli bilimlerde kullanılmaya başlanmıştır [4]. SNP lokuslarını öne çıkaran diğer bir özelliği de kişinin fenotipi (saç, ten ve göz rengi gibi) hakkında bilgi verebilmesidir. Bu nedenle olay yerinde bulunan bir damla kandan şüpheli kişinin fenotipine ilişkin bilgilere ulaşılabilir. Bu fiziksel karakterlerin araştırılması ve adli alanda kullanılması şüpheliye ulaşmada büyük avantajlar sağlar [5]. IRISPLEX göz rengi ile ilgili bilgi veren 6 SNP (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350, rs12203592) markırını ve istatistiksel tahmin yöntemini içeren bir sistemdir. IRISPLEX sistemi oluşturulurken, Avrupa'da 6168 kişi üzerinde yapılan araştırmalar sonucu, göz rengi ile alakalı 6 farklı genden 6 SNP tespit edilmiştir. Bu SNP'ler mavi ve kahverengi göz rengini %90'ın üzerinde tahmin başarısıyla ayırabilmeyi sağlamaktadır. IRISPLEX doğal afet, yanlış-yalan görgü tanıklığı, kayıp

insan kimliklendirme ve görgü tanığı bulunmayan adli olaylarda kişilerin fenotipik özelliklerinden göz renginin belirlenmesini sağlar. Böylece kişinin fenotipik özelliklerinden yola çıkılarak şüpheli havuzu daraltılabilir [6]. Ayrıca IRISPLEX 31 pg DNA varlığında bile bütün genotipleri verebilen hassas bir multipleks sistemdir. Bu sistem ile degradasyona uğramış DNA örneklerinde de sonuç alınabilir [7]. Bu çalışmanın amacı, oda koşullarında 5 yıl bekletilmiş kan lekesi örneklerinde ve UV ışınına maruz bırakılmış DNA örneklerinde; göz rengini %90 oranında belirleyebilen IRISPLEX 6 SNP lokusunda stabilitenin korunup korunamadığını belirlemek ve degradasyonun göz rengi tahmini üzerindeki etkilerini saptamaktır.



## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1 Adli Amaçlı DNA Analiz Yöntemlerinin Gelişimi

Bir kişinin tanınmasını ve diğer kişilerden ayırt edilebilmesini sağlayan kişiye ait bütün özelliklere 'kimlik' denir. Kişiler fiziki özellikleri dışında vücut dokuları ile de kendine özgüdür. Yaş, cinsiyet, kilo, parmak izi, kemik yapısı, diş yapısı, saç rengi, ten rengi, göz rengi gibi özellikler kişinin tıbbi kimliğini oluşturan özelliklerin başlıcalarıdır. Kişiler genetik işaretlerle birbirlerinden ayrılırlar. Bir kan lekesinin veya herhangi bir vücut sıvısının kime ait olduğunun belirlenmesine kişileştirme (individualizasyon) denir. Tıbbi kimlik kişilerin vücut özelliklerinin tümünün değerlendirilmesi sonucu ortaya çıkan kimliktir. Boy, vücut ağırlığı, cinsiyet, yüz yapısı, ameliyat/yara-yanık izleri, deri lekeleri, dövmeler, sünnet, diş yapısı, saç rengi, ten rengi, göz rengi gibi özellikler kişinin tıbbi kimliğinin tanımlanması yapılırken ayrıntılı olarak incelenen fiziksel özelliklerdir [8]. 1953'de DNA'nın keşfi ve bunun sonrasında 1960 ve 1970'lerde Restriksiyon enzimlerinin bulunması ve Sanger sekanslama gibi moleküler biyoloji alanında yaşanan gelişmeler DNA dizilerinin araştırılmasına olanak sağlamıştır. 1984 yılında Alec Jeffreys, VNTR dizilerinin adli vakalarda kullanılabileceğini keşfetmiştir. VNTR'ler DNA'nın orta sıklıkta tekrarlanan dizilerindedir. İnsan genomunun yaklaşık %5'ini oluştururlar. Bu tekrarlanan DNA dizileri, 15 veya 100 baz çifti uzunluğunda ve genlerin içinde ya da arasında olabilir. Bu tür yapılanmalar DNA kümeleri biçiminde genom boyunca dağılmıştır ve bunlara minisatellit adı verilir. Her bir bölgedeki özgül DNA dizilerinin tekrar sayıları kişilerde farklılık gösterir ve 1000-5000 baz çifti (1-5kb)

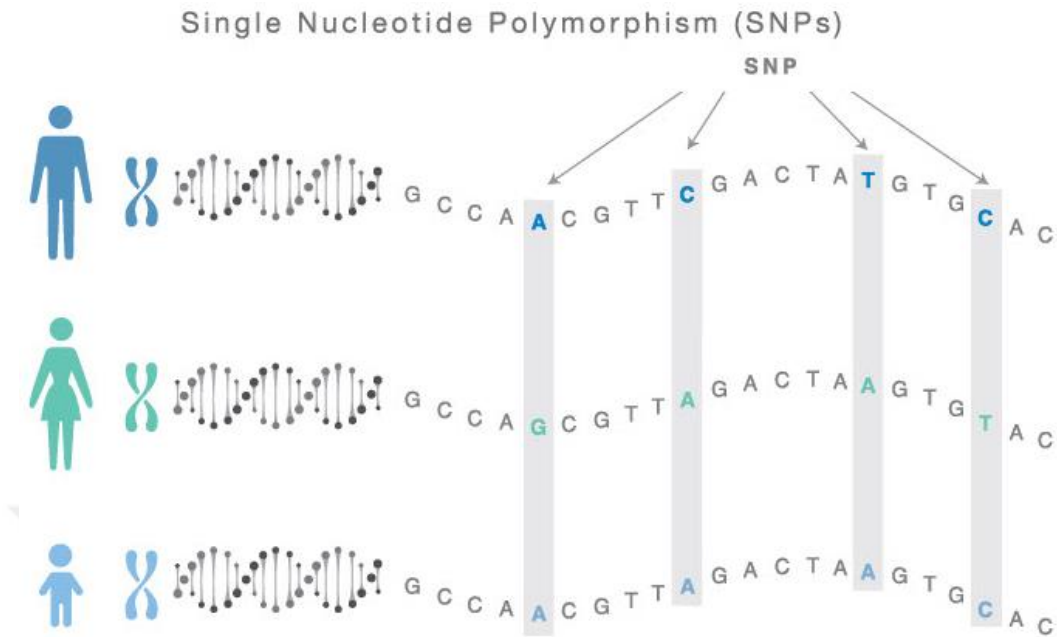
uzunluğundaki bir bölgeyi kapsar. İnsanlarda bu bölgelerin uzunluklarındaki farklılık, DNA parmakizi adı verilen tekniğin temelini oluşturur. VNTR ile kimliklendirme RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms-Sınırlı Parçacık Uzunluk Polimorfizmi) analizi ile yapılmıştır [9]. RFLP'lerin saptanması, Southern blotting denilen özel bir hibritleşme yöntemine dayanır [10]. Her bir bölge için düzinelere farklı alelin varlığına bağlı olarak, heterozigotluk oranı çok yüksek olmaktadır. DNA parmakizi, 1988'de Amerika Birleşik Devletleri'nde, suç davalarında delil olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fakat çok fazla DNA örneği gerekmesi, degrade DNA ile analizlerin yapılamaması, laboratuvarlar arası mukayesenin zor olması ve analizlerin uzun sürmesi gibi VNTR analizinin bu sınırlamaları yerini 1983 yılında Kary Mullis'in DNA'nın belirli bölgelerinin çok sayıda çoğaltılabildiği PCR temelli yöntemlere bırakmıştır. Kary Mullis buluşu ile 1993 yılında Kimya alanında Nobel ödülü kazanmıştır. PCR tekniğinin bulunmasından sonra adli genetik alanında VNTR'ler yerini STR'lere bırakmıştır. 1980 ve sonrasında VNTR, PCR, STR, mtDNA ve 2001'de keşfedilen SNP'ler adli kimliklendirmede kullanılmaya başlanmıştır [2].

Yeni nesil dizileme (NGS) teknolojilerinin ortaya çıkması genetik araştırmanın yapılma şeklini hızlı bir şekilde değiştirmiştir. Günümüzde, NGS ile Sanger dizileme yöntemine göre daha fazla DNA bölgesi ve hatta tüm genom dizi analizleri neredeyse 1 haftadan kısa sürede giderek artan hız ve azalan maliyetlerle yapılmaktadır. Yeni nesil dizileme (NGS) yöntemlerinin kullanımı son 10 yılda artmıştır ve alınan sonuçların kalitesi, insanların klinik genetik teşhislerinde NGS'nin kullanıldığı bir

seviyeye ulaşmıştır. Adli genetik laboratuvarları da NGS teknolojilerini araştırmış ve özellikle de 2014 yılında konferanslarda NGS'nin adli genetik araştırmalarda kullanımını hakkında bilimsel makale ve sunum sayısında büyük bir artış olmuştur. Bu bilgiler bize NGS'nin adli genetik vaka çalışması için yeni olanaklar sunduğunu göstermiştir. NGS ile günümüzde kullanılan standart PCR yöntemleriyle eşzamanlı olarak analiz edilemeyen işaretleyicilerin (STR, SNP, insersiyon/delesyonlar) kombinasyonları analiz edilerek tek bir deneyle daha fazla bilgi elde edilebilir. Ayrıca; NGS ile temel adli STR lokuslarındaki gerçek varyasyon ortaya çıkarılmış ve önceden bilinmeyen STR alelleri keşfedilmiştir. Detaylı dizi bilgisi, karışım örneklerin yorumlanmasına yardımcı olabilecek ve kanıtların istatistiksel ağırlığını artıracaktır [11].

#### **4.2 Adli Bilimlerde SNP Belirteçlerinin Kullanımı**

SNP'ler (Tek Nokta Polimorfizmi) STR'lerden daha düşük mutasyon oranına sahip olması, az miktardaki ve degrade örneklerden çalışma yapılabilmesi üstünlükleri ile adli genetik alanında kullanılmaya başlanmıştır [12]. SNP'ler tek bazda görülen nokta mutasyonlarıdır. Yani bir baz çiftinin yerine başka bir baz çiftinin gelmesidir. SNP'ler transisyonlar (bir pürin bazının (A,G) diğer bir pürin bazına veya bir pirimidin bazının (C,T) diğer bir pirimidin bazına değişmesi) ve transversiyonlar (bir pürin bazının bir pirimidin bazına ya da bir pirimidin bazının bir pürin bazına değişimi) sonucu oluşmaktadırlar [2].



**Şekil 4.1** Nesilden nesile SNP aktarımı (şematik gösterim) (<https://www.natera.com/science-informatics>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

SNP'ler insan genomunda en sık bulunan genetik varyasyonlardır. Bir genetik varyasyonun polimorfizm olarak tanımlanabilmesi için bir popülasyondaki sıklığının en az %1 olması gerekmektedir. İnsan genomunda genler tüm DNA dizisinin çok az bir kısmını kapsamaktadır ve genler arasındaki DNA dizisinin %90'dan fazlası kodlamayan bölge olarak adlandırılmaktadır. İnsan genomunda SNP'ler her 1000 baz çiftinde bir bulunurlar ve birçok SNP protein yapısında ve fonksiyonunda değişikliğe neden olmaz [13]. Son yıllarda yapılan çalışmalarla SNP'lerin tanımlanması, genomda sık bulunmaları ve kararlı bir şekilde dağılım göstermeleri nedenleri ile tercih edilen moleküler belirteç olmuşlardır. Yüksek işlem hacimli genotipleme yöntemlerinin gelişmesi ile bir defada bir kişiye ait milyonun üzerinde SNP genotiplendirilebilir ve ilgili kişinin genom haritası ortaya koyulabilir [14]. SNP'ler nesilden nesile çok fazla değişmezler. Bu da onların popülasyon çalışmalarında takip

edilmelerini kolaylaştırır. Aynı zamanda moleküler antropoloji ve evrim genetiği çalışmalarında olduğu gibi adli araştırmalarda da güvenilir ve önemli bilgi edinilmesine olanak sağlarlar [15].

Adli bilimlerde analiz edilen örnekler çok az kalıp DNA içerdiğinden veya degrade örnekler olması sebebiyle bu alanda çalışan bilim adamlarını yeni yöntemler bulmaya teşvik etmiştir. SNP'ler optimize edilmeye yatkın genetik işaret olmaları ve çoğaltılmaları için gerekli olan dizi uzunluğunun 60-80 baz çifti olması sebebiyle adli bilimler alanında kullanılmaya başlanmıştır. Adli analizler için kullanılan SNP markırları: Identity-testing SNPs (Kimliklendirme amacı ile kullanılan SNP markırları), Lineage informative SNPs (Nesep belirleme amacı ile kullanılan SNP markırları), Ancestry informative SNPs (Soy belirleme amacı ile kullanılan SNP markırları) ve Phenotype informative SNPs (Fenotip ile ilgili SNP markırları)'dır [16]. SNP'ler, ileri derecede parçalanmış DNA örneklerinde kimliklendirme fırsatı yaratması yanında, referans örneğın bulunmadığı durumlarda fenotipik tahmin ile yakın soy ve/veya biyocoğrafik soy tahmini yapmada yardımcı olabilecek bir potansiyele de sahiptir [17].

#### **4.3 Adli Bilimlerde Kullanılan Fenotip ile İlgili SNP Markırları**

Adli DNA Fenotipleme, olay yerinde bulunan biyolojik materyallerden failin veya ölü (kayıp) şahısların görünüm özelliklerinin tahmin edilebilmesini amaçlar. Şu anda insanların pigmentasyon özellikleri, DNA'dan yüksek doğruluk oranlarına sahip bir şekilde zaten tahmin edilebilirken, diğer görülebilen özellikler (boy, kellik durumu, ten rengi) hakkında genetik araştırmalar sürmektedir. Adli DNA Fenotipleme, olay

yerinde bulunan biyolojik materyallerden ya da ölen kişinin kalıntılarında yola çıkılarak potansiyel şüpheli grubunun daraltılmasına olanak sağlar [18]. Bu nedenle, göz rengi tahmini için IRISPLEX DNA test sistemi ve DNA'dan kombine göz ve saç rengi tahmini için HIRISPLEX sistemi geliştirilmiştir [19]. Gelecekte DNA Fenotipleme ile yapılacak olan çalışmalar sayesinde DNA'dan kişinin görünüşüne ilişkin daha ayrıntılı bir profil elde edilebilecek ve bu bilgiler ışığında suçlu ve kayıp kişilerin polis soruşturmalarında kayda değer bir kolaylık sağlanmış olacaktır. Adli olaylarda DNA'dan fenotip bilgilerinin kullanılması 2000'li yılların başında başlamış ve ilk olarak çok yavaş ilerlemiştir. Bunun nedeni, insan fenotiplerinin genetiği hakkında sınırlı olan bilgi birikimidir. Kalıtsal hastalıklar hakkındaki bilgi düzeyi şu an nasıl görüldüğümüze göre daha ileridedir. Tüm görülebilir dış karakterlerden, pigmentasyonu içerenler, iris rengi, saç rengi ve ten rengi varyasyonları, pratik adli DNA fenotiplemenin en iyi örnekleridir. Bu nedenle, pigmentasyon özelliklerinin genetik temelini anlamak şu anda başka görülebilir karakterlerden (örn: boy uzunluğu) daha önemlidir. Göz rengi ile ilgili ilk kapsamlı DNA tahmin çalışması, 2009 yılında Liu ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Yazarlar, daha önceki yayınlardan seçtiği 8 pigmentasyon geninden 37 SNP'yi toplam 6100'den fazla Hollandalı'nın DNA'sını kullanarak elde edilen bilgiler ışığında göz rengi tahmini yapmışlardır. Çalışma sonucunda 3800'den fazla örnekte 8 gen ve 24 SNP'ye dayanan bir göz rengi tahmin modeli geliştirmişler ve modeli 2300'den fazla bağımsız örnekte doğrulamışlardır.

Daha sonrasında, Liu ve arkadaşları göz rengi DNA belirleyicisi olarak 6 pigmentasyon geninden (HERC2 rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350 ve IRF4 rs12203592) 6 SNP önermişlerdir. Bu 6 SNP seti ile, model validasyonu için kullanılan 2300 Hollandalı Avrupalılarda kahverengi için 0.93, mavi için 0.91 ve orta göz rengi için 0.72 olan AUC (Area under the curve) değerlerini elde etmişlerdir. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan göz rengi ile ilgili SNP bölgelerinin seçimi önceki bulgulara dayanmaktadır. Adli bilimlerde kullanılması amacıyla ilk DNA tabanlı göz rengi tahmin sistemi Walsh ve arkadaşları tarafından 2010/2011'de yayınlanmıştır.

Çalışmada güvenilir göz rengi tahmini için olasılık oranının minimum %70 (0,7 eşik değeri) alınmasının gerekli olduğu bu değerinin altındaki olasılık oranlarının “belirsiz” olarak sınıflandırılması gerektiği bildirilmiştir [6], [20]. Liu ve arkadaşları tarafından geliştirilen IRISPLEX sistemi, (HERC2 rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350 ve IRF4 rs12203592) SNP'lerin kullanıldığı, en fazla rastlanan altı göz renginin multipleks genotipleme için kullanılan hassas bir analizdir. IRISPLEX sistemi yaklaşık en az 30 pg DNA ile 6 SNP profilinin sonucunu verebilecek kadar hassastır.

## **4.4 İnsan Pigmentasyonu**

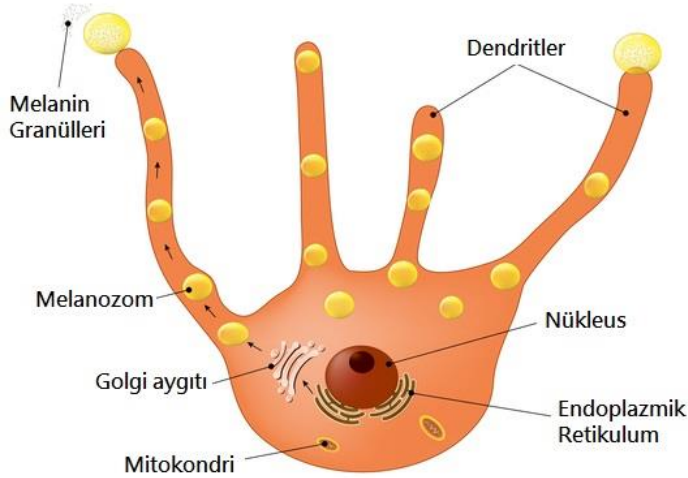
### **4.4.1. Melanin**

Kişilerin dış görünüşleri en kolay şekilde saç ve göz rengi, boyu ve yüz özellikleri tanımlanarak ifade edilir. Pigmentasyon gibi insan fenotipik özellikleri, genomda ya da sadece bir gende meydana gelen tek bir varyasyona bağlı değildir, kişilerdeki

belirli tek nükleotit polimorfizmlerinin (SNP) sayısından etkilenmektedir. Ayrıca DNA metilasyonu ve kopya varyantlar gibi ek genetik varyasyonlar da bu fenotiplerin çeşitliliğine katkıda bulunabilir [21]. Fiziksel bir özellik olan insan göz rengi birden çok genin etkilediği polimorfik bir fenotiptir [22]. Melanin, deride, saçta, göz zarında, beynin bazı bölgelerinde bulunan ve tirozinin yükseltgenmesiyle oluşan koyu renkli bir pigmenttir ve melanozom organelinin içinde bulunur. İnsan pigmentasyonu, melanin pigmentinin miktarı ve tipi ile belirlenir. Günümüzde genetik yapısı en iyi bilinen pigmentasyon varyasyonları göz, saç ve ten rengidir [21]. İnsanların göz rengi çeşitliliği melanin pigmentinin miktarına, türüne, melanozom sayısına ve bu melanozomların dağılımındaki farklılıklara bağlıdır [23],[24].

Melaninin esas görevi ultraviyole (UV) ışınlarını absorbe ederek deriyi UV'nin zararlı etkilerinden korumaktır, 300 nm üstündeki elektromanyetik radyasyonun zararlı etkilerine karşı son derece etkili bir güneş korucuyusudur. Melanin tarafından UV absorpsiyonu ve dolayısıyla koruma, nükleik asit ve proteinlerin hasarının en fazla olduğu kısa dalga boylarında artarken, görülebilir dalga boyunda (400 nm'den büyük) ise azalmaktadır. Melaninin UV ışınını absorbe etme fonksiyonu albino kişilerde gözlenmemektedir. Melanositler deride, gözde retina pigment epiteli ve gözbebeğinin renkli iç zarında, saç matriksinde, mukoza membranında ve santral sinir sisteminde bulunurlar ve melanin üretiminde görev alırlar [25].





**Şekil 4.2** Bir melanosit hücresi

(<https://ghr.nlm.nih.gov/art/large/melanocyte.jpeg>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

Epidermal melanositler ten renginden sorumludur ve epidermisin bazal tabakasındaki dermal ve epidermal tabakalarının arasında bulunur. Melanositler buldukları hücreyi güneşin zararlı radyasyon etkisinden korumaktadırlar. Bu korumanın etkinliğini arttırmak için, özellikle vücudun dış yüzeyini kaplayan epitel hücreleri, melanin bakımından oldukça zengindir. İnsan deri rengi, melanosit sayısına göre değil, feomelanin ve ömelaninin kimyasal bileşimi, büyüklüğü, şekli ve dağılımına göre belirlenir. Saç melanositleri; saç kökünde bulunur ve saç renginin oluşumundan sorumludur. Stromal melanositler; gözün stromasında bulunur ve göz renginin oluşumundan sorumludur. Epidermal ve saç melanositleri ürettikleri melanin pigmentlerini etraflarındaki hücelere transfer ederken, stromal melanositlerin ürettikleri melaninler ise melanosit hücreleri içinde kalır. Stroma melanositleri genellikle 6 yıla kadar melanin üretirler. Daha sonra üretim durur ve göz rengi sabitlenir [26]. İnsan pigmentasyonundaki farklılıkların, genetik olarak

kontrol edilen ömelanin içeriğindeki değişiklikler sonucu olduğu anlaşılmıştır [27],[28]. Melanin biyosentezi, özel post-golgi lizozomal organeli içinde bulunan ve melanositin endoplazmik retikulumundan orijin alan melanozomlarda gerçekleşmektedir [21],[29],[30]. Melanositler yüksek farklılaşma özelliğine sahip dendritik hücrelerdir ve ışık mikroskobu altında saydam görünürler [31],[32].

Melanin oluşumu (melanogenezis), birçok proteinin etkileşimi sonucunda oluşur ve iki yolla gerçekleştirilir. Bu yollarda ömelanin ve feomelanin olmak üzere iki tip melanin üretimi olur. Birinci yolağın sonunda koyu bir pigment (kahverengi-siyah) olan ömelanin diğer yolağın sonunda ise açık renk bir pigment (kırmızı-sarı) olan feomelanin oluşur [22]. Melanin (ömelanin veya feomelanin) biyosentezindeki başlangıç molekülü tirozindir. Vücutta pigment oluşumundan sorumlu enzim Tirozinaz (TYR)'dir. TYR enzimi melanozomda bulunan bir endomembran proteinidir ve melanin sentezine doğrudan katılır. Dolayısıyla melanogenezisi başlatan ve kromozomda 11q14-q21 noktalarında bulunan tirozinaz fonksiyon gösteremediği zaman pigment üretimi olmaz [33],[34]. TYR, tirozini dihidroksifenilalanine (DOPA) ve onu da dopakinona dönüştürür. Dopakinon ise ömelanini ya da feomelanini oluşturur. Sistein varlığında reaksiyon sonucunda feomelanin oluşur. Esansiyel bir aminoasit olmamasına rağmen ve eksikliği nadiren görülen sisteinin yoksunluğunda feomelanin üretimi durur. Kinetik çalışmalara göre feomelanin ömelanine göre daha hızlı sentezlenir [35],[36].

Dopakrom tautomeraz, TYR ve TYR bağlı protein 1 varlığında, kimyasal yol sonucunda ömelanin oluşmaktadır. Bu proteinler doğru kodlanmazsa ömelanin

üretimi engellenebilir. Böylece kişide açık göz rengi oluşumu gözlenebilir [21]–[23],[32],[33],[37],[38]. Her iki melanin türü de insan saç ve derisinde bulunabilirken, ömelanin kişilerde en çok görülen melanin tipidir ve eksikliğinde albinizm görülmektedir [28]. Ömelanin, elips şeklindeki melanozomlarda yapılır. Siyah, kahverengi saç ve koyu ten renginden sorumludur, saç, deri ve areolada bulunmaktadır. Ömelaninin iki farklı tipi vardır. Bunlar; siyah ömelanin ve kahverengi ömelanindir. Diğer pigmentlerin yokluğunda, siyah ömelaninin küçük bir miktarı gri saç rengine, kahverengi ömelaninin küçük bir miktarı ise sarı saç rengine dönüşür. Ömelaninin özellikle koyu tenli kişilerde daha fazla bulunduğu bilinmektedir. Feomelanin, küre şeklindeki melanozomlarda üretilir. Potansiyel olarak mutajeniktir. Güneşin UV ışınlarına maruz kaldığında kanserojen olabilir [39],[40]. Feomelanin saç ve deride bulunmaktadır. Hem açık tenli hem de koyu tenli kişilerde bulunduğu bilinmektedir. Kızıl saçlı ve açık tenli kişilerde daha sık bulunur. Kızıl saçlı kişiler özellikle büyük miktarlarda feomelanine sahiptir. Nöromelanin, beyin çekirdeğinde pigment taşıyan nöronlarda koyu pigment olarak bulunur. İnsanlarda bu çekirdekler doğum sırasında pigmente olmayıp, yetişkin döneme geçişle birlikte pigmentasyon gelişmektedir. Nöromelanin çoğu insanın yaşamı boyunca yüksek seviyelerde bulunurken, çeşitli nörodejeneratif hastalıkların varlığında pigmentli nöronların kaybı görülmektedir.

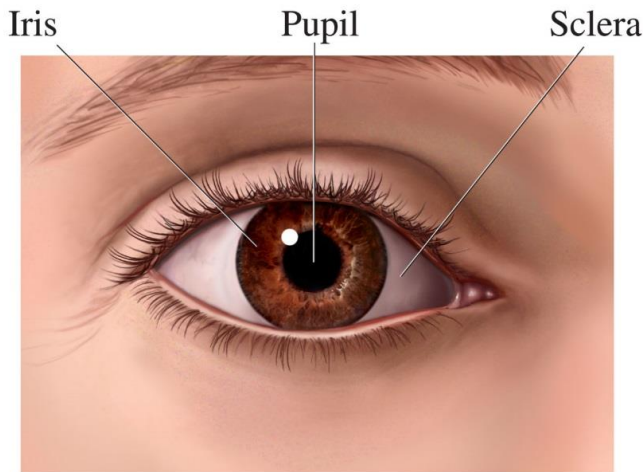
Melanin oluşumundan belirtilen proteinler sorumlu olmakla birlikte melaninin olgunlaşmasından da sorumlu birçok protein bulunmaktadır. Melanin sentezinde de birden fazla gen bölgesi görev almaktadır. Avrupa kökenli çoğu bebeğin bir yaşına

kadar gözleri açık renklidir. Çocuğun gelişimi sırasında, melanositler yavaş bir şekilde melanin üretmeye başlar. Yaklaşık bir yaşında olan bebeklerin üç yaşına kadar göz renginde değişiklikler meydana gelir. Öte yandan puberte, erken çocukluk, hamilelik ve bazen ciddi travma sonrası (heterokromi gibi), gerçekleşen durumlarda vücuttaki hormonal değişiklikler ve kimyasal reaksiyonlar sonucu göz rengi değişebilmektedir. TYR renk için kodlama yapmasa bile fonksiyon dışı bu TYR pigmentasyondan sorumlu diğer genleri maskeler. Bebeklerde pigment dağılımı sırasında sistein veya metiyonin açısından fakir besin alınımı söz konusu olduğunda bu aminoasit eksikliği giderilinceye kadar çocukların göz rengi bu durumdan etkilenir. Bu durumda, pleiotropik etkiler göz rengini değiştirir [38].

#### **4.4.2. Genotip fenotip ilişkisi ve insan göz rengi**

Bir kişinin görünüşünü hem kalıtımı hem de içinde bulunduğu çevresel faktörler etkiler. Bu iki durum gelişmenin her basamağında canlı üzerinde etkisini gösterir. Farklı ortam koşulları bir canlının fenotipini değiştirebilir. Fakat bu değişiklik kalıtsal değildir. Çünkü bu sırada genler değişmez, sadece genlerin işleyişi değişir. Göz rengi genellikle Mendel kalıtımına göre modellendirilir [41]. Fakat yapılan birçok araştırma ve gözlem bunun böyle klasik bir yol izlemediğini göstermiştir. Çünkü göz rengi fenotipi epistaz ve eksik dominantlık göstermektedir [42]. Göz rengi çeşitliliği içinde kahverenginin çeşitli tonları, ela, yeşil, mavi, gri ve bazı nadir durumlarda mor ve kırmızı bulunmaktadır. Geleneksel görüşe göre kahverengi göz rengini kodlayan alel yeşil ya da mavi göz rengini kodlayan alele, yeşil göz rengini kodlayan alel ise mavi göz rengini kodlayan alele baskındır [43].

Gözün anterior tabakasında ve stromasında yer alan melanositlerin sitoplazmalarında melanin bulunmaktadır. Melanin vücudun geri kalan kısmında ise hücrelerden salgılanır. Göz rengi ne olursa olsun melanositlerin sayısı değişmez. Göz rengini sitoplazmadaki melanin miktarı ve bu melaninin özelliği belirlemektedir. Işık melaninden geçerken görünür ışığın büyük bir kısmı retina tarafından absorblanmaktadır. Işık gözden geçtiğinde, melanin miktarı fazla ise, görülen ışığın çoğu absorblandığı için göz kahverengi görülür. Bu durum pupillerin siyah görülmesini de açıklamaktadır. Hücrelerde daha az melanin olduğunda ise göz rengi daha açık görülür. Kırmızı ve menekşe göz rengi pigmentasyon olmadığı takdirde gerçekleşmektedir. Kırmızı görünüm gözün kan damarlarındaki ışık yansımından ötürü oluşmaktadır. Menekşe renkli gözler ise pigment yokluğunun göstergesidir. Mavi rengi oluşturacak şekilde çok az sayıda pigment varsa menekşe renk ortaya çıkar [22]. Göz renginin görünmesindeki en önemli yapılar anterior tabakası ve altındaki stromada yer alır [22],[43],[44].



**Şekil 4.3** Gözde iris, pupil ve scleranın konumu

(<https://ebSCO.smartimagebase.com/the-eye-anterior-front-view/view-item?ItemID=4578>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

Göz renklerinin çeşitliliği iriste yer alan melanin pigmentinin dağılımı ve sayısındaki çeşitlilik sonucunda oluşmaktadır. İnsanlardaki en dikkat çekici göz rengi çeşitliliği beyaz ırktakiler arasında bulunmuştur. Mavi/kahverengi göz rengi genetiğinin genel olarak monogenik kalıtım gösterdiği düşünülmesine rağmen göz rengi genetiğinin daha kompleks bir genetiğe sahip olması iriste yer alan pigmentlerin dağılımı ve kontrasyonundaki çeşitlilikten kaynaklanmaktadır [33],[45]–[48]. İris rengindeki değişkenlik ömelanin ve feomelaninin oranlarındaki değişkenlikle bağlantı gösterir [50]. Çünkü iris doğrudan ya da dolaylı olarak ömelaninin tirozinden biyosentezini içermektedir [33],[34],[50]–[56]. Yeşil iris feomelanin ile, kahverengi iris ömelanin ile, karışık göz rengi ise bu ikisinin karışımı ile ilişki gösterirken, mavi iris bunların daha az miktarda bulunması halinde gözlenebilmektedir [50].

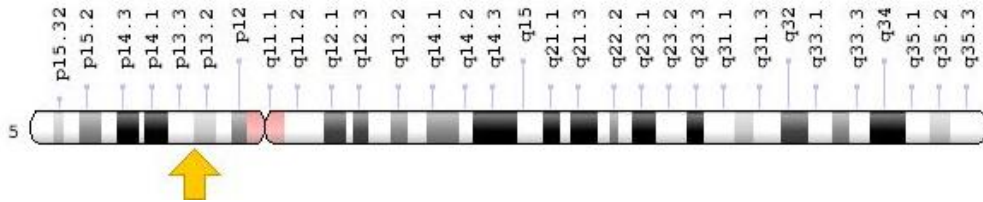
#### **4.4.3. Göz rengi ile ilişkili genler ve özellikleri**

Modern moleküler teknolojinin gelişmesiyle insanda göz, saç ve deri rengini belirleyen birçok önemli genin varlığı tanımlanmıştır. İnsan pigmentasyonu yüksek kalıtım ile poligenik kantitatif özelliktedir. Proteinler, insan pigmentasyonunu belirleyen melanogenezde melanozomların olgunlaşması ve melanin üretiminin kontrolünü sağlayan bu genlerin kodlanmasına katkıda bulunmaktadır. Genetik özellikleri henüz tam anlamıyla anlaşılammış olsa da fenotip karakterlerini belirleyen 100'den fazla genin olduğu düşünülmektedir. Genler tarafından kodlanan proteinlerin fonksiyonları tam olarak anlaşılmamakla birlikte, insan göz renginin belirlenmesinde HERC2, OCA2 ve SLC45A2 genlerinin diğerlerine kıyasla daha

etkin olduğu ve bu genlerin melanozomdaki pH dengesi ve iyon transferinin düzenlenmesinde rol oynadıkları bilinmektedir [45]–[47],[57]. Melanin pigmentasyonunda birçok gen birbiriyle etkileşimde bulunur ve farklı pigmentasyon varyasyonları oluşur. Genlerin birbirleriyle etkileşimleri sonucunda oluşan varyasyonlar pek çok araştırmacı tarafından incelenmektedir [26],[58],[59].

#### 4.4.4. SLC45A2 geni

Membran ilişkili taşıyıcı protein geni (MATP) olarak da bilinen bu genin resmi adı “çözünen taşıyıcı ailesi 45 üyesi 2” (SLC45A2)’dir. SLC45A2; melanozomda yer alan melanozomal membran transfer proteindir. Bu protein melanozom membranındaki şeker geçişinin sağlanması ve ozmozun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir [61]. SLC45A2 proteininin doğrudan veya dolaylı olarak TYR, TYRP1 ve TYRP2 ile OCA2 proteinleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [62].



**Şekil 4.4** SLC45A2 Geninin 5. kromozomdaki yerleşimi (<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/SLC45A2#location>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

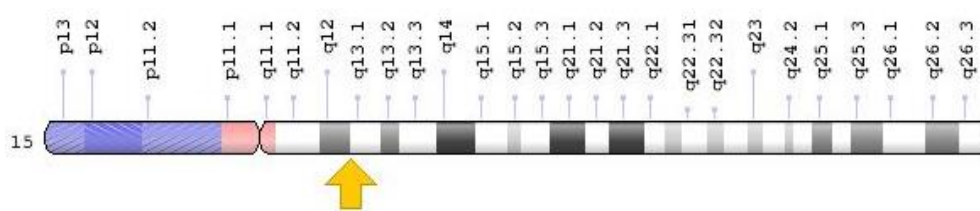
Araştırmalar SLC45A2 genindeki bazı polimorfizmlerin deri, saç ve göz rengindeki farklılıklar ile ilişkili olabileceğini göstermektedir [62],[63]. SLC45A2 genindeki mutasyonlar, melanin üretiminde SLC45A2 proteininin

işlevini azaltmakta ya da ortadan kaldırmaktadır. Bu protein normal pigmentasyonda önemli olduğu için, kaybı okülokütanöz albinizm tip 4 (OCA4) ile karakteristik olan deri, saç ve göz rengi değişikliklerine ve görme problemlerine neden olmaktadır. Popülasyon çalışmalarında, SLC45A2 geninde koyu renk saç, koyu deri ve melanomdan korunma ile ilişkili bir polimorfizm bulunmuştur [65]–[68].

#### 4.4.5. OCA2 geni

OCA2 ( Oculocutaneous Albinism II ) genindeki varyasyonlar saç, ten ve göz rengiyle ilişkilidir. Gen, 15. Kromozomun 15q21.3 bölgesindedir, 24 ekzondan oluşmuştur, 2300'den fazla SNP markırı içerir ve integral melanozomal membran proteini olan P proteinini kodlamaktadır [68],[69].

P proteini melanozomların olgunlaşmasında yer alan en önemli taşıyıcı proteindir. OCA2'nin ekspresyonundaki azalma melanozomların olgunlaşmasını dolayısıyla melanin miktarını ve kalitesini etkiler. Melaninin paketlenmesi ve taşınması işlemi sırasında çok miktarda protein yoksa koyu renkli pigment olan melaninin kalitesinde azalma gözlenmektedir [71]. Bu proteinler aynı zamanda pH'ı da kontrol etmektedir.



**Şekil 4.5** OCA2 Geninin 15. kromozomdaki yerleşimi

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/OCA2#location>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

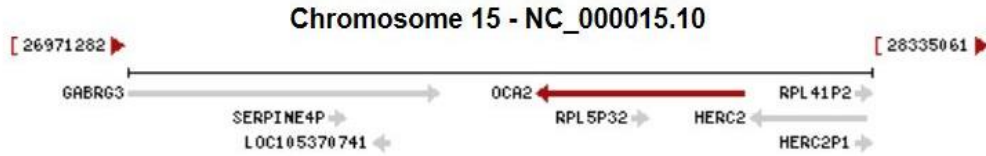


İnsanlarda pigmentasyonda önemli rol oynayan P proteininin fonksiyonel olmadığı durumlarda albinizm ortaya çıkar. Bu kişiler genellikle kremi beyaz deriye, görme bozukluğu olan açık renkli göze, açık sarı, sarışın veya açık kahverengi saçlara sahiplerdir [21],[70],[71]. Ayrıca OCA2 geni polimorfizmlerinin melanoma ile ilişkili olduğu bazı çalışmalarda belirtilmiştir [73]. Bu gen, kahverengi göz rengi ve ela göz rengi için temel kodlama bölgesi içerir [21],[37]. OCA2-HERC2 gen bölgesindeki en güçlü varyasyon göz rengiyle ilgili rs12913832 SNP varyasyonudur. Bu SNP mavi ve kahverengi göz renginin kalıtımı ile ilgili önemli bilgiler verir. Bu markırdaki varyasyona göre %80 oranında mavi ve kahverengi göz rengini ayırmak mümkündür [73],[74]. OCA2 genindeki rs1800407 SNP markırının da bazı popülasyonlarda yeşil göz rengi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [57],[59],[72]. Ayrıca, OCA2'nin kodlanmayan bölgesindeki çok lokuslu haplotipler ile göz renklerinin tonları arasında ilişki bulunmuştur [47],[73].

#### **4.4.6. HERC2 geni**

HERC2 (Hect domain and RCC1-like domain-containing protein 2) geni 15. Kromozomun 15q13.2 bölgesinde bulunur. 93 ekzon ve 250 kilobazdan oluşmuştur. Bu gen, çoklu yapısal domainler içeren oldukça büyük proteinlerin bir grubunu kodlayan HERC gen ailesinin bir üyesidir. Bu gendeki genetik varyasyonlar deri, saç ve göz pigmentasyon varyasyonu ile ilişkilidir. HERC2 geni, 4834 amino asitten oluşan bir polipeptiti kodlar [73],[75]. HERC2 geninin fonksiyonu tam anlamıyla bilinmemektedir fakat bu gen spermatogenez ve ubiquitin aracılı proteoliz ve hücre içi taşımacılığında yer alan iyi korunmuş fonksiyonel proteinleri de kodlamaktadır

[77]. İtronlar (kodlama yapmayan nükleotit dizileri) genellikle DNA açısından işlevsiz gibi görülüyor olmasına rağmen HERC2 geninin intron 86 noktasında görülen bir mavi-kahverengi göz rengi ile çok ilişkili bir SNP (rs12913832 A/G), OCA2 geninin gen ifadesini düzenler [32],[73],[75]. Bu düzenleme, OCA2 geni tarafından kodlanan P proteininin ifadesini azaltır. İfadenin azalması eksik dominantlığa neden olabilir. Tam bir dominantlık görülmediğinde melanin seviyesinde azalma olur ve gri, mavi ve kahverenginin açık tonları ya da bu fenotiplerden ikisinin bir karışımı görülür [33],[73]. Bu iki genin her birinde gerçekleşen tek nükleotit polimorfizmi, kişilerin göz renginin oluşmasında önemli rol oynar. Yapılan son çalışmalar OCA2 geninin üst kısmında yer alan HERC2 geninin iris renginin belirlenmesinde baskın rol oynadığını göstermiştir. Dolayısıyla HERC2 geninin göz renginin oluşmasında daha güçlü bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [32],[73],[75].



**Şekil 4.6** OCA2 ve HERC2 Genlerinin 15. kromozomdaki yerleşimi (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4948>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

Ayrıca genetik ifadenin azalması sonucunda bazı anormallikler de meydana gelebilir.

Bazı kişilerin her bir gözünde ayrı 2 fenotipik ifade görülmesine ya da tamamlanmamış pigmentasyona neden olabilir [20], [78], [79].

#### 4.4.7. Göz rengi tahmini ve IRISPLEX

Bilimsel gelişmelerle birlikte günümüzde DNA veritabanlarının etkili kullanımı adli bilimler için çok önemli bir hal almıştır. IRISPLEX sistemi, HGDP-CEPH veritabanından elde edilen 940 adet DNA örneğine ait sonuçlardan göz rengini öngörmek için test edilmiştir. IRISPLEX ile tahmin edilen göz renginin dağılımı, göz rengi kategorilerinin bilinen dağılımı ile yüksek derecede uyumludur, bu da test edilen örneğin biyocoğrafik kökenine bakılmaksızın IRISPLEX'in iyi performans gösterdiğini güçlü bir şekilde göstermektedir.

Walsh ve arkadaşları yaptığı çalışmada, Liu ve arkadaşlarının (2009) göz rengi ile ilgili bilgi veren en güçlü 6 SNP'yi (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350 ve rs12203592) seçerek multipleks oluşturmuşlardır. IRISPLEX tahmin modeli olarak önceki çalışmada geliştirilen multinominal lojistik regresyon model istatistiği yöntemi (MLR) kullanılmıştır [6],[75],[80]. SNP genotipleri ile, 3 göz rengi kategorisinde olasılık tahmin edilir. Mavi ve kahverengi göz rengi %91,6 ve %87,5 başarıyla tahmin edilebilmektedir. Ancak yeşil göz rengi ile ilgili güvenilir sonuç vermemektedir [6]. IRISPLEX sistemi, saç renginin (HIRISPLEX [81]) ve cilt renginin (HIRISPLEX-S [19]) eşzamanlı tahmini için ilave SNP'lerle genişletilmiştir. Göz renginin tahmini yine aynı 6 SNP'ye dayanır, sistem farklı uluslardan 9466 kişi ile çalışılarak iyileştirmeler yapılmıştır [19],[81],[82].

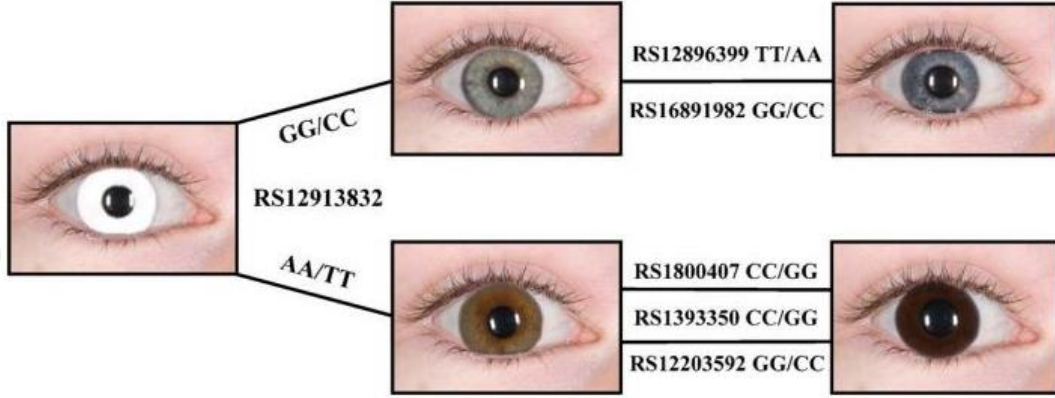
IRISPLEX testi, 20'den fazla laboratuvarın dahil olduğu çok merkezli bir araştırmada Uluslararası Adli Genetik Derneği (ISFG) ve Avrupa DNA Profilleme

Grubu (EDNAP) tarafından test edilmiştir ve araştırmacılar tarafından uygulanması kolay ve yüksek derecede güvenilir olduğu ifade edilmiştir. Göz rengi tahmininde diğer araştırma grupları tarafından yapılan çalışmalar da mevcuttur; Ruiz ve arkadaşları tarafından göz pigmentasyonu ile ilgili 23 SNP seçilerek ikinci bir tahmin sistemi geliştirilmiştir [83]. Tahmin algoritması olarak, SNIPPER adı verilen Bayes teorimi olasılık oranı istatistiği kullanılmıştır. Sistem, altı farklı Avrupa ülkesinden 416 kişi kullanılarak geliştirilmiştir. SNIPPER sınıflandırmasıyla göz mavi, yeşil ve kahverengi olarak verilen üç referans gruba (popülasyona) göre araştırılan kişinin göz rengi için olabilirlik oranı hesaplanmaktadır. Ruiz ve arkadaşları ayrıca mavi olmayan, kahverengi olmayan renkler için hassasiyetin azaldığını bildirmişler ve HERC2-OCA2 lokusunda ilave SNP'ler ekleyerek öngörüyü iyileştirmeye çalışmışlardır [83].

Üçüncü bir göz rengi tahmin modeli Allwood ve arkadaşları tarafından Yeni Zelanda popülasyonu çalışılarak geliştirilmiştir [84]. Bu model 4 SNP (rs1129038, rs1800407, rs1393350, rs12896399) içerir ve her bir SNP tahminini bir renk kategorisine (mavi, kahverengi, intermediate) yönlendiren bir istatistik modeli kullanır.

Son tahmine dayalı algoritma Hart ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir [85]. Spichenok ve arkadaşları [86], Avrupalı ve Avrupalı olmayan popülasyonları çalışarak modeli geliştirmiştir. Çalışmada göz rengi tahmini için 5 SNP (rs12913832, rs12203592, rs16891982, rs6119471, rs12896399) kullanılır. Bu sistemde göz renkleri mavi, kahverengi ve yeşil olarak sınıflandırılır. Pozitif bir renk tahmini her

zaman elde edilemez ve daha geniş "renksiz" ("mavi olmayan" ve "kahverengi olmayan") sonuçlar elde edilebilir. Hart modelinde hataların çoğu yeşil gözlü kişilerde meydana gelmiştir [85].



**Şekil 4.7** Walsh ve arkadaşlarına göre kahverengi ve mavi göz renginin 6 SNP markırı ile belirlenmesi [6].

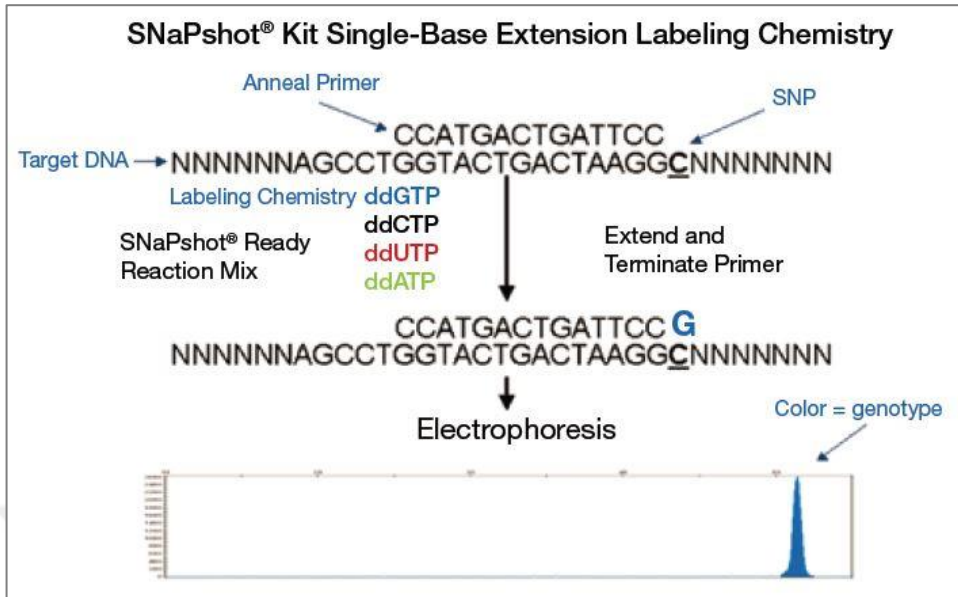
Tarif edilen modeller arasında yalnızca IRISPLEX Avrupa ve Avrupa dışı birkaç popülasyonda geliştirilmiş ve test edilmiştir. Çalışmalar, IRISPLEX'in farklı popülasyonlarda (Hollanda, Sloven, Doğu Asya) mavi ve kahverengi gözlerin doğru tahmin edilebileceğini göstermiştir [6],[78],[84]. Göz renginin belirlenmesinde günümüzde en popüler tahmin modeli, Walsh ve arkadaşları tarafından adli uygulamalarda kullanılmak üzere geliştirilen IRISPLEX sistemidir. Gelecekteki araştırmalar, mavi olmayan ve kahverengi olmayan ara göz renklerini tahmin etmeye odaklanacaktır. Bu ara renkler için yapılan DNA tahmininin, şu anda mevcut olan DNA testlerinden daha zor olması beklenmektedir. Ara renklerin belirlenebilmesi için daha fazla DNA varyantı çalışılmalıdır.

#### 4.5 SNP Analiz Yöntemleri

Genomda bir SNP'nin nerede olduğuna bağlı olarak, polimorfizm ve fenotipik seviyedeki sonuçlar farklı olabilir. Genlerin kodlanan bölgelerindeki SNP'ler proteinlerin işlevini veya yapısını değiştirerek klinik sonuçlara yol açabilir. Bu SNP'ler genetik teşhis yapılabilmesi için tıpta ve farmakogenetik alanda önemlidir. Bununla birlikte, çoğu SNP kodlanmayan genom bölgelerinde bulunur ve fenotip üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Bu kodlayıcı olmayan SNP'ler popülasyon genetiğinde, evrimsel çalışmalarda ve adli analizler için belirteç olarak kullanılırlar. Dünya genelinde SNP'ler hakkında yapılan çalışmalar yaygınlaştıkça adli bilimlerde de SNP'lerin kullanımı artmıştır ve gün geçtikçe yeni analiz yöntemleri geliştirilmektedir. Adli genetik laboratuvarlarında kullanılacak SNP analiz yöntemleri biyolojik materyalin durumuna (degrade örnekler için sonuç verebilmesine), multipleks çalışılabilme kapasitesine, duyarlılığına, deneylerin tekrarlanabilirliğine, yüksek doğrulukta sonuç verebilmesine, analiz için kullanılacak cihazlara, cihaz sarf malzemelerinin ve kimyasalların ucuz olmasına, harcanan zamana, bütün laboratuvarlarda kolay bir şekilde uygulanabilmesine, yöntemin basitliğine ve deneylerde harcanan zamana, veri analizinin kolay yapılabilmesine göre seçilmelidir. Tek bir genotipleme yöntemi, bütün uygulamalar için uygun değildir [12],[88]. Bu tez çalışmasında primer uzama (minisekanslama) yöntemi kullanılmıştır.

#### **4.5.1. Minisekanslama yöntemi: SNaPshot™ (Thermo Fisher Scientific)**

Minisekanslama (primer uzama) ürünlerinin analizinde sıklıkla Thermo Fisher Scientific tarafından üretilen SNaPshot™ Multiplex Kit kullanılır. Kit ile; primer uzama yöntemine dayalı (tek baz uzama) minisekanslama reaksiyonuyla belirlenen SNP noktalarının floresans deteksiyonu sağlanarak SNP'ler elektroforetik yöntemle belirlenir. Kit floresans boya ile işaretli ddNTP, tampon ve polimeraz içerir. Bu reaksiyonda, işaretli primer SNP'ye komşu olan nükleotide bağlanır ve DNA polimeraz ile floresans işaretli ddNTP'ler (Tablo 4.1) kullanılarak uzama sağlanır. ddNTP'ler deoksiriboz şekerin 3. karbon atomunda hidroksil (OH) taşımadıkları için kendilerinden sonra yeni bir nükleotit ilave edemez ve sentez sona ererek tek bir baz uzaması gerçekleşir. Minisekanslama sonrası uzama ürünleri saflaştırılır. Saflaştırmanın amacı ddNTPlerin 5' fosforil gruplarını uzaklaştırmaktır. Böylece ortamda bulunan bağlanmamış ddNTP'ler ve primerlerden kaynaklı istenmeyen sinyallerin oluşması engellenir. Daha sonra floresans işaretli uzama ürünleri elektroforez ile görüntülenir, böylece farklı SNP'ler renklerine ve boyutlarına göre ayrılır [12].



**Şekil 4.8** SNaPshot™ reaksiyonunun şematik gösterimi Thermo Fisher Scientific SNaPshot™ Multiplex Kit Protokolünden alınmıştır.)

**Tablo 4.1** Floresans boya ile işaretli ddNTP'ler (Thermo Fisher Scientific SNaPshot™ Multiplex Kit Protokolünden alınmıştır.)

ddNTP	Boya Adı	Sinyal rengi
A	dR6G	Yeşil
C	dTAMRA™	Siyah
G	dR110	Mavi
T	DROX™	Kırmızı

SNaPshot™ kit küçük bir optimizasyonla doğru ve sağlam bir şekilde çalışabilir [89]. Yöntemin adli laboratuvarlarda kullanılan PCR ve kapiller elektroforez gibi cihazlarla analiz edilebilmesi, çok sayıda SNP lokusunun (en fazla 35) multipleks oluşturularak tek reaksiyonda düşük maliyet ve yüksek verimlilik ile tiplendirilebilmesi, yöntem duyarlılığının dizilemeye göre daha yüksek olması, adli genetik laboratuvarlarında çalışmaya avantaj sağlamaktadır. Ancak, her SNP için hem PCR hem de minisekanslama reaksiyonlarında kullanılacak primerlerin



dizayn edilmesi ve konsantrasyonlarında optimizasyon yapılması gerekmektedir [90].

## **4.6 DNA Hasarı**

### **4.6.1. DNA hasarı oluşum nedenleri**

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörler nedeniyle meydana gelen bütün değişikliklere DNA hasarı denir. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında stres, virüsler, enfeksiyon, parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, pestisitler, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, sisplatin, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, hiperbarik oksijen, trisiklik antidepresanlar, demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa gibi metal iyonları, asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, silika, aflatoxin B1 ve PCB (poliklorlubifenil)'ler sayılabilir. Endojen kaynaklar için; oksidatif metabolizma ve DNA'nın spontan değişimleri örnek olarak söylenebilir.

### **4.6.2. DNA hasarına neden olan çevresel etkenler**

Ultraviyole ışık, iyonize radyasyon, elektromanyetik dalgalar, kimyasal ajanlar, aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinil klorid, hardal gazı, hava kirliliği ve fabrika atıkları gibi etmenlerdir. Olay yerinden elde edilen delillerden DNA izolasyonu yapılırken DNA'nın stabilitesinin korunup korunmadığının bilinmesi, analiz sonuçlarının doğruluğu açısından önemlidir.

Çevresel şartların oluşturabileceği DNA hasarı bilindiğinde, degrade olmuş DNA örneklerinin analizinde PCR işlemi aşamasında ileri tekniklerin kullanılmasının ve spesifik bölgedeki DNA miktarının daha fazla çoğaltılmasının avantajlı olacağı bildirilmiştir [87].

#### **4.6.3. DNA hasarı tipleri**

DNA çeşitli farklı mutajenler tarafından hasara uğrayabilir, bunun sonucunda DNA'da deaminasyon, depürinasyon, alkilasyon, T-T ve T-C dimerleri oluşumu, replikasyon hataları, çift iplik kırıkları oluşumu ve oksidatif stres gözlenir ve DNA dizisi değişebilir. Oksitleyici etmenler, alkilleyici etmenler ve morötesi ışık gibi yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar mutajenler arasında sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutajenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin dimerleri oluşturarak DNA'ya hasar verir. Ayrıca DNA'da çoğunlukla tek-çift iplik kırıkları ve alkilasyon oluşur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir. UV ışını etkisi ile DNA tarafından kuvvetlice absorblanan UVC (~260nm.) ve UVB ışınları, DNA ve diğer biyolojik moleküllerle reaksiyona girerler ve pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluştururlar. DNA'daki zararın potansiyel olarak en tehlikeli tipi onarım için bozulmamış kalıp bir DNA ipliği bırakmayacak şekilde çift sarmalın her iki ipliğinin de kırıldığı durumdur. Bu bölgeler onarılmadan bırakılırsa kromozomların hızlı bir şekilde daha küçük parçalara ayrılmasına neden olabilir [91]-[92].

#### 4.7 Ultraviyole Işık Türleri ve Zararlı Etkileri

Ultraviyole ışık güneşten gelen elektromanyetik radyasyon enerjisinin bir türüdür. Yeryüzüne ulaşan güneş radyasyonunun yaklaşık % 5'ini oluşturur [93]. 10-400 nanometre dalga boyuna sahiptir ve spektrumda X ışınları ve görünür bölge arasında kalır. Ultraviyole, görünür bölgenin en yüksek frekanslı çeşidi olan mor ışığın üzerinde yer aldığı için mor ötesi ışık olarak isimlendirilir [94]. Eğer normalin üzerinde bir miktarda UV dünyaya erişirse, kısa dalga boylu ve yüksek enerjili olması sebebiyle DNA ve proteinler tarafından emilir ve hücresel yıkıma yol açar [95]. Ultraviyole ışık elektromanyetik spektrumda bulunduğu dalga boyuna göre 3 bölüm içermektedir. UVC ışık 100-280 nm, UVB ışık 280-315 nm ve UVA ışık 315-400 nm arasında dalga boyuna sahiptir [96].

UVA (320- 400nm): En düşük enerjili ve daha az tehlikeli UV ışınıdır. UVA ışınları doza bağlı olarak bronzlaşma, yaşlanma ve kanser oluşumuna neden olmaktadır, cilt dokusu UVA'ya maruz kaldıktan sonra singlet oksijen, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve hidroksil serbest radikalleri üretilir. Bunlar hücresel proteinlerde, lipidlerde ve sakkaritlerde hasara yol açar. UVA; DNA'da yapısal hasara uğratabilecek, immün sisteme zarar verecek ve kansere yol açabilecek yapılar oluşturur [97]-[98].

UVB (290- 320 nm): Yanığa, yaşlanmaya, deri kanserine ve katarakta yol açar [99]. UVB'nin etkisi derinin epidermal bazal hücre tabakasıdır. UVB; DNA sentezinin stimülasyonu, deride serbest radikal oluşumu, hücre döngüsünün durdurulması, fotoyaşlanma ve fotokarsinogenezis gibi direk veya indirekt olarak zararlı biyolojik oluşumlara yol açmaktadır. Derideki antioksidanların önemli ölçüde azalması derinin

güneş ışığına maruz kalmaktan oluşan serbest radikallere karşı kendini koruma sistemine zarar vermektedir. UVB, deri kanseri oluşturmaktan ve DNA hasarından sorumlu tutulmaktadır [119]-[98],[100]. UVB güneş yanığı oluşturmada UVA' dan 1000 kat daha etkilidir ve genotoksiktir.

UVC (200- 290 nm): Ozon tabakası tarafından tutulduğu için, normal atmosfer şartlarında yeryüzüne ulaşamayan ışıdır. Son yıllarda ozon tabakasında oluşan incelmeler ve delikler nedeni ile yeryüzüne doğrudan ulaştığı için önemi artmıştır. Güçlü karsinojendir [101]. UVC yaşam için bütün türlerden en tehlikeli olanıdır. Çok kısa süre maruz kalmaktan bile deri için oldukça tehlikelidir. Güneşten gelen UVC radyasyonunun tamamına yakını moleküler oksijen ve yeryüzü atmosferindeki ozon tarafından absorbe edilmektedir. Yeryüzüne 290 nm dalga boyundan daha kısa dalga boylu solar radyasyon ulaşmamaktadır [98],[100]. Fakat koruyucu ozon tabakasındaki önemli hasarlardan dolayı ultraviyole radyasyonu artık yeryüzüne ulaşmaktadır [102].

#### **4.7.1. Ultraviyole ışığın DNA'ya etkisi**

UV radyasyonu ışınımıyla uzun süre temasta kalmanın DNA yapısında değişikliğe yol açtığı gözlenmiştir. UVB ve UVC'nin DNA yapısında mutasyon, hücre yıkımı ve transformasyona neden olmaktadır [103]. Bütün bu etkiler hücre çoğalmasını bozarak tümör gelişimine neden olur [100]. Organik moleküllerin yapısında bulunan bağların birçoğu UV ışığı absorblar ve molekülde fotokimyasal değişimlerin olmasına sebep olur. Teorik olarak O-H, C-C, C-H, C-N, H-N ve S-S bağları 112,8 kkal/Einstein enerjiye sahip 253,7 nm ışıktan etkilenmektedir. En güçlü 253,7 nm

ışık absorblayıcı moleküller nükleik asitlerdir. Nükelik asitlerdeki pürin ve pirimidin bazları ışık absorblarken, polimer iskelet ışıktan etkilenmez. 253,7 nanometrede, aromatik halka, çift halka ve/veya disülfid bağı içeren bileşikler etkili ışık absorblayıcıdır. Ultraviyole ışık nükleik asitlerde hasara sebep olur. Nükleik asit 200-310 nm arasındaki ultraviyole ışığı absorblar, bunun sonucunda; DNA zincirinin kırılması, zincirlerin çapraz bağlanması, pirimidinlerin hidrasyonu, polinükleotit içerisindeki komşu bazların dimer oluşturması, aromatik amino asitlerin denatüre olması ve pirimidin dimerleri oluşumu gözlenebilir. Oluşan dimerler DNA'nın kopyalanmasını engeller ve bu da çoğalmanın durmasına yol açar [104]. UVC ve UVB ışık etkisiyle DNA'da oluşan reaksiyon ürünlerinin yaklaşık %78'i pirimidin dimerleridir. Farklı bileşiklerin oluşması dalga boyu, DNA dizilimi ve protein-DNA interaksiyonu gibi etkenlere bağlıdır. DNA analizi, adli bilimlerde suçun aydınlatılması için kritik bir rol oynamaktadır. Ancak teknolojiyi sınırlayan faktörlerden birisi de olay yerinden elde edilen biyolojik lekelerden izole edilen DNA'nın analiz edilemeyecek kadar zarar görmüş olmasıdır [105]. Teknolojinin sınırlayıcı faktörlerinden biri, olay yerinden elde edilen biyolojik lekelerden izole edilen DNA'nın, analiz edilememesidir. Sebepleri; PCR inhibitörlerinin varlığı, başlangıç DNA molekülünün düşük kopya sayısında veya bozulmuş olmasıdır. UV ışığının ısı, nem ve mikroorganizmalar gibi diğer faktörlerden bağımsız olarak DNA'ya zararlı etkileri hakkında daha kapsamlı bir temel bilgi, DNA'nın degrade olduğu lekelerde karmaşık mekanizmaları anlamamıza yardımcı olacaktır. Canlı organizmalarda foto-aktifleştirme, uyumsuzluk onarımı, nükleotit ve baz eksizyon

onarımı, rekombinasyon onarımı gibi çeşitli DNA onarım mekanizmaları vardır. Bu onarım sistemlerinin amacı, DNA'nın bütünlüğünü korumak ve mutasyonları önlemektir. Olay yerinde bulunan biyolojik kanıtlardan izole edilen DNA homeostatik kontrol altında değildir ve zamanla mutasyon biriktirebilir, bu DNA profillerinde alel kayıplarına neden olabilir. Biyolojik kanıtların UVC'ye maruz kalmasından kaynaklanan DNA hasarı PCR verimini ve ayrıca DNA profili tanımlamasını etkileyerek adli DNA analizini kısmen veya tamamen devre dışı bırakır, bu DNA hasar mekanizmalarının canlı hücrelerde ve hücre dışı ortamda anlaşılması gerekmektedir. Adli bir biyolojik örnekteki DNA, ör. kurutulmuş bir fizyolojik leke, biyokimyasal olarak zarar görebilir, hasarın büyüklüğü kontrol edilerek biyolojik örnek kullanılabilir veya kullanılamayabilir. Biyolojik leke içindeki DNA, çekirdekte kromatinlere sarılı olarak bulunması veya dehidrate olması faktörlerinin bir kombinasyonu ile korunabilir. DNA dehidrate ortamda kaldıkça, fizyolojik B konformasyonundan daha kompakt A formuna dönüşür. Adli örnekler laboratuvar koşullarında bekletilirken ısı, ışık, nem etkisi ve mikroorganizma büyümesi de dikkate alınmalıdır. Kontamine örneklerde, canlı mikroorganizmaların sindirim enzimleri salgılaması ve bakteriyel hücre ölümü sonrasında ortama salınan proteinler DNA'da zincir kırıklarına sebep olur. Ek olarak, bağıl nem, DNA'nın hidrasyon seviyesini ve zararlı ajanların yayılabilirliğini artırabilir, hücrel su tarafından emilen UVA ve UVB enerjisi, DNA'da zincir kopmalarına ve oksidatif hasarlara neden olan ROS'a yol açabilir [106].

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında; aydınlatılmış onam formunu dolduran ve DNA örneklerinin bilimsel çalışmalarda kullanılmasına rıza gösteren, aralarında kan bağı olmayan, Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı 10 kişiden ağız içi sürüntü ve kan örneği alındı. Çalışma gönüllüleri; 1 mavi gözlü, 4 kahverengi gözlü, 5 yeşil/ela gözlü olduklarını beyan etmiştir. Gönüllülerin fotoğrafı eşit ışık şiddetinde ve eşit uzaklıkta çekilerek fenotip doğrulaması yapıldı. Gönüllülerden toplanan kan örnekleri keten kumaşlara emdirilerek kan lekesi yapıldı. Bu kan lekeleri oluşturulan kumaşlar kodlanarak oda ısısında temiz ve ağız açık bir kutunun içinde 5 yıl bekletildi. Ağız içi sürüntü örneklerinin DNA izolasyonu ve miktar tayini yapıldı. Daha sonra bu DNA'lara 30 dakika ve 60 dakika UV degradasyonu yapıldı. 5 yıl bekleyen kumaşlardan parçalar kesilerek QIAamp DNA Mini kit ile DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen bütün DNA örnekleri -20°C'de muhafaza edildi. Bu tezde göz rengine ait bilgi veren Walsh ve arkadaşları (2011) tarafından geliştirilen IRISPLEX (6 pleks) çalışıldı. Çalışmanın bütün laboratuvar aşamaları tamamlandıktan sonra multinominal lojistik regresyon analizi ile göz rengi tahmini yapıldı. İstistiksel analiz, (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>) adresindeki online IRISPLEX yazılım programı ile yapıldı (Erişim Tarihi: 01.04.2019).

Çalışma, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 07.01.2014 tarih, 83045809/878 sayılı kararı ile uygun görüldü (Ek 2). Çalışmada kullanılan tüm örnekler, bulgular bölümünde Tablo 6.2'de listelendi. Bu çalışmanın optimizasyon aşamasında 9947A Kontrol DNA kullanıldı.

Deneyler belirtilen plana göre gerçekleştirildi:

- Örneklerin toplanması
- Toplanan kan örneklerinin kumaşlara dökülerek kan lekesi oluşturulması, lekelerin eskimesi için odaya yerleştirilmesi
- Ağız içi sürüntüden ve kan lekelerinden DNA izolasyonu
- Ağız içi sürüntüden elde edilen DNA'ların UV degradasyonu
- Ağız içi sürüntü, UV degradasyonuna uğratılan DNA'lar ve kumaştan elde edilen DNA'ların miktarlarının belirlenmesi
- Primerlerin hazırlanması
- PCR aşaması
- PCR ürünlerinin saflaştırılması
- Minisekanslama aşaması [SNaPshot™ (Minisekanslama) Reaksiyonu]
- Minisekanslama ürünlerinin saflaştırılması
- SNaPshot™ Reaksiyon Ürünlerinin Elektroforeze Hazırlanması
- SNaPshot™ Ürünlerinin ABI PRISM® 310 Genetik Analizör (Applied Biosystems) ile Elektroforezi
- Verilerin Analiz aşaması ve sonuçların değerlendirilmesi

Çalışmanın bütün aşamaları İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Moleküler Genetik Öğrenci Laboratuvarında gerçekleştirildi. Bu çalışmada 6 SNP lokusunda genotip tayini yapılması amacıyla minisekanslama yöntemi uygulandı. PCR reaksiyonunda, DNA ürünleri belirli aralıklarda çoğaltıldı. Çoğaltılan ürünler saflaştırıldıktan sonra SNaPshot™ Kit Reaksiyonu (Thermo



Fisher Scientific) uygulandı. PCR primerlerinin hazırlanması, Primer dizileri, PCR koşulları, PCR ürünlerinin saflaştırılmasında kullanılan malzemeler ve deney protokolleri aşağıda açıklandı.

**Tablo 5.1** Deneyler İçin Kullanılan Bütün Kit ve Kimyasallar

<b>DNA İzolasyonu:</b>	<b>QIAamp DNA Mini kit</b>
<b>PCR:</b>	PCR primerleri Kontrol DNA (9947A) Qiagen Master Mix
<b>PCR Sonrası Saflaştırma:</b>	ExoSAP-IT
<b>Minisekanslama Aşaması:</b>	SNaPshot™ Multiplex Kit (Thermo Fisher Scientific) Minisekanslama primerleri (Tek baz uzama primerleri) Nükleaz free su
<b>Minisekanslama Sonrası Saflaştırma:</b>	Thermosensitive Alkaline Phosphatase (FastAP) (1U/ml)
<b>Kapiller Elektroforez Aşaması:</b>	Genescan- 120 LIZ Size Standart (Applied Biosystems) Hi-Di Formamide (Applied Biosystems) POP-4 Polimer (5 ml)

## 5.1. DNA İzolasyonu

### *Beklemiş kan örneklerini izolasyona hazırlama aşaması ve DNA izolasyonu*

#### *protokolü:*

Kan lekelerinden DNA izolasyonu için Qiagen QIAamp DNA Mini kit'in 'DNA Purification from Dried Blood Spots' protokolü çalışmaya optimize edilerek uygulandı.

1. Alkole sterilize edilip ateşten geçirilen makas ile kan lekesi oluşturulup

bekletilmiş kumaştan 0.5cm<sup>2</sup> lik parçalar kesilerek 1.5ml'lik eppendorf tüpe konuldu.

2. Üzerine 180 µl Buffer ATL tamponundan eklendi ve 85 °C' de 10 dakika inkübe edildi.
3. Tüp üzerine 20µl Proteinaz K eklendi ve vortekslendi.
4. Tüp 56 °C de 1,5 saat inkübasyona bırakıldı. Tüp 10 dakika aralıklarla ters düz edildi.
5. Tüplerin kapağındaki damlacıkların aşağı inmesi için santrifüj edildi.
6. 200 µl Buffer AL eklendi, 10 saniye vortekslendi.
7. 70 °C' de 10 dakika inkübe edildi.
8. 200 µl %96-100 saflıkta etanol eklendi ve vortekslendi. Elde edilen karışım QIAamp mini spin kolona aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
9. Kolona 500 µl AW1 tamponu eklendi, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
10. 500 µl AW2 tamponu eklendi, 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
11. QIAamp mini spin kolon steril 1.5 µl'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Üzerine 100 µl AE tamponu eklendi, oda ısısında 1-2 dakika inkübe edilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Kolon atıldı. DNA eppendorf tüpe toplandı. DNA'lar -20 °C' ye kaldırıldı.

***Ağız içi sürüntü örneğinden DNA izolasyonu protokolü:***

1. Isıtıcı blok 56°C'ye ayarlandı.
2. Buccal swap 1.5ml'lik eppendorf tüpe konuldu. Üzerine 400 µl PBS tamponu eklendi ve oda sıcaklığında (25 °C) 10 dakika inkübe edildi.
3. Swap atıldı, tüp üzerine 20µl Proteinaz K, 500 µl Buffer AL eklendi ve vortekslendi.
4. Tüp 56 °C de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Üzerine 400 µl etanol (%96-100) eklendi, 5 saniye vortekslendi.
6. Elde edilen karışım dikkatli bir şekilde QIAamp mini spin kolona aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
7. Kolona 500 µl AW1 tamponu eklendi, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
8. 500 µl AW2 tamponu eklendi, 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Tüpte kalan sıvı boşaltıldı.
9. QIAamp mini spin kolon steril 1.5 µl'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. Üzerine 150 µl AE tamponu eklendi, oda ısısında 1-2 dakika inkübe edilerek 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Kolon atıldı. DNA eppendorf tüpe toplandı. DNA'lar -20 °C'ye kaldırıldı.

**5.2 UV Degradasyonu**

Ağız içi sürüntü (buccal swap) örneklerinden izole edilen 5 DNA örneği eppendorf tüp içerisinde tüplerin kapakları açık bir şekilde UV ışık kaynağına (Grant-bio UVT-

B-AR) 30 cm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirildi ve 253,7nm UV (UVC) ışığında 30 dakika ve 60 dakikalık periyotlarda bekletildi. Işınlama süresi sonunda örneklerin çift zincirli DNA miktarları ölçüldü.

### 5.3. DNA Miktarının Belirlenmesi

DNA miktarının belirlenmesi için florimetrik yöntem uygulandı. Çift zincirli DNA için Qubit™ dsDNA HS (High Sensitive) Assay kit ile Florometre (Invitrogen) cihazında ölçüm yapıldı, ölçümde aşağıda yazılı protokol uygulandı:

1. Her bir örnek için 199 µl Quant-iT™ dsDNA HS Buffer ve üzerine 1 µl Quant-iT™ dsDNA HS Reagent eklendi ve çalışma solüsyonu hazırlandı.
2. Örnekler için tampon-reagent karışımından cihaza özgü tüpe 190 µl konuldu ve üzerine 1 µl DNA izolatu eklendi. Tüpler birkaç saniye vortekslendi, oda sıcaklığında (25 °C) 2 dakika inkübe edildi.
3. Örnek tüpler cihaza yerleştirilerek okuma yapıldı.
4. Cihazda hesaplanan DNA miktarları not edildi.
5. İzolatlar, PCR için 0,1-10 ng DNA miktar olacak şekilde seyreltildi.

**Tablo 5.2** DNA İzolasyonu Nanodrop Miktar Tayini Sonuçları:

Örnekler	Referans	Absorbans ng/µl		
		5 yıl bekletme	30 dk UV 2019	60 dk UV 2019
1. D01	26,8	1,79	35,2	31,8
2. D02	10,6	1,07	14,1	13,8
3. D03	8,98	0,4	12,1	12,7
4. D04	32,4	0,144	39,6	39,8
5. D05	19,5	2,58	22,2	21,6
6. D06	1,5	0,634		
7. D07	5,6	1,91		
8. D08	3,70	0,424		
9. D09	2,5	2,34		
10. D10	2,58	1,0		

#### 5.4. Multipleks PCR aşaması

Bu aşamada 6 SNP lokusu çoğaltıldı. PCR’da bu lokusların ilgili aralıkları çoğaltıldı, Minisekanslama aşamasında ise saflaştırma işlemini takiben tek baz uzama reaksiyonu esaslı SNaPshot™ Reaksiyonu yapıldı.

##### 5.4.1. Primer dizaynı

Bu çalışmada kullanılan primerler Walsh ve arkadaşlarının çalışmasından referans alındı. Primer dizileri ve özellikleri Tablo 5.3’de gösterilmiştir.

**Tablo 5.3** Göz rengine ait bilgi veren 6 IRISPLEX markırının Birinci PCR primerlerinin listesi

NCBI Rs kodu	Forward Primer	Reverse Primer	Amplikon Boyutu (bp)
rs 12913832	TGGCTCTCTGTGTCTGATCC	GGCCCCTGATGATGATAGC	87
rs 1800407	TGAAAGGCTGCCTCTGTTCT	CGATGAGACAGAGCATGATGA	127
rs 12896399	CTGGCGATCCAATTCTTTGT	CTTAGCCCTGGGTCTTGATG	104
rs 16891982	TCCAAGTTGTGCTAGACCAGA	CGAAAGAGGAGTCGAGGTTG	128
rs 1393350	TTCCTCAGTCCCTTCTCTGC	GGGAAGGTGAATGATAACACG	80
rs 12203592	ACAGGGCAGCTGATCTCTTC	GCTAAACCTGGCACCAAAAG	115

##### 5.4.2. PCR primer karışımının hazırlanması

Her bir primerin final stok karışımı 100 pmol/μl olacak şekilde liyofilize primerler 201-289 μl arası miktarlarda steril saf su eklenerek sulandırıldı ve 50μM ara stok yapıldı. Daha sonra 1.6 μl forward ve reverse primerler kullanılarak multipleks PCR karışımı hazırlandı.

##### 5.4.3. PCR bileşenlerinin hazırlanması

PCR, hücre içinde DNA’nın kendini eşleme mekanizmasına dayanır. Bu yöntemde ilk olarak yüksek sıcaklıkta çift sarmal DNA (dsDNA) çözülerek tek sarmal haline gelir. Bu aşama denatürasyon olarak adlandırılır. Primer olarak kullanılan iki oligonükleotitin çoğaltılacak hedef diziye bağlanmasına primer eşleşmesi adı verilir.

Mg<sup>+2</sup> iyonlarının varlığında, katalizör olan DNA polimeraz ile primerlere nükleotit (dNTP) eklenmesi ve DNA zincir uzamasına primer uzaması denilir. Her bir döngüde üretilen ürün bir sonraki döngü için kalıp DNA görevi görür. Belirlenen döngü sayısı, amplifikasyon hakkında bilgi verir. Örneğin reaksiyon 20 döngüden oluşuyorsa, PCR işlemi sonucu hedef bölge 2<sup>20</sup> kez kopyalanmış olur. Bu çalışmada kullanılan PCR bileşenleri Tablo 5.4’de, döngü koşulları ise Tablo 5.5’de belirtilmiştir.

**Tablo 5.4** Birinci PCR bileşenleri ve miktarları (Multipleks)

PCR İçeriği (Reaktifler)	Kullanılan Miktar (Stok konsantrasyonu)
Qiagen Master Mix	4 µl
Primer mix	2,84 µl
DNA	3,16 µl
<b>Toplam Hacim</b>	<b>10 µl</b>

**Tablo 5.5** Birinci PCR döngü koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
95 °C	10 dakika	1
95 °C	30 saniye	X 33
60 °C	30 saniye	
61 °C	5 dakika	1
+4°C	∞	-

#### 5.4.4. PCR ürünlerinin saflaştırılması

PCR işleminden sonra elde edilen üründe primer artıkları ve dNTPler bulunur. Bu maddeler SNaPshot™ Reaksiyonunun düzgün çalışmamasına neden olur. Ürünlerin saflaştırılması için ExoSAP-IT PCR ürünü saflaştırma kiti kullanıldı. Bu işlem için her 2.5µl PCR ürünü üzerine 1 µl ExoSAP-IT eklendi. Karışım hızlıca santrifüjlenip, 37°C’de 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 85°C’de 15 dakika

bekletilerek enzim inaktivasyonu sağlandı. Saflaştırılmış PCR ürünleri SNaPshot™ Reaksiyonu öncesi -20°C'ye kaldırıldı.

### 5.5. Minisekanslama (SNaPshot™ Reaksiyonu)

Minisekanslama reaksiyonu aşamasında Thermo Fisher Scientific tarafından üretilen SNaPshot™ Multiplex Kit, saflaştırılan PCR ürünleri ve tek baz uzama primerleri kullanılarak 6 SNP lokusunun PCR'ı tek tüpte gerçekleştirildi. SNaPshot™ Reaksiyonu için; 1,5 µl SNaPshot™ 1X Multiplex Ready Reaction Mix ve 1,60 µl SNaPshot™ uzama primeri üzerine 1.5µl PCR ürünü eklendi. Toplam hacmi 5 µl'ye tamamlamak için 0,40 µl distile su ilave edildi. Bu süreçte bileşenlerin buz tankında bulunmasına özen gösterildi. SNaPshot™ Multiplex Kit'in floresans özelliğinin bozulmaması için bulunduğu tüp alimünyum folyaya sarılarak ortamdaki ışıktan korundu. Hazırlanan örnekler hızlıca santrifüjlenip, önceden 25°C'ye getirilen GeneAmp 9700 (Applied Biosystems) cihazına yerleştirildi ve 96 °C'de 2 dakika ön inkübasyon, sonrasında 25 döngü: 96 °C'de 10 saniye, 50 °C'de 5 saniye ve 60 °C'de 30 saniye olarak PCR programı uygulandı. Saflaştırma işlemine başlanana kadar örnekler +4°C'de cihaz içinde bekletildi. Minisekanslama primerlerinin ve uzunlukları Tablo 5.6'da gösterilmiştir.

**Tablo 5.6** Minisekanslama primerleri ve uzunlukları

NCBI Rs kodu	SNaPshot™ primerleri	Gözlenen polimorfizm	Primer Uzunluğu
rs 12913832	-GCGTGCAGAACTTGACA	T/C	41
rs 1800407	-CCCACACCCGTC	C/T	23
rs 12896399	-TCTTTAGGTCAGTATATTTTGGG	G/T	53
rs 16891982	-AAACACGGAGTTGATGCA	C/G	29
rs 1393350	-TTTGTAAAAGACCACACAGATTT	T/C	47
rs 12203592	-AAAGTACCACAGGGGAATTT	G/A	35

### 5.5.1. Minisekanslama ürünlerinin saflaştırılması

Tek baz uzama sonrası, bağlanmayan floresans işaretli ddNTP'lerin inaktivasyonunu sağlamak amacıyla SNaPshot™ ürünleri Thermo Scientific FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase ile saflaştırıldı. SNaPshot™ ürünlerinin üzerine 1 µl FastAP (1U/µl) eklendi ve vortekslendi. Sonrasında karışım hızlıca santrifüjlenip, 37°C'de 80 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 85°C'de 15 dakika bekletilerek enzim inaktivasyonu sağlandı. Hemen kullanılmayacak örnekler elektroforez öncesinde 24 saate kadar 4°C'de bekletildi. 24 saatten fazla saklanacaklar ise -20°C'ye kaldırıldı.

### 5.5.2. Saflaştırılmış minisekanslama ürünlerinin elektroforezi ve değerlendirme

Saflaştırılan ürünlerin elektroforezi, görüntülenmesi, tiplemesi ve sonuçların değerlendirilmesi ABI PRISM® 310 Genetik Analizör (Applied Biosystems) kapiller elektroforez cihazı ile yapıldı. Her bir SNaPshot™ reaksiyonu ürünü için; 10 µl Hi-Di formamid içine 0.3 µl Genescene -120 LIZ Size Standard (Thermo Fisher Scientific) eklendi, kısa süre santrifüjlendi ve bu karışımdan 9,5 µl çekilerek yeni bir tüpe konuldu, tüp üzerine FastAP ile muamele edilen 1 µl SNaPshot™ Reaksiyonu ürünü eklendi ve karıştırıldı. Hazırlanan örnekler Tablo 5.7'de belirtilen koşullarda yürütüldü.

**Tablo 5.7** GeneScan E5 modül parametreleri

Parametre	GS POP-4 (1ml) E5 modül
<b>Matriks</b>	DS02
<b>İnjesiyon zamanı</b>	5 sn.
<b>Elektroforez voltajı</b>	15 kV
<b>Yürütme zamanı</b>	18 dakika
<b>Yürütme sıcaklığı</b>	60°C
<b>Şırınga pompalama süresi</b>	150 sn.




## 5.6. Verilerin Analizi ve Değerlendirilmesi

ABI PRISM® 310 Genetik Analizör (Applied Biosystems)' de yürütülen örneklerin okunması ve verilerin analizi için GeneScan Analysis software 3.1.2 (Applied Biosystems) programı kullanıldı.

## 5.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, Walsh ve arkadaşları (2011) tarafından geliştirilen, multinominal lojistik regresyon model istatistiğine dayalı göz rengi tahmin yöntemi olan ve altı SNP markırını (HERC2 rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350 ve IRF4 rs12203592) içeren (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>) adresindeki online IRISPLEX yazılımı kullanıldı (Erişim Tarihi: 01.04.2019). Basit bir doğrusal regresyon model olan iki değişkenli regresyon modeli, bağımsız X değişkeni ile bağımlı Y değişkeni arasındaki doğrusal bağıntıyı verir. Lojistik regresyonun en temel amacı, en az değişken ile en ideal uyumu sağlayacak şekilde, bağımsız ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkiyi açıklayabilen bir model oluşturmaktır [107]. Bağımlı değişken ikiden çok kategorili sınıflamalı bir değişken ise Multinomial Logistic Regression Analysis (MLR) adını alır. Parametre tahmin yöntemi olarak çoğunlukla "En çok benzerlik" yöntemi kullanılır. 6 SNP genotipi için minör alel sayısı (0, 1 veya 2) olarak programa giriş yapılır. IRISPLEX, 3 renk kategorisinin her biri için olasılık tahminlerini sağlar. 0.7 eşliğinden daha yüksek olasılık kabul eşiği olarak değerlendirildi. Tüm renk olasılıkları 0.7'nin altında olan kişiler "tanımsız" olarak işaretlendi [6],[108],[109].

**The IrisPlex System**



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

Predicted phenotype		
	p-value	AUC Loss
blue eye	0	0
intermediate eye	0.013	0
brown eye	0.987	0

**Şekil 5.1:** Örnek bir analiz sayfası (<https://irisplex.erasmusmc.nl/>) internet sayfasından alınmıştır erişim tarihi 26.04.2019

## 6. BULGULAR

Bu tez çalışmasında; aydınlatılmış onam formunu doldurup, DNA örneklerinin bilimsel çalışmalarda kullanılmasına rıza gösteren Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı, aralarında kan bağı olmayan, rastgele seçilmiş, 1 mavi gözlü, 4 kahverengi gözlü, 5 yeşil/ela gözlü olan toplamda 10 kişiden kan örneği alındı ve fotoğrafları eşit ışık şiddetinde ve eşit uzaklıkta çekilerek fenotip doğrulaması yapıldı. Toplanan kan örnekleri keten kumaşlara dökülerek kan lekesi yapıldı. Bu kan lekeleri oda koşullarında 5 yıl bekletildi. Bekleyen kumaşlardan parçalar kesilerek QIAamp DNA Mini kit ile DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA örnekleri 20°C’de muhafaza edildi. Bu tezde göz rengine ait bilgi veren Walsh ve arkadaşları (2011) tarafından geliştirilen IRISPLEX (6 pleks) çalışıldı. Çalışmanın bütün laboratuvar çalışmaları İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Moleküler Genetik Öğrenci Laboratuvarında tamamlandı.

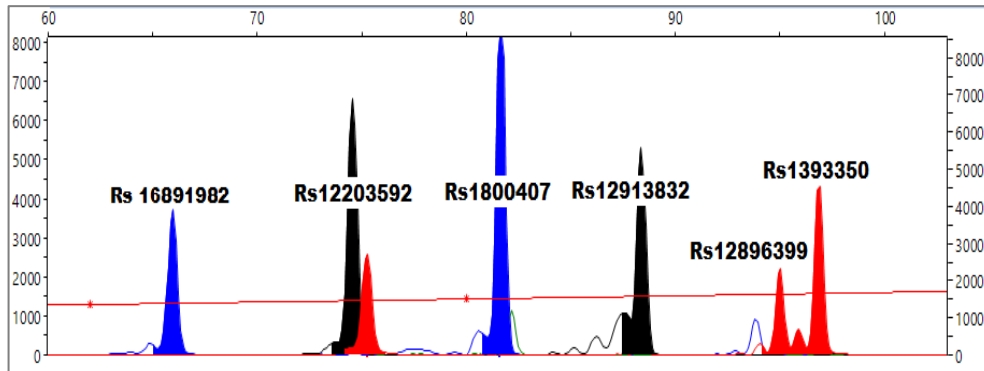
### 6.1 Optimizasyon Çalışmaları

Çalışmanın ilk aşamasında 6 SNP (rs1800407, rs16891982, rs12203592, rs12913832, rs1393350, rs12896399) lokusunun büyüklüklerini saptamak için önce single pleks sonra multipleks reaksiyonu yapıldı. Yer belirlemede 9947A kodlu pozitif kontrol (10ng/µl) örneği kullanıldı. SNP lokuslarının tespiti ve yürütme şartlarını kontrol etmek için Genescan-120 LIZ Size Standard (Applied Biosystems) kullanıldı. Genescan-120 LIZ Size Standard uzunlukları; 15, 20, 25, 35, 50, 62, 80, 110 ve 120 bazdır. SNP analizi sonuçları değerlendirilirken gözlenen ürün uzunlukları

beklenenlerden farklı olabilir. Boyaların bağlanması, primerlerin boyları ve nükleotit içerikleri uzama ürünlerinin hareketliliğini etkilemektedir. Genelde kısa dizi parçaları kendi uzunluklarından yaklaşık 5-6 baz uzun görünebilmektedir (SNaPshot™ Protokol). 9947A kodlu pozitif kontrol ile çalışılan lokusların elektroforegram görüntüsü (rs1800407, rs16891982, rs12203592, rs12913832, rs1393350, rs12896399) Şekil 6.1’de gösterildi. SNP noktalarının beklenen ve gözlenen büyüklükleri Tablo 6.1’de gösterildi.

**Tablo 6.1** Altı SNP’nin (IRISPLEX) beklenen ve gözlenen büyüklükleri.

SNP Adı	Beklenen Uzunluk (baz)	Gözlenen Uzunluk (baz)
rs1800407	77	81.80
rs16891982	62	66.33
rs12203592	69	74.76
rs12913832	83	88.99
rs1393350	92	96.24
rs12896399	88	94.04

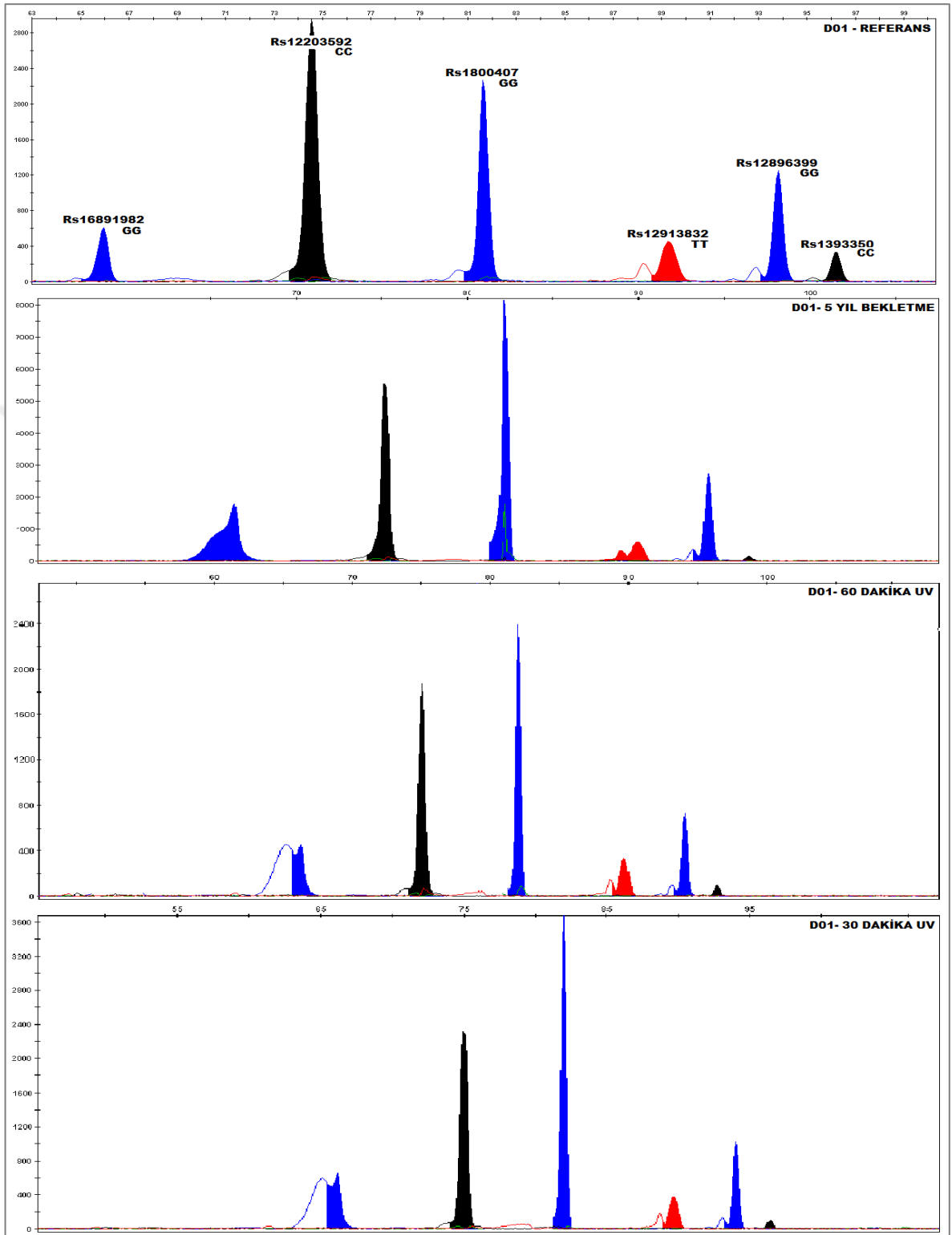


**Şekil 6.1** 9947A kodlu pozitif kontrol ile çalışılan lokusların elektroforegram görüntüsü

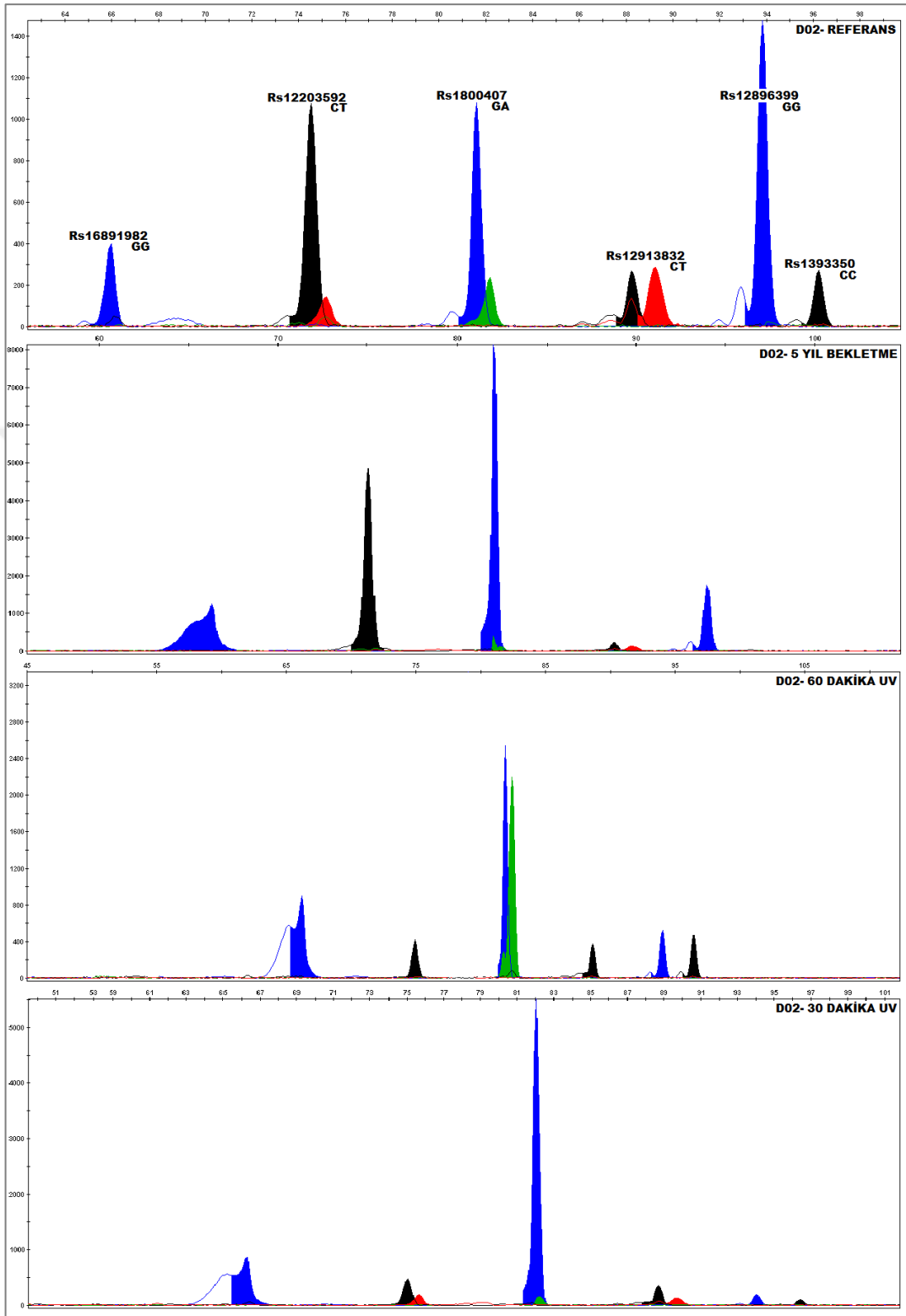
Lokusların yerleri belirlendikten sonra multipleks çalışmasına geçildi. Multipleks çalışmasında her primerin eşit konsantrasyonda bulunduğu primer karışımı hazırlandı. Elde edilen elektroforegramda bazı piklerin çok yüksek bazılarının ise analiz eşiğinin altında kaldığı veya hiç görülmediği belirlendi. Bunun üzerine primer

konsantrasyonlarında değişiklik yapılarak ideal profil görüntüsüne ulaşıldı. Çalışmanın sonraki aşamasında optimizasyonu tamamlanan 6 SNP lokusu ile gönüllü 10 kişinin genotipleri belirlendi ve bu genotipler ‘Referans’ olarak isimlendirildi. Sonrasında bütün degrade örneklerin genotipleri belirlendi. Elde edilen genotipler (Şekil 6.2-6.11) aşağıda gösterilmiştir.

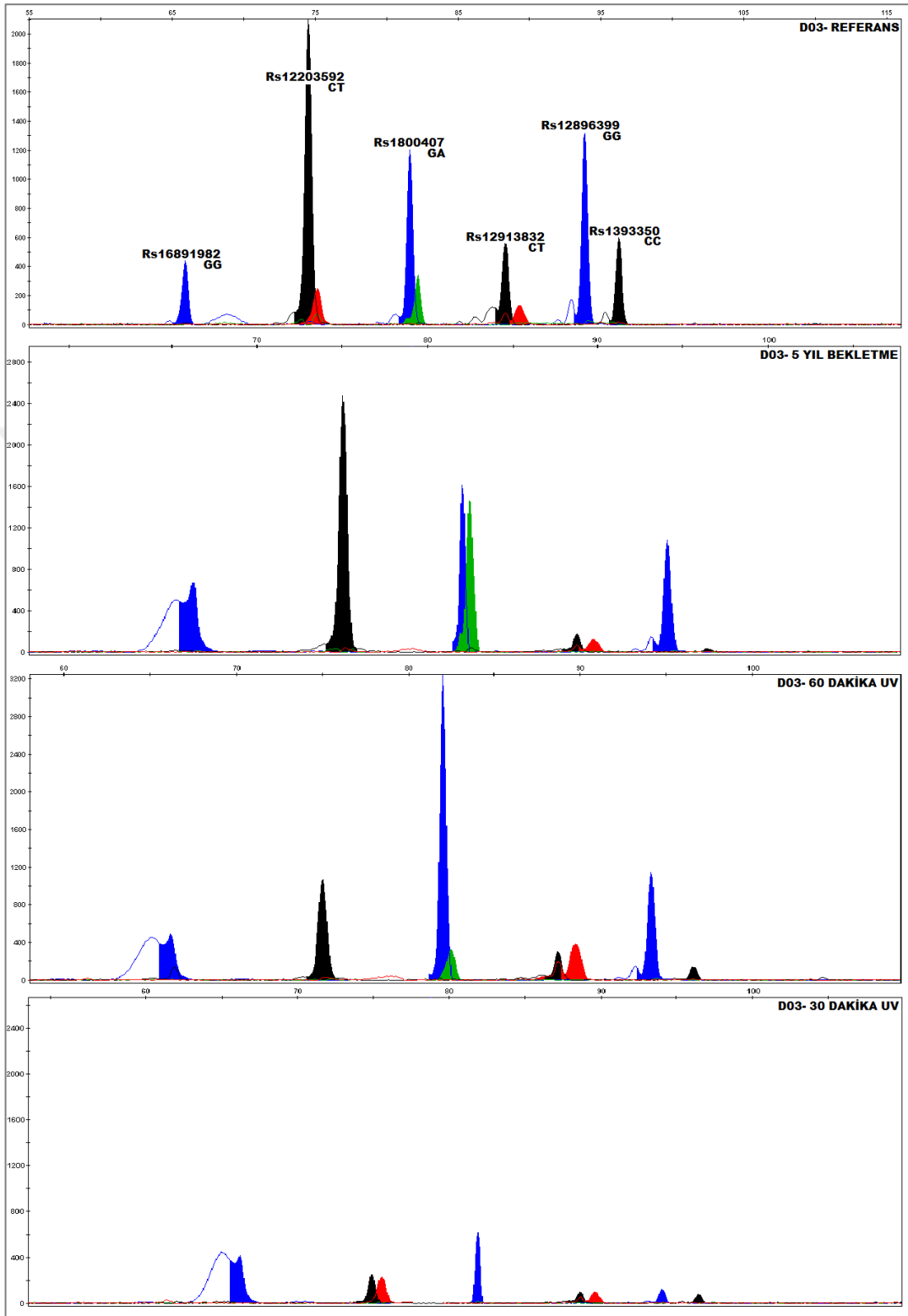




Şekil 6.2 D01 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.

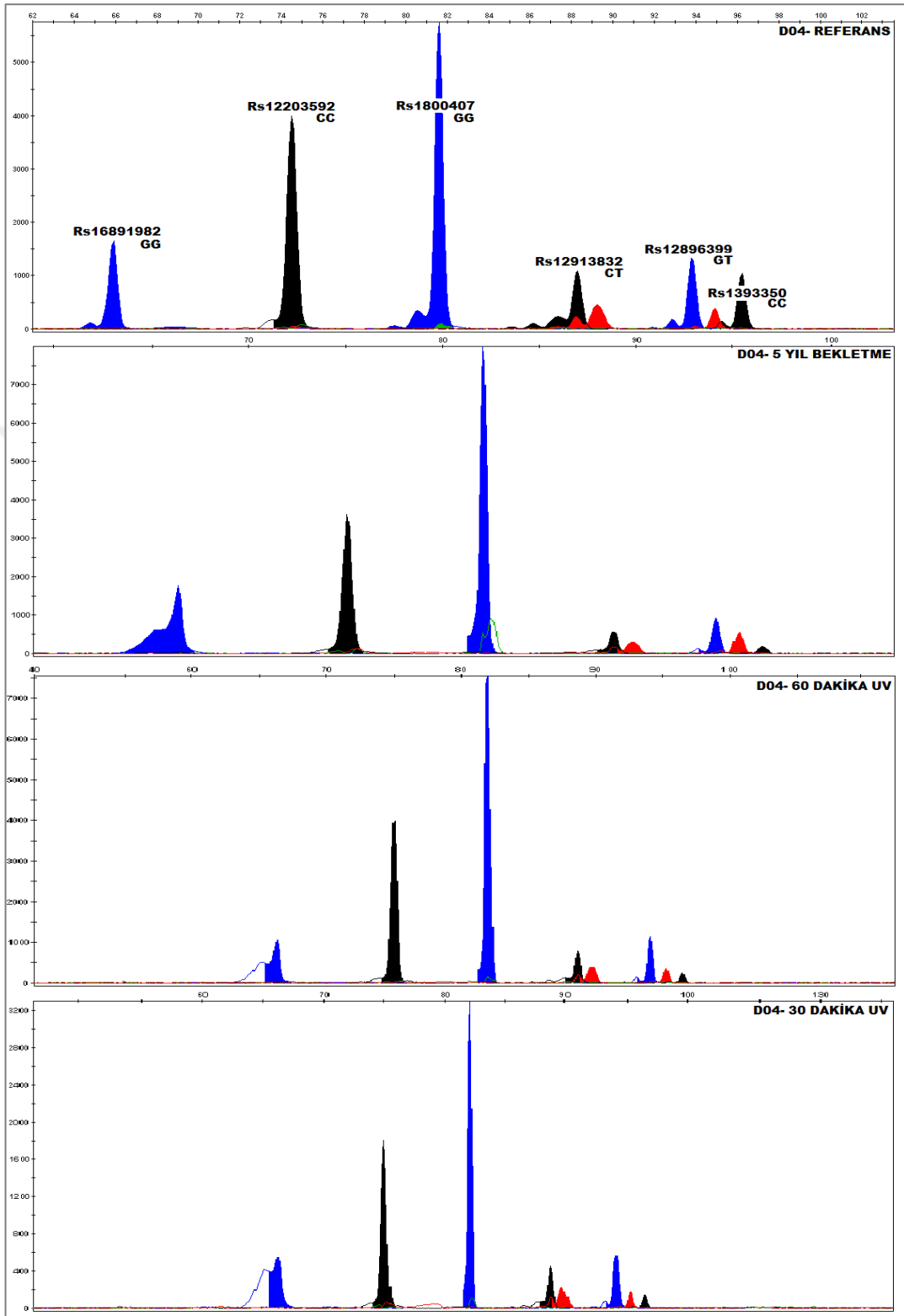


Şekil 6.3 D02 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.

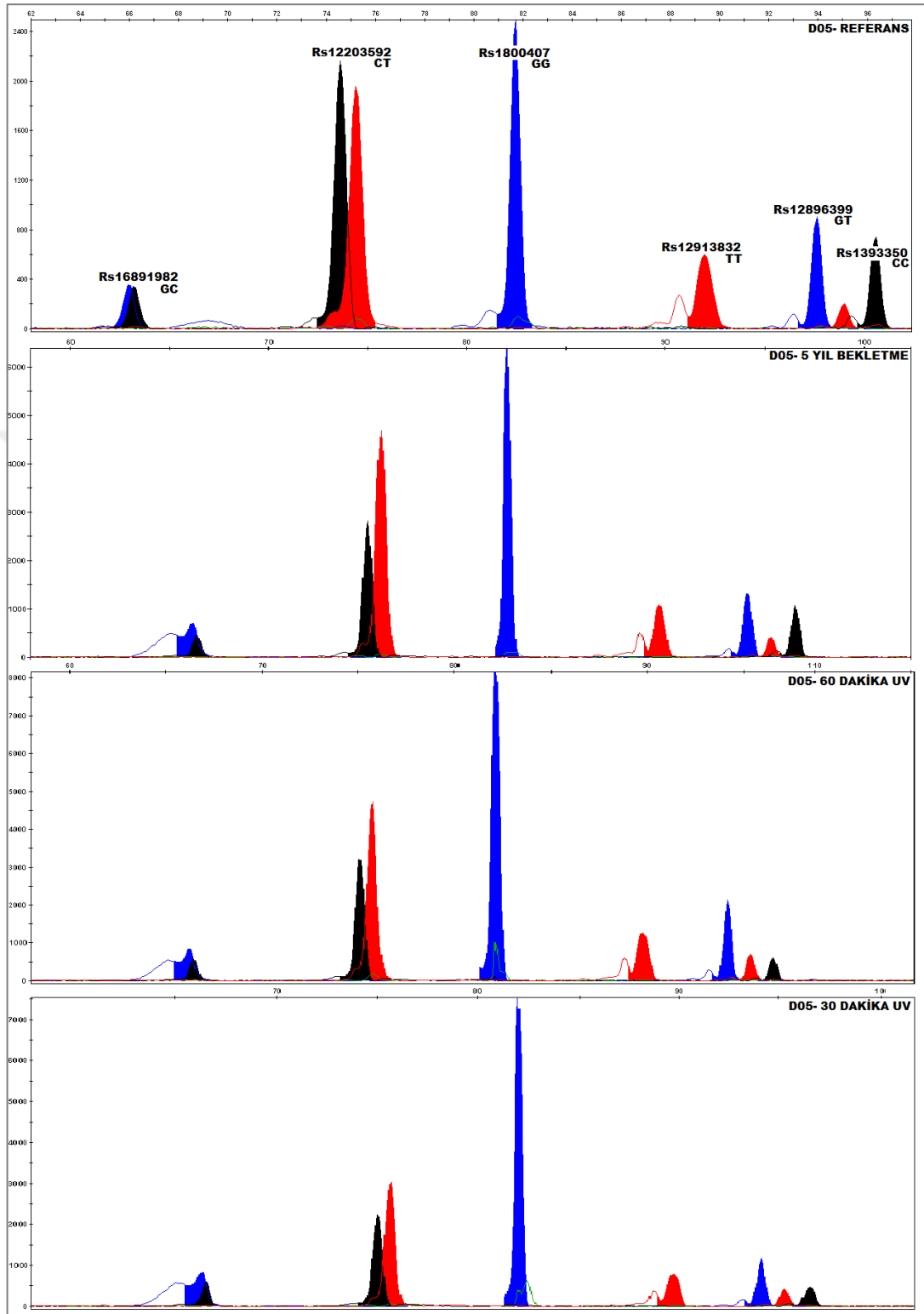


Şekil 6.4 D03 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.

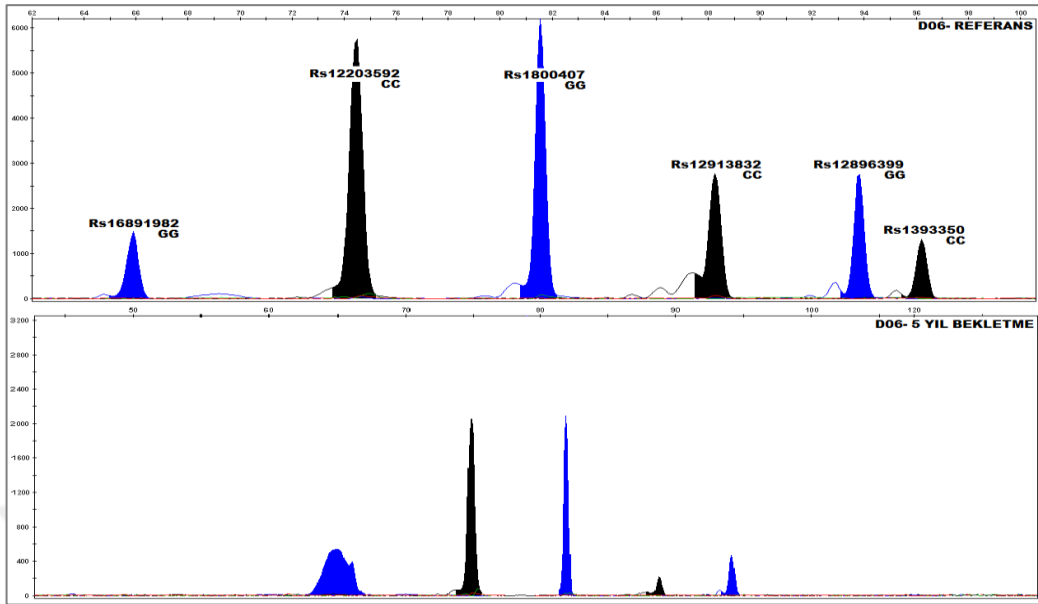




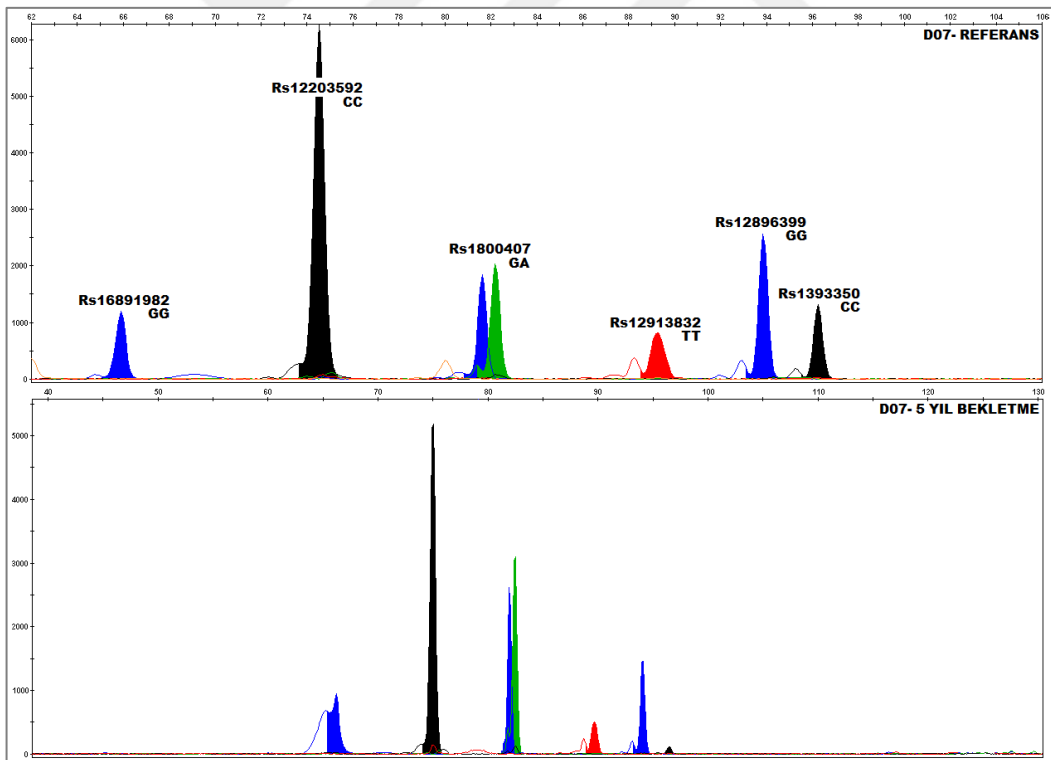
Şekil 6.5 D04 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



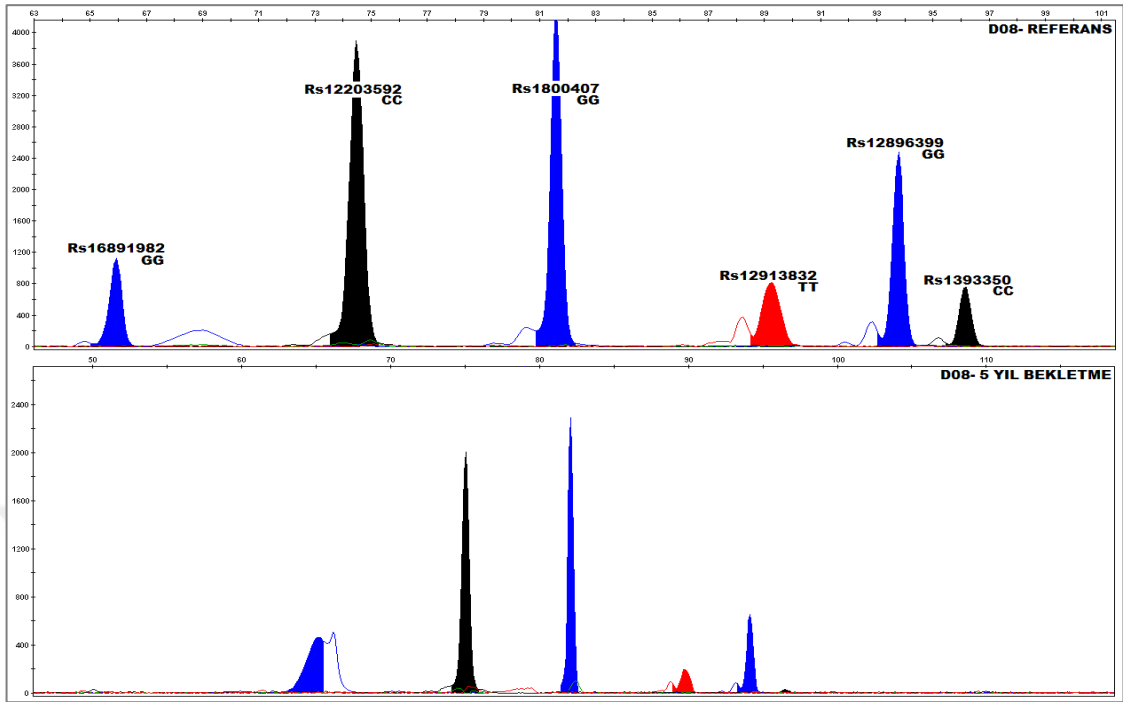
Şekil 6.6 D05 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



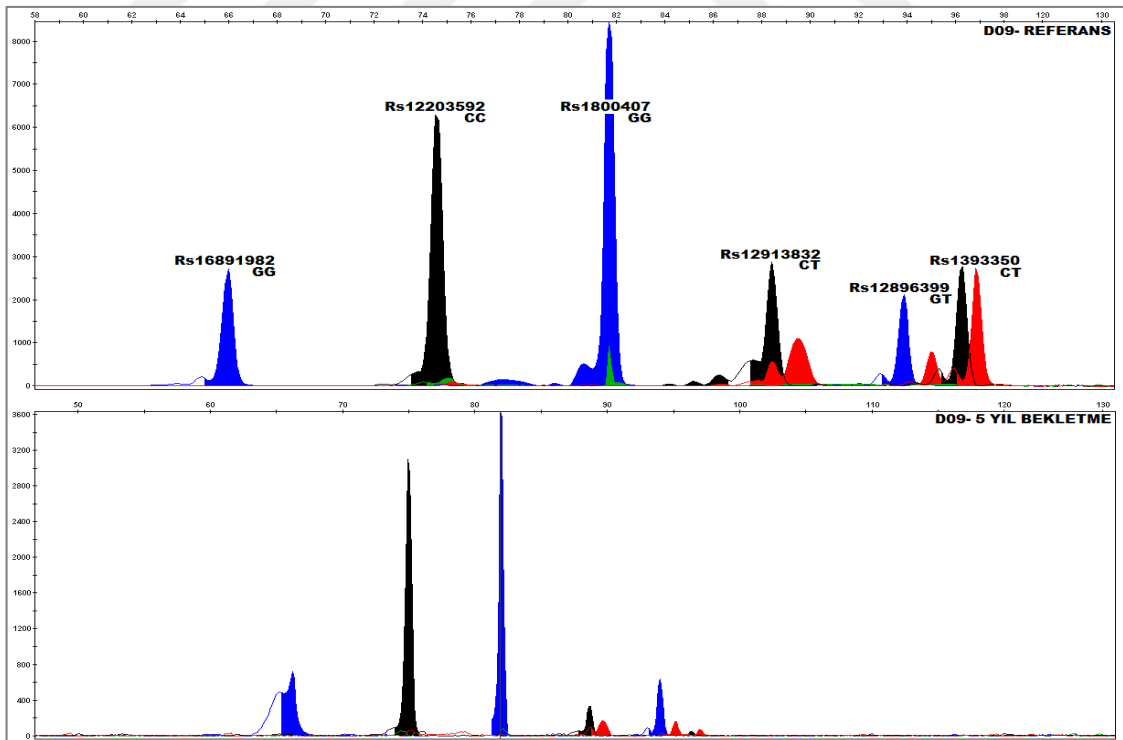
Şekil 6.7 D06 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



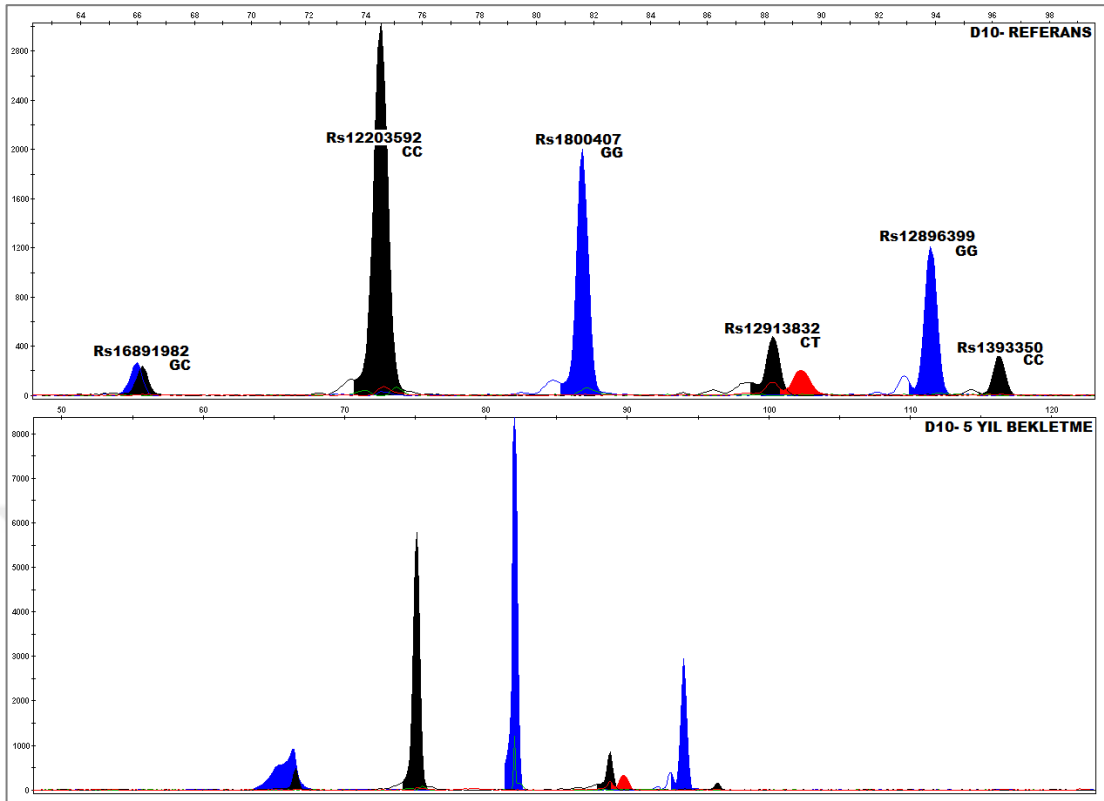
Şekil 6.8 D07 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



Şekil 6.9 D08 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



Şekil 6.10 D09 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.



Şekil 6.11 D10 isimli DNA örneğinin multipleks elektroforegram görüntüleri.

## 6.2 Kişilerin Genotiplerinin Belirlenmesi

SNaPshot™ kitin floresans yayılım oranları yaklaşık 4:2:1:1 olup, dR110 (mavi): dR6G (yeşil): TAMRA (siyah): dROX (kırmızı) kabul edilir. Bu nedenle A ve G noktalarının pik yüksekliklerinin 1/2, T ve C noktalarının 1/1, T ve G/A, C ve G/A noktalarının 1/4 oranında olmasına dikkat edildi.

**Tablo 6.2** Bütün çalışılan örneklere ait elde edilen genotip tablosu:


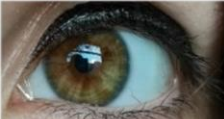







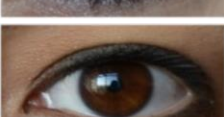
<i>Gen İsmi</i>	<b>HERC2</b>	<b>OCA2</b>	<b>LOC105370627</b>	<b>SLC45A2</b>	<b>TYR</b>	<b>IRF4</b>
<i>Rs Kod</i>	rs12913832	rs1800407	rs12896399	rs16891982	rs1393350	rs12203592
<i>Alel</i>	<b>C/T</b>	<b>G/A</b>	<b>T/G</b>	<b>G/C</b>	<b>C/T</b>	<b>C/T</b>
<b>Örnek İsimleri</b>						
<b>D01-Referans</b>	TT	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D01-5 yıl</b>	TT	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D01-60 dk UV</b>	TT	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D01-30 dk UV</b>	TT	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D02-Referans</b>	CT	GA	GG	GG	CC	CT
<b>D02-5 yıl</b>	CT	G-	GG	GG	!	C-
<b>D02-60 dk UV</b>	C-	GA	GG	GG	CC	C-
<b>D02-30 dk UV</b>	CT	G-	GG	GG	CC	CT
<b>D03-Referans</b>	CT	GA	GG	GG	CC	CT
<b>D03-5 yıl</b>	CT	GA	GG	GG	CC	C-
<b>D03-60 dk UV</b>	CT	GA	GG	GG	CC	C-
<b>D03-30 dk UV</b>	CT	G-	GG	GG	CC	CT
<b>D04-Referans</b>	CT	GG	GT	GG	CC	CC
<b>D04-5 yıl</b>	CT	GG	GT	GG	CC	CC
<b>D04-60 dk UV</b>	CT	GG	GT	GG	CC	CC
<b>D04-30 dk UV</b>	CT	GG	GT	GG	CC	CC
<b>D05-Referans</b>	TT	GG	GT	GC	CC	CT
<b>D05-5 yıl</b>	TT	GG	GT	GC	CC	CT
<b>D05-60 dk UV</b>	TT	GG	GT	GC	CC	CT
<b>D05-30 dk UV</b>	TT	GG	GT	GC	CC	CT
<b>D06-Referans</b>	CC	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D06-5 yıl</b>	CC	GG	GG	GG	!	CC
<b>D07-Referans</b>	TT	GA	GG	GG	CC	CC
<b>D07-5 yıl</b>	TT	GA	GG	GG	CC	CC
<b>D08-Referans</b>	TT	GG	GG	GG	CC	CC
<b>D08-5 yıl</b>	TT	GG	GG	GG	!	CC
<b>D09-Referans</b>	CT	GG	GT	GG	CT	CC
<b>D09-5 yıl</b>	CT	GG	GT	GG	CT	CC
<b>D10-Referans</b>	CT	GG	GG	GC	CC	CC
<b>D10-5 yıl</b>	CT	GG	GG	GC	CC	CC

### 6.3 Göz Rengi Tahmini ve İstatistiksel Analiz

Göz rengi tahmininde, Walsh ve arkadaşları (2011) tarafından geliştirilen, multinominal lojistik regresyon model istatistiğine dayalı göz rengi tahmin yöntemi olan ve altı SNP markırını (HERC2 rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350 ve IRF4 rs12203592) içeren (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>) adresindeki online IRISPLEX yazılımı kullanıldı ve elde edilen sonuçlar değerlendirildi (Erişim Tarihi: 01.04.2019). Analiz sonuçları Tablo 6.3'de görülmektedir. Tabloda fenotip doğrulaması amacıyla kişilerin göz rengi örneklerinin fotoğrafları ve DNA multinominal lojistik regresyon analizi sonucu tahmin edilen göz rengi olasılıkları verildi. IRISPLEX için tahmin edilen göz rengi, ilgili sütunda işaretlendi.

Kutu içerisine alınan örnekler göz rengi tahmininin istatistiksel olarak “belirsiz” (olasılık  $< 0,7$ ) olan veya fenotipleri ile uyuşmayan sonuçlardır. Diğer değerler istatistiksel yöntemin göz tahminindeki başarı oranını vermektedir.

**Tablo 6.3** Altı SNP markırı ile Türkiye popülasyonuna ait örneklerin IRISPLEX programıyla göz rengi tahmini analiz sonuçları.

				Irisplex Göz Rengi Tahmini				
		Bilinen göz rengi	Tahmin edilen göz rengi	Irisplex göz renkleri	Ref.	5 Yıl	60dk UV	30dk UV
D01		Kahverengi	Kahverengi	Mavi	0	0	0	0
				Ara renk	0,013	0,013	0,013	0,013
				Kahverengi	0,986	0,986	0,986	0,986
D02		Yeşil/Ela	Analiz eşiğinin altında	Mavi	0,206	0,062	0,915	0,084
				Ara renk	0,324	0,122	0,067	0,188
				Kahverengi	0,470	0,816	0,018	0,727
D03		Yeşil/Ela	Analiz eşiğinin altında	Mavi	0,206	0,143	0,143	0,084
				Ara renk	0,324	0,227	0,227	0,188
				Kahverengi	0,470	0,629	0,629	0,727
D04		Yeşil/Ela	Kahverengi	Mavi	0,099	0,099	0,099	0,099
				Ara renk	0,134	0,134	0,134	0,134
				Kahverengi	0,767	0,767	0,767	0,767
D05		Kahverengi	Kahverengi	Mavi	0	0	0	0
				Ara renk	0,013	0,013	0,013	0,013
				Kahverengi	0,987	0,987	0,987	0,987
D06		Mavi	Mavi	Mavi	0,848	0,864		
				Ara renk	0,088	0,081		
				Kahverengi	0,065	0,055		
D07		Yeşil/Ela	Kahverengi	Mavi	0,001	0,001		
				Ara renk	0,035	0,035		
				Kahverengi	0,964	0,964		
D08		Kahverengi	Kahverengi	Mavi	0	0		
				Ara renk	0,013	0,015		
				Kahverengi	0,986	0,985		
D09		Yeşil/Ela	Kahverengi	Mavi	0,141	0,141		
				Ara renk	0,152	0,152		
				Kahverengi	0,707	0,707		
D10		Kahverengi	Kahverengi	Mavi	0,012	0,012		
				Ara renk	0,050	0,050		
				Kahverengi	0,938	0,938		



5 yıl bekletilen 10 adet örneğin genotipi referans genotipler ile karşılaştırıldı; D02 örneğinde, rs1800407 (GA> GN) ve rs12203592 (CT>CN) lokuslarında alel kaybı ve rs1393350'de (CC>NN) lokus kaybı görüldü. D03 örneğinde rs12203592 (CT>CN) lokusunda alel kaybı görüldü. D06 ve D08 örneğinde örneğinde rs1393350'de (CC>NN) lokus kaybı görüldü.

60 ve 30 dakika UV'de bekletilen 5 örneğin genotipi referans genotipler ile karşılaştırıldı; 60 dakika UV'de bekletmede; D02 örneğinde rs12913832 (CT>CN) ve rs12203592 (CT>CN) lokusunda alel kaybı görüldü. D03 örneğinde rs12203592 (CT>CN) lokusunda alel kaybı görüldü. 30 dakika UV'de bekletmede; D02 örneğinde rs1800407 (GA> GN) lokusunda alel kaybı görüldü. D03 örneğinde rs1800407 (GA> GN) lokusunda alel kaybı görüldü. Diğer bütün örneklerden elde edilen genotip sonuçları ile yapılan istatistiksel hesaplama, referans sonuçları ile aynı çıktı.

Lokus ve alel kaybı olan D02, D03, D06 ve D08 örneklerinin istatistiksel hesaplaması IRISPLEX programında yapıldı ve elde edilen sonuçlar, referans sonuçlar ile karşılaştırıldı;

D02 referans örneğinin sonucu eşik değerin (%70) altında kaldığı için hesaplanamadı. D02 (5 yıl) örneğinde lokus ve alel kaybı vardı, %81 Kahverengi sonucu alındı. D02 (60 dakika UV) örneğinde 2 adet alel kaybı vardı, %90 Mavi sonucu alındı. D02 (30 dakika UV) örneğinde 1 adet alel kaybı vardı, %72 Kahverengi sonucu alındı. D03 (5 yıl) örneğinde alel kaybı vardı, bütün değerler %70'in altında kaldığı için sonuç hesaplanamadı. D03 (60 dakika UV) örneğinde 1 adet alel kaybı vardı, bütün değerler %70'in altında kaldığı için sonuç hesaplanamadı. D03 (30 dakika UV) örneğinde 1

adet alel kaybı vardı, bütün değerler %70'in altında kaldığı için sonuç hesaplanamadı. D06 ve D08 örneklerindeki lokus kaybı, istatistiksel hesaplamayı değiştirmede. D02 ve D03 referans örneğinin sonucu, bütün değerler eşik değerin altında kaldığı için hesaplanamadı. D02 ve D03 örneklerinin referans genotipi birbinin aynısıdır.



## 7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Adli bilimlerde, bir olayın aydınlatılmasında toplanan delillerden elde edilecek her bilgi suçluya daha kolay ulaşılmasını sağlar. Moleküler genetik alanındaki gelişmeler ile biyolojik örneklerden suçluya ait daha fazla bilgi edinilmeye çalışılmaktadır. SNP markırları insan genomunda en fazla bulunan genetik işaretlerdir. 2000’li yılların başından itibaren adli bilimlerde SNP ile ilgili kimliklendirmeye yönelik birçok araştırma yapılmaktadır. SNP’lerin, yaygın olarak rutin adli genetik çalışmalarda kullanılan mikrosatellitlere göre çok daha düşük mutasyon oranına sahip olmaları ve analiz edilebilmeleri için gerekli PCR ürün uzunluklarının 150 bp’den kısa ampliconlar olması aşırı derecede bozulmuş DNA örneklerinden DNA profillerinin belirlenmesi mümkün olmaktadır [12], [15], [20].

Adli vakaların aydınlatılması amacıyla fenotip özelliklerin kullanımı son zamanlarda oldukça önem kazanmıştır. Adli DNA fenotiplendirmenin amacı; öncesinde kişinin saç rengi, göz rengi, ten rengi gibi gözlenebilir özelliklerini eldeki olay yerinden gelecek örnek materyalini kullanarak genetik kodlarından bulabilmek, sonrasında ise mümkünse o kişiyi tanımlayabilecek başka özelliklerine dair bilgi edinebilmektir. Göz renginin kişilerde belirgin fiziksel özelliklerden biri olması, toplumumuzda adli vakaların çözümlenmesinde göz rengini belirleyen genlerdeki polimorfizmlerle ilgili veri tabanının oluşturulmasını gerekli kılmaktadır. Yakın gelecekte de adli antropologların, insan iskelet kalıntılarında kişilerin pigment görünüşü ile ilgili özelliklerini belirleyebilmek için insan pigmentasyon genlerinden daha fazla yararlanmaları öngörülmektedir. İskelet kalıntılarında elde edilecek DNA’nın

degradasyonu göz önünde bulundurularak, IRISPLEX sisteminin degrade örneklerdeki stabilizasyonunun incelenmesi, verilerden elde edilen sonuçların antropolojide ve adli bilimlerde güvenilirlik sınırını belirlememizi ve analiz yöntemlerini geliştirmede katkıda bulunabilmemizi sağlayacaktır [46].

Gözle görülebilen fiziksel özellikleri (boy uzunluğu, ten rengi, yüz şekli, yaş, saç ve göz rengi gibi) belirleyen SNP markırlarının adli bilimlerde kullanılabilmesi için tüm bu özelliklerin genetik yapılarının tam olarak bilinmesi ve güvenilir tahmin yöntemlerinin geliştirilmesi gerekir. Günümüzde genetik yapısı en fazla bilinen fenotip varyasyonları göz, saç ve ten rengi pigmentasyon varyasyonlarıdır [16], [20], [57], [60], [74], [75], [110], [111].

İnsanda melanin pigmentasyonu ten, saç ve göz rengini oluşturur. Melanin, üretim basamaklarına göre ömelanin veya feomelanin şeklinde üretilmektedir [112]–[114].

Melanin üretiminden birçok gen sorumludur. Bu genlerin birbirleriyle etkileşimleri sonucunda melanin varyasyonları oluşur bu da fenotipe yansiyarak kişinin fiziksel özelliklerini belirler. Bu genetik varyasyonlara neden olduğu bilinen genlerden başlıcaları; OCA2, SLC45A2, SLC24A5, TYR ve MC1R genleridir [57], [61], [69].

Biyolojik delillerden bu genler üzerinde bulunan spesifik SNP markırlarının çalışılması ile saç, ten, göz rengi, boy uzunluğu gibi kişiyi tanımlayabilecek gözle görülebilir fiziksel özellikler belirlenebilir ve bu sayede adli olgular aydınlatılabilir [57], [60], [74], [75], [110], [111] [115], [116]. Yukarıda belirtilen pigmentasyon genlerinden en çok OCA2 geni çalışılmış olup, bu genin göz rengini belirlediğini gösteren birçok araştırma bulunmaktadır [46], [47], [50], [58]. OCA2 ve HERC2

genlerinin kromozom üzerindeki konumları birbirlerine oldukça yakın olup OCA2 geni 15. kromozom üzerinde 15q11.2-12 bölgesinde, HERC2 geni ise 15q13 bölgesinde yer almaktadır [33], [47], [48], [74], [76]. Yakın zamanda yapılan yayınlarda HERC2 ve OCA2 genlerindeki polimorfizmlerin araştırıldığı ve bu polimorfizmlerin göz renginin belirlenmesinde önemli bir etken oldukları görülmektedir.

Yeryüzündeki bütün organizmalar DNA içerir. Biyolojik deliller, insan dışı canlılar, özellikle bakteri, mantar gibi mikroorganizmalar tarafından kontamine edilirse analizde sorun yaratır. İnsana ait olmayan bu bulaşmış DNA'lar sorun yaratmaz, çünkü adli amaçlı kullanılan DNA testlerinde insan DNA'sına spesifik bölgeler çoğaltılmaktadır. Fakat, DNA'ya zarar veren enzimleri (nükleazlar) üreten mikroorganizmaların kontaminasyonu insan DNA'sının degradasyonuna sebep olacağı için, PCR sonuçlarını negatif yönde etkiler [117].

Bu tür mikroorganizmalar dışında, DNA'nın degradasyonuna neden olan diğer faktörler de mevcuttur. DNA, vücut dışında herhangi bir dış ortama maruz kaldığında, vücut içinde olduğu kadar stabil kalmaz. Çevresel koşulların uygun olmadığı durumlarda DNA, oksidatif veya hidrolitik hasara uğrar. Bu değişime sebep olan çevre koşulları; sıcaklık, nem, ışık ve çeşitli kimyasallardır. Oksidatif reaksiyonlar DNA üzerinde baz değişikliklerine sebep olur. DNA analizine etkisi; bazların yanlış birleşmesi sebebiyle PCR reaksiyonunda primerlerin bağlanamaması şeklinde olur. Hidrolitik reaksiyonlar DNA'nın fosfodiester bağlarının kırılmasına ve DNA'nın parçalanmasına sebep olur, N-glikozil bağları kırılır ya da deaminasyon ile bazlar

yanlış birleşir. Her iki durumun sonucunda da DNA degrade olur yani örnekteki DNA parçalarının ortalama boyutları azalır. DNA degradasyonu, dış ortam koşullarına bağlı olarak hafif veya yüksek derecede olabilir. PCR amplifikasyonunun olabilmesi için primerlerin DNA'ya bağlandığı bölgelerde herhangi bir degradasyonun olmaması gereklidir. Böyle bir durumun varlığında PCR sonucu başarılı olmaz, DNA dizisi çoğaltılamaz, dizileme yapılamaz [118], [119].

Bu çalışmanın amacı, olay yerinde bulunabilecek bekletilmiş ve yapay olarak degradasyona uğratılmış kan lekelerinden 6 SNP (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350, rs12203592) markırı kullanılarak göz renginin saptanması ve degradasyonun göz rengi tahmini üzerindeki etkilerini belirlemektir.

Araştırmada çalışılan SNP seti, Walsh ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir ve buna IRISPLEX Sistemi ismini vermişlerdir [60]. Çalışmada, Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, gerekli izin ve bilgilendirilmiş onam formu onayları alınan 10 kişiden kan ve ağız içi sürüntü örnekleri toplandı. Gerçek bir olay yerini canlandırmak amacı ile yıkanmış ve kurutulmuş keten kumaşlar üzerine 10 gönüllüden alınan kan örnekleri döküldü ve degrade olması amacıyla 5 yıl bekletildi. Aynı kişilerden alınan ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izole edildi, bu DNA'ların bir kısmı referans olması amacıyla saklandı, kalan kısmı ise eppendorf tüp içerisinde tüplerin kapakları açık bir şekilde UV ışık kaynağına 30 cm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirildi ve 253,7nm UV ışığında (UVC) 30 ve 60 dakikalık periyotlarda bekletildi. Işınlama süresi sonunda örneklerin çift zincirli DNA miktarları florimetrik

yöntem ile ölçüldü. Ölçüm çift zincirli DNA için Qubit™ dsDNA HS (High Sensitive) Assay kit ile Florometre (Invitrogen) cihazında yapıldı.

Bu çalışmada 10 kişinin IRISPLEX genotipi, adli genetik laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan minisekanslama yöntemine dayalı SNaPshot™ kiti (Thermo Fisher Scientific) ile belirlendi. Yöntemin yaygın olmasının sebepleri; adli laboratuvarlarda kullanılan PCR, kapiller elektroforez gibi cihazlarda uygulanabilir ve az miktarda DNA örneği ile çok sayıda SNP markırının birarada çoğaltılabilir olmasıdır. Yöntemin uygulanabilmesi için her bir multipleks SNP setine özgü primer tasarlanması ve tasarlanan primerlerin konsantrasyonunun optimize edilmesi zorunludur. Ayrıca multipleks kapasitesinin adli bilimler için yeterli olması ve kolay uygulanabilmesi yöntemin diğer avantajlarıdır [15], [20], [111], [120]–[125].

Bütün bu avantajlar doğrultusunda, minisekanslama yönteminin tercihi, çalışmanın amacına uygun bir seçim olmuştur. SNaPshot™ reaksiyonu sonrasında elde edilecek ürün uzunlukları az miktarda ve bozulmuş örneklerin analizine uygun olması için primer uzunluklarının 150 bp'den kısa olması gerekir. Minisekanslama sonrasında elde edilecek piklerin dengeli olması için her bir PCR primerinin konsantrasyonu çok iyi ayarlanmalıdır. SNaPshot™ reaksiyonu sonunda oluşan ürünlerin son uzunluklarının elektroferogramda çakışmaması için yeterli uzunlukta primer kuyukları tasarlanmalıdır [20].

Çalışmanın ilk aşamasında, tek baz uzama reaksiyonunda kullanılacak SNaPshot™ Kit (Thermo Fisher Scientific) ile laboratuvar koşullarında doğru ve güvenilir sonuçlar alınıp alınmadığının kontrolü yapıldı. Yer belirlemede 9947A kodlu pozitif kontrol

(10ng/ $\mu$ l) örneği kullanıldı. Daha sonra 6 SNP lokusunun büyüklüklerini saptamak amacıyla önce single pleks daha sonrasında multipleks (6 pleks) SNP seti çalışıldı her bir lokusun elektroforegramda yerleri belirlendi. SNP ürünlerinin uzunluklarının +4/+6 baz aralığında değiştiği görüldü (Tablo 6.1). Bu farklılığın sebebi SNaPshot™ kit manuelinde floresans boyaların bağlanması uzama ürünlerinin hareketliliğine etkisi olarak açıklanmaktadır. Genelde kısa fragmentler kendi uzunluklarından yaklaşık 5-6 baz uzun görünebilmektedir (SNaPshot™ Protokol, 2005). Beklenen ve gözlenen uzunluk değerleri Tablo 6.1’de, elektroforegram görüntüleri ise Şekil 6.2-6.11’de verilmiştir. Güvenilir sonuçlar elde edebilmek için multipleks içinde yer alan primer konsantrasyonları ve PCR koşulları değiştirilerek en iyi sonuç veren koşullar ile deneylere devam edildi. SNP lokuslarının tespiti ve yürütme şartlarını kontrol etmek için Genescan-120 LIZ Size Standard (Applied Biosystems) kullanıldı.

Walsh ve arkadaşları (2011) multinominal lojistik regresyon model istatistiğine dayalı göz rengi tahmin yöntemi olan ve altı SNP markırını (HERC2 rs12913832, OCA2 rs1800407, SLC24A4 rs12896399, SLC45A2 rs16891982, TYR rs1393350 ve IRF4 rs12203592) içeren IRISPLEX setini geliştirmişlerdir. Bu altı SNP markırını ile 3804 Hollandalı kişide mavi ve kahverengi göz rengi %91,6 ve %87,5 başarı oranlarıyla tahmin edilebilmiştir. Bu sistem ile sadece mavi ve kahverengi renklerinin birbirinden ayrılabilmesi belirtilmiştir. Ancak yeşil veya açık kahverengi ile ilgili güvenilir bir sonuç alınamadığı vurgulanmıştır. Çalışmada güvenilir göz rengi tahmini için olasılık oranını minimum %70 (0,7 eşik değeri) alınmasının gerekli olduğu bu değerinin



altındaki olasılık oranlarının “belirsiz” olarak sınıflandırılması gerektiği bildirilmiştir [6], [20].

Bu çalışmada, fiziksel özellikleri bilinen 10 kişiden elde edilen bütün genotip sonuçlarının değerlendirilmesi, multinominal lojistik regresyon istatistiği kullanılarak geliştirilen (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>) adresindeki online IRISPLEX yazılım programı ile yapıldı. Programda hesaplama yapılırken; 6 SNP genotipi için minör alel sayısı (0, 1 veya 2) olarak programa giriş yapılır. IRISPLEX, 3 renk kategorisinin her biri için olasılık tahminlerini sağlar. Bu çalışmada 0.7 (%70) eşikten daha yüksek olasılıklar kabul eşiği olarak değerlendirildi. Tüm renk olasılıkları 0.7'nin altında olan kişiler “tanımsız” olarak işaretlendi. Bu çalışmada yapılan tahminden elde edilen sonuçlar Tablo 6.3’de verilmiştir.

#### Referans örneklerin göz rengi tahmin sonuçları:

Referans örneklerin genotip ve fenotipleri karşılaştırıldı. Toplamda 10 kişiden 8 kişinin göz rengi tahmin değeri analiz eşiğinin üzerinde ( $>0.7$ ) görüldü. Mavi (D06 referans) ve kahverengi gözlü (D01, D05, D08, D10 referans örnekleri) kişilerin göz renkleri %100 başarıyla belirlendi. Geri kalan ela gözlü 3 kişinin (D04, D07, D09 referans örnekleri) göz renkleri, kahverengi olarak tahmin edildi. D02 referans ve D03 referans örneklerinin genotipleri, IRISPLEX programına girildiğinde, tahmin hesaplamasında elde edilen değer 0,7 olasılık eşik değeri altında kaldığı için sonuç hesaplanamadı ve “belirsiz” olarak değerlendirildi. IRISPLEX sistemi, mavi/kahverengi göz rengi fenotiplerini doğru şekilde tahmin etmek için yüksek bir başarı oranına sahiptir, ancak yeşil-ela fenotipleri için değildir [116]. Bu sebeple fenotipi ela

renk olan D02 ve D03 referans örneklerinin sonucu analiz eşiğinin altında kaldı ve fenotip tahmini yapılamadı. Fenotip tahmini yapılamayan bu örneklerin genotiplerinin birbiri ile aynı olduğu, diğer örneklerin genotiplerinin hiçbirinin birbiri ile aynı olmadığı saptandı (Tablo 6.2).

5 yıl bekletilen örneklerin göz rengi tahmin sonuçları:

5 yıl bekletilen örneklerin genotip sonuçları, referans sonuçlar ile karşılaştırıldığında; Toplamda 10 örneğin yalnızca 4'ünde (D02, D03, D06, D08) lokus ve/veya alel kayıpları görüldü. Diğer örneklerde lokus ve alel kaybı görülmedi. Alel ve lokus kaybı olmayan örneklerin genotip sonuçları fenotipleri ile karşılaştırıldığında tahmin sonuçlarının tutarlı olduğu görüldü. D02 (5 yıl) sonucu TYR- rs1393350 lokus kaybı, OCA2- rs1800407, IRF4- rs12203592 bölgelerinde ise alel kayıpları ile IRISPLEX programında %81 kahverengi sonucu alındı. D03 (5 yıl) örneğinde IRF4- rs12203592 bölgesinde alel kaybı vardı, IRISPLEX programına girildiğinde, tahmin hesaplamasında elde edilen değer 0,7 olasılık eşik değeri altında kaldığı için sonuç hesaplanamadı. D06 (5 yıl) ve D08 (5 yıl) örneklerindeki TYR- rs1393350 lokusunun kaybı, tahmin sonuçlarını etkilemedi. Lokus kaybı yalnızca 5 yıl bekletilen örneklerde ve TYR geninde (rs1393350) görüldü.

UV ile degrade edilen örneklerin göz rengi tahmin sonuçları:

Yapay degradasyon için DNA ekstraktları eppendorf tüplerde 30 ila 60 dakikalık aralıklarla, 30 cm'lik mesafedeki Grant-bio (254nm UVC) kaynağından UV ışığına maruz bırakıldı. Örnek D01, D04 ve D05'in UV'ye 30 ve 60 dakika maruz bırakılması, bu örneklerin genotiplerinde herhangi bir değişime yol açmadı. UV degradasyonu

yapılan hiçbir örnekte lokus kaybı görülmedi, yalnızca D02 ve D03 örneklerinde alel kayıpları görüldü. D02-30 dk UV örneğinde OCA2- rs1800407 bölgesindeki alel kaybı IRISPLEX tahmin oranını değiştirmede. Bilinen göz rengi ela olan, D02-60 dk UV örneğinde; HERC2 rs12913832 ve IRF4 rs12203592 bölgelerinde alel kayıpları sonucu, IRISPLEX programında %90 mavi sonucu alındı. Referans Örnek D03, IRISPLEX’de analiz eşiğinin altında kalırken, D03-30 dk UV örneğinde OCA2- rs1800407 bölgesinde alel kaybı sonucu IRISPLEX programında göz rengi %72 kahverengi olarak hesaplandı. D03-60 dk UV örneğinde ise; IRF4 rs12203592 bölgesinde alel kaybı görüldü ve tahmin hesaplamasında elde edilen değer 0,7 olasılık eşik değeri altında kaldığı için IRISPLEX’de göz rengi tahmini yapılamadı. Göz rengi tahmini için en güçlü lokus HERC2 rs12913832’dir. Bu lokusun yokluğu tüm göz renginin tahmin doğruluğunu ciddi şekilde sınırlar. Kısmi profillerde eksik genotipler nedeniyle birçok olasılık vardır [19], [82], [87], [126]. Çalışmamızda D02-60 dk UV örneğinde HERC2 rs12913832 ve IRF4 rs12203592 bölgelerinde alel kayıpları sonucu, IRISPLEX programında %90 mavi sonucu alınması, bu bilgiyi doğrulamaktadır. 6 SNP markırı ile sadece kahverengi ve mavi göz rengi ayrımı yapılabilirken açık kahve ve yeşil göz rengi tahmini yapılamamaktadır. Fakat mavi ve kahverengi göz rengi tahmininde başarıyla kullanılabilirler [116]. Bülbül ve ark. (2018) Türkiye’den 100 kişilik bir grupta yaptığı çalışmada; IRISPLEX sonuçları ile, Avrupalı olmayan bireylerde mavi/kahverengi göz rengi fenotiplerinin öngörülmesinin yüksek doğrulukla mümkün olduğunu ve Avrupa popülasyonlarındaki performansla karşılaştırılabilir olduğunu göstermişlerdir [116]. Bununla birlikte, tahmin

sonuçlarının, yeşil ve ela gibi ara göz renkleri için daha az güvenilir olduğunu söylemişlerdir [116].

İki yapay degradasyon işlemi karşılaştırıldığında;

5 yıl bekletmenin, UVC ışını degradasyonundan daha zararlı olabileceği görülmüştür. Mevcut adli uygulamada, DNA delili içeren bir vaka araştırılırken, olay yerinde bulunan biyolojik bir örneğin kimliklendirilmesi için STR DNA analizi yapılır. Bazı durumlarda, kanıt materyalinden elde edilen bir STR profili, suçlu DNA veritabanından bilinen bir şüpheli ile uyuşmaz ise bu soruşturmanın durdurulmasına yol açmaktadır. Adli DNA Fenotiplemesi, adli DNA analizine yeni bir boyut katar. Yöntem, olay yerinden elde edilen STR profilinin olay ile ilişkilendirilemediği durumlarda, tam STR profili elde edilen ancak DNA bankasında bilinen bir kişininle eşleşmeyen kişilerin sorgulanmasında veya tam STR profili elde edilemeyen durumlarda kolluk kuvvetlerine yardımcı olmak için umut verici bir alternatif sunar. IRISPLEX sistemi ile mavi ve kahverengi göz rengi >% 90 hassasiyetle tahmin edilebilir [18],[148],[149].

DNA kalitesinin veya miktarının yetersiz olduğu durumlarda IRISPLEX sisteminin hassasiyeti çeşitli çalışma grupları tarafından çalışılmıştır; Draus-Barini ve arkadaşları 2013 yılında; HIRISPLEX (IRISPLEX'e ek olarak saç rengi SNP markırlarını içerir) sistemi ile kemik ve diş kalıntılarından çeşitli bekleme aralıklarında ve depolama koşullarında göz ve saç rengini belirlemeye çalışmışlardır; Çalışmada çeşitli yaşlarda 26 kemik DNA ekstraktının 23'ünden ve yaklaşık 800 yıl beklemiş bir diş örneğinden tam 24 SNP HIRISPLEX profili elde edilmiştir. Öte yandan, açık toprakta bulunan

nispeten genç bir kemik örneğinden kısmi bir profil elde edilmiştir. Çok düşük miktar ve/veya kalitede DNA içeren örneklerden fenotip tahmini yapıldığında özel dikkat gösterilmelidir. HIRISPLEX sistemi için daha önce yapılan hassasiyet çalışmalarında 60 pg'a kadar alelik kayıp gözlenmediği bildirilmiştir [129]. Fakat bu yapılan çalışmada, DNA miktarı 60 pg'dan küçük iki örnekten analiz yapılabilmektedir. Örneklerden biri (yaklaşık 30 pg), göz ve saç rengi tahminine izin veren tam bir HIRISPLEX profili ortaya çıkarmıştır. Diğeri ile (yaklaşık 10 pg) üç DNA markırında genotip olmamasına rağmen göz rengi tahmini yapılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar kemik materyalden elde edilen DNA kalitesinin sadece depolama süresine değil, kalıntıların bozulmasını etkileyen çevresel koşullara bağlı olduğuna dair daha fazla kanıt sunar. Düşük sıcaklık ve düşük nemin DNA bozulmasını önlediği bilinmektedir [130]. Bu koşullar on binlerce yıl sonra bile başarılı DNA analizine olanak sağlar [131]. Her durumda HIRISPLEX testinin iskelet kalıntılarında veya iz DNA gibi düşük kalite/miktar DNA örneklerine uygulanmasında düşük kopya DNA örnekleri için belirlenen öneriler dikkate alınmalıdır [132]. HIRISPLEX sisteminin evrimsel, antropolojik ve adli incelemelerde insan kalıntılarının genetik çalışmalarında çok daha yaygın olarak kullanılacağı tahmin edilebilir. HIRISPLEX sistemi, orta çağa ait (ve muhtemelen daha yaşlı) örnekler de dahil olmak üzere, çeşitli yaşlarda kemik ve dişlerin başarılı bir şekilde analiz edilmesini sağlamak için yeterince hassas ve dayanıklıdır. İskelet kalıntılarında HIRISPLEX testi DNA ekstraksiyonu konusunda uzmanlaşmış adli DNA laboratuvarlarında başarıyla uygulanabilir [133].

Bu tez çalışmasında alınan sonuçlarda, 5 yıl bekletilerek degradasyona uğramış 10 örnekten, 4'ünde lokus ve/veya alel kayıpları görülmüştür, bu kayıplar 2 örnekte (D06, D08) fenotip tahminini etkilememiştir. D03-5 yıl örneğinde alınan sonuçlar 0,7 analiz eşliğinin altında kalmıştır, D02-5 yıl örneğinde göz rengi %81 Kahverengi olarak tahmin edilmiştir. Bu sonuçlar yukarıda anlatılan çalışma ile uyumluluk göstermektedir.

Bu tez çalışmasında en düşük 144 pg DNA ile çalışılmış (Örnek D04) ve bu örneğin bütün genotip sonuçları tam olarak elde edilmiş ve göz rengi doğru tahmin edilmiştir. Kısmi DNA ile göz rengi tahmini yapılırken, DNA'da oluşan hasarın miktarı değil, nerede olduğu önemlidir. İstenilen lokuslarda PCR ile çoğalma yapılabilirse, doğru bir göz rengi tahmin sonucu elde edilecektir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, IRISPLEX sisteminin, olay yerinde beklemiş ve degradasyona uğramış örneklerden göz ve saç renginin tahmini için gelecekteki rutin adli vakalarda umut verici bir araç olarak kullanılacağı belirtilmiştir.

Walsh ve arkadaşlarının 2014'de yaptıkları çalışmada; Kan, semen, tükürük lekeleri, köklü kıllar ve aşırı düşük miktardaki iz DNA örnekleri gibi yapay olarak oluşturulmuş adli tıp örnekleri titizlikle test edilmiş ve vakaların % 88'inden tam profiller elde edilmiştir [87]. Beş bağımsız adli laboratuvar arasında yapılan uyumluluk testi, değişik tipteki DNA örneklerinde tutarlı ve tekrarlanabilir sonuçlar vermiştir [87]. Test yapay olarak degrade edilmiş DNA'dan ve birkaç yüz yıllık insan kalıntılarında DNA örneklerinde de denenmiştir. Sağlık ve hassasiyet bulguları göz önüne alındığında, HIRISPLEX sistemi antropolojik ve evrimsel çalışmalarda eski ve eski DNA analizleri

için de uygun bulunduğu araştırmacılar tarafından belirtilmiştir [87]. Aynı araştırmacı grubu tarafından 3 kişinin DNA örnekleri duyarlılığı değerlendirmek için 500 pg'dan seyreltme ile hazırlanmış ve HIRISPLEX testiyle 500, 250, 125, 63 ve 32 pg DNA olarak genotipleri elde edilmiştir [87]. Kan, semen, tükürük ve saçtan alınan örneklerin büyük çoğunluğu (%84) ve iz DNA'dan oluşan 25 örnekten 21'inin fenotipleri doğru tahmin edilmiştir. Doğru genotiplendirilmiş 18 örneğin 15'inden doğru sonuç alınmıştır. Bir örnek dışında, fenotip tahmini gönüllülerinkilerle eşleşmiştir. Yapılan deneylerde HIRISPLEX sistemi genotipleme ve fenotipleme tahmininde yüksek doğruluk seviyeleri göstermiştir [87]. Yine aynı araştırmacıların yaptığı başka bir stabilizasyon deneyinde HIRISPLEX testini bozulmuş DNA ile test etmek için, 300 pg DNA 0.5, 1, 2 ve 5 dakika boyunca UV ile muamele edilmiş ve HIRISPLEX ile genotiplendirilmiştir. DNA örneklerinin bütün HIRISPLEX profilleri tam olarak elde edilmiştir. 10 dakika UV degradasyonundan sonra kısmi profiller görülmeye başlanmıştır, 10 dakikada 24 markırın 21'inde, 20 dakikada 24 markırın 17'sinde kısmi profiller görülmüştür. 30 dakikada hiçbir HIRISPLEX DNA markırında amplifikasyon görülmemiştir [87]. Araştırmacılar, az miktarda DNA içeren degrade örneklerle çalışılırken PCR işlemi aşamasında ileri teknikler ile spesifik bölgedeki DNA miktarının daha fazla çoğaltılmasının avantajlı olduğunu belirtmişlerdir [87].

Bu tez çalışmasında alınan sonuçlarda, 5 yıl bekletilerek degradasyona uğramış 10 örneğin 6'sından tam profil elde edilmiştir, bütün örneklerin genotiplendirilmesiyle 10 örneğin 8'inden doğru sonuç alınmıştır. 30 ve 60 dakika UV degradasyonuna uğratılan toplamda 10 örneğin 6'sından tam profil elde edilmiştir. 4 örnekte alel kayıpları

olmuştur. 60 dakika UV’de bekletmede 2 örnekte (D02 ve D03) toplamda 3 alel kaybı, 30 dakika UV’de bekletmede 2 örnekte toplamda 2 alel kaybı görülmüştür. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, Walsh ve arkadaşlarının 2014’de yaptıkları validasyon çalışması ile uyumluluk göstermektedir.

Chaitanya ve arkadaşlarının IRISPLEX sistemini uluslararası düzeyde değerlendirmek amacıyla 2014’de yaptığı çalışmada; EDNAP (Avrupa DNA Profilleme Grubu) ve ISFG (Uluslararası Adli Genetik Derneği) tarafından 21 laboratuvarında deneyler gerçekleştirilmiştir. Yapay olarak degrade edilmiş ve çeşitli konsantrasyonlarda 5 DNA örneğinin değerlendirilmesi yapılmıştır. Alınan sonuçlara göre genotiplerin %98,7’si tespit edilmiştir ve göz rengi fenotiplerinin %96.2’si doğru şekilde tahmin edilmiştir. Genotipleme ve göz rengi fenotiplemesindeki yüksek başarı oranları, IRISPLEX testinin tekrarlanabilirliğini ve sağlamlığını ve ayrıca DNA’dan mavi ve kahverengi göz rengini tahmin etmek için IRISPLEX modelinin doğruluğunu açıkça göstermiştir. Ek olarak, sözü edilen çalışma dünyadaki adli laboratuvarlarda IRISPLEX sisteminin uygulanabilir ve uygulanabilir olduğunu göstermektedir [134].

Chaitanya ve arkadaşları tarafından 2018 yılında yapılan validasyon çalışmasında; 250 pg DNA, 30 saniye, 1, 5, 10, 20 ve 30 dakika UV ışığında yapay degradasyona maruz bırakılmış ve daha sonra bu DNA’lardan içerisinde IRISPLEX markırlarının da olduğu 17-pleks çalışılmıştır. 10 dakikaya kadar UV ışığında bekletilmiş DNA’lardan bütün 17-SNP profili elde edilmiştir. DNA’lar 20 dakika UV ışığına maruz kaldıktan sonra, 2 SNP bölgesinde alel kaybı görülmüştür. Bu sonuçlar, degrade olmuş DNA örneklerinde HIRISPLEX testinin en azından bir seviyeye kadar sonuç verebildiğini



göstermiştir [19]. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında Chaitanya ve arkadaşları tarafından yapılan bu validasyon çalışmasının sonuçları uyumluluk göstermektedir.

HIRISPLEX-S, HIRISPLEX, IRISPLEX Göz, Saç ve Cilt rengi DNA Fenotipleme web aracı kullanım kılavuzunda yazan bilgilere göre;

Adli tıp uygulamalarında, antropolojik ve antik DNA analizlerinde, DNA kalitesi ve miktarı son derece azdır, kısmi veya düşük miktarda DNA örneklerinden eksik IRISPLEX profilleri elde edilir. Online IRISPLEX yazılım programı ile kişilerin göz rengi olasılıkları kısmi IRISPLEX profillerinden de elde edilebilir. Kısmi profilden sonuç elde edilirken, programa sadece elde edilen kısmi genotip bilgisi girilir ve düşük SNP sayısı dikkate alınarak yeni göz rengi olasılığı hesaplanır [19], [82], [87], [126]. Tam profil tahminlerinin kısmi profil tahminlerine göre doğru bir şekilde gerçekleşemeyebileceğini bilmek önemlidir.

Ayrıca, IRISPLEX sistemi ile göz rengi belirlenirken her DNA varyantının göz rengi tahmin doğruluğu üzerinde farklı etkisinin olduğu düşünülmelidir. Bu nedenle tahminin doğruluğu kısmi veya tam bir profile sahip olmaya tam olarak bağlı değildir, kısmi DNA profilinde hangi DNA markırının eksik olduğu önemlidir. Göz rengi tahmini için en güçlü lokus HERC2 rs12913832'dir. Bu lokusun yokluğu göz renginin tahmin doğruluğunu büyük oranda sınırlar. Kısmi profillerde eksik genotipler nedeniyle birçok olasılık vardır. Eksik genotipler varsa, tahmin doğruluk sonucu bundan etkilenecektir [19], [82], [87], [126]. Online IRISPLEX yazılım programını geliştiren bilim insanları, programın kısmi genotiplerin girişine dayalı olasılıklar

üretmesine izin verirler ancak, eksik DNA markırlarından kaynaklanan alel ve lokus kayıplarının tahmin sonuçlarıyla birlikte rapor edilmesini tavsiye ederler. Kısmi IRISPLEX profilinde eksik olan DNA işaretlerine bağlı olarak elde edilen göz rengi olasılıklarının yorumlanmasına özen gösterilmelidir. Araştırmacı daha sonra sonucu kabul edebilir veya raporu sonuçsuz olarak verebilir. DNA fenotiplemesi, tam ve kısmi profiller için olasılık temelli bir tahmindir, sonuç genotip kombinasyonundaki binlerce kişiden elde edilen bilgiye dayanmaktadır. Kılavuzda yazılan yasal uyarıda; “Kısmi profiller, IRISPLEX sisteminin tam tahmin potansiyelini yansıtmaz ve dikkatle kullanılmalıdır. Ayrıca tahmin değerleri, daha önce yayınlanmış olan IRISPLEX Excel tahmin değerlerinden farklı olabilir. Bunun nedeni, veritabanının yeni yapılan çalışmalarla birlikte büyümesi ve güncellenmesidir.” yazmaktadır [126],[19],[82], [87].

IRISPLEX sistemi, testi uygulayan laboratuvar personellerinin farklı deneyim seviyelerine, kullanılan farklı DNA izolasyonu ve miktar tayin yöntemlerine rağmen tekrarlanabilir sonuçlar sağlar. Dünya çapında farklı adli laboratuvarlarda IRISPLEX sisteminin kullanılması, bu DNA tabanlı göz rengi tahmin sisteminin sağlamlığını ve yeniden çalışılabilirliğini göstermektedir. Bugün itibarıyla, IRISPLEX göz rengi tahmini için en doğru araçtır. IRISPLEX’de herhangi bir SNP markırında lokus veya alel eksikliği olduğunda doğru hesaplama yapılamaması programın dezavantajıdır. Bu da degrade olmuş bir örnekte bu programın tam sonuçlar veremeyebileceğini göstermektedir. Programın diğer bir dezavantajı ise altıdan daha fazla SNP markırının kullanımına izin vermemesidir. Dolayısıyla göz rengi ile ilgili daha güçlü bir ayırım

yapabilmek için daha fazla markıra ihtiyaç duyulan durumlarda bu program kullanılamaz. IRISPLEX 6 SNP markırı ile sadece kahverengi ve mavi göz rengi ayrımı yapılabilirken açık kahverengi ve yeşil göz rengi tahmini yapılamamaktadır [116].

Bu tez çalışmasının sonuçları değerlendirildiğinde IRISPLEX testinin mavi ve kahverengi göz rengi tahmininde oldukça hassas olduğu ancak yeşil, açık kahverengi ve ela gibi ara göz renklerini tahmin etmedeki doğruluğunun oldukça düşük olduğu görülmüştür. Ruiz ve arkadaşlarının 2013'de geliştirdiği ve Bayes olasılık teoremi ile SNIPPER istatistik hesaplaması yapılan yöntem ile yeşil göz renginin tahmininde başarı oranının arttığı saptanmıştır [20] [83]. Birçok ülkede genotipi tespit edilen kişilerin fenotipik özellikleri belirlenerek bu özelliklerin adli vakaların aydınlatılması amacıyla kullanılması çalışmaları hızla artmaktadır. Genetik çalışmalar maliyeti fazla olan analizlerdir. Dolayısıyla adli vakalarda kimlik tespiti sırasında genotipik özelliklerin belirlenmesi fenotipik özellikler hakkında çıkarımda bulunmamızı sağlayacaktır. Bu durum da adli biyolojide zaman, maliyet ve iş gücü açısından oldukça fazla avantaj sağlayacaktır. Göz rengini belirleyen genlerdeki polimorfizmlerle ilgili veri tabanı oluşturulduğu takdirde, şüpheli sayısının çok fazla olduğu durumlarda, toplu ölümlerde, kayıp arama olaylarında vb. göz rengi polimorfizmi çalışılarak şüphelinin göz rengi tahmin edilebilir ve göz rengi tespiti, kimliklendirmede fiziksel bir eleme kriteri olarak kullanılabilir ya da toplu ölümlerin olduğu kazalarda kimlik bilgilerine ulaşmak açısından fayda sağlayabilir. Yöntemin degrade olan örneklerde kullanımının kısıtlılıklarını bilmek, alınan sonuçların

güvenilirliğini anlamamıza olanak sağlar. Yakın gelecekte adli DNA fenotipleme sistemlerinin gelişmesi ile, kayıp kişilerin bulunmasının yaygınlaşması beklenmektedir. Bu alanda yapılacak sonraki çalışmalarda IRISPLEX harici göz rengi tahmin sistemlerinde, daha fazla SNP lokusunun çalışmaya dahil edilmesi ile daha anlamlı sonuçlar elde edilmesine olanak sağlayacaktır. Göz rengi ile ilgili henüz keşfedilmemiş birçok gen bölgesi bulunmakla beraber bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Şu anda DNA'dan göz ve saç rengi tahmini yüksek doğrulukta mümkün iken, ten rengi, erkek tipi kellik, saç tellerinin kalınlığı ve inceliği gibi diğer fenotipik özellikler araştırılmaktadır ve ileride adli soruşturmalarda bu özelliklerin kullanılması öngörülmektedir [127], [128].

## 8. KAYNAKLAR

- [1] G. Alpar, N. Er, ve F. U. Boyraz, “Görgü tanıklığında bellek hataları: Olay sonrası bilginin ve tuzak soruların hatırlama ve kaynak izleme üzerindeki etkisi”, *Türk Psikol. Yazıları*, c. 10, sayı 20, ss. 1–17, 2007.
- [2] W. Goodwin, A. Linacre, ve S. Hadi, *An introduction to forensic genetics*, c. 2. John Wiley & Sons, 2011.
- [3] M. Fondevila vd., “Revision of the SNPforID 34-plex forensic ancestry test: assay enhancements, standard reference sample genotypes and extended population studies”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 7, sayı 1, ss. 63–74, 2013.
- [4] L. A. Dixon vd., “Analysis of artificially degraded DNA using STRs and SNPs—results of a collaborative European (EDNAP) exercise”, *Forensic Sci. Int.*, c. 164, sayı 1, ss. 33–44, 2006.
- [5] W. Branicki, U. Brudnik, ve A. Wojas-Pelc, “Genetic prediction of pigmentary traits in forensic studies”, *Probl Forensic Sci*, c. 64, ss. 343–357, 2005.
- [6] S. Walsh, F. Liu, K. N. Ballantyne, M. van Oven, O. Lao, ve M. Kayser, “IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 5, sayı 3, ss. 170–180, 2011.
- [7] K. N. Harrif, “The Use of ‘Omics’ in Next Generation SNP Analysis: Future of Forensic Phenotyping”, 2012.
- [8] “Adli Tıp Cilt III, İstanbul Üniversitesi Basım ve Film Merkezi”. İstanbul, 1999.
- [9] W. S. Klug ve M. R. Cummings, “Concepts of genetics (No)”. Pearson Education, Inc, 2003.
- [10] A. L. Lehninger, D. L. Nelson, M. M. Cox, ve M. M. Cox, *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan, 2005.
- [11] C. Børsting ve N. Morling, “Next generation sequencing and its applications in forensic genetics”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 18, ss. 78–89, 2015.
- [12] A. Carracedo, *Forensic DNA typing protocols*, c. 297. Springer Science & Business Media, 2005.
- [13] R. D. Miller ve P.-Y. Kwok, “The birth and death of human single-nucleotide polymorphisms: new experimental evidence and implications for human history and medicine”, *Hum. Mol. Genet.*, c. 10, sayı 20, ss. 2195–2198, 2001.
- [14] P. K. Gupta, S. Rustgi, ve R. R. Mir, “Array-based high-throughput DNA markers for crop improvement”, *Heredity (Edinb)*, c. 101, sayı 1, s. 5, 2008.
- [15] O. Bulbul vd., “Internal validation of 29 autosomal SNP multiplex using a ABI 310 genetic analyser”, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, c. 2, sayı 1, ss. 129–130, 2009.
- [16] B. Budowle ve A. Van Daal, “Forensically relevant SNP classes”, *Biotechniques*, c. 44, sayı 5, ss. 603–610, 2008.
- [17] A. Serin, H. Canan, ve A. Ulubay, “İdentifikasyona Dayalı Adli Uygulamalarda Tek Nükleotid Polimorfizmler”, *Türkiye Klin. Adli Tıp ve Adli Bilim. Derg.*, c. 13, sayı 2, ss. 47–54, 2016.
- [18] M. Kayser, “Forensic DNA phenotyping: predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 18, ss. 33–48, 2015.
- [19] L. Chaitanya vd., “The HIrisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 35, ss. 123–135, 2018.
- [20] Bülbül Ö., “Fenotip ve Soya Ait Bilgi Veren SNP Noktalarının (Markırlarının) Belirlenmesi ve Multipleks Kit Geliştirilmesi”, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, 2014.
- [21] A. van Daal, “The genetic basis of human pigmentation”, *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, c. 1, sayı 1, ss. 541–543, 2008.
- [22] R. A. Sturm ve T. N. Frudakis, “Eye colour: portals into pigmentation genes and ancestry”, *TRENDS Genet.*, c. 20, sayı 8, ss. 327–332, 2004.
- [23] P. D. Imesch vd., “Melanocytes and iris color: electron microscopic findings”, *Arch. Ophthalmol.*, c. 114, sayı 4, ss. 443–447, 1996.
- [24] A. R. Wielgus ve T. Sarna, “Melanin in human irides of different color and age of donors”,

- Pigment cell Res.*, c. 18, sayı 6, ss. 454–464, 2005.
- [25] K. Jimbow, “Biology of melanocytes”, *Dermatology Gen. Med.*, ss. 192–220, 1999.
- [26] R. A. Sturm ve M. Larsson, “Genetics of human iris colour and patterns”, *Pigment Cell Melanoma Res.*, c. 22, sayı 5, ss. 544–562, 2009.
- [27] J. M. Akey *vd.*, “Interaction between the melanocortin-1 receptor and P genes contributes to inter-individual variation in skin pigmentation phenotypes in a Tibetan population”, *Hum. Genet.*, c. 108, sayı 6, ss. 516–520, 2001.
- [28] J. L. Rees, “Genetics of hair and skin color”, *Annu. Rev. Genet.*, c. 37, sayı 1, ss. 67–90, 2003.
- [29] F. L. Meyskens Jr *vd.*, “Aberrant redox regulation in human metastatic melanoma cells compared to normal melanocytes”, *Free Radic. Biol. Med.*, c. 31, sayı 6, ss. 799–808, 2001.
- [30] A. J. Nappi ve E. Vass, “Hydrogen peroxide generation associated with the oxidations of the eumelanin precursors 5, 6-dihydroxyindole and 5, 6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid.”, *Melanoma Res.*, c. 6, sayı 5, ss. 341–349, 1996.
- [31] F. A. Carranza Jr ve M. G. Newman, “Clinical periodontology, ed 8, Philadelphia, 1996”. WB Saunders.
- [32] L. HAeKKINEN, V. UITTO, ve H. Larjava, “Cell biology of gingival wound healing”, *Periodontol. 2000*, c. 24, sayı 1, ss. 127–152, 2000.
- [33] M. Kayser *vd.*, “Three genome-wide association studies and a linkage analysis identify HERC2 as a human iris color gene”, *Am. J. Hum. Genet.*, c. 82, sayı 2, ss. 411–423, 2008.
- [34] R. A. Sturm, R. D. Teasdale, ve N. F. Box, “Human pigmentation genes: identification, structure and consequences of polymorphic variation”, *Gene*, c. 277, sayı 1–2, ss. 49–62, 2001.
- [35] R. E. Boissy *vd.*, “Mutation in and lack of expression of tyrosinase-related protein-1 (TRP-1) in melanocytes from an individual with brown oculocutaneous albinism: a new subtype of albinism classified as "OCA3".”, *Am. J. Hum. Genet.*, c. 58, sayı 6, s. 1145, 1996.
- [36] C. Olivares ve F. Solano, “New insights into the active site structure and catalytic mechanism of tyrosinase and its related proteins”, *Pigment Cell Melanoma Res.*, c. 22, sayı 6, ss. 750–760, 2009.
- [37] F. Galton, “I. Family likeness in eye-colour”, *Proc. R. Soc. London*, c. 40, sayı 242–245, ss. 402–416, 1886.
- [38] T. Frudakis *vd.*, “Sequences associated with human iris pigmentation”, *Genetics*, c. 165, sayı 4, ss. 2071–2083, 2003.
- [39] N. Agar ve A. R. Young, “Melanogenesis: a photoprotective response to DNA damage?”, *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.*, c. 571, sayı 1–2, ss. 121–132, 2005.
- [40] J. Riesz, J. Gilmore, ve P. Meredith, “Quantitative photoluminescence of broad band absorbing melanins: a procedure to correct for inner filter and re-absorption effects”, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, c. 61, sayı 9, ss. 2153–2160, 2005.
- [41] C. C. Hurst, “On the inheritance of eye-colour in man”, *Proc. R. Soc. London. Ser. B, Contain. Pap. a Biol. Character*, c. 80, sayı 537, ss. 85–96, 1908.
- [42] D. White ve M. Rabago-Smith, “Genotype–phenotype associations and human eye color”, *J. Hum. Genet.*, c. 56, sayı 1, s. 5, 2011.
- [43] G. P. Rédei, “GTL (genome to life)”, *Encycl. Genet. Genomics, Proteomics Informatics*, s. 828, 2008.
- [44] R. C. Eagle Jr, “Iris pigmentation and pigmented lesions: an ultrastructural study.”, *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, c. 86, s. 581, 1988.
- [45] C. L. Wilkerson, N. A. Syed, M. R. Fisher, N. L. Robinson, ve D. M. Albert, “Melanocytes and iris color: light microscopic findings”, *Arch. Ophthalmol.*, c. 114, sayı 4, ss. 437–442, 1996.
- [46] H. Eiberg ve J. Mohr, “Assignment of genes coding for brown eye colour (BEY2) and brown hair colour (HCL3) on chromosome 15q”, *Eur. J. Hum. Genet.*, c. 4, ss. 237–241, 1996.
- [47] D. L. Duffy *vd.*, “A three–single-nucleotide polymorphism haplotype in intron 1 of OCA2 explains most human eye-color variation”, *Am. J. Hum. Genet.*, c. 80, sayı 2, ss. 241–252, 2007.
- [48] G. Zhu *vd.*, “A genome scan for eye color in 502 twin families: most variation is due to a QTL on chromosome 15q”, *Twin Res. Hum. Genet.*, c. 7, sayı 2, ss. 197–210, 2004.
- [49] D. Posthuma *vd.*, “Replicated linkage for eye color on 15q using comparative ratings of sibling

- pairs”, *Behav. Genet.*, c. 36, sayı 1, s. 12, 2006.
- [50] T. Frudakis, T. Terravainen, ve M. Thomas, “Multilocus OCA2 genotypes specify human iris colors”, *Hum. Genet.*, c. 122, sayı 3–4, s. 311, 2007.
- [51] D. Durham-Pierre *vd.*, “African origin of an intragenic deletion of the human P gene in tyrosinase positive oculocutaneous albinism”, *Nat. Genet.*, c. 7, sayı 2, s. 176, 1994.
- [52] D. Durham-Pierre, R. A. King, J. M. Naber, S. Laken, ve M. H. Brilliant, “Estimation of carrier frequency of a 2.7 kb deletion allele of the P gene associated with OCA2 in African-Americans”, *Hum. Mutat.*, c. 7, sayı 4, ss. 370–373, 1996.
- [53] J. Hamabe *vd.*, “Molecular study of the Prader-Willi syndrome: Deletion, RFLP, and phenotype analyses of 50 patients”, *Am. J. Med. Genet.*, c. 41, sayı 1, ss. 54–63, 1991.
- [54] C. D. Chintamaneni, M. Ramsay, M.-A. Colman, M. F. Fox, R. T. Pickard, ve B. S. Kwon, “Mapping the human CAS2 gene, the homologue of the mouse brown (b) locus, to human chromosome 9p22-pter”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, c. 178, sayı 1, ss. 227–235, 1991.
- [55] C. Abbott, I. J. Jackson, B. Carritt, ve S. Povey, “The human homolog of the mouse brown gene maps to the short arm of chromosome 9 and extends the known region of homology with mouse chromosome 4”, *Genomics*, c. 11, sayı 2, ss. 471–473, 1991.
- [56] P. Belgrader, J. K. Smith, V. W. Weedn, ve M. A. Northrup, “Rapid PCR for identity testing using a battery-powered miniature thermal cycler”, *J. Forensic Sci.*, c. 43, sayı 2, ss. 315–319, 1998.
- [57] N. Flanagan *vd.*, “Pleiotropic effects of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene on human pigmentation”, *Hum. Mol. Genet.*, c. 9, sayı 17, ss. 2531–2537, 2000.
- [58] T. R. Rebbeck *vd.*, “P gene as an inherited biomarker of human eye color”, *Cancer Epidemiol. Prev. Biomarkers*, c. 11, sayı 8, ss. 782–784, 2002.
- [59] W. Branicki, U. Brudnik, J. Draus-Barini, T. Kupiec, ve A. Wojas-Pelc, “Association of the SLC45A2 gene with physiological human hair colour variation”, *J. Hum. Genet.*, c. 53, sayı 11, s. 966, 2008.
- [60] R. K. Valenzuela *vd.*, “Predicting phenotype from genotype: normal pigmentation”, *J. Forensic Sci.*, c. 55, sayı 2, ss. 315–322, 2010.
- [61] J. M. Newton *vd.*, “Mutations in the human orthologue of the mouse underwhite gene (uw) underlie a new form of oculocutaneous albinism, OCA4”, *Am. J. Hum. Genet.*, c. 69, sayı 5, ss. 981–988, 2001.
- [62] G.-E. Costin, J. C. Valencia, W. D. Vieira, M. L. Lamoreux, ve V. J. Hearing, “Tyrosinase processing and intracellular trafficking is disrupted in mouse primary melanocytes carrying the underwhite (uw) mutation. A model for oculocutaneous albinism (OCA) type 4”, *J. Cell Sci.*, c. 116, sayı 15, ss. 3203–3212, 2003.
- [63] Y. Tomita ve T. Suzuki, “Genetics of pigmentary disorders”, içinde *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 2004, c. 131, sayı 1, ss. 75–81.
- [64] M. R. Gerstenblith, J. Shi, ve M. T. Landi, “Genome-wide association studies of pigmentation and skin cancer: a review and meta-analysis”, *Pigment Cell Melanoma Res.*, c. 23, sayı 5, ss. 587–606, 2010.
- [65] K. Nakayama, S. Fukamachi, H. Kimura, Y. Koda, A. Soemantri, ve T. Ishida, “Distinctive distribution of AIM1 polymorphism among major human populations with different skin color”, *J. Hum. Genet.*, c. 47, sayı 2, s. 92, 2002.
- [66] J. Graf, R. Hodgson, ve A. Van Daal, “Single nucleotide polymorphisms in the MATP gene are associated with normal human pigmentation variation”, *Hum. Mutat.*, c. 25, sayı 3, ss. 278–284, 2005.
- [67] L. P. Fernandez *vd.*, “SLC45A2: a novel malignant melanoma-associated gene”, *Hum. Mutat.*, c. 29, sayı 9, ss. 1161–1167, 2008.
- [68] M. Guedj *vd.*, “Variants of the MATP/SLC45A2 gene are protective for melanoma in the French population”, *Hum. Mutat.*, c. 29, sayı 9, ss. 1154–1160, 2008.
- [69] M. F. Lyon *vd.*, “Genetic and molecular analysis of recessive alleles at the pink-eyed dilution (p) locus of the mouse”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, c. 89, sayı 15, ss. 6968–6972, 1992.
- [70] S.-T. Lee, R. D. Nicholls, M. T. C. Jong, K. Fukai, ve R. A. Spritz, “Organization and sequence

- of the human P gene and identification of a new family of transport proteins”, *Genomics*, c. 26, sayı 2, ss. 354–363, 1995.
- [71] E. M. Rinchik *vd.*, “A gene for the mouse pink-eyed dilution locus and for human type II oculocutaneous albinism”, *Nature*, c. 361, sayı 6407, s. 72, 1993.
- [72] M. H. BRILLIANT, “The mouse p (pink-eyed dilution) and human P genes, oculocutaneous albinism type 2 (OCA2), and melanosomal pH”, *Pigment cell Res.*, c. 14, sayı 2, ss. 86–93, 2001.
- [73] A.-S. Jannot *vd.*, “Allele variations in the OCA2 gene (pink-eyed-dilution locus) are associated with genetic susceptibility to melanoma”, *Eur. J. Hum. Genet.*, c. 13, sayı 8, s. 913, 2005.
- [74] R. A. Sturm *vd.*, “A single SNP in an evolutionary conserved region within intron 86 of the HERC2 gene determines human blue-brown eye color”, *Am. J. Hum. Genet.*, c. 82, sayı 2, ss. 424–431, 2008.
- [75] F. Liu *vd.*, “Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes”, *Curr. Biol.*, c. 19, sayı 5, ss. R192–R193, 2009.
- [76] H. Eiberg *vd.*, “Blue eye color in humans may be caused by a perfectly associated founder mutation in a regulatory element located within the HERC2 gene inhibiting OCA2 expression”, *Hum. Genet.*, c. 123, sayı 2, ss. 177–187, 2008.
- [77] Y. Ji, N. A. Rebert, J. M. Joslin, M. J. Higgins, R. A. Schultz, ve R. D. Nicholls, “Structure of the highly conserved HERC2 gene and of multiple partially duplicated paralogs in human”, *Genome Res.*, c. 10, sayı 3, ss. 319–329, 2000.
- [78] G. Masatcıoğlu, “Toplumumuzda Göz Rengini Belirleyen HERC2 Gen Polimorfizminin Yaygınlığının Araştırılması”, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- [79] Y. Kartal, “HERC2 Gen Polimorfizminin Göz Rengi Üzerine Etkisi”, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- [80] C. Salvoro *vd.*, “Performance of Four Models For Eye Color Prediction in an Italian Population Sample”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, 2019.
- [81] S. Walsh *vd.*, “DNA-based eye colour prediction across Europe with the IrisPlex system”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 6, sayı 3, ss. 330–340, 2012.
- [82] S. Walsh *vd.*, “Global skin colour prediction from DNA”, *Hum. Genet.*, c. 136, sayı 7, ss. 847–863, 2017.
- [83] Y. Ruiz *vd.*, “Further development of forensic eye color predictive tests”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 7, sayı 1, ss. 28–40, 2013.
- [84] J. S. Allwood ve S. Harbison, “SNP model development for the prediction of eye colour in New Zealand”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 7, sayı 4, ss. 444–452, 2013.
- [85] K. L. Hart, S. L. Kimura, V. Mushailov, Z. M. Budimlija, M. Prinz, ve E. Wurmbach, “Improved eye-and skin-color prediction based on 8 SNPs”, *Croat. Med. J.*, c. 54, sayı 3, ss. 248–256, 2013.
- [86] O. Spichenok *vd.*, “Prediction of eye and skin color in diverse populations using seven SNPs”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 5, sayı 5, ss. 472–478, 2011.
- [87] S. Walsh *vd.*, “Developmental validation of the HIRISPLEX system: DNA-based eye and hair colour prediction for forensic and anthropological usage”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 9, ss. 150–161, 2014.
- [88] P.-Y. Kwok, “Methods for genotyping single nucleotide polymorphisms”, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, c. 2, sayı 1, ss. 235–258, 2001.
- [89] N. Pati, V. Schowinsky, O. Kokanovic, V. Magnuson, ve S. Ghosh, “A comparison between SNaPshot, pyrosequencing, and biplex invader SNP genotyping methods: accuracy, cost, and throughput”, *J. Biochem. Biophys. Methods*, c. 60, sayı 1, ss. 1–12, 2004.
- [90] B. Quintáns, V. Alvarez-Iglesias, A. Salas, C. Phillips, M. V Lareu, ve A. Carracedo, “Typing of mitochondrial DNA coding region SNPs of forensic and anthropological interest using SNaPshot minisequencing”, *Forensic Sci. Int.*, c. 140, sayı 2–3, ss. 251–257, 2004.
- [91] Dr. İbrahim Halil Dikici, “In Vitro Koşullarda Farklı Güç Ve Cinsteki Aydınlatma Kaynaklarının Mononükleer Hücre Dna Hasarı Üzerine Etkisinin Araştırılması”, T.C.Harran Üniversitesi, 2011.



- [92] T. K. Panovska ve S. Kulevanova, "Effect of some Teucrium species (Lamiaceae) on lipid peroxidation in rat liver microsomes", *Fresenius Environ. Bull.*, c. 14, sayı 10, ss. 957–959, 2005.
- [93] A. Mehta, "Ultraviolet--visible (uv--vis) spectroscopy--woodward--fieser rules to calculate wavelength of maximum absorption ( $\lambda$ --max) of polyenes", *Postet May*, c. 13, 2013.
- [94] S. Soral, "Albino Ratlarda Ultraviyole - C İle İndüklenmiş Deri Hasarı Modelinde Antosiyaninin Etkisi", T.C.Harran Üniversitesi, 2010.
- [95] B. Mutlu, O. Şen, H. Toros, ve İ. Maslak, "Ultraviyole Radyasyonun İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri".
- [96] G. Shama ve P. Alderson, "UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation", *Trends Food Sci. Technol.*, c. 16, sayı 4, ss. 128–136, 2005.
- [97] F. Trautinger, "Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing", *Clin. Exp. Dermatol.*, c. 26, sayı 7, ss. 573–577, 2001.
- [98] H. K. Clydesdale, G. J., Dandie, G. W., & Muller, "Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects.", *Immunol. Cell Biol.*, c. 79(6), ss. 547–568, 2001.
- [99] W.-E. Hawk, J. I. M. Rook, "Cutaneous Photobiology", içinde *Textbook of Dermatology.*, 1992, s. Chapter 21.
- [100] F. R. De Gruijl, "Photocarcinogenesis: UVA vs. UVB radiation", *Skin Pharmacol. Physiol.*, c. 15(5), ss. 316–320, 2002.
- [101] M. Yetkin, H., Ceyhan, A. M., & Yıldırım, "Deri yaşlanması ve tedavisi", *SDÜ Tıp Fakültesi Derg.*, c. 16(2), ss. 32–38, 2009.
- [102] M. Duthie, M. S., Kimber, I., & Norval, "The effects of ultraviolet radiation on the human immune system.", *Br. J. Dermatol.*, c. 140(6), ss. 995–1009, 1999.
- [103] A. D. Setlow, R. B., Grist, E., Thompson, K., & Woodhead, "Wavelengths effective in induction of malignant melanoma", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, c. 90(14), ss. 6666–6670, 1993.
- [104] C. I. Forney, L. J., & Moraru, *Ultraviolet Light in Food Technology: Principles and Applications*. CRC Press.
- [105] J. Hall, A., & Ballantyne, "Characterization of UVC-induced DNA damage in bloodstains: forensic implications.", *Anal. Bioanal. Chem.*, c. 380(1), ss. 72–83, 2004.
- [106] J. Marrone, A., & Ballantyne, "Changes in dry state hemoglobin over time do not increase the potential for oxidative DNA damage in dried blood", *PLoS One*, c. 4(4), s. e5110, 2009.
- [107] O. Cokluk, "Logistic Regression: Concept and Application.", *Educ. Sci. Theory Pract.*, c. 10, sayı 3, ss. 1397–1407, 2010.
- [108] E. Ç. Kaspar, N. Bekiroğlu, ve M. Genceli, "Gözleme Dayalı Çalışmalarda Eğilim Skoru (Propensity Score) ve Tıp Bilimleri'nde Bir Uygulama", *Türkiye Klin. J. Biostat.*, c. 2, sayı 1, ss. 1–10, 2010.
- [109] S. Tanrıverdi, "Öğrencilerinin Depresyon Düzeylerini Yordayan Değişkenlerin Belirlenmesi: Multinomial Lojistik Regresyon Analizi", *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Derg.*, c. 14, sayı 1, ss. 1517–1543.
- [110] E. A. Grimes, P. J. Noake, L. Dixon, ve A. Urquhart, "Sequence polymorphism in the human melanocortin 1 receptor gene as an indicator of the red hair phenotype", *Forensic Sci. Int.*, c. 122, sayı 2–3, ss. 124–129, 2001.
- [111] H. Pulker, M. V. Lareu, C. Phillips, ve A. Carracedo, "Finding genes that underlie physical traits of forensic interest using genetic tools", *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 1, sayı 2, ss. 100–104, 2007.
- [112] M. Seiji, K. Shimao, M. S. C. Birbeck, ve T. B. Fitzpatrick, "Subcellular localization of melanin biosynthesis", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, c. 100, sayı 1, ss. 497–533, 1963.
- [113] G. Prota, "Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals", *J. Invest. Dermatol.*, c. 75, sayı 1, ss. 122–127, 1980.
- [114] G. Raposo ve M. S. Marks, "Melanosomes—dark organelles enlighten endosomal membrane transport", *Nat. Rev. Mol. cell Biol.*, c. 8, sayı 10, s. 786, 2007.
- [115] O. Bulbul vd., "A SNP multiplex for the simultaneous prediction of biogeographic ancestry and pigmentation type", *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, c. 3, sayı 1, ss. e500–e501, 2011.

- [116] O. Bulbul, T. Zorlu, ve G. Filoglu, “Prediction of human eye colour using highly informative phenotype SNPs (PISNPs)”, *Aust. J. Forensic Sci.*, ss. 1–11, 2018.
- [117] R. M. Morgan ve P. A. Bull, “Forensic geoscience and crime detection”, *Minerva Medicolegale*, c. 127, ss. 73–89, 2007.
- [118] C. Capelli, F. Tschentscher, ve V. L. Pascali, “‘Ancient’ protocols for the crime scene?: Similarities and differences between forensic genetics and ancient DNA analysis”, *Forensic Sci. Int.*, c. 131, sayı 1, ss. 59–64, 2003.
- [119] K. Bender, M. J. Farfán, ve P. M. Schneider, “Preparation of degraded human DNA under controlled conditions”, *Forensic Sci. Int.*, c. 139, sayı 2–3, ss. 135–140, 2004.
- [120] P. M. Vallone, R. S. Just, M. D. Coble, J. M. Butler, ve T. J. Parsons, “A multiplex allele-specific primer extension assay for forensically informative SNPs distributed throughout the mitochondrial genome”, *Int. J. Legal Med.*, c. 118, sayı 3, ss. 147–157, 2004.
- [121] K. K. Kidd *vd.*, “Developing a SNP panel for forensic identification of individuals”, *Forensic Sci. Int.*, c. 164, sayı 1, ss. 20–32, 2006.
- [122] J. J. Sanchez *vd.*, “A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification”, *Electrophoresis*, c. 27, sayı 9, ss. 1713–1724, 2006.
- [123] C. Phillips *vd.*, “Eurasiaplex: a forensic SNP assay for differentiating European and South Asian ancestries”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 7, sayı 3, ss. 359–366, 2013.
- [124] B. Sobrino, M. Lareu, M. Brion, ve A. Carracedo, “SNP genotyping with single base extension-tag microarrays”, içinde *International Congress Series*, 2004, c. 1261, ss. 331–333.
- [125] Özlem Bülbül, “Kimliklendirme ve Nesep Tayini İçin Otozomal SNP Lokuslarının Belirlenmesi ve Validasyonu”, İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ, 2009.
- [126] “HirisPlex-S DNA Phenotyping Webtool User Manual Version 2.0 (2018)”. [Çevrimiçi]. Available at: <https://hirisplex.erasmusmc.nl/pdf/hirisplex.erasmusmc.nl.pdf>. [Erişim: 02-May-2019].
- [127] M. Kayser ve P. M. Schneider, “DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 3, sayı 3, ss. 154–161, 2009.
- [128] M. Kayser ve P. De Knijff, “Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology”, *Nat. Rev. Genet.*, c. 12, sayı 3, s. 179, 2011.
- [129] S. Walsh *vd.*, “The HirisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 7, sayı 1, ss. 98–115, 2013.
- [130] J. Burger, S. Hummel, B. Herrmann, ve W. Henke, “DNA preservation: a microsatellite-DNA study on ancient skeletal remains”, *Electrophor. An Int. J.*, c. 20, sayı 8, ss. 1722–1728, 1999.
- [131] R. E. Green *vd.*, “A draft sequence of the Neandertal genome”, *Science (80-. )*, c. 328, sayı 5979, ss. 710–722, 2010.
- [132] D. J. Balding ve J. Buckleton, “Interpreting low template DNA profiles”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 4, sayı 1, ss. 1–10, 2009.
- [133] J. Draus-Barini *vd.*, “Bona fide colour: DNA prediction of human eye and hair colour from ancient and contemporary skeletal remains”, *Investig. Genet.*, c. 4, sayı 1, s. 3, 2013.
- [134] L. Chaitanya *vd.*, “Collaborative EDNAP exercise on the IrisPlex system for DNA-based prediction of human eye colour”, *Forensic Sci. Int. Genet.*, c. 11, ss. 241–251, 2014.

## 9. EKLER

### Ek 1. Bilgilendirilmiş Olur Formu

Aşağıdaki bilgileri okuduktan sonra çalışmaya katılmak isterseniz, bu formu imzalayınız. Formu imzalamanız çalışmanın kapsamı ve riskleri hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Bu onay formunun bir kopyası size verilecektir. Bu formda anlamadığınız ifadeler varsa çalışmadaki araştırmacılara sorarak bilgi edinebilirsiniz.

**Çalışmanın Adı:** Bekletilerek Eskitilmiş Kan Örneklerinde IRISPLEX Sisteminin Stabilitesinin İncelenmesi

Bu çalışma bir Yüksek Lisans Tez çalışmasıdır. Adli bilimlerde bir suçun aydınlatılması için biyolojik örneklerin kimlendirilmesi çok önemlidir, bunun için genetik bilgiden yararlanılmaktadır. SNP'ler genomda tek nükleotit değiştiğinde açığa çıkan DNA dizi değişiklikleridir. Kromozomlar üzerinde meydana gelen tek baz değişimi sonucu oluşan kalıtsal farklılıklar genetik işaretler olarak kullanılmaktadır. Gerek adli olgularda saldırı kurbanlarının ve zanlılarının gerekse toplu felaketler sonucu yaşamlarını yitirmiş veya kayıp insanların kimliğinin belirlenmesi için DNA üzerinde yer alan genetik işaretlerin belirlenmesi gerekmektedir. **Bu araştırmanın amacı** ; adli bilimlerde kullanımı artmakta olan ve gelecekte adli genetik laboratuvarlarında rutin tanılarının arasına girmesi öngörülen, görgü tanığı bulunmayan suç olaylarında, doğal afetlerde, yalan ve yanlış görgü tanıklığı durumlarında kolluk kuvvetlerine yardım sağlaması amacıyla olay yerinde bulunabilecek beklemiş ve degradasyona uğramış kan lekelerinden DNA izole edildiğinde, göz rengini %90 oranında belirleyebilen 6 SNP (rs12913832, rs1800407, rs12896399, rs16891982, rs1393350, rs12203592) noktası kullanılarak göz renginin saptanmaya çalışılmasıdır. Araştırmanın deneysel kısımları; gönüllülerden alınacak kan örneklerinden DNA izole edilecek, miktarı belirlenecek, PCR (polimerik zincir reaksiyonu) tekniği ile 6 SNP IRISPLEX lokusu çoğaltılacak ve PCR ürünlerinin elektroforezi ve analizi yapılacaktır (ABI 310- Genetic Analyzer, GeneScan Software). Elde edilen verilerden yola çıkılarak degradasyona uğramış DNA örneklerinde IRISPLEX sisteminin stabilitesi hesaplanacaktır. Son olarak tez yazım aşamasına geçilecektir. Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına bağlıdır. Araştırmaya katılan gönüllü, araştırmanın herhangi bir aşamasında araştırmadan herhangi bir gerekçe göstermeksizin ayrılabilir. Bunun için herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalması söz konusu değildir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir. Gönüllülerden araştırma ile ilgili herhangi bir ücret talibinde bulunulmayacağı gibi kendisine de herhangi bir ödeme

yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz sosyal guvenlik kurumundan (SGK) herhangi bir ücret alınmayacaktır. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilecektir. Ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır. İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ait kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanamayacağı; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır. İster doğrudan ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verilmektedir. Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir bilgi temin edebilmesi için araştırmacı Dilara Devranoğlu'na ait günün 24 saatinde ulaşabileceği telefon numarası 0532 123 45 67 'dir. Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü; 15 kişidir. Gönüllülerden 5ml'lik enjektör ile kan alınacaktır. Kan alma işleminin komplikasyonu ve riski yoktur. Yalnızca kan alma işleminde hafif bir acı hissedilebilir ve hafif bir kızarıklık olabilir. Gönüllülerden elde edilecek olan Biyolojik Materyal; Proje yürütücüsü tarafından gönüllülerden tıbbi personel yönetiminde ve denetiminde alınacaktır. Araştırma ile ilgili analizler İ.Ü Adli Tıp Enstitüsü Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılacaktır. Toplanan örnekler yurt dışına analiz amacı ile gönderilmeyecektir. Analizler hiçbir şekilde yurtdışında gerçekteşmeyecektir. *Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen görevli tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi veya kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından da araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.* "Bekletilerek Eskitilmiş Kan Örneklerinde IRISPLEX Sisteminin Stabilesinin İncelenmesi" tez çalışması kapsamında alınan kan örneklerinin; Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlemlidir)

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum."

**Gönüllünün Adı-Soyadı:**

**Gönüllünün İmzası:**

**Yetkin Araştırmacının Adı Soyadı: Dilara Devranoğlu**

**Yetkin Araştırmacının Telefon Numarası: 0532 123 45 67**



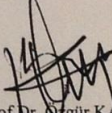
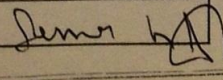
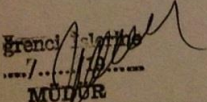
**Yetkin Araştırmacının İmzası:**

**Tarih:**

***NOT:** Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu, gönüllü ve/veya yasal temsilcisinin yasal haklarını ortadan kaldıracak bir hüküm veya ifade içeremez ayrıca araştırmacıyı, kurumu, destekleyici veya bunların temsilcilerini kendi ihmallerinden kaynaklanan herhangi bir yükümlülükten kurtaracak hüküm veya ifade taşıyamaz*



## Ek 2. Etik Kurul Onayı

	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
Sayı : 83045809/ 878		İstanbul ...../...../.....
Konu:		10 Ocak 2014
İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Müdürlüğüne		
İLGİ: 19.12.2013 tarihli, 2025 sayılı yazınıza:		
Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyesi <b>Yard.Doç.Dr.Havva ALTUNÇUL</b> 'un danışmanlığında <b>Yüksek Lisans Öğr. Dilara DEVRANOĞLU</b> 'nun sorumluluğunda yürütülecek olan " <b>Bekletilerek Eskitilmiş Kan Lekelerinde Irisplex Sisteminin Stabilesinin İncelenmesi</b> " başlıklı Yüksek Lisans Tezi ilgi yazınız ve ekleri <b>07 Ocak 2014</b> tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.		
		 Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı
Eki 1 dosya		
	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ Adli Tıp Enstitüsü <b>GELEN EVRAK</b> Sayı : 2014/110 Tarih : 21.1.2014 	
 MÜDÜR		
Not: Yanıtlarımızda yazımızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur. Cerrahpaşa/İSTANBUL		



AR BİLGİLERİ	Karar No: A-27	Tarih:07 Ocak 2014
	Yard.Doç.Dr. Havva ALTUNÇUL'un danışmanlığında Yüksek Lisans Öğr. Dilara DEVRANOĞLU'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR	

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.)	Genel Cerrahi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Muhlis Çem-AR (Raportör)	İç Hastalıkları Hematoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sebahattin SAIP	Nöroloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nuran Şenel BEŞE	Radyasyon Onkolojisi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Zeki ÖNGEN	Kardiyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ertan YURDAKOŞ	Fizyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hatun Hanzade DOĞAN	Deontoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sibel Özmen ÖZYAZGAN	Farmakoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Suphi VEHİD	Halk Sağlığı	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yusuf TUNALI	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Mutlu NİAZOĞLU	İç Hastalıkları	İst. Eğitim ve Araştırma Hast.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	K	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

\* :Araştırma ile İlişki

\*\* :Toplantıda Bulunma

## 10. ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Dilara Devranoğlu

Doğum Yeri: Karaman

E-Posta: dilara.devranoglu@gmail.com

### Eğitim Bilgileri

Lise :2001-2005 Özel Toros Fen Lisesi, Mersin

Lisans: 2006-2011 Haliç Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler  
Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul

Ön Lisans: 2015-2017 İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda  
Teknolojisi Bölümü, İstanbul

Lisans: 2017-devam ediyor Yeditepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul (YÖK Burslu)

Yabancı Dil: İngilizce

### İş Deneyimi

2013-2014 Proje Koordinatörü, Burç Genetik Tanı Merkezi

2014-2016 Ar-Ge Personeli, HibriGen Biyoteknoloji Arş., Geliştirme San. ve  
Tic. Ltd. Şti.