



**T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÜNSAL**

YIKANMIŞ SEMEN LEKELERİNDEN DNA ELDE EDİLMESİ

**ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BİYOLOG AYSUN GÜNGÖR

İSTANBUL-2019



T.C.
ÜSKÜDAR
ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

GENEL BİLGİLER

Öğrenci No	: 174501029
Öğrenci Adı Soyadı	: Aylin Güngör
Anabilim Dalı	: Adli Bilimler
Tez Danışmanı	: Dr. Öğr. Üy. Tuğba Ural
Tezin Başlığı	: Yıkılmış Sement Betonlarından DNA İzole Edilmesi

Toplantı Tarihi	: 25.10.2019	Saati	: 11:00
Öğrenci Savunmaya	: <input checked="" type="checkbox"/> Geldi		
Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca tez bilimsel olarak incelenmiş, adayın tez çalışmasını sunmasının ardından, adaya tez çalışması ile ilgili sorular yöneltilmiştir.			
<input checked="" type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavında adayın tez çalışması başarılı bulunarak KABUL edilmesine,			
<input type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavı sonunda tez çalışmasının DÜZELTİLMESİNE , düzeltme için adaya ay EK SÜRE verilmesine (en fazla 3 ay)			
<input type="checkbox"/> Yapılan savunma sınavının sonunda tezin REDEDİLMESİNE			
<input type="checkbox"/> OY BİRLİĞİ <input type="checkbox"/> OY ÇOKLUĞU			
İle karar verilmiştir.			
Savunmada Tezin Başlığı	: <input checked="" type="checkbox"/> Değişmedi <input type="checkbox"/> Değişti		
Tezin Yeni Başlığı	: <input type="checkbox"/> Değişmedi		
Öğrenci Savunmaya	: <input type="checkbox"/> Gelmedi		
Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca yukarıda belirtilen tarih ve saatte Tez Savunma Jürisi toplanmış ancak ilgili öğrenci savunma sınavına gelmemiştir. Adayın tez çalışmasını Jüri önünde sunmadığı için yapılan değerlendirmeler sonunda adayın tez çalışmasıyla ilgili aşağıdaki kararı,			
<input type="checkbox"/> OY BİRLİĞİ İLE REDEDİLMİŞTİR.			

Tez Sınavı Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Fevri Atalay	
Danışman Üye	Dr. Öğr. Üy. Tuğba Ural	
Üye	Dr. Öğr. Üy. Kaan Yılancıoğlu	
Üye	Dr. Öğr. Üy. Özgür Özdemir	
Üye	Dr. Öğr. Üy. Ahmet Can Timuçin	

(Tüm durumlarda jüri üyelerinin tez değerlendirme raporları gerekir.)

Sayı No :

Tarih : 25.10.2019.

Yukarıda kimlik bilgileri belirtilen ve Anabilim Dalımız Yüksek Lisans Programı öğrencisinin Tez Savunma Sınav Tutanağı ve eklerinin Enstitü Yönetim Kurulunda görüşülmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Not: Bu forma orijinal raporlar (bir nüsha) eklenecektir.

Prof. Dr. Fevri Atalay
Anabilim Dalı Başkanı
(Unvanı, Adı Soyadı, İmza)

**T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÜNSAL**

YIKANMIŞ SEMEN LEKELERİNDEN DNA ELDE EDİLMESİ

**ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

BİYOLOG AYSUN GÜNGÖR

İSTANBUL - 2019

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi” adlı çalışmanın, tarafımdan bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını, intihal yapmadığımı ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

Tarih

20/11/2019

Adı SOYADI

Aysun GÜNGÖR

TEŞEKKÜR

*Kriminal Uygulamalar ve Adli Bilimler konusunda ufkumu açan, merakımı uyandıran, Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü' nde yüksek lisans eğitimine başlamama ve tez çalışmamı gerçekleştirilmeme imkan sunan Enstitü Müdürümüz **Prof. Dr. Sevil ATASOY' a,***

*Lisansüstü eğitimim süresince ilgisini, sevgisini ve bilgisini benden esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında ve bu güne gelmesinde tüm özverisiyle değerli zamanını bana harcamaktan hiç çekinmeyen ve öğrenimim süresince tüm desteğiyle yanımda olan, kendime örnek aldığım sevgili danışmanım ve hocam **Dr. Öğr. Üyesi Tuğba ÜNSAL' a,***

*Tüm lisansüstü eğitim dönemim ve tez çalışmam süresince her konuda yardımcı olan ve desteğini her daim hissettiren değerli hocam **Dr. Öğr. Üyesi Kaan YILANCIOĞLU' na***

*Tez çalışmam boyunca her türlü idari ve teknik destek sağlayan, tüm soru ve sıkıntılarımıza sonsuz sabırla destek sunan Enstitü Sekreteri **Seher EREN' e,***

*Tüm aşamalarda birlikte ve omuz omuza çalıştığım, sıra arkadaşım **Işıl Tuna ERDOĞAN' a,***

*Lisansüstü dönemim boyunca desteklerini esirgemeyen, sorularıma usanmadan cevap veren ve tüm aşamalarında yardımcı olan **mesai arkadaşlarıma ,***

ve

*Her koşulda, her zaman beni destekleyen ve her daim yanımda olan biricik eşim **Sercan GÜNGÖR** ve değerli **AİLEME,***

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Aysun GÜNGÖR

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	1
SUMMARY	3
1. GİRİŞ ve AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Adli Bilimlerde DNA İncelemelerinin Tarihsel Gelişimi	7
2.2. Adli Bilimlerde Kullanılan Genetik İşaretler	9
2.2.1 VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats - Değişken Sayılı Tekrar Dizileri) (Minisatellitler)	9
2.2.2. STRs (Short Tandem Repeats – Kısa Tekrarlı Diziler) (Mikrosatellitler)	11
2.2.3. SNP (Single Nukleotide Polymorphism – Tek Nükleotit Polimorfizmi).....	13
2.3. STR Lokusu Allellerinin Adlandırılması	14
2.4. Adli Bilimlerde Yaygın Olarak Kullanılan STR Lokusları.....	15
2.4.1 MiniSTR Lokusları.....	18
2.4.2 Y-STR	19
2.4.3. X-STR	19
2.4.4 Çoklu STR Analizleri	20
2. 5. CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi - Combined DNA Index System) ve NDIS (Ulusal DNA İndeks Sistem- National DNA Index System).....	21
2. 6. Biyolojik Bulguların Önemi ve Toplanması	25
2.7. Biyolojik Örnekten DNA Analizini Etkileyen Faktörler	27

2.7.1. Örnek Miktarı	27
2.7.2. Kontaminasyon (Bulaşma)	27
2.7.3. Degredasyon (Bozunma)	29
2.8. Biyolojik Bulguların İncelenmesi	31
2.8.1. İzolasyon (Çekitleme- Özütleme)	32
2.8.2. DNA Miktar Ölçümü.....	33
2.8.3 Amplifikasyon (PCR - Polimerase Chain Reaction - Polimeraz Zincir Reaksiyonu).....	35
2.8.4. Elektroforez	36
2.8.4.1 Kapiller Elektroforez (CE)	36
2.9. Bir Şiddet Suçu Olarak Cinsel Saldırı ve İstismar	37
2.9.1. Cinsel Saldırı/ İstismar Vakalarında Bulguların Toplanması Ve İncelenmesi	39
2.9.2 Cinsel Saldırı/ İstismar Vakalarında Bulguların Kontaminasyonu ve Degradasyonu	41
2.9.3. Yıkanmış Örneklerde DNA elde edilmesi	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Örneklerin Hazırlanması	44
3.2. Örnek Toplama ve Semen Lekelerinin Oluşturulması	45
3.2.1. Lekeli Kumaşların Yıkanması	46
3.2.2. Kurumuş Semen Lekelerinin Yıkama Öncesi ve Sonrası UV Işık Altında Görünürleştirilmesi ve Fotoğraflanması	47

3.3.1. İzolasyonda Kullanılan Kitler ve Kimyasallar.....	47
3.3.2. PCR’ da Kullanılan Kitler ve Kimyasallar	48
3.3.3. Elektroforezde Kullanılan Kit ve Kimyasallar	48
3.4 Kullanılan Cihazlar.....	48
3.5 Yöntemin Uygulanması.....	49
3.5.1 Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu.....	49
3.5.1.1 Fenol-Kloroform(Organik) Yöntemi ile Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu.....	50
3.5.1.2 QIAamp® DNA Investigator Kit (Spin Kolon Yöntemi) Kullanılarak Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu	51
3.5.2 DNA Miktarının Ölçülmesi	53
3.5.3. PCR Aşaması	55
3.5.3.1 PCR Karışımının Hazırlanması.....	55
3.5.3.2 PCR Programı	56
3.5.4 PCR Ürünlerinin ABI PRISM®3500 Genetik Analizör Cihazında Analizi... 56	
3.5.4.1 Örnek Hazırlanması	56
3.5.4.2 Elektroforez.....	57
3.5.4.3 Örneklerin Analizi.....	57
4. BULGULAR	58
5. TARTIŞMA	73
6. SONUÇ.....	78
7. KAYNAKLAR

-EKLER

EK-1 Etik Kurul Kararı (2 sayfa)

EK-2 Bilgilendirilmiş Onay Formu (2 Sayfa)

- ÖZGEÇMİŞ



KISALTMALAR VE SİMGELER

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALS	: Alternative light source
AMPFLP	: Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (Amplified fragment length polymorphism - AMPFLP)
AP	: Asit Fosfataz
bç	: Baz çifti
CE	: Kapiller Elektroforez
CODIS	: Combined DNA Index System
dNTP	: Deoksinükleotit trifosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DTT	: Dithiothreitol
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
f	: Frekans
FBI	: Federal Soruşturma Bürosu (Federal Bureau of Investigation)
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigens)
HumCD4	: Human recognition/surface antigene gene (İnsan tanıma- yüzey antijen geni)
HumTHO1	: Human tyrosine hydroxylase gene (İnsan Tirozin Hidroksilaz geni)
ISFH	: Uluslararası Adli Hemogenetik Derneği (International Society of Forensic Hemogenetics)
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
mM	: Milimolar
mL	: Mililitre

μ l : Mikrolitre

NaCl : Sodyum Klorür

NDIS : Ulusal DNA İndeks Sistem
(National DNA Index System)

ng : Nanogram

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyon
(Polymerase Chain Reaction)

Pg : Pikogram

Pk : Proteinaz K

POP : Performance Optimized Polymer

RFLP : Sınırlandırılmış fragman uzunluk polimorfizmi
(Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFU : Radyo Frekans Birimi
(Radio Frequency Unit)

rpm : Dakikadaki devir sayısı
(revolutions per minute)

SDS : Sodyum dodesil sülfat

SNP : Tek nükleotid polimorfizmi
(Single Nucleotide Polymorphism)

STRs : Kısa ardışık tekrar dizileri
(Short Tandem Repeats)

Taq : Thermus aquaticus

TE Tamponu : Tris- EDTA

V : Volt

VNTRs : Değişken sayıda ardışık tekrar dizileri
(Variable Number of Tandem Repeats)

TABLULAR LİSTESİ

Tablo I. Adli amaçlı kullanılan bazı STR lokuslarının özellikleri	17
Tablo II. Yıllara göre CODIS e ait STR lokuslarının kullanımı	24
Tablo III. Otomatik çamaşır makinesi yıkama programları özellikleri	47
Tablo IV. PCR Karışımının hazırlanması	56
Tablo V. Elektroforez için örnek hazırlanması.....	57
Tablo VI. Yıkanmış Semen Lekeli Pamuklu kumaşlardan iki farklı izolasyon yöntemi ile elde edilen DNA Miktarı ve Saflık Oranı	61
Tablo VII. Yıkanmış semen lekeli naylon karışımli kumaşlardan iki farklı izolasyon yöntemi ile elde edilen DNA Miktarı ve Saflık Oranı	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Polimorfik STR lokusu	12
Şekil 2. THO1 STR lokusu farklı allelleri	15
Şekil 3. 13 temel CODIS STR lokusunun kromozomal pozisyonları.....	23
Şekil 4. DNA İzolasyonu genel prensibi.....	32
Şekil 5. DNA İzolasyonu temel akış şeması.	33
Şekil 6. Kapiller Elektroforez Şeması.	37
Şekil 7. Pamuklu ve naylon karışımı kumaşların çalışma için hazırlanması	45
Şekil 8. Pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerinde kurumuş semen lekelerinin görüntüsü.....	46
Şekil 9. Nano spektrofotometre cihazına referans örnek konulması ve cihazın sıfırlanması ..	54
Şekil 10. Nano-spektrofotometreden sonuçların okunması	55
Şekil 11. Kurumuş semen lekelerinin yıkanmadan önceki UV ışık altındaki görüntüsü.....	58
Şekil 12. Kurumuş semen lekelerinin 40°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü.....	59
Şekil 13. Kurumuş semen lekelerinin 60°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü.....	59
Şekil 14. Kurumuş semen lekelerinin 90°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü.....	60
Şekil 15. Organik yöntem ile pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerindeki yıkanmış semen lekelerinden izole edilen DNA miktarları	63
Şekil 16. Spin Kolon Yöntemi ile pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerindeki yıkanmış semen lekelerinden izole edilen DNA miktarları	63
Şekil 17. Çalışılan örneğe ait tam kan örneğinden elde edilen DNA'ya ait profil görüntüsü..	65

Şekil 18. 40 °C de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü.....	66
Şekil 19. 60 °C de yıkanmış naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü.....	67
Şekil 20. 90 °C de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profili görüntüsü.....	68
Şekil 21. 90 °C de yıkanmış naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profili görüntüsü.....	69
Şekil 22. 40 °C de pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü	70
Şekil 23. 60 °C de naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü.....	71
Şekil 24. 90 °C de pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü	72

ÖZET

Şiddet; toplumlarda farklı şekillerde görülebilir. Fiziki şiddetin en önemli delilleri ise kan, semen, tükürük, kıl, tırnak gibi biyolojik delillerdir. Dünya ile birlikte ülkemizde de artan kadına yönelik şiddetin en sık rastlanan şekli cinsel saldırı, en çok rastlanan deliller ise kan ve semen lekeleridir. Yapılan birçok araştırmada; cinsel saldırıda bulunan kişilerin birçok vakada prezervatif kullanmadıkları, seminal sıvılarını mağdurun bedeni üzerinden çok mağdur veya kendi kıyafeti üzerine, yatak çarşaflarına veya ortamda bulunan diğer eşyalara transfer ettiği görülmüştür (76). Bu da olay yeri inceleme sonrasında ortamdaki çarşafların, mağdur çamaşırlarının incelenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Fakat birçok olayda suçlunun delilleri karartmak için, mağdurun ise yaşadığı korku, panik, endişe gibi psikolojik durumlar sonrasında kendi bedeni ve kıyafetlerini temizleme eğiliminde olduğu ve hatta bu çamaşırları uzun süre sakladıkları görülmüştür (76). Bu da; birçok farklı sebeple olay sonrası adli birimlere hemen başvuramamış ve bir süre sonra şikâyetçi olmaya karar vermiş mağdurların umudunu yitirmelerine sebep olmaktadır.

Mağdurlar, rutin kriminal incelemeler neticesinde bu gibi durumlarda kendilerinden alınan ve yıkanmış çamaşırlar üzerinden DNA elde edilemeyeceğini düşündüklerinden genellikle çamaşırlarını saklar veya inceleme için laboratuvara vermezler (74, 75). Fakat son yapılan çalışmalar; çamaşır makinesinde farklı sıcaklıklarda, hatta birden çok kez yıkanmış çamaşırlardan dahi DNA elde etmenin mümkün olabileceğini ortaya koymuştur. Seminal sıvının özel yapısı ve sperm hücrelerinin kumaş liflerinde takılı kalmaları nedeniyle birden fazla yıkamada bile DNA elde edilebilmektedir (74). Elde edilen DNA miktarı çamaşırların yıkandığı deterjan türüne, lekeli kumaşın türüne, yıkama sıcaklığı ve yıkanan makinenin yıkama programı özelliklerine, kurutma şartlarına ve saklama süresi gibi koşullara bağlı olarak değişebilir (74-76,82).

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Bu çalışmanın amacı; yıkanmış olan çamaşırlardan DNA elde edilip edilemeyeceği, DNA miktarının ne olduğu ve elde edilen DNA ile bir kimliklendirme yapıp yapılamayacağı sorularına cevap aramaktır.

Bu çalışmada çalışmaya gönüllü olarak katılan kişilerden alınan semen örneklerinden, hem pamuklu hem de naylon karışımı kumaşlara lekeleme yapılmıştır. Oda koşullarında kurutulan kumaşlardaki semen lekeleri otomatik çamaşır makinasında 40°C, 60°C ve 90°C sıcaklıklarda, yoğun olarak kullanılan raf ürünü deterjanla yıkanmış ve yine oda koşullarında kurutulmuştur. Yıkanmış ve kurutulmuş kumaş parçaları UV ışık kaynağı ile incelenmiş ve leke kalıntıları tekrar görünürleştirilmiştir. Bu aşamadan sonra yıkanmış her bir kumaşın lekeli kısmından alınan örneklerden iki ayrı izolasyon yöntemi ile DNA izolasyonu yapılarak, elde edilen DNA miktarları belirlenmiş ve elektroforez aşamasından sonra semen lekesinin sahibine ait (donöre) ait tam profiller elde edilebilmiştir.

Bu çalışma sonucunda; hem DNA izolasyon yöntemleri, hem yıkama koşulları, hem de yıkanan farklı kumaşlar üzerinden ne kadar DNA elde edilebilirliği hakkında karşılaştırma yapılabilmektedir. Yıkanmış semen lekelerinin hangi koşullara kadar DNA analizi için yeterli olduğunun sınırları çizilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışma kriminal laboratuvarlara incelenmek üzere gönderilen yıkanmış çamaşırlar üzerinde daha ayrıntılı ve dikkatli çalışmalar yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Ayrıca korku veya başka bir sebeple olaydan hemen sonra adli birimlere başvuramamış ve çamaşırları yıkadığı için sonuç alınamayacağını düşünen mağdurlara umut vermekle birlikte adaletin tecellisinde önemli bir ışık tutmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adli Bilimler, Olay yeri incelemeleri, Cinsel saldırılar, Spermatazoa, Semen Lekesi, Yıkanmış çamaşır

SUMMARY

Violence can be seen in various ways in a society. The most important evidence of physical violence are the biological evidences such as. blood, semen, saliva and pilar. Blood and semen stains are the most common evidence of violence against women in our country and in the world. The most important evidence to find the perpetrator of sexual assault is the semen stain. In many studies, it has been observed that sexual assailants do not use condoms in many cases and transfer seminal fluids over the body of the victim, to their own clothes, bed linen or other objects in the environment(76). This reveals the necessity of examination of the bed linen and the victim's laundry after the crime scene investigation. However, in many cases, it has been seen that the assailant, in order to counter forensics, and the victim due to the psychological conditions such as fear, panic and anxiety tend to clean their own bodies and clothes. They even hide those laundries for a long time(76).This leads to the loss of hope of the victims who could not go to the judicial units immediately after the incident because of several reasons and decided to complain after a while.

The victim tends to hide their clothes and do not hand them to the laboratory thinking that in such situations routine criminal research will not bring the necessary DNA result(74,75). However recent studies show that; DNA can be obtained from clothes even washed more than once with different temperatures in washing machine(74). Due to the special of seminal fluid and due to the fact that sperm cells get stuck in fabric fibers DNA can be obtained even after washing the clothes more than once. The amount of DNA obtained may differ depending on the type of washing agent that was used, type of the stained fabric, washing temperature, features of the chosen program of the washing machine used, drying conditions as well as preservation period(74-76, 82).

The aim of this study is to find out whether DNA can be obtained from the washed laundry, what is the amount of DNA and whether an identification can be made with the obtained DNA.

In this study, both cotton and nylon blended fabrics were stained with semen samples taken from volunteers. Semen stains on the fabrics which dried under the room conditions were washed with detergent in the automatic washing machine at 40°C, 60°C and 90°C, and dried again under room conditions. The washed and dried pieces of fabric were examined by UV light source and stain residues were made re-visible. After this step, DNA was isolated from the stained part of each washed fabric by two different isolation methods.

As a result of this study, the DNA isolation methods, washing conditions, and how much DNA can be obtained from different washed fabrics can be compared. The conditions under which washed semen stains are sufficient for DNA analysis are outlined.

In conclusion, this study reveals the necessity of more detailed and careful studies on the washed laundry sent to criminal laboratories for examination. It gives hope to the victims who have not been able to go to the judicial units immediately after the incident for fear or for any other reason and who think that they cannot get results because they have washed the laundry. This also sheds an important light in the interest of justice.

Keywords: Forensic Sciences, Crime scene investigations, Sexual Assaults, Spermatazoa, Semen Stains, Washed Laundry

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Adli Bilimler; adli ve idari soruşturmalar sürecinde elde edilen delillerin incelenmesi ve değerlendirilmesi koşuluyla, suç ve suçlunun belirlenmesi ve kanıtlanmasında yürütülen multidisipliner çalışmaların bütünüdür. Bu çalışmalarda esas olan, deliller ile birlikte suçlu-mağdur-olay yeri ilişkilerinden yola çıkarak olayların çözümlenmesi, suçluların cezalandırılmasıdır. Adli vakalarda olayın çözümlenmesi ve suçlunun cezalandırılması, olayın niteliğinin anlaşılması ile mümkün olur. Adli olaylar; mağdur- şüpheli- olay yeri bağlantısının kurulması ile çözüme kavuşturulur.

Adli Bilimlerde 1990'larda hız kazanan DNA üzerindeki çalışmalar ile, olayların çözüme kavuşturulmasında biyolojik delillerin önemi çok daha iyi anlaşılmıştır (6-9). Bir olay yerinde olaya karışan kişilerin kimliklendirilmesi, olayı çözümede en önemli maddi delildir. Bu sayede olaya karışan kişiler ve olayın oluş şekli hakkında tahmin yürütülebilir, adli soruşturmalara maddi deliller ışığında daha doğru bir yön verilebilir. Bu da deliller üzerinden elde edilen DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) ile mümkün olmaktadır. Olay yerinden elde edilen deliller üzerinden elde edilen DNA ile olaya karışmış olduğu düşünülen kişilerden alınan referans örneklerin birbirleri ile karşılaştırılması sonucunda kişi olaya dahil edilebilir veya dışlanabilir. Bu işlemler DNA üzerinde belirli sayıda tekrarlardan oluşan STR'lerin farklılıklarından yola çıkılarak yapılır.

Adli vakalar çoğu zaman şiddet içerir, bu şiddet sonrası da olay yerinden elde edilebilecek biyolojik örnekler çoğu zaman kan, kıl, tırnak, semen, vücut sıvısı, epitel, idrar, dışkı gibi örneklerdir (25, 26). Cinsel saldırı/istismarlarda ise en yaygın olarak elde edilen biyolojik

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

örnek semen lekesi ve kandır. Mağdurun iç çamaşırında şüpheliye ait semen örneğinin bulunması, bu gibi olaylarda hayati önem taşır.

Cinsel saldırı/ istismar sonrasında mağdurlar birçok sebeple hemen adli makamlara başvuramayabilirler. Yaşadıkları travma sonrasında birçok mağdurun kendi bedeni veya çamaşırlarını temizleme eğiliminde olduğu görülmüştür. Bu da çoğu zaman olay ile ilgili olan biyolojik delillerin kaybolduğu düşüncesine neden olmaktadır. Mağdurlar, olaydan bir süre sonra adli makamlara başvurmak istemesi durumunda yıkanan çamaşırlardan sonuç elde edilemeyeceğini düşünerek yıkanan çamaşırlarını laboratuvar incelemesi için teslim etmek istemezler. Fakat yapılan birçok çalışma, farklı sıcaklıklarda ve farklı yıkama şekilleriyle, birden fazla yıkama sonrasında dahi bu çamaşırlardan DNA elde edilebileceğini göstermiştir (74-76,82).

Bu tezin amacı; farklı birçok sebeple cinsel saldırı/istismar sonrası hemen adli kurumlara başvurulmadığı, olay sırasında mağdurun üzerinde bulunan eşyaları yıkamış olduğu, ve delil karartmak amaçlı şüpheli-zanlının semen lekeli kıyafetleri yıkamış olduğu durumlar için, yüksek sıcaklıklarda dahi yıkanmış çamaşırlardan DNA elde edilebildiği ve olaya ilişkin kimliklendirme yapılabildiğini göstermektir. Daha önceki yapılan çalışmalarda farklı sıcaklıklar kullanılarak DNA elde edilmeye çalışılmış, ya da kirli olan çamaşırlardan temiz olan çamaşırlara DNA transferi üzerinde durulmuştur (74-76). Bu çalışma ile ilk defa 90°C sıcak suda yıkanmış çamaşır üzerinden DNA elde edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma kriminal laboratuvarlara incelenmek üzere gönderilen yıkanmış çamaşırlar üzerinde daha ayrıntılı ve dikkatli çalışmalar yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adli Bilimlerde DNA İncelemelerinin Tarihsel Gelişimi

Adli olaylarda olay yerindeki en önemli deliller şüphesiz ki biyolojik delillerdir. Biyolojik deliller (Kan, tükürük, semen, kıl, tırnak, deri döküntüsü, balgam, dışkı, idrar vs.) üzerinden elde edilen DNA ile yapılan analizler, olaya karışmış kişilerin kimliklendirilmesi sonucu olayla ilişkilerinin kurulması veya babalık davalarında anne, çocuk ve muhtemel babadan alınan örneklerin karşılaştırılması sonucunda nesep tayinlerinin yapılabilmesi için kullanılmaktadır (1, 2).

DNA'nın keşfinden önce tüm bu çalışmaların yapılabilmesi için birçok farklı yöntemden yararlanılmıştır. 1900' lü yılların başlarında kimliklendirme ve babalık tayinleri için ABO kan grupları (eritrosit antijenleri) ardından eritrosit enzimleri, serum proteinleri, hemoglobin ve lökosit antijenlerinin (Human Leukocyte Antigens - HLA) varyasyonlarından yararlanılmıştır. Bu işaretçilerin inceleme yöntemleri, proteinlerin elektroforetik ayırımına ve antijenlerin immünolojik reaksiyonlarına dayanmaktadır. Bu yöntemler araştırmacılara bilgi vermekle birlikte birçok açıdan gerekli bilgi için yetersiz kalmaktadır. ABO kan gruplarında varyasyonun az olması, protein antijenlerinin zamana karşı bozulmaları ve az miktardaki örneklerden yeteri kadar sonuç alınamaması gibi sebeplerle kimliklendirme açısından yetersiz kalmaktadır (3, 4). DNA'nın işlevi ve yapısı hakkında zamanla öğrenilen bilgiler ışığında bu yöntemler yerini DNA da bulunan polimorfik kısımlara ve bu kısımların farklılıklarından yararlanılarak yapılan analizlere bırakmıştır (5).

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Watson ve Crick 1953 yılında DNA'nın çift sarmal yapıda olduğunu ortaya koymuş ve böylece yapısal incelikleri anlaşılan bu molekülün fonksiyonel özelliklerinin de daha iyi anlaşılması için çalışmalar artırılmıştır (6). 1980'de David Botstein ve arkadaşları kişilere ait DNA'lar üzerinde küçük farklılıkların olduğu bölgeler olduğunu tespit etmişler ve bu varyasyon tipini restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak adlandırmışlardır. Adli DNA analizlerinin ivme kazanmasına sebep olan gelişme ise 1984 yılında İngiliz bilim adamı Alec Jeffreys'in hastalıklar üzerinde genetik çalışmalar yaparken RFLP teknolojisinin kişilerin tanımlanmasında da kullanılabileceğini bulmasıdır. "DNA Parmakizi" (DNA Fingerprint) olarak adlandırılan bu yeni teknik ilk olarak 1985 yılında İngiltere'de bir adli vakanın araştırılmasında kullanılmıştır. Bu olayda elde edilen başarının ardından adli DNA kimliklendirmesi olay, olay yeri ve kişiler arasında doğru bağlantı kurabilen bir yöntem olarak ön plana çıkmış ve bilim adamları, hukukçular, kolluk güçleri için temel araştırma yöntemlerinden biri haline gelmiştir(7-9). 1986'da Kary Mullis'e kimya dalında Nobel Ödülü kazandıran PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) tekniğinin bulunması, tüm moleküler genetik çalışmalar ile birlikte adli DNA analizlerinin de kapsamını değiştirmiştir. Bugün artık PCR aracılığı ile tek bir hücreden dahi bir kişiye ait profil bilgisini elde etmek mümkün hale gelmiş ve tüm kriminal laboratuvarlarda PCR temelli teknikler kullanılmaya başlanmıştır (8, 11).

Doğadaki canlıların hemen hepsinde kalıtım materyali DNA'dır. DNA; her hücre içinde sıkıştırılarak paketlenmiş ve her hücrenin görevleri, yapısı, belli hücrelerden veya dokulardan salgılanacak proteinin bilgisini içerisinde bulunduran yapıdır. Bu kadar bilgiyi içerisinde bulunduran materyal, 46 kromozomdan oluşan ve içerisinde yaklaşık 3 milyar baz çiftini barındıran, uzunluğu 1 metreyi bulan moleküldür (12, 13). Bu 3 milyar baz çifti her biri farklı bölgelerde bulunan 50.000-100.000 geni kodlamaktadır. Bu genlerin büyük bir kısmı kodlama yapmazken, çok az bir kısmı protein kodlamadan sorumludur. DNA'nın çok büyük

bir kısmı tüm canlılarda aynıdır. Bu kısım DNA' nın yaklaşık %99 unu oluşturur. Bireyler arası farklılıkları oluşturan kısım ise yaklaşık %1 oranındadır. Canlılarda protein kodlayan bölgeler genel olarak aynıdır. Bu da bu genlerin mutasyon toleransının olmamasından dolayıdır. Bazı genlerde ise mutasyon toleransı daha fazla olduğundan, popülasyonda farklı formlarda bulunabilirler, buna da genin alleli denir(13). Tek bir gen bölgesinin (lokus) birden fazla alleli olabilir. Bu da popülasyon içerisindeki varyasyonu (genetik polimorfizmi) oluşturur. Her bir bireyde bulunan genler biri anneden ve biri babadan gelen iki allelden oluşur ve kriminal çalışmalar içerisindeki DNA kimliklendirmesi bu allel farklılıklarından yararlanılarak yapılır (1, 14, 15). Bir popülasyon içerisinde, gendeki allel değişikliğinin toplumda görülme sıklığı %1' in altında ise buna "mutasyon", %1 den fazlaysa "genetik polimorfizm" (varyasyon) denir. Genetik polimorfizm; insersiyon, delesyon, tek baz değişiklikleri (Single Nukleotide Polymorphism) ve ya farklı sayıda art arda tekrar eden diziler (Short Tandem Repeats –STR; Variable number of tandem repeats VNTR) şeklinde gerçekleşir ve Adli Bilimlerde VNTR, STR ve SNP ve polimorfizmleri incelenmiştir (1, 15-17).

2.2. Adli Bilimlerde Kullanılan Genetik İşaretler

2.2.1 VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats - Değişken Sayılı Tekrar Dizileri) (Minisatellitler)

Genomun çok büyük bir kısmı tüm insanlarda aynıdır. Bireyler arası farklılıkların sebebi, genom üzerinde bulunan belli bölgelerdeki belli dizilerin farklı insanlarda farklı sayıda tekrarlanmasıdır.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Araştırmacılar insan genomunda 2500'den fazla polimorfik bölge tespit etmişlerdir. Adli bilimlerde DNA'nın intron bölgelerinde bulunan minisatellit (variable number of tandem repeats=VNTR) ve mikrosatellit (Short Tandem Repeats= STR) olmak üzere iki ana tipte polimorfik bölgeden yararlanılır (18-20).

Minisatellit (VNTR) lokuslarının, tekrar birimlerine bağlı olarak önemli alel değişkenliği gösteren 9-100 baz çiftinin (bp) dizin tekrarlarından oluştuğu da bilinmektedir (21). VNTR lokuslarındaki varyasyonlar, belli baz dizilerinin peş peşe ve tekrarlanma sayılarındaki farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Farklı VNTR lokuslarında, tekrarlanan baz dizilerinin uzunlukları değişkendir. Bu lokuslarda tekrarlanan dizilim 2-30 veya daha fazla sayıda baz çifti içermektedir. Bu lokuslar, çok sayıda farklı uzunlukta allele sahip olduklarından bireyler arası ayırım güçleri yüksektir ve karakteristik tekrarlayan yapıları nedeniyle VNTR belirteçleri; doğum öncesi tanı, adli teşhis, babalık testi, antropolojik araştırma ve filogenetik araştırmaları içeren birçok uygulamada kullanılmıştır (22, 23).

VNTR' ler farklı genler üzerinde olabildiği gibi aynı gen üzerinde de bulunabilirler. Fakat ayırım gücünün yüksek olması için birbirlerine uzak bölgelerden seçilirler. Bu da çalışma için fazla miktarda DNA' ya ihtiyaç olmasına neden olmaktadır. Adli olgularda gerek ortam şartları, gerek bakteriyel faaliyetler nedeniyle DNA büyük ölçüde hasar gördüğünden ya da olay yerine bırakılan biyolojik delillerin az olması nedeniyle daha küçük miktarlarla sonuç alınabilecek biyoışaretçilere ihtiyaç vardır. Bu noktada VNTR' lere oranla daha küçük ve daha fazla sayıda bulunan ve ayırım gücü oldukça yüksek olan STR(mikrosatellit) lerden yararlanılmaktadır.

2.2.2. STRs (Short Tandem Repeats – Kısa Tekrarlı Diziler) (Mikrosatellitler)

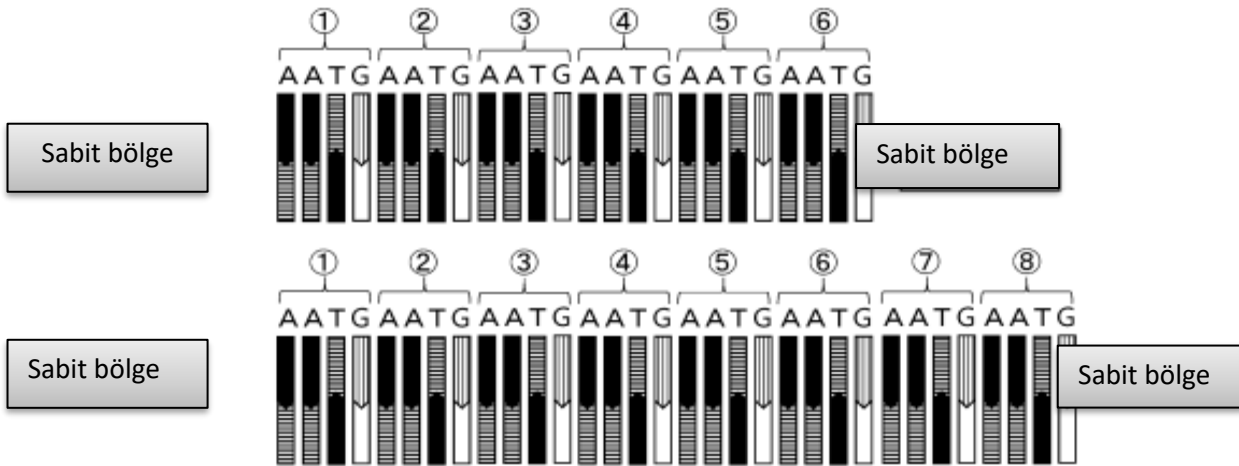
STR'ler minisatellitlere (VNTR) göre daha az baz çifti içeren tekrar dizileridir. Genellikle 2-7 baz çiftinden oluşan tekrarlı bölgelerdir. Bu bölgelerin gen üzerindeki çok sayıda olması, tekrar dizileri ve tekrar sayısının farklılıkları bakımından daha polimorfik olması nedeniyle adli bilimlerdeki kullanımını oldukça yaygındır. Saiki ve ark. tarafından 1985 yılında istenilen nükleik asit dizilerini hücre dışında çoğaltabilen polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) bulunmasıyla, çok az miktarlardaki örneklerden DNA analizi yapılmaya başlanmış ve birkaç hücre ile DNA kimliklendirmesi mümkün kılınmıştır (24).

Adli genetik çalışmalarda ise PCR'a dayalı yöntemlerin (Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi-AMPFLP) 1990'larda kullanılmaya başlanmasıyla, daha düşük miktarda DNA içeren ve daha önceki yöntemler için yeterli olmayan tek bir kıl kökü, sperm ve içilmiş sigara izmariti gibi materyallerden de sonuç alınmaya başlanmıştır. Geliştirilen yöntemlerle, özellikle kısa aralıklarla tekrarlanan baz dizilimi içeren STR lokuslarının PCR ile çoğaltılarak incelenebileceğinin gösterilmesi, adli amaçlı DNA analizinde yeni bir dönem açmıştır. STR'ler; sayılarının genomda fazla olması, yüksek oranda varyasyon içermesi ve inceleme kolaylığı nedeniyle adli genetik çalışmalarında ideal işaretler olarak belirtilmişlerdir (24,25).

Adli olgularda DNA molekülü çoğu zaman bozunmuş, parçalanmış veya miktar olarak çok az bulunduğundan, uzun tekrarlı VNTR lokusları yerine kısa tekrarlı ve fazla sayıda polimorfik bölge bulunduran STR lokusları incelenmektedir. Bu lokusların tekrarlanan ünite sayısının bireyden bireye farklı olmasından yararlanarak, adli amaçlı kimliklendirme ve babalık tayinlerinde kullanılmaktadır (Şekil 1). STR lokuslarında tekrar eden dizi uzunluğu, tekrar

sayısı gibi farklılıkların dışında nokta mutasyonlar veya insersiyon/delesyon gibi mutasyonlar nedeniyle de farklılıklar görülebilir. Bu sebeple STR' ler 3 grupta incelenir.

- **Basit STR' ler** : Tekrar eden nükleotid dizisinin sayısı ve sırası aynı olan dizilerdir. Ör: HumCD4 (Human recognition/surface antigene gene).
- **Birleşik STR' ler** : Baz dizilim sırası birbirinden farklı olan iki veya daha fazla tekrar dizisinden oluşan STR lokuslarıdır. Ör:HumvWFA31 (Human von Willebrand factor gene),
- **Kompleks STR' ler** : Tekrarlı ve farklı nükleotid dizilerinin, tekrar sayılarının farklı olduğu STR lokuslarıdır. Ayrıca bu STR ler birden fazla baz dizisi içerirler. Ör: D21S11 (27,28).



Şekil 1. Polimorfik STR lokusu (Kitamura, 2019)

2.2.3. SNP (Single Nukleotide Polymorphism – Tek Nükleotit Polimorfizmi)

SNP (Tek nükleotit polimorfizmi) bir DNA dizisi içerisinde bazı bölgelerde oluşan tek bir bazın mutasyona uğrayarak değişimine dayanır. Bu değişimlere nokta mutasyonlar veya transisyon, transversiyon, inversiyon, delesyon gibi değişimler neden olur ve pürin-pürin, pirimidin- pirimidin veya pürin-pirimidin şeklinde olabilirler. Genomda bulunan adenin ve timin bazıları pürin bazıları; guanin ve sitozin bazıları pirimidin bazıları oluşturmaktadır. Tek nükleotid polimorfizminde pürin-pürin, pirimidin-pirimidin değişimleri transisyon; pürin-pirimidin değişimleri ise transversiyon olarak adlandırılmaktadır. Baz dizilimlerdeki bir veya daha fazla bazın çıkmasıyla delesyon; eklenmesiyle ise insersiyon oluşabilmektedir (29).

SNP ler hem kodlama yapan bölgelerde (ekzon) hem de kodlama yapmayan bölgelerde (intron) meydana gelebilir. Kodlama yapan bölgelerde meydana geldiğinde sentezlenecek olan protein türünü değiştirebilecek olması sebebiyle genellikle hastalıklarla ilişkilendirilir. İntronlarda meydana gelen değişimlerde ise genellikle fenotipte herhangi bir etki yaratmaz fakat varyasyon gametlerle birlikte yeni nesillere aktarılabilir. Bu da kimliklendirme aşamasında adli bilimcilere ışık tutar. Fakat SNP bulunan lokuslardaki gözlemlenen allel sayısı az olduğundan ayırıcılıkları da VNTR' lere göre daha azdır (1).

Olay yerinden elde edilen deliller, büyük ölçüde bozulduklarından kimliklendirme için standart yöntemler dışında DNA üzerinde daha az miktarda yer kaplayan bölgelerin incelenmesi ile yeni yöntemler araştırılmaktadır. Bu noktada düşük mutasyon oranına sahip olan SNP' ler özellikle felaket kurbanlarının kimliklendirilmesi gibi olaylarda akrabalık ilişkilerini, soybağını ve coğrafik soyu ortaya koymada kullanılabilir (30,31). Ayrıca

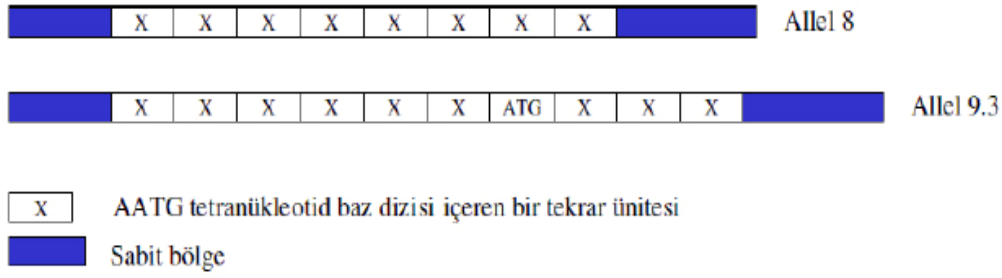
Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

monozigotik ikizlerin ayırımı söz konusu olduğu durumlarda STR kimliklendirmesinde ikizlerin DNA profili aynıdır. Bu da ikizlerin ayırımında farklı yöntemlerin araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Bir çok çalışmada yeni nesil sekanslama teknolojilerinden de yararlanarak ikizlerdeki SNP farklılıklarına dayanarak ayırım yapılabileceği belirtilmiştir (32,33).

Son yıllarda ise faili bulunamayan olaylarda çember daraltmak amacıyla birçok ülkede failin fenotipini belirleme yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Veri bankalarından DNA profili eşleşmediği durumlarda failin göz rengi, saç rengi, ten rengi gibi özellikleri belirlenerek soruşturmacı birime bilgi sağlanmaktadır. Bu nedenle SNP'lerden yararlanarak kişilerin dış görünüşleri hakkında bilgi edinebilme konusunda adımlar atılmıştır (34).

2.3. STR Lokusu Allellerinin Adlandırılması

STR lokusu allellerinin isimlendirilmesi yapılırken daha önceleri herhangi bir standart belirtilmemiş ve lokuslar içerisinde bulunan dizi tekrar sayılarına göre isimlendirilmiştir. Örneğin; bir allel içerisinde 8 adet tekrar ünitesi içeriyor ise bu allel “8. alel” olarak isimlendirilir. Bu isimlendirme Uluslararası Adli Hemogenetik Topluluğu (ISFH- International Society of Forensic Hemogenetics) DNA Komisyonununun 1992’de yayınladığı kararlar ile de standarta bağlanmıştır. Bu kararlara göre; eğer bir lokusta ki tekrar eden bölgelerden herhangi birinde bir baz eksik ise tam olarak tekrarlanan ünitelerin sayısı ve eksik baz içeren ünitedeki baz sayısı yazılarak adlandırma yapılır. Bu iki değer birbirinden ondalık sayı ile ayrılır. Örneğin, dört baz çiftlik tekrar üniteleri içeren THO1(Human tyrosine hydroxylase gene -İnsan Tirozin Hidroksilaz geni) lokusunun 9.3 aleli, 10. alel’den, yedinci tekrar ünitesinde adenin kaybından dolayı 1 baz çifti daha kısadır ve bu nedenle 9.3 olarak adlandırılmıştır (Şekil 2) (27, 35).



Şekil 2. THO1 STR lokusu farklı allelleri (Ünsal, 2011)

2.4. Adli Bilimlerde Yaygın Olarak Kullanılan STR Lokusları

STR lokusları genler üzerinde çok sayıda bulunmaları, yüksek polimorfik özellik göstermeleri ve düşük mutasyon oranına sahip olmaları sebebiyle günümüzde birçok alanda yoğun olarak kullanılmaktadır. Tıpta klinik ve temel bilimlerde doku kültüründe, tür ayırımında, kemik iliği ve organ nakillerine yönelik analizlerde, çeşitli hastalıklardan sorumlu genlerin incelenmesi ve araştırılmasında, kromozom haritalamasında ve populasyon genetiği çalışmalarında kullanılmaktadır. Adli bilimlerde ise STR'lerden nesep tayini ve biyolojik materyallerin adli amaçlı kimliklendirilmesinde yararlanılmaktadır (17, 36, 37).

Adli Bilimlerde en büyük sorun; ortamda az miktarda DNA bulunması veya bulunan DNA'nın fiziksel ve bakteriyolojik faaliyetler sebebiyle bozunmuş olmasıdır. Bu nedendir ki hemen her gen üzerinde çok miktarda bulunan ve kısa tekrar dizilerinden oluşan STR ler kimliklendirme için en uygun enetik işaretlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda 50-100 pg gibi az miktarda DNA örneği ile STR analizi yapılabileceği saptanmıştır (17, 38, 39). STR ler insan genomunda kodlama yapmayan (intron) bölgelerde bulunur. Ayırıcılık bakımından heterozigotluk oranı yaklaşık %70 lere varan STR lerin, ayrıca bir PCR ile çok sayıda

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

üretilebilmeleri (multipleks) ve güvenilir, sağlıklı sonuç vermeleri gibi nedenlerle adli bilimlerde kullanımı çok yaygındır (17, 36, 37).

Adli vakalarda kimliklendirme yaparken veya babalık davalarında karşılaştırma yapılırken ne kadar fazla polimorfik bölge karşılaştırması yapılırsa, sonuç o kadar güvenilir olmaktadır. Bir genetik işaretin kişi kimliklendirilmesinde kullanılabilirliğini ölçmek için çeşitli parametreler (dışlama gücü, uyuşma olasılığı, heterozigotluk oranı vs.) kullanılır. Hangi sistemlerin kişi kimliklendirmesinde kullanılmasının daha yararlı olacağı konusunda tüm sistemlerin ölçülen parametrelerine bakılarak karar verilir. Bu nedenle insan genomu üzerinde tanımlanmış çok sayıda STR bölgesi ve bu bölgelerden popülasyon çalışmaları yapılarak allel frekansları hesaplanmış ve ayırıcılıklarının en yüksek olduğu tespit edilmiş olan polimorfik bölgeler karşılaştırılır (26, 40). Önceki yıllarda kimliklendirme için kullanılan STR lokuslarında bir standart bulunmazken, 1997 yılında ABD’ de FBI (Federal Bureau of Investigation- Federal Soruşturma Bürosu) tarafından kurulan CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi - Combined DNA Index System) sonrasında adli kimliklendirme için en çok kullanılan STR lokusları HumTHO1, HumVWA, HumCSF1PO (Human c-fms proto-oncogene for CSF1 receptor gene), D3S1358, FGA, D8S11179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539 olarak belirlenmiştir (41). Böylelikle farklı yerlerde suç işleyen aynı kişinin laboratuvar farklılığından kaynaklanan sebeplerden dolayı yakalanamaması gibi durumların önüne geçilmesi hedeflenmiştir. İlk olarak 13 STR lokusu kullanılarak başlayan çalışmalar, hızlı nüfus artışına bağlı olarak kimliklendirmenin daha güvenilir olması, adli bilimsel çalışmaların son yıllardaki artışı ve teknolojik gelişmelerin de katkısıyla kimliklendirme lokuslarının artması ile sonuçlanmıştır. Bu amaçla üretilen ticari multipleks STR kitleri ile daha önceden popülasyon çalışmaları yapılmış ve yüksek ayırıcılıkları olduğu tespit edilmiş STR lokusları ile kolay ve standart bir şekilde kimliklendirme yapılabilmektedir (Tablo 1).

Tablo I. Adli amaçlı kullanılan bazı STR lokuslarının özellikleri (AmpFISTR® Identifiler® Plus PCR Amplification Kit User Guide, 2015)(42)

Lokus	Kromozom Lokalizasyonu	Tekrar Dizisi (5'-3')	Ürün boyutu (bp)	Allelik Aralıkları
D8S1179	8	TCTA	128-168	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
D21S11	21q11.2-q21	TCTA	189-243	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38
D7S820	7q11.21-22	GATA	258-294	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
CSF1PO	5q33.3-34	AGAT	305-342	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D3S1358	3p	TCTA	114-142	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
TH01	11p15.5	AATG	165-204	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3
D13S317	13q22-31	TATC	206-234	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D16S539	16q24-qter	GATA	234-274	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D2S1338	2q35-37.1	(TGCC) (TCTA)	307-359	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
D19S433	19q12-13.1	AAGG	106-140	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2
vWa	12p12-pter	TCTA	175-197	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
TPOX	2p23-2per	AATG	222-250	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
D18S51	18q21.3	AGAA	273-341	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Amelogenin	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	---	107	X, Y
D5S818	5q21-31	AGAT	135-171	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
FGA	4q28	TTTC	219-267	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2

2.4.1 MiniSTR Lokusları

Rutinde kimliklendirme işlemleri STR lokusları kullanılarak yapılmakta iken olay yerinin kötü fiziksel koşullar sağlaması nedeniyle biyolojik örnekler bakteriyel, biyokimyasal veya oksidatif reaksiyonlar sonucunda ileri derecede bozunmuş durumda olabilmektedir veya kitlesel felaketler gibi durumlarda vücut bütününe aşırı derecede bozulması veya vücut parçalarının tanınmaz halde olması gibi nedenlerle DNA üzerindeki STR'ler kimliklendirme için yetersiz kalabilmektedir. Söz konusu lokusların DNA üzerinde kapladıkları alana bağlı olarak bozulmalardan fazlaca etkilenmektedirler. Ayrıca bu büyük boyuttaki lokusların içinde insersiyon/ delesyon gibi mutasyonlar meydana gelebilir. Böyle durumlarda; PCR'da primerler yanlış eşleşir veya büyük parçalı STR lokuslarında yeterli çoğalma olmadığından allel düşmesi (allellik drop out) meydana gelir. Bu da kimliklendirme aşamasında kısmi profil elde edilebilmesine veya profil elde edilememesine yol açar. Bu durum, klasik STR lokuslarına ek olarak daha küçük alternatif lokusların veya kimliklendirmeye yardımcı olabilecek daha başka markırların araştırılmasını zorunlu kılmaktadır(27, 43-45).

MiniSTR ler ilk etapta CODIS in belirlemiş olduğu STR lokuslarının yeniden incelenmesi ve bazı lokusların yeniden dizayn edilerek daha küçük (< 125 bç) baz çifti içeren parçaların belirlenmesi şeklinde oluşturulmuş ve 6 yeni miniSTR belirlenmiştir (27,46). Daha sonra ise CODIS dışı miniSTR ler belirlenerek adli kimliklendirme için alternatif ve yardımcı markırlar olarak kullanılmaya başlanmıştır (47).

Oluşturulan miniSTRler ileri derecede bozulmuş örneklerden elde edilen DNA profillerinde normal STR lokusları ile birlikte tamamlayıcı bir rol üstlenirken, bu miniSTR belirteçlerinin

birçoğu karmaşık babalık davalarında veya kayıp şahıs davalarında ek ayırım gücü sağlama potansiyeline sahiptir (46,47).

2.4.2 Y-STR

İnsan Y kromozomu üzerinde bulunan Y-STR ler erkekler tarafından paternal olarak taşınır ve her hücrede bir kopyası bulunur. Babadan oğula olduğu gibi aktarılan bu STR ler de otozomal STR ler gibi yüksek bozunmuş veya az miktarda DNA dan kolaylıkla analiz edilebilirler (48).

Adli amaçlı Y-STR ler daha çok babalık davalarında erkek gen akışının tespitinde ve tanımlanamayan cesetlerin kimliklendirilmesinde kullanılmaktadır. Babanın olmadığı babalık davalarında şüpheli büyük baba veya amcadan alınacak örnekler ile de akrabalık ilişkisi ortaya konulabilmektedir. Ayrıca Y kromozomu üzerindeki STR lokusları, cinsel saldırı vakalarında birbiri ile akrabalık ilişkisi bulunmayan birden fazla kişiye ait karışım örneklerde olaya karışan kişi ya da kişilerin ayırımında, yine cinsel saldırılarda vaginal svabla alınan kadın-erkek biyolojik örnek karışımlarında sadece erkeğe özgü DNA profili elde etmek amacıyla kullanılmaktadır (49).

2.4.3. X-STR

X-STR ler Y-STR ler kadar sık kullanılmasa da daha çok karmaşık soy bağı tayininde babalık/annelik davalarında kullanılmaktadır(50).

- Babalık davalarında kız çocuk söz konusu olduğunda, babadan örnek almanın mümkün olmadığı durumlarda babaanneden alınan örneklerle akrabalık tespitlerini yapabilmek için

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

uygulanmaktadır. Ayrıca babalık davalarında çocuğun kız çocuk olması koşuluyla şüpheli babanın baba veya oğul olması durumunda iki kişinin de annelerinin farklı olmaları nedeniyle X-STR kullanılarak babalık davası çözüme kavuşturulabilmektedir.

- Ensest vakalarında fetüsün kız olması durumunda fetüsün tüm allelleri hamile kadının allelleri ile aynı ise ensest kanıtlanmış olur.
- Ebeveynlerin örneklerinin alınmadığı durumlarda alt soydaki bireylerin X-STR kimliklendirmesi yapılarak ebeveynlerin profiline ulaşılabilir.
- Anne/ oğul davalarında erkek çocuğa anneden paternal olarak geçen X-STR'ler ile birlikte çalışılacak otozomal STR'ler annelik ilişkisini kuvvetlendirmektedir.
- Felaket kurbanlarının kimliklendirilmesi, göçmenlik davalarında, savaş sonrası gibi durumlarda, antropolojik çalışmalarda, yakınlarını kaybeden kişilerin kimliklendirilmesine yardımcı bir yöntem olarak kullanılmaktadır.

2.4.4 Çoklu STR Analizleri

1997 yılında ABD' de CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi - Combined DNA Index System) veri bankası kurulduktan sonra adli laboratuvarlar için standart STR lokusları oluşturulmuştur. Gelişen teknoloji ve bilim insanların adli genetik alanında yaptığı birçok çalışma sayesinde adli kimliklendirmede CODIS lokusları ile birlikte farklı STR lokuslarını da içeren ticari kitler üretilmiştir. Bu kitler sayesinde tek tüp içerisinde bir sefer uygulanacak olan PCR işlemi ile birden fazla STR lokusunun çoğaltılması sağlanarak, kimliklendirme

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

esnasında tek başına ayırma gücü %50'lerde olan STR lokuslarının, biraraya getirilerek ayırma gücü %99,9'lara ulaşması sağlanmıştır (51). Adli laboratuvarlar adli kimliklendirmede rutin olarak bu analizlerden yararlanmaktadır. Şüpheli veya mağdurdan alınan referans örneklerden elde edilen DNA profili ile olay yeri örneklerinden elde edilen profillerin karşılaştırılması sonucunda kişiler ve olay yeri bağlantısı kurulabilmektedir.

2. 5. CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi - Combined DNA Index System) ve NDIS (Ulusal DNA İndeks Sistem- National DNA Index System)

Rutin adli kimliklendirme yapılan laboratuvarlarda çalışmalar; olay yerinden elde edilen bulgular üzerindeki DNA'nın, bilinen şüpheli DNA'sı ile karşılaştırılarak, dışlama prensibine dayalı yapılan işlemleri içerir. Eğer DNA lar eşleşiyorsa, şüphelinin olay yeri ile ilintisi irdelenir. Fakat olayda herhangi bir şüpheli yoksa olay yerinden elde edilen DNA'nın kime ait olduğu sorusu hiç yanıt bulamayabilir. Ya da büyük kitlesel bir felaket sonucu tanınmaz hale gelen vücutların kime ait olduğu, yakınlarına teslim edilmesi konusunda bir karışıklık olmaması ve doğru kişilerin yakınlarına teslim edilmesi gibi toplumlar için hassas olan konularda bir veri tabanının bulunması büyük kolaylık sağlamaktadır. Bu nedenle laboratuvarların birçoğu kendilerinin incelediği olaylardan elde ettiği DNA verilerini bir veri bankasına dönüştürmenin gerekli olduğunu düşünür. ABD' de 1997 yılında farklı laboratuvarlarda çalışılmış ve aynı STR bölgeleri incelenmiş DNA sonuçlarını birleştirerek CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi - Combined DNA Index System) isimli bir DNA veri bankası oluşturulmuştur. CODIS sistemi içinde FBI (Federal Bureau of Investigation- Federal Soruşturma Bürosu) tarafından belirlenen 13 STR lokusu yer almaktadır. Bu lokuslar; D3S1358, VWA, FGA, D8S11179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, THO1 ve CSF1PO'dır (Şekil 3). Gelişen teknoloji ve hızla artan nüfus nedeniyle

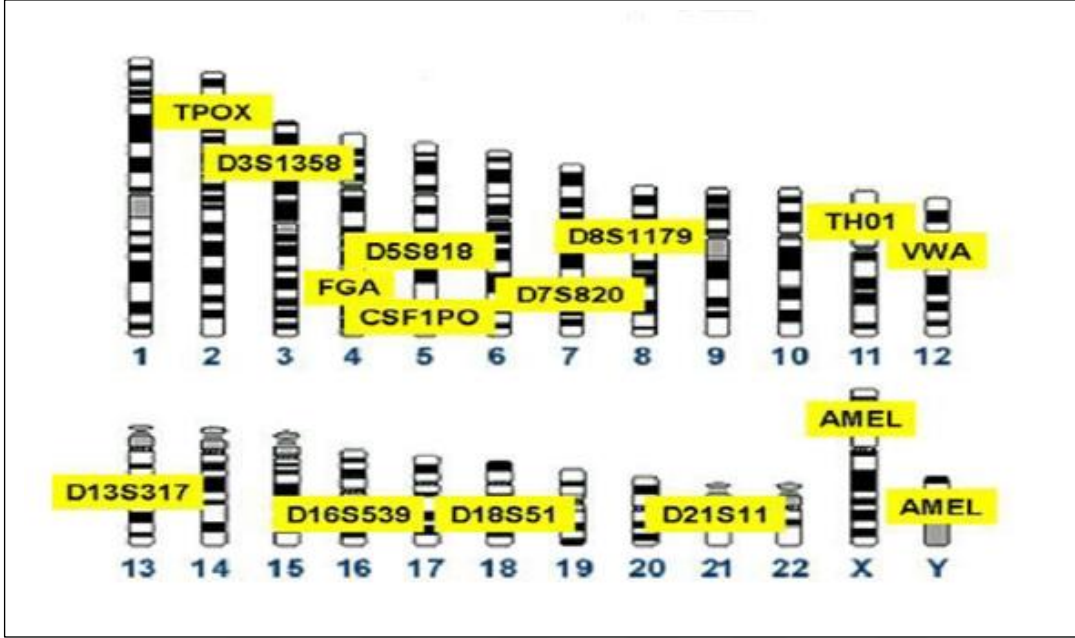
Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

kişilerin kimliklendirilmesi konusunda 13 STR lokusu ile yola çıkan FBI; 2017 yılı itibari ile kimliklendirmede kullanılacak olan STR lokuslarını 20 e çıkarmıştır (Tablo 2) (41).

ABD 1997’de CODIS in kurulmasının ardından 1998’ de NDIS (National DNA Index System- Ulusal DNA İndeks Sistem) i de hayata geçirerek mahkum edilmiş suçlular, yasal tutuklular, adli tıp (vaka), tanımlanamayan insan kalıntıları, kayıp kişiler ve kayıp kişilerin akrabaları ile ilgili tüm verileri de kayıt altına almaya başlamıştır. NDIS; CODIS’ e ait STR bölgelerinin dışında kişilere ait Y-STR ve mtDNA’ya ait kayıtları da bünyesinde bulundurarak akrabalık ilişkileri, soy bağı, biyocoğrafik soy ve kısmi kimliklendirme açısından hizmet sağlamaktadır (41).

ABD’de 50 eyaletten elde edilen DNA profilleri ulusal veri bankasında toplanmaktadır. Bu sistemde barkodlanmış örneklere ait DNA profilleri bilgisayar ortamında karşılaştırılır ve değerlendirilir. Bu veri tabanı cinayet, tecavüz veya çocuk istismarı gibi suçlardan ceza almış suçluların verileri ve olay yerinde bulunan, kime ait olduğu bilinmeyen örneklerin verilerinden oluşmaktadır (52). CODIS sistemi sayesinde elektronik olarak eyalet, yerel ve federal polis laboratuvarları arasındaki entegrasyon sonucunda, suçluların olay yerinde bıraktıkları delillerin DNA profilleri karşılaştırılarak hem failer tespit edilir, hem de seri suçlar arasında bağlantı kurulmuş olur.

CODIS sistemi ile ABD ve Kanada’ya ait suçlu örnekleri ve adli örnekler veritabanını bulundursa da, kimi zaman ABD dışındaki kitlesel felaketlerde olasılık eşleştirmesi için bu veriler kullanılmaktadır (53). Bununla birlikte birçok Avrupa ülkesinin de kendilerine ait veri tabanları bulunmaktadır.



Şekil 3. 13 temel CODIS STR lokusunun kromozomal pozisyonları

<https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis/codis-and-ndis-fact-sheet>. (Son erişim :15.07.2019)

Tablo II. Yıllara göre CODIS e ait STR lokuslarının kullanımı

(<https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis/codis-and-ndis-fact-sheet>)

<u>1997-2016</u>	<u>2017 Sonrası</u>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ CSF1PO ▪ FGA ▪ THO1 ▪ TPOX ▪ VWA ▪ D3S1358 ▪ D5S818 ▪ D7S820 ▪ D8S1179 ▪ D13S317 ▪ D16S539 ▪ D18S51 ▪ D21S11 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ CSF1PO ▪ FGA ▪ THO1 ▪ TPOX ▪ VWA ▪ D3S1358 ▪ D5S818 ▪ D7S820 ▪ D8S1179 ▪ D13S317 ▪ D16S539 ▪ D18S51 ▪ D21S11 ▪ D1S1656 ▪ D2S441 ▪ D2S1338 ▪ D10S1248 ▪ D12S391 ▪ D19S433 ▪ D22S1045

2. 6. Biyolojik Bulguların Önemi ve Toplanması

Adli soruşturmalarda delilden sonuca gidilmesi olayın aydınlatılmasında sağlam adımlar atılmasını sağlar. Bu yüzden de delillerin doğru ve güvenilir biçimde incelenmesi çok önemlidir. Çünkü deliller sadece suçlunun bulunmasında değil, suçlu yerine ceza alabilecek olan masum kişilerin aklanması için de son derece önemlidir. Kriminal olaylarda son yıllarda en çok kullanılan ve güvenilir yöntem DNA analizleridir. Olay yerinden toplanan fiziki delillerin incelenmesi neticesinde biyolojik kalıntılardan kimliklendirme yapılarak elde edilen veri olaya karışmış mağdur ve şüpheli DNA ları ile kıyaslanır ve bu sayede suç- suçlu ve mağdur ilişkisini ortaya koyar (54,55).

Bir olay yerinde en çok rastlanan biyolojik örnekler kan, kıl, tırnak, semen, seminal sıvı, vücut sıvıları, dışkı, idrar, kemik, doku parçaları ve epitel hücrelerdir. Her örneğin içerisinde bulundurduğu DNA miktarı birbirinden farklı olabilir. Biyolojik örnekler çevresel koşullar (sıcaklık, nem, mikrobiyolojik faaliyetler...vs.) çok çabuk etkilendiklerinden; bu örneklerin olay ile ilişkilendirilmesi, doğru dökümantasyon yapılması, doğru bir şekilde toplanması, uygun koşullarda saklanması ve hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılması yapılacak olan analizlerin doğruluğu bakımından hayati önem taşır (54,55).

Olay yerinden doğru ve usulüne uygun toplanmayan örnek söz konusu olduğunda; inceleme yapılan laboratuvar ne kadar yeni olursa olsun, personel ne kadar tecrübeli olursa olsun, cihazlar ne kadar teknolojik olursa olsun, olayı doğru yorumlamak ve sonucun güvenilirliğini sağlamak mümkün değildir (54,55). Doğru toplanıp, paketlenmemiş ve taşıma zincirine uyulmamış olan deliller bilimsel ve adli delil olma niteliğini kaybetmektedir. Bu gibi nedenlerle yüksek suç şüphesi taşıyan kişiler dahi yargı önünde aklanabilmektedir. Ayrıca

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

birçok ülkede savunma makamları; mahkemeye delillerin usulüne uygun toplanmadığı gerekçesiyle itiraz etmekte ve bu itirazlar mahkeme tarafından kabul görmektedir. Tüm bu sebeplerle delillerin kayıt altına alınması, toplanması, paketlenmesi, uygun koşullarda laboratuvara iletilmesi ve uygun koşullarda saklanması konusunda dikkat edilecek hususlar belirlenmelidir (27,54,55).

Biyolojik bulguların olay yerinden toplanması sırasında;

- Hiçbir şeye dokunulmadan önce kontaminasyonu engellemek için uygun koruyucu kıyafetler kullanılmalıdır (Maske, bone, eldiven, özel kıyafet vs.),
- Olay yeri bulguları toplanmadan önce bulgular numaralandırılmalı, değişik açılardan ve ölçekli bir şekilde fotoğraflanmalı ve dökümanite edilmelidir,
- Toplanacak bulgu özelliğine uygun steril toplama araçları kullanılmalı (svap, pens, makas, enjektör, steril gazlı bez vs...), ıslak olan bulgular direk güneş ışığı görmeyen bir ortamda, oda koşullarında kurutulduktan sonra paketlenmelidir,
- Biyolojik bulguların her biri ayrı kağıt/ karton paketler içerisine konularak gerekli etiketleme işlemleri yapılmalıdır. (Bulgu no, toplanan yer, toplayan kişi, saat, tarih, sıcaklık, ...vs.)
- Toplanan delil zarfları başka kişiler tarafından açılmayacak şekilde mühürlenmeli ve açıldığında dışarıdan anlaşılacak şekilde kapatılmalıdır,
- Örneğin uygunluğuna göre saklama koşulları ayarlanmalı ve en hızlı şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır (27, 54, 55).

2.7. Biyolojik Örnekten DNA Analizini Etkileyen Faktörler

Olay yerinden elde edilen biyolojik bulgulardan DNA analizi ile sonuca ulaşmak son yıllarda en önemli maddi delil haline gelmiştir. Fakat olay yerlerinin farklı özellikler göstermesi (sulu ortam, bataklık, açık hava, karlı-buzlu ortam, sıcak ve nemli ortam vs.) biyolojik numunelerden DNA analizi yapmayı etkileyebilmektedir.

Biyolojik örneklerden DNA analizini etkileyen faktörler;

- Olay yerinden elde edilecek biyolojik örnek miktarı,
- Elde edilen örneğin kontaminasyonu,
- Elde edilen örneğin degradasyonu (bozulması) olarak sınıflandırılabilir(56-58).

2.7.1. Örnek Miktarı

Analiz için en önemli faktör miktardır. Olay yerinde bazen çok az miktarda biyolojik örnek bulunur bu da yeterli miktarda DNA elde edilememesine neden olur(58).

Ayrıca bulunan örneğin gerek fiziki şartlar gerekse mikrobiyal faaliyetler sonucunda bozulmuş olması da numuneden elde edilecek DNA miktarını ve kalitesini etkilemektedir.

2.7.2.Kontaminasyon (Bulaşma)

Kontaminasyon, adli incelemelerde son derece önemli ve dikkat edilmesi gereken bir konudur. Kontaminasyon; bulunması gereken DNA profilinin elemine edilmesi ve ya bozulmasına neden olabildiği gibi, çapraz kontaminasyonla yanlış kişiyi olaya dahil edebilir

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

veya incelenecek numunelerdeki iz delillerin bozulmasına sebebiyet verebilmektedir. Kontaminasyon insan kaynaklı olabildiği gibi mikrobiyolojik kaynaklı da olabilir(58, 59)

Olay yeri fiziki koşullarının çok ekstrem özellikler göstermesi, olaya müdahale edilene kadar geçen süre ve bu süre içerisinde olay yerinde toplanan meraklı kalabalık, sağlık ekiplerinin müdahaleleri gibi birçok sebeple örnekler kontamine olabilmektedir(59, 60).

Kontaminasyon ;

- Yaşanan olay öncesinde,
- Olay sonrasında olay yeri inceleme ekipleri incelemesine kadar geçen sürede,
- Olay yeri incelemesi sırasında,
- Laboratuvarda örneklerin çalışılması esnasında oluşabilmektedir.

Yaşanan olay öncesinde ve sırasında oluşan kontaminasyonun önlenmesi konusunda herhangi bir müdahale mümkün olmamasına karşın, olay sonrasındaki basamaklar için basit ve etkili yöntemler ile kontaminasyonun en aza indirgenmesi sağlanabilmektedir;

- Olay sonrasında olaya müdahale eden ilk ekibin olay yeri güvenliğini kontrol altına alması ve olay yerine adli birimler dışında kimselerin yaklaşmasını engellemesi, olay yerinin ilk aşamadaki kontaminasyonunu önlemek için ilk adımdır.
- Olay yeri inceleme ekiplerinin tek kullanımlık koruyucu ve steril malzemeler kullanması (Koruyucu elbise, maske, bone, galoş, eldiven, pens, svap, vs.),
- Örneklerin ayrı ayrı ve kağıt/karton ambalajlar halinde paketlenmesi ve bulgu zarfları üzerine tüm bilgilerin eksiksiz doldurulması(Bulgu no, alındığı yer, saat, tarih, saat, sıcaklık, örneği toplayan kişi vs.)(58-60),

- Islak numunelerin kurutulularak paketlenmesi ve kokuşma, çürüme gibi etkenlerden korunması,
- Laboratuvara ulaştırılma aşamasında paketlerin ağızlarının kapalı olması ve açıldığında belli olacak şekilde paketlenmesi,
- Laboratuvara ulaştırıldıktan sonra; inceleme yapan teknisyen/uzmanların koruyucu kıyafet ve ekipman kullanması (özel kıyafet, maske, bone, eldiven, çeker ocak...vs.), çalışma esnasında steril ve DNA/RNA içermeyen malzeme(plastik tüp, pipet uçları, makas, pens...vs.)kullanımı ve laboratuvarın genel temizliğine özen gösterilmesi,
- Her bulgu paketinin ayrı ayrı açılması ve aralarda kullanılan alan ve malzemelerin temizlenmesi, işlem yapan kişinin iş ile ilgili doğru dökümantasyonu,
- Yapılan her çalışmada negatif kontrol kullanarak kontaminasyon yokluğunun teyit edilmesi,
- Laboratuvarda çalışma yapan personelin DNA profillerinin kayıtlarının tutulması ve her çalışmada laboratuvar personelinin kontaminasyon taraması yapılması,
- Belli aralıklarla laboratuvarda çalışılan malzeme ve alanlardan örnek alınarak kontaminasyon değerlendirmelerinin yapılması gibi önlemler alınarak kontaminasyonun önüne kesin olarak geçilebilmek mümkün olmasa da kontaminasyon ihtimalinin en aza indirgenmesi mümkün olmaktadır (56,58-60).

2.7.3. Degredasyon (Bozunma)

Adli kimliklendirme teknikleri temel olarak elde edilen PCR ürünlerinin boyutunun veya dizilerin karşılaştırılmasına dayanır. DNA moleküllerinin

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

parçalanması veya bozunması sırasında ortaya çıkabilecek yapısal değişiklikler yapılan genetik analizlerin sonucunu etkilemektedir(58,61,62). PCR, genetik analiz öncesinde DNA moleküllerinin in vitro amplifikasyonu için tercih edilen bir yöntemdir.

Degradasyon sırasında, DNA molekülü yüksek oranda parçalanabilir ya da kimyasal olarak modifiye olabilir (nokta mutasyonlar veya transisyon, transversiyon, inversiyon, delesyon). Bu nedenle bozulmamış olan kısımların verimini azaltabilir ve sonuç olarak çoğalmanın başarısız olmasına, primerlerin yanlış bağlanmasına, zincirin uzayamamasına neden olabilir.

Hücre ölümü sonrasında hücre içerisinde birçok enzimatik reaksiyon meydana gelir. Endojen nükleazlar kromatin ipliklerin bozulmasına neden olur. Hücre ölümünün sonraki aşamalarında hücre zarı yırtılır ve mikrobik canlılar için besin bakımından zengin sıvıların salınımına neden olur. Bu da mikrobiyal faaliyetin artışına ve bu organizmaların salgıladıkları enzimler sayesinde daha hızlı parçalanmaya neden olmaktadır(58, 61, 62).

Ayrıca meydana gelen hidrolitik reaksiyonlar sonucu DNA üzerindeki fosfodiester bağları parçalanır ve DNA'nın kırılmasına neden olur. β -N-glikozit bağlarının kırılması ya da deaminasyon ile bazların yanlış eşleşmesine sebep olur. Oksidatif reaksiyonlar ise çoğunlukla bazların modifikasyonlarını, sitozin ve timinin hidrasyonlara dönüşümünü, bazların ve çapraz bağların kaybolmasını içerir. Bozulma sırasında, sitozin ve timin oksidasyon yoluyla Hydantoin'lere değiştirilebilir. Bu, PCR amplifikasyonunu bloke eden bir durum ortaya çıkarır. Bazların bu modifikasyonları sonucu primerler yanlış bağlanır ve sağlıklı uzama meydana gelmez (61, 62).

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Tüm bu değişiklikler sonucunda küçük olan aleller sağlam kalırken, büyük olan alelin kaybolmasına neden olur. Dolayısıyla heterozigot olan bir birey, homozigot olarak görülür. Adli analizde kullanılan STR lokuslarının hepsinde alel boyutları birbirine çok yakındır. Bu yüzden bozunmadan dolayı heterozigot alel çiftinden birinin kaybolması pek sık rastlanır bir durum değildir. Alel kaybı, sadece DNA miktarının az olduğu durumlarda pik yüksekliğinin (RFU -relative fluorescence units değerinin) analiz eşiğinin altında ya da sınırında kaldığı durumlarda meydana gelir (27).

2.8. Biyolojik Bulguların İncelenmesi

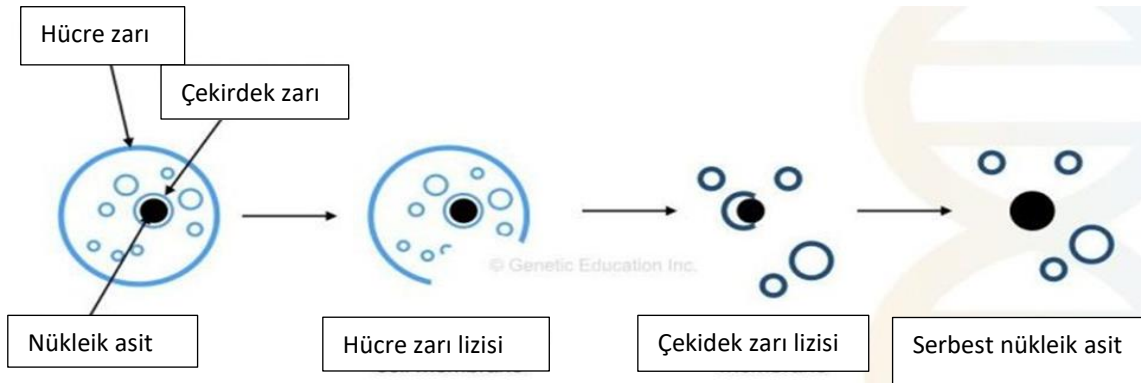
Adli laboratuvarlara incelenmek üzere gönderilen örnekler kurallarla belirtilmiş prosedürlere göre kabul edildikten sonra incelemeye alınır. Olayın oluş şekline göre gönderilen örneğin insana mı ait olduğu, eğer öyleyse hangi vücut sıvısına ya da doku türüne ait olduğunun saptanması olayı anlayabilmek açısından çok önemlidir. İncelenmek üzere gönderilen materyalin kullanım amacı, kullanım şekli vs. değerlendirilerek öncelikle makroskobik inceleme yapılır. Kan, semen lekesi veya vücut sıvısı bulmaya çalışılır. Ayrıca kepek, kıl gibi görünen materyaller de örnekleme için kullanılabilir. Gözle görülemeyen vücut sıvılarının görünürleştirilmesi ve tespiti için genellikle UV ışını, kimyasal, immünolojik ve enzimatik yöntemlerden faydalanılmaktadır. İncelemeler genel olarak tarama (presumptive) testleri ve doğrulama (confirmatory) testlerini içermektedir (58,63,64). Bu testlerin uygulanması sonrasında uygun yerlerden uygun şekilde alınan örnekler adli genetik testlerine tabi tutulmaktadır.

Adli genetik testleri neticesinde uzmanlar olay yerinden elde edilen bulgulardan izole edilen DNA molekülü üzerinden bu STR bölgelerini karşılaştırılarak kolay ve güvenilir şekilde kimliklendirme yapabilmektedir. Çoklu STR analizlerinin temel basamakları;

- İzolasyon (Çekitleme- Özütleme)
- DNA miktar ölçümü
- Amplifikasyon (PCR)
- Elektroforez
- Alellerin görünürleştirilmesi
- Sonuçların değerlendirilmesi aşamalarıdır.

2.8.1. İzolasyon (Çekitleme- Özütleme)

DNA izolasyonu, hücre zarı ve çekirdek zarı içerisinde paketli halde bulunan DNA'nın fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanılarak açığa çıkarılması ve saf halde elde edilmesi işlemlerini kapsar (Şekil 4).

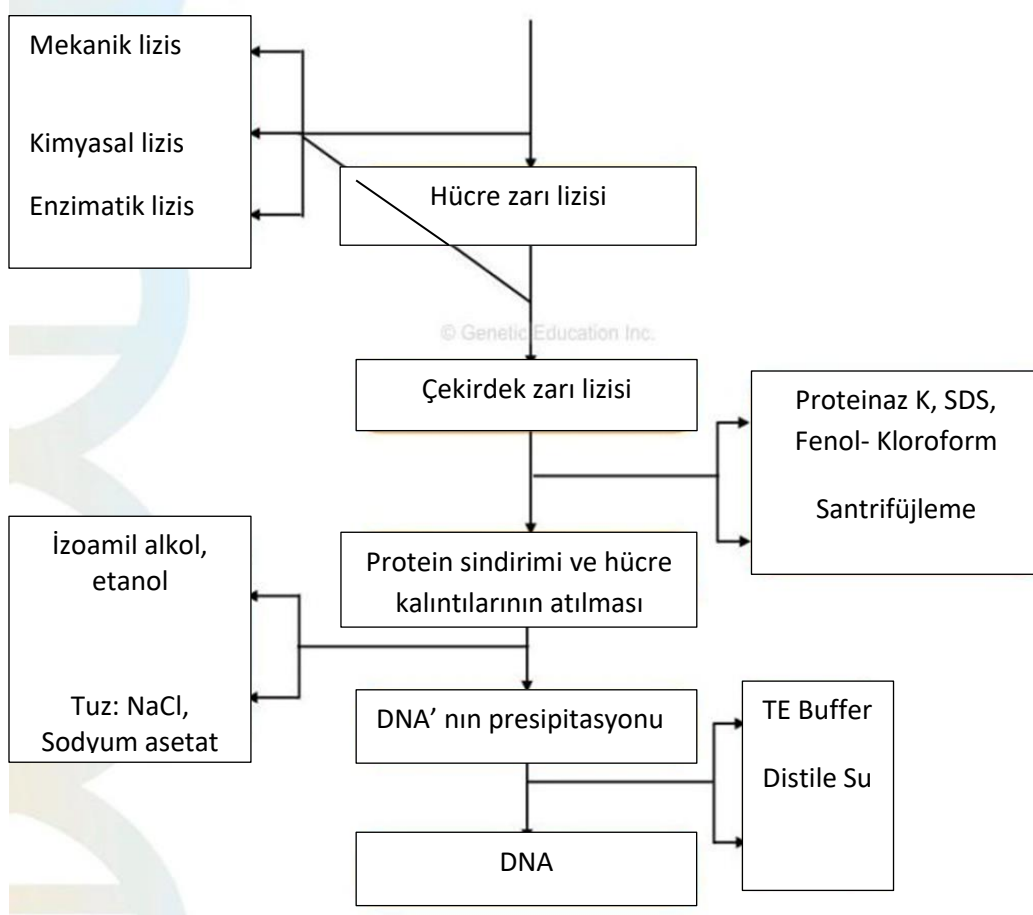


Şekil 4. DNA İzolasyonu genel prensibi (*Genetic Education, Son erişim. 06.08.2019*)

Tipik olarak hücreler, içerisindeki lipidleri çözüdüren, böylece hücre zarlarının bütünlüğünü bozan, deterjan bazlı bir tampon kullanılarak parçalanır. Bu, hücresel bileşenleri çözelti haline getirir. Proteinaz K daha sonra proteinlerin hücre lizatlarından sindirimini ve çıkarılmasını

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

kolaylaştırmak için eklenir. Daha sonrasında bazı maddeler kullanılarak bu hücre artıkları ve DNA'nın ayrışması sağlanmaktadır. RNaz A ile isteğe bağlı bir muamele, numunenin RNA bulaşmasından arındırılmasını sağlar. DNA daha sonra etanol çökeltmesi ile geri kazanılır (Şekil 5) (66).



Şekil 5. DNA İzolasyonu temel akış şeması (Genetic Education, Son erişim. 06.08.2019)

2.8.2. DNA Miktar Ölçümü

DNA izolasyonundan sonra elde edilen DNA kantitatif olarak ölçüme tabi tutulmaktadır. Adli bilimlerde belli bir miktarın altındaki DNA dan kimliklendirme olasılığının çok düşük olduğu

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

düşünüldüğünde, elde edilen DNA'nın saflık derecesi ve miktarını önceden belirlemek hem yüksek maliyetleri düşürmek, hem de elde edilen numunenin güvenilirliğinin sağlanması açısından son derece önemlidir.

DNA miktar ölçümü için spektrofotometreler kullanılır. Bu cihazlar, temelde sıvı örneğe belli bir dalga boyunda ışık gönderdikten sonra bu ışığın ne kadarının absorbe edilmeden geçip gittiğini ölçer. Sıvının içindeki madde ne kadar yoğun miktarda ise soğurulan ışığın miktarı o kadar fazla olur. Gönderilen ve geçen ışık miktarının oranından, absorbans adı verilen optik yoğunluk değeri (OD) ölçülür(67).

Her madde, kimyasal yapısına göre farklı dalga boylarındaki ışığı soğurur. DNA ve proteinler için konuşulduğunda, bu soğurma kimyasal yapılarındaki halkalar tarafından gerçekleşir. Işık kaynağından gelen foton, halkasal yapılardaki pi orbitallerini uyarır ve foton soğurularak enerjiye çevrilir. Bu sebeple spektrofotometrik DNA ölçümleri, pi konjüge sistemlerine sahip halkasal moleküllerde gerçekleşir. Nükleotitlerde bu soğurma azotlu baz üzerindeki halkasal yapılar tarafından gerçekleşir ve ağırlıklı olarak 260 nm dalgaboyundaki ışığı soğurur. DNA ve RNA'yı oluşturan nükleotitler özellikle 260 nm'de absorbans gösterdiği için, DNA ölçümlerinde de bu dalgaboyu kullanılarak DNA miktarı analiz edilir (58,67).

Spektrofotometrelerde görülen 260/280 oranı genellikle örnek içindeki protein kontaminasyonunu belirlemek için kullanılır. Saf DNA örneklerinde bu oran yaklaşık 1.8; saf RNA örneklerinde ise bu oran yaklaşık 2.1'dir. Halkasal yapıya sahip (aromatik) proteinler 280 nm'de yüksek absorbans gösterirler. Bu sebeple örnekteki protein kontaminasyonu arttıkça 260/280 oranı azalır. RNA örneklerinin daha yüksek 260/280 değerine sahip

olmasının sebebi, RNA'da bulunan urasil'in DNA'daki timine kıyasla 3 kat daha fazla absorbanans göstermesidir (58,67).

2.8.3 Amplifikasyon (PCR - Polimerase Chain Reaction - Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Tipik bir amplifikasyon reaksiyonu, hedef DNA numunesini, bir termostabil DNA polimeraz (Taq Polimeraz), iki oligonükleotit primerini(Forward ve Reverse), deoksinükleotit trifosfatları (dNTP'ler), reaksiyon tamponunu, magnezyum ve isteğe bağlı katkı maddelerini içerir. Reaksiyonun bileşenleri karıştırılır ve reaksiyon, farklı miktarlarda bir dizi farklı sıcaklıktan geçerek reaksiyonu gerçekleştiren otomatik bir araç olan termal bir döngüleyiciye yerleştirilir. Bu sıcaklık ve zaman ayarlamaları dizisine bir amplifikasyon döngüsü denir(63, 68,69). Her bir PCR döngüsü teorik olarak reaksiyondaki hedeflenen şablon dizisinin (amplikon) miktarını teorik olarak ikiye katlar. Yöntemi tam olarak otomasyona sokan ve ismini veren kişi Cetus Şirketinden Kary Mullis ve arkadaşlarıdır. Bu teknik araştırmacılara 1993 kimya Nobel ödülünü kazandırmıştır (68).

Her PCR amplifikasyon döngüsü 3 adımdan oluşur;

- **Denatürasyon:** Çift iplikli DNA'nın 95° C'de iki ipliğinin birbirinden ayrılmasıdır.
- **Bağlanma(Annealing) :** ~ 60 ° C'de primerlerin kalıp DNA'ya bağlanması olayıdır.
- **Uzama(Extention) :** 72 ° C'de Taq Polimerazın bağlanmasını ve şablon DNA'ya karşılık gelen, ortamda serbest halde bulunan dNTP lerin bağlanması basamaklarını içerir (69).

Tüm bu basamaklar sonrasında bir döngüde bir adet DNA molekülünden 2 adet DNA, 2. döngü sonunda ise 4 DNA elde edilmektedir.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Elde edilen DNA miktarı $=2^n$ (n= döngü sayısı) olarak hesaplanmaktadır.

Adli Bilimler laboratuvarlarında yapılan rutin uygulamalarda döngülerin sayısı 28-30 olarak tercih edilmektedir.

2.8.4. Elektroforez

Elektroforez; Sulu bir çözelti (tampon) içinde süspansiyon ya da çözünmüş küçük elektrik yüklü moleküllerin elektriksel bir alanda, jel matrisi içerisinde katot (- kutup), anoda (+ kutup) doğru ilerlemesi olayıdır. Bu elektriksel ilerleme sırasında moleküllerin büyüklüklerine göre; küçük moleküller hızlı ilerlerken, büyük moleküller arkada kalarak yavaş ilerlemektedir. Ayrıca bu hareket moleküllerin boyutu ile birlikte yüküne, kimyasal içeriğine, matrisin yoğunluğuna ve uygulanan elektrikliğin şiddetine göre değişebilmektedir(64).

Adli bilimlerde kullanılan elektroforez çeşitleri;

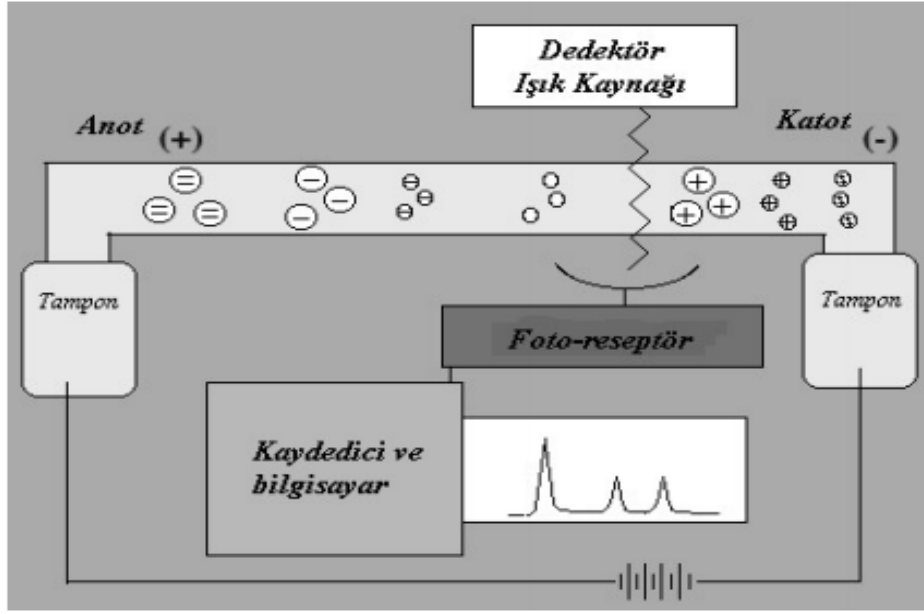
- Agaroz Jel Elektroforezi
- Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)
- Kapiller Elektroforezidir.

Rutin ve otomatize çalışan birçok laboratuvar kapiller elektroforezi kullanmaktadır.

2.8.4.1 Kapiller Elektroforez (CE)

Kapiller elektroforez yöntemi; floresan boyalar ile işaretlenmiş olan DNA fragmentlerinin jel (POP4) (performance optimized polymer) ile dolu kapiller içerisinde yürüyerek detektör

hücresinden geçerken bir foto-reseptör tarafından tespit edilmesine dayanır. Lazer ışını floresan boyaları uyarır ve bu boyalar belirli dalga boylarında yansıma yaparlar. Yansıyan ışığın dalga boyu ve şiddeti ise özel bir kamera sistemi tarafından tespit edilerek alınan sonuçlar elektronik bilgiye (elektroforegram) dönüştürülür (58,64,70) (Şekil 6).



Şekil 6. Kapiller Elektforez Şeması (*acikders.ankara.edu.tr. Son Erişim: 17.08.2019*).

2.9. Bir Şiddet Suçu Olarak Cinsel Saldırı ve İstismar

Cinsel şiddet küresel bir sorundur. Tarihler boyunca her türlü coğrafik bölgede, dinsel, sosyoekonomik, demografik yapıdaki toplumlarda hep var olmuştur. Toplumların cinsel saldırıya bakış açısı genelde cinsellik temellidir. Fakat bu saldırılar kişiyi dokunulmazlığından alıkoyan ve ciddi travmalar bırakan şiddet eylemleridir. Dünyada yaşayan her kadının yaşamı boyunca cinsel saldırıya uğrama olasılığı %20, erkeklerin ise %4 olarak bildirilmiş, ayrıca kadınların yaklaşık %33 ünün de ilk birlikteliklerinin zorlama ile olduğu bilinmektedir.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

(71,72).Yapılan çalışmalar; şiddete maruz kalan kişilerin büyük bir kısmının zihinsel engelli veya kendini savunamayacak kişiler ve yaşı küçük çocuklar olduğunu göstermektedir. Ayrıca şüpheli veya failin çok büyük oranda mağdurun yakını (eş, eski eş, nişanlı, sevgili, baba, abi, üvey baba, akraba, iş arkadaşı, ortak)olduğu görülmüştür. Bu da şiddetin birden çok kez sürebildiği, tehdit ve korkutma ile mağdurun beden sağlığı ve psikolojisinde derin yaralar bırakabildiği sonucunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle de mağdur çok uzun bir süre boyunca adli makamlara başvuramayabilmektedir (73).

Türkiye’ de cinsel saldırı suçlarının tüm suçlara oranı %3 olarak belirtilse de adli makamlara bildirilme miktarı %10’u geçmemektedir (72). Cinsel saldırı; mağdurları sosyolojik, psikolojik, sağlık açısından derinden etkileyen ciddi bir olaydır. Mağdurlar, saldırı sırasında ve sonrasında birçok travmatik süreç yaşarlar ve bu süreçler çok uzun olabilir. Mağdurlar, travma sonrasında anksiyete bozuklukları, depresyon, alkol ve madde kullanımında artış, uyum bozuklukları, asosyal yaşam, panik ataklar, duygu durum bozuklukları, travma sonrası stres bozuklukları gibi birçok ruhsal rahatsızlıklar yaşarlar (71). Ancak mağdurların yaşadığı bu psikolojik sıkıntıların yanında bir de aile baskısı ve korkusu, sosyal çevre ve olay dışı kişilerin yaratmış oldukları psikososyal sıkıntılar bulunmaktadır. Maalesef ki ülkemizde de dahil olmak üzere tüm dünyada mağdurun yaşadığı olayı meşrulaştırma gibi bir yaklaşım söz konusudur. Mağdurun kısa etek giymesi, geç saatte ıssız bir yerden geçmesi, sosyal yakınlıkları gibi nedenlerle şiddeti hakettiği gibi bir yaklaşım söz konusudur. Ayrıca yürütülen soruşturma süresince adli makamların mağdurun hassasiyetine önem vermemeleri ve olayı tekrar tekrar yaşatmaları, travma sonrası destekte yetersiz kalması gibi nedenlerle bir çok olay adli makamlara başvurmadan kapanmaktadır(71,72).

Bu da toplumun mağdura karşı bakış açısı, empati özelliğinin yoksunluğu, eğitim düzeyi, basmakalıp düşünce sistemi ve sosyal çevre baskısı gibi sebeplerden kaynaklanmaktadır.

Bazı durumlarda mağdurlar ilk etapta saydığımız nedenlerden dolayı adli makamlara müracaat etmez iken, daha sonra şikâyetle bulunma kararı alabilmektedir. Hatta birçok cinsel saldırı/istismar olayı mağdurun tehdit, baskı veya yaşamsal mecburiyetlerinden dolayı adli makamlara bilgi verilmeden uzun süreler boyunca devam ederek kişide dönüşü olmayan yaralar açmaya devam etmektedir.

2.9.1. Cinsel Saldırı/ İstismar Vakalarında Bulguların Toplanması Ve İncelenmesi

Adli olaylarda olay yeri incelemesi ve örnek toplama hayati önem taşır. Örneğin belirlenmesi ve orijininin bulunması olayı yorumlamada mağdur-fail ve olay yeri ilişkisinin kurulmasında ve olayın rekonstrüksiyonu için önemlidir.

Cinsel saldırılar mağdurun direnme gücüne göre değerlendirildiğinde büyük ölçüde şiddet içerir. Mağdurlar daha çok kendini savunamayacak durumda (engelli, yaşı küçük) olan kişilerden seçilir. Bazen de yetişkin ve sağlam bireylerin zarar gördükleri görülür. Yapılan birçok araştırmada şüphelinin cinsel birliktelik sırasında prezervatif kullanmadığı ortaya konmuştur. Kişi birliktelik sonrasında seminal sıvısını mağdurun üzerine, genital veya anal bölgesine, ağzına, üzerindeki kıyafetlerine, yatak çarşafı, nevresim veya yastık üzerine transfer ettiği bilinmektedir (74-76). Bu nedenle cinsel saldırı vakalarında eğer saldırıdan kısa süre içerisinde herhangi bir sağlık kuruluşu veya adli birime başvuru yapıldı ise mağdurun vücudundan örnek toplanması hayati önem taşır. Transfer edilen spermelerin mağdurun vücudunda ortalama 10-12 saat sonra hareketsiz hale geldikleri belirtilmiştir. Cinsel saldırı

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

sonrasında mağdurun bedeni üzerine transfer edilmiş sperm hücrelerinin varlığı ve canlılığı olayın oluş zamanı ve şüphelinin tespiti açısından adli birimlere ciddi bilgiler verir. Bu yüzden birçok ülkede mağdurdan ilk 24 saat içerisinde örnek alınması sağlanmaktadır. Fakat başvuru için geç kalınan durumlarda olaydan sonra 72 saate kadar örnek alınmaktadır (77). Sonucun doğruluğu ve güvenilirliği için örnek alma işlemi çok fazla ertelenmemelidir.

Mağdurun vücudundan örnek toplanması ülkemizde belirlenmiş yasal prosedürler gereği bir sağlık personeli tarafından ve mağdurun sağlığını tehlikeye atmayacak şekilde yapılmaktadır. Örnekler tıbbi personelin değerlendirmesine göre özel ucu pamuklu svaplar aracılığı ile vajinal, anal, oral bölgelerden veya şüpheliye ait tükürük gibi biyolojik örneklerin toplanabilmesi için vücudun belli bölgelerine sürülerek toplanır. Ayrıca vücut veya kıyafetler üzerinde faile ait kıl veya kepek olabileceği değerlendirilerek örnek toplaması yapılmalıdır. Olay sırasında mağdur üzerinde bulunan kıyafetler DNA incelemesi için teslim alınarak, mağdura yeni temiz kıyafet temin edilmelidir. Boğuşma nedeniyle mağdurun tırnak altında şüpheliye ait doku parçaları bulmak mümkündür, tırnak altı materyali mutlaka toplanmalıdır (77).

Mağdurun çocuk olması durumunda daha çok yatak çarşafları ya da mağdurun kıyafetleri olayı aydınlatmada son derece önemlidir (78). Bu gibi durumlarda delillerin önemli bir kısmı olayın gerçekleştirildiği yerde mevcuttur. Bu yüzden olay yeri incelemesinin çok büyük titizlikle yapılması gerekir. Olayın gerçekleştiği mahalde bulunan eşyalar en ince ayrıntısına kadar incelenmeli ve DNA incelemeleri için laboratuvara gönderilmek üzere uygun şekilde paketlenmelidir.

Cinsel saldırı olaylarında en önemli bulgu semen lekesidir. Laboratuvara incelenmek üzere gönderilen numuneler üzerinde semen lekesi incelemesi yapılmalıdır. Bu incelemeler kıyafetler veya gönderilen yatak çarşafları gibi numuneler üzerinde yapılır. Semen süt beyazı

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

görünümünde yoğun bir sıvıdır. Kurumuş halde ise hafif sarımtırak ve kumaş üzerinde sertleşmiş bir hal alır. Bu özelliğiyle birçok kumaşta çıplak gözle dahi görülen semen lekesi, miktarına da bağlı olarak bazı kumaşlarda net olarak görülemeyebilir. Bu yüzden görünürleştirebilmek için farklı dalga boylarında ışık veren Wood Lamp(WL), UV ışık veya Alternative Light Souch (ALS-Alternatif Çok Dalga Boylu ışık Kaynağı) gibi kaynaklar kullanılır. Semen lekesi özel yapısı sayesinde polilight ALS ışık kaynağı ile incelendiğinde güçlü fotoluminesans etki gösterir. Absorbe ettiği 300-500 nm dalga boyundaki mavi- yeşil ışığı, 400-700 nm dalga boyunda geri yansıtır. Uygun dalga boyu ve uygun filtreli (turuncu, sarı) özel gözlükler kullanıldığında parlak mavi-beyaz bir floresans gösterir ve net şekilde görülür (63,79,80). Bu lüminesans etkiyi yaratan etken semen içerisindeki protein olmayan maddeler ve *Pseudomonas fluorescense* bakterileridir (81). Floresans gösteren bölgelerden alınan küçük örnekler ile serolojik doğrulama testlerinden herhangi biri kullanılarak teyit edilmelidir (Asit fosfataz, p30, RSID-Semen, ABACard) (53,80). Doğrulama testlerinden pozitif sonuç elde edilen bölgelerden örnek alınarak genetik analize hazırlanmaktadır.

2.9.2 Cinsel Saldırı/ İstismar Vakalarında Bulguların Kontaminasyonu ve Degredasyonu

Cinsel saldırı ve istismarlar ile ilgili yapılan birçok çalışmada şüphelinin kondom kullanmadığı ve mağdurun bedeni veya eşyalarına, yatak çarşaflarına ya da olay yerinde herhangi bir yere semen transferi yaptığı ortaya konmuştur (74-77). Bu durum birçok kontaminasyon riskini beraberinde getirmekte ve olay yeri incelemenin yapılması sırasında tüm güvenlik prosedürlerin yerine getirilmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Saldırı sonrasında mağdurdan direk örnek alınması gerektiği durumlarda da incelenecek örnekler farklı şekillerde kontamine olabilmektedir(59,60);

- Saldırıdan önce ve saldırı sırasında,
- Olay gerçekleştikten sonra adli muayene yapılana kadar,
- Adli muayene sırasında
- Adli Bilimler Laboratuvarında çalışma esnasında

Saldırıdan önce ve saldırı sırasında incelenecek olan numunelerin kontaminasyonu için herhangi bir önlem alınamayacak olsa da sonrasındaki basamaklar için basit ve etkili önlemler alınabilmektedir.

Bu nedenle;

- Adli muayene yapılırken tek kullanımlık giysiler ve koruyucu ekipman kullanılmalı, kullanılan alanlar ve eşyalar kullanım öncesi ve sonrası mutlaka dezenfekte edilmelidir.
- Adli muayene sırasında tek kullanımlık cinsel saldırı kitleri kullanılmalıdır.
- Laboratuvarında çalışma sırasında koruyucu ekipman ve temizlik protokollerine özen gösterilmelidir(59,60).

2.9.3. Yıkanmış Örneklerde DNA elde edilmesi

Yapılan bazı araştırmalarda olay sonrası sağlıklı düşünemeyen birçok mağdur hem kendi bedenini hem de üzerinde delil niteliği taşıyacak kıyafet veya diğer materyalleri temizleme eğiliminde olabilmektedir (74,75). Bu nedenle hem kendi vücudunu hem de kıyafetlerini yıkayarak delillerin kaybedilmesine neden olabilir. Aynı durum şüpheli için de delilleri yok etmek amacı ile kullanılabilen ve kıyafetler yıkandıktan sonra uzun süreler saklanabilmektedir. Mağdurlar bu gibi durumlarda sonradan adli makamlara başvurmak istediğinde, yapılacak olan analizlerden DNA elde edilemeyeceğini düşündüğünden bu

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Çamaşırları inceleme için teslim etmek istemezler (74,75). Fakat yapılan birçok çalışmada semen lekesinin özel yapısı sayesinde kumaş liflerine takılı kaldığı ve tekrar tekrar yıkanan çamaşırlar üzerinde ve kuru temizleme yapılmış çamaşırlar üzerinden dahi DNA profili elde edilebileceği görülmüştür. Fakat elde edilen DNA miktarı çamaşırların yıkandığı deterjan türüne, lekeli kumaşın türüne, yıkama sıcaklığı ve yıkanan makinenin yıkama programı özelliklerine, kurutma şartlarına ve saklama süresi gibi koşullara bağlı olarak değişebilmektedir (75,76,82).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; 18 yaş üstü çalışmaya gönüllü ve aydınlatılmış onam formu imzalatılmış (Ek-2) 10 sağlıklı erkek bireyden semen örneği toplandı. Toplanan örneklerden daha önce steril edilmiş ve hazırlanmış olan pamuklu ve naylon karışımı kumaşlara lekeleme yapıldıktan sonra, bu lekeler kurutuldu. UV ışığı ile inceleme yapılarak kumaşlardaki semen lekesine özgü parlamalar fotoğraflandı. Kumaşlar otomatik çamaşır makinesinde 40°C, 60°C ve 90°C sıcaklıkta çamaşır deterjanı ilavesi ile yıkandı ve kurutuldu. Kurutulan kumaşlardaki semen lekeleri UV ışığı altında incelendi ve semen lekesine özgü parlamalar fotoğraflandı.

Kumaşlardan kesilen numunelerden iki farklı izolasyon yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı, izolatlardan DNA miktarı ölçülerek PCR işlemi ve kapiller elektroforez yöntemi ile kişilere ait DNA Profili elde edildi.

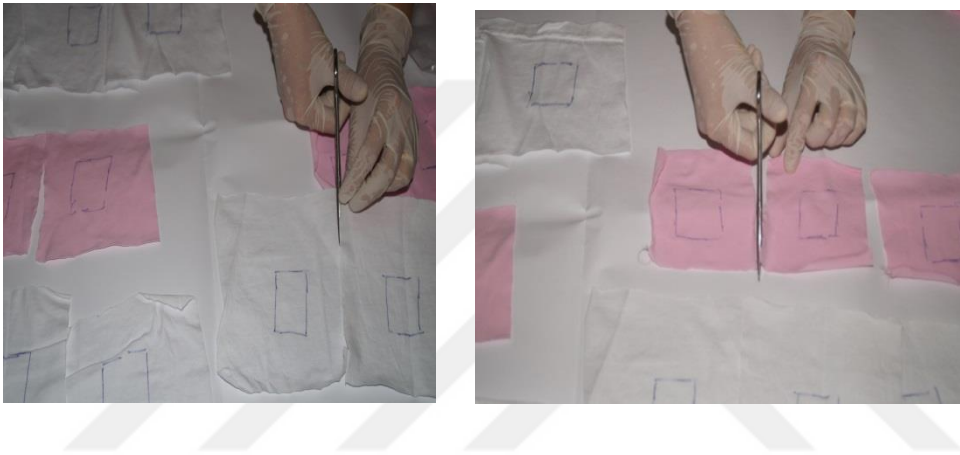
Tüm bu işlemler; Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığının 30.06.2019 tarih ve 61351342-/2019-340 sayılı etik kurul kararına uygun olarak yapılmıştır. Bu tez Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü bünyesinde bulunan Adli Bilimler laboratuvarındaki cihaz, araç ve gereçler kullanılarak yapılan deneysel bir çalışmadır.

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada; kumaşlar üzerindeki daha önceden oluşmuş DNA kontaminasyonunu engellemek için, hiç kullanılmamış ve paketinde temiz olarak satın alınan pamuklu ve naylon karışımı

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

atletler kullanıldı. Yine daha önceden kontaminasyon riskini engellemek üzere bu kumaşlar BOSCH marka Maxx 7 Vario Perfect otomatik çamaşır makinesinde 90°C’ de bir kez deterjan ilavesi ile ikinci kez ise olası deterjan artığı kalmaması için deterjan konulmadan yıkandı. Oda ısısında kurutulan kumaşlar, 1 saat boyunca UV ışık altında bırakıldı. Otoklavlanmış steril makas ile 10 cm X 10cm büyüklüğünde kesilen kumaş parçaları çalışma için hazır hale getirildi (Şekil 7).

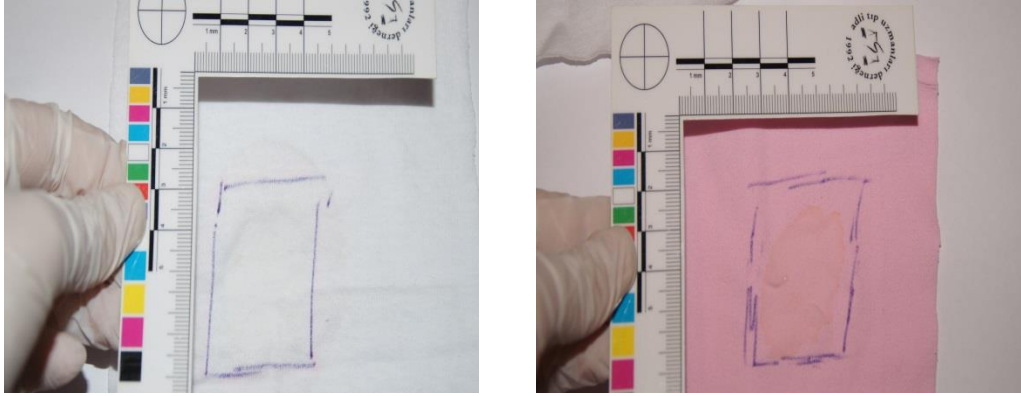


Şekil 7. Pamuklu ve naylon karışımı kumaşların çalışma için hazırlanması

3.2. Örnek Toplama ve Semen Lekelerinin Oluşturulması

Semen örnekleri; aydınlatılmış onam formu imzalatılmış, (Ek-2: Aydınlatılmış Onam Formu), rızaları alınmış ve çalışmaya gönüllü 10 sağlıklı erkek bireyden temin edilmiştir. 10 kişiye steril örnek toplama kabı verilerek kap içerisine semen örneği verilmesi istendi.

Gönüllülerden alınan sperm örneğinden, steril pastör pipeti ile 0,5’ er ml örnek alınarak 3 adet pamuklu ve 3 adet naylon karışımı kumaş parçası üzerine lekeleme yapıldı ve oda ısısında, temiz bir alanda kurutuldu (Şekil 8).



Şekil 8. Pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerinde kurumuş semen lekelerinin görüntüsü

3.2.1. Lekeli Kumaşların Yıkanması

Kurutulmuş kumaş parçaları BOSCH marka Maxx 7 Vario Perfect otomatik çamaşır makinesinde yıkanmış olup, yıkama işlemi için Türkiye’de ekonomik ve erişilebilirlik açısından en kolay temin edilen çamaşır deterjan markalarından birisi seçildi (Bingo Matik). Kurumuş kumaş parçaları ayrı ayrı şekilde (pamuklu/naylon) 40°C, 60°C ve 90°C sıcaklıklarda makinenin belirtilen program özellikleri seçilerek ve deterjan markasının tavsiyesi olan 4-5 kg çamaşır için, normal su sertliğinde kullanılması gereken ölçüde deterjan kullanılarak yıkama yapıldı (Tablo 3). Her kişiye ait yıkama bittikten sonra diğer kişinin örneklerine geçilmeden önce örnekler arası kontaminasyonu engellemek için makine 90°C ‘de boş ve deterjan ilavesi ile birlikte çalıştırıldı.

Tablo III. Otomatik çamaşır makinesi yıkama programları özellikleri

Yıkama Sıcaklığı (°C)	Kullanılan Program	Sıkma Programı(rpm)	Yıkama Süresi
40	Sentetik	800	1 sa 37 dk
60	Sentetik	800	1 sa 45 dk
90	Beyaz Çamaşırlar	800	2 sa 48 dk

3.2.2. Kurumuş Semen Lekelerinin Yıkama Öncesi ve Sonrası UV Işık Altında Görünürleştirilmesi ve Fotoğraflanması

Semen lekeleri, yıkama öncesi ve sonrasında OBELUX marka UV ışığı ile 350-450 nm dalga boylarında ve turuncu filtreli gözlük takılarak incelendi, semen lekesinin oluşturduğu floresan ışımalar SONY marka Alpha 35 model fotoğraf makinesi ile fotoğraflandı (Şekil 11, 12, 13 ve 14).

3.3. Kullanılan Kit ve Kimyasallar

3.3.1. İzolasyonda Kullanılan Kitler ve Kimyasallar

- QIAamp® DNA Investigator Kit (QIAGEN)
- Phenol:Chloroform:Isoamyl Alcohol (25:24:1)
- % 10' luk SDS (Sodyum dodesil sülfat)
- 10 mg/ml' lik Proteinaz K (pK)
- 1 M NaCl (Sodyum Klorür)
- TE (Tris-EDTA)
- DTT (Dithiothreitol)
- % 96 lık Etanol

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

- % 70 lik Etanol
- RNA içermeyen su (RNase- free water)

3.3.2. PCR' da Kullanılan Kitler ve Kimyasallar

- GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems)

3.3.3. Elektroforezde Kullanılan Kit ve Kimyasallar

- Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems),
- GeneScan™ 600 LIZ™ Size Standard v2.0 (Applied Biosystems),
- DS-36 Matrix Standard Kit (6-Dye) (J6 Dye Set) (Applied Biosystems),
- GlobalFiler™ Allelic Ladder (Applied Biosystems),
- Control DNA 9947A

3.4 Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (Arçelik)
- Otoklav (Nüve)
- Mikropipet Seti (Isolab)
- Vorteks (Velp)
- Santrifüj (Nüve)
- Etüv (Nüve)
- OBELUX UV cihazı (PELI™ 1450 CASE)
- Fotoğraf Makinesi- Alpha 35 (SONY)

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

- PURELAB Option-Q Distile Su Cihazı (ELGA)
- Grant-bio UV Kabin
- Blok Heater İnkubatör(Four E'S SCIENTIFIC)
- Nano Spektrofotometre (Allsheng- Nano 400 A Micro-Spectrophotometer)
- Isı döngü Cihazı (PCR) Veriti™ 96-Well Thermal Cyler (Applied Biosystems)
- ABI PRISM®3500 Genetik Analizör (Applied Biosystems)

3.5 Yöntemin Uygulanması

Yukarıda belirtilmiş olan kit, kimyasal ve cihazlar kullanılarak uygulanan yöntemin aşamaları;

- Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA izolasyonu,
- İzole edilen DNA miktarının ölçülmesi,
- PCR aşaması,
- PCR ürünlerinin elektroforezi,
- Elektroforez
- Elektroforez sonrası sonuçların değerlendirilmesi

3.5.1 Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu

Yıkanmış ve UV ışık altında görünürleştirilmesi yapılan lekelerden hem Fenol Kloroform Yöntemi (64) ile hem QIAamp® DNA Investigator Kit -QIAGEN (83) ile izolasyon yapılmıştır. İzolasyon aşamaları aşağıdaki gibidir:

3.5.1.1 Fenol-Kloroform(Organik) Yöntemi ile Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu

1. İzolasyon aşamasının ilk basamağı olan lizis işlemi için yıkanmış lekeli kumaşların her birinden 3x 0,5 cm² lik parçalar kesilerek üzeri uygun şekilde yazılmış olan 1,5 ml' lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
2. Çalışılacak numunelerin üzerine;
 - 40 µl SDS (%10' luk),
 - 10 µl Pk (10 mg/ml' lik),
 - 45 µl NaCl (1M),
 - 400 µl TE,
 - 10 µl DTT (0.39 M) ilave edildi.
3. Örnekler 5 saniye vortextlendi ve 56°C de 1 saat inkübe edildi. (10 dakika aralıklarla tüpler alt üst edildi)
4. İnkübasyon sonunda tüp kapaklarındaki buhar baloncuklarını aşağıya indirebilmek için kısa santrifüj yapıldı.
5. Örneklerin üzerine 500 µl Phenol:Chloroform:Isoamyl Alcohol (25:24:1) çözeltisi eklendi.
6. Karışım ayran kıvamına gelene kadar vortextlendi.
7. Ayran kıvamına gelen örnekler 2500 rpm' de 3 dakika santrifüj edildi.
8. Tüpler santrifüjden dikkatlice alındı ve tüp içerisinde oluşan üst faz önceden hazırlanmış ve üstleri uygun şekilde yazılmış olan boş tüplere aktarıldı.
9. Boş tüplere aktarılan üst fazın üzerine 1000 µl -20 °C'de beklemiş soğuk %96-100 saflıkta etil alkol eklendi.
10. Tüpler 5 saniye vortex yapılarak, 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

11. Santrifüj sonrası tüplere 500 µl oda ısısında beklemiş %70' lik etil alkol eklendi.
12. Tüpler 5 saniye vortex yapılarak, 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi.
13. Tüp içerisindeki karışımdan 50 µl sıvı kalacak kadar miktar pipetlendi ve bu kısım atıldı.
14. Tüpler ağzı açık bir şekilde daha önceden 60°C' ye ısıtılmış etüv içerisine konularak kuruması için 1 saat 30 dakika beklendi.
15. Kuruyan numunelerin üzerine 50 µl ultra steril distile su ekledi.
16. Örnekler 5 saniye vortekslendi ve 30 dakika 56°C'ye ısıtılmış etüv içinde bekletildi.
17. Etüvden alınan örnekler DNA miktar ölçümü için hazırlandı.

3.5.1.2 QIAamp® DNA Investigator Kit (Spin Kolon Yöntemi) Kullanılarak Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA İzolasyonu

1. İzolasyon aşamasının ilk basamağı olan lizis işlemi için yıkanmış lekeli kumaşların her birinden 3x 0,5 cm² lik parçalar kesilerek üzeri uygun şekilde yazılmış olan 1,5 ml' lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
2. Üzerine;
 - 20 µl Proteinaz K,
 - 500 µl ATL Tamponu eklendi.
3. Örnekler 5 saniye vortekslendi ve 56°C de 1 saat inkübe edildi. (10 dakika aralıklarla tüpler alt üst edildi)
4. İnkübasyon sonunda tüp kapaklarındaki buhar baloncuklarını aşağıya indirebilmek için kısa santrifüj yapıldı.
5. Tüp içerisindeki sıvı kısım önceden hazırlanmış ve üstleri uygun şekilde yazılmış olan boş tüplere aktarıldı.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

6. Tüpler 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi ve tüp içinde 30 µl lizat kalana kadar üst kısım pipetle alınarak atıldı.

Not: Örnekler karışım örnek olmadığı için üst kısım atılmıştır. Karışım örneklerde epitel hücreler üst kısımdaki sıvı içerisinde olacağından bu kısımlar yeni boş tüplere aktarılmalıdır.

7. Pellet üzerine 500 µl ATL Tamponu eklendi. Tüpler 5 saniye vortexlendi ve 14.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi.

8. 6 ve 7. Maddeler 2 kez daha tekrarlandı.

9. Pellet üzerine;

- 280 µl ATL Tamponu,
- 10 µl Pk,
- 10 µl DTT ilave edildi.

10. Örnekler 10 saniye vortexlendi ve 56°C de 1 saat inkübe edildi. (10 dakika aralıklarla tüpler alt üst edildi)

11. İnkübasyon sonunda tüp kapaklarındaki buhar baloncuklarını aşağıya indirebilmek için kısa santrifüj yapıldı.

12. Tüplerin içerisine 300 µl AL Tampon eklendi ve 5 saniye vortexlendi. Kullanım klavuzuna göre hazırlanmış Carrier RNA çözeltisinden 1 µl eklendi ve tüpler 10 kez alt üst edildi.

13. Örnekler 70°C de 10 dakika inkübe edildi.

14. 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı.

15. Tüplerin içine 150 µl %96-100 saflıkta etil alkol eklendi.

16. Örnekler 5 saniye vortexlendi ve kısa süreli santrifüj yapıldı.

17. Elde edilen karışım QIAamp® mini spin kolona aktarıldı.

18. 8000 rpm'de 1dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı, temiz toplama tüpü takıldı.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

19. 500µl AW1 tamponu eklendi. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atılıp temizlikle değiştirildi.
20. 700µl AW2 tamponu eklendi. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Topla tüpü atılıp temizlikle değiştirildi.
21. 700µl %96-100 saflıkta etil alkol eklendi. 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atılıp temizlikle değiştirildi.
22. 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpü atılıp kolon tüpler önceden hazırlanmış ve üstleri uygun şekilde yazılmış olan boş tüplerin içine yerleştirildi.
23. Tüplerin ağzı açık şekilde oda ısısında 10 dakika bekletildi.
24. İçerisine 50 µl ATE tamponu koyuldu. Oda ısısında 1 dakika bekletildikten sonra 14.000 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
25. Kolon tüpler atılarak son tüplerin kapakları kapatıldı ve DNA miktar ölçümü için hazırlandı.

3.5.2 DNA Miktarının Ölçülmesi

İzole edilen DNA miktarlarının ölçümü için Allsheng 400A Nano-Spektrofotometre kullanıldı (83). Nano-400, Nükleik Asit (DNA / RNA) konsantrasyonunu ve saflığını analiz etmek için tasarlanmış bir Nükleik Asit analiz cihazıdır. Ölçümün kontrolü için öncelikle içerisinde DNA bulunmayan steril referans çözelti olan ve QIAGEN QIAamp® DNA Mini Kit içerisinde bulunan AE Buffer kullanılarak cihazın sıfırlaması yapıldı. Cihazın örnekleme kolunu açarak, örnek kuyucuğu içerisindeki test platformu üzerine bu çözülden 2 µl kondu. Örnekleme kolu kapatıldıktan sonra ekranda görülen "Blank" seçeneği işaretlendikten sonra cihazın sıfırlanması sağlandı (Şekil 13). Her örnekleme öncesinde platform ve kol üzerindeki okuyucu kısım ultra distile su ve alkol ile temizlendi.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

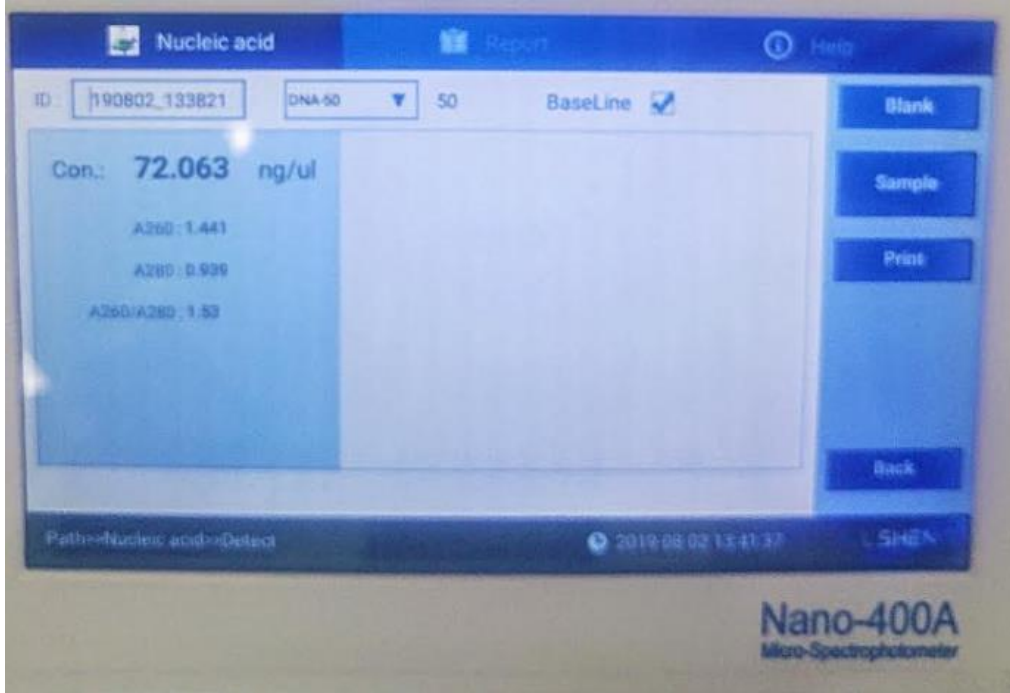
Örneklerin miktar ölçümü aşağıdaki prosedür kullanılarak yapıldı;

1. Ölçüm yapılacak izolat içerisinden pipet yardımı ile 2 µl örnek test platformu üzerine eklendi.
2. Örneklem kolu kapatılarak ekranda görülen “Sample” seçeneği işaretlendi.
3. Okuma yapılarak sonuç laboratuvar defterine kaydedildi (Şekil 14) (84).

Ölçüm işlemi ard arda 3 kez yapılmış olup ortalama değerler kayıt altına alındı.



Şekil 9. Nano spektrofotometre cihazına referans örnek konulması ve cihazın sıfırlanması



Şekil 10. Nano-spektrofotometreden sonuçların okunması

3.5.3. PCR Aşaması

Elde edilen izolatların PCR aşaması GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) kullanılarak, kitin uygulama prosedürlerine uygun olarak yapıldı (85).

3.5.3.1 PCR Karışımının Hazırlanması

PCR karışımı; kit protokollerine uygun olarak her bir reaksiyon için 0,2 mL lik PCR tüpleri içerisine aşağıdaki miktarlarda mixlerin ilave edilmesi ile oluşturulmuştur (Tablo IV) (85).

Tablo IV. PCR Karışımının hazırlanması

<u>Kullanılan Malzeme</u>	<u>Miktar</u>
GlobalFiler™ Primer Mix	2,5 µl
GlobalFiler™ Master Mix	7,5 µl
DNA İzolatı	15 µl
TOPLAM	25 µl

3.5.3.2 PCR Programı

PCR Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) ısı döngü cihazında kitin uygulama prosedürlerine uygun olarak yapıldı (85, 86).

95°C de 1 dakika

94°C de 10 dakika

59°C de 90 dakika

60°C de 10 dakika

30 döngü

3.5.4 PCR Ürünlerinin ABI PRISM®3500 Genetik Analizör Cihazında Analizi

3.5.4.1 Örnek Hazırlanması

ABI PRISM®3500 Genetik Analizörde çalışılacak her bir örnek için aşağıdaki karışım hazırlandı(Tablo V) (85, 87).

Tablo V. Elektroforez için örnek hazırlanması

<u>Kullanılan Malzeme</u>	<u>Miktar</u>
Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems),	9,6 µl
GeneScan™ 600 LIZ™ Size Standard v2.0 (Applied Biosystems),	0,4 µl
PCR Ürünü	1 µl
TOPLAM	2 µl

3.5.4.2 Elektroforez

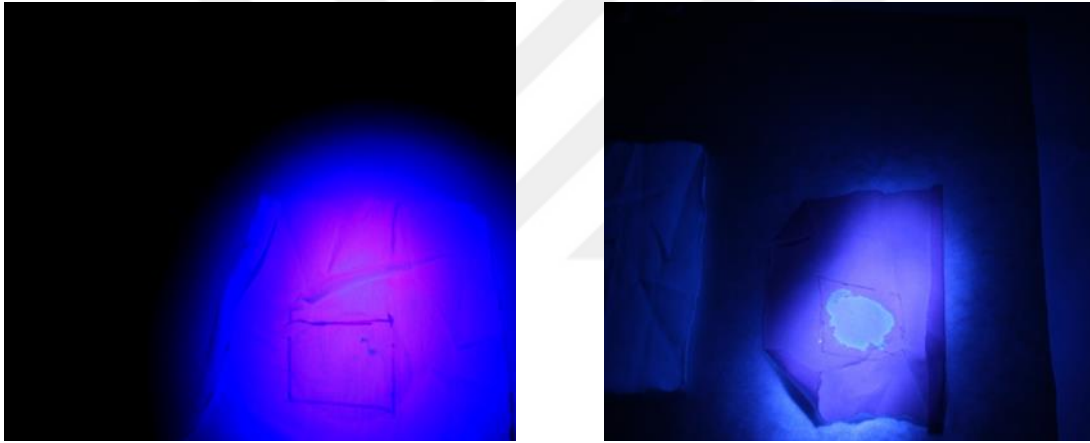
Yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan örnekler ABI PRISM®3500 Genetik Analizöre yerleştirildi. Yürütme işlemi 36 cm kapillerle, J6 filtresi ve POP-4(Performans Optimized Polymers) polimeri kullanılarak, enjeksiyon süresi 1.2 kV/15 saniye, yürütme süresi 13 kV /1550 saniye olacak şekilde 60°C’de ve DS-36 Matrix Standartı kullanılarak yapıldı (85, 87).

3.5.4.3 Örneklerin Analizi

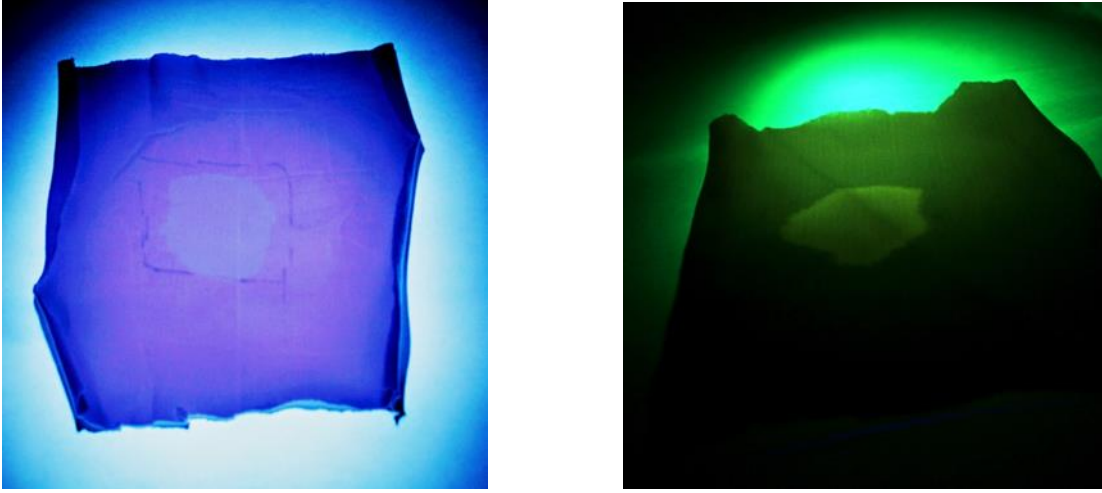
Elde edilen pikler GeneMapper™ ID-X Software yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Örneklerin ve cihazın çalışma performansının değerlendirilmesi için kit içeriğinde bulunan GlobalFiler™ Allelic Ladder (Applied Biosystems) ve sonuç değerlendirmesi için Control DNA 9947A kullanıldı. Örnekler çalışılırken aynı zamanda kişiye ait tam kan örneğinden elde edilmiş DNA çalışılarak, yıkanmış lekeden tam profil elde edilip edilemediği kontrol edildi.

4. BULGULAR

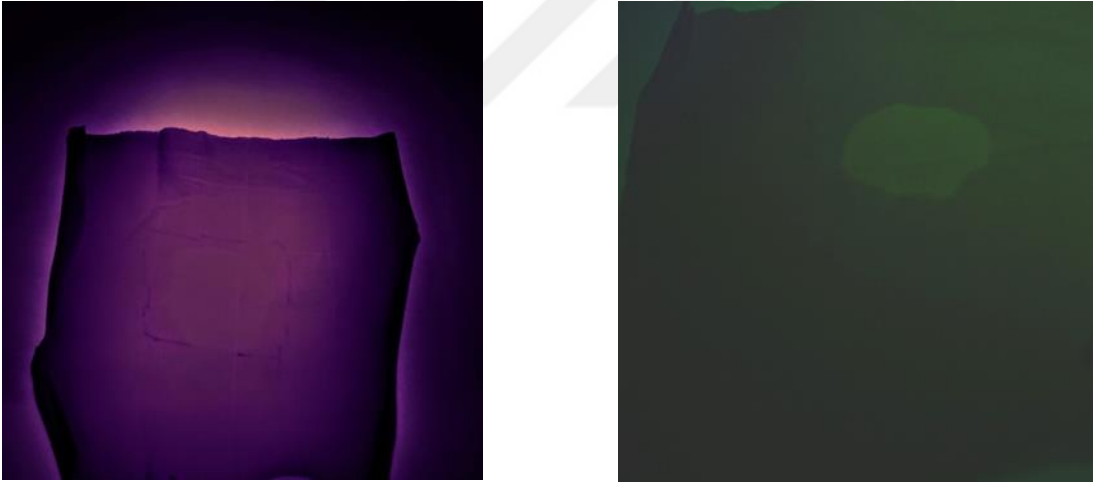
Bu çalışmada; çalışmaya gönüllü olan ve rızaları alınmış 18 yaş üstü 10 erkek bireyden alınan semen örneklerinden pamuklu ve naylon karışımı kumaşlara lekeleme yapılarak otomatik çamaşır makinesinde ve deterjan ilavesiyle 40°C, 60°C ve 90°C’de yıkanmış lekeli kumaşlarda UV incelemesinde semen lekesine özgü parlamalar gözlemlenebilmiştir. (Şekil 11, 12, 13 ve 14). Ayrıca bu kumaşlardan iki farklı izolasyon yöntemi kullanılarak DNA elde edilmiştir.



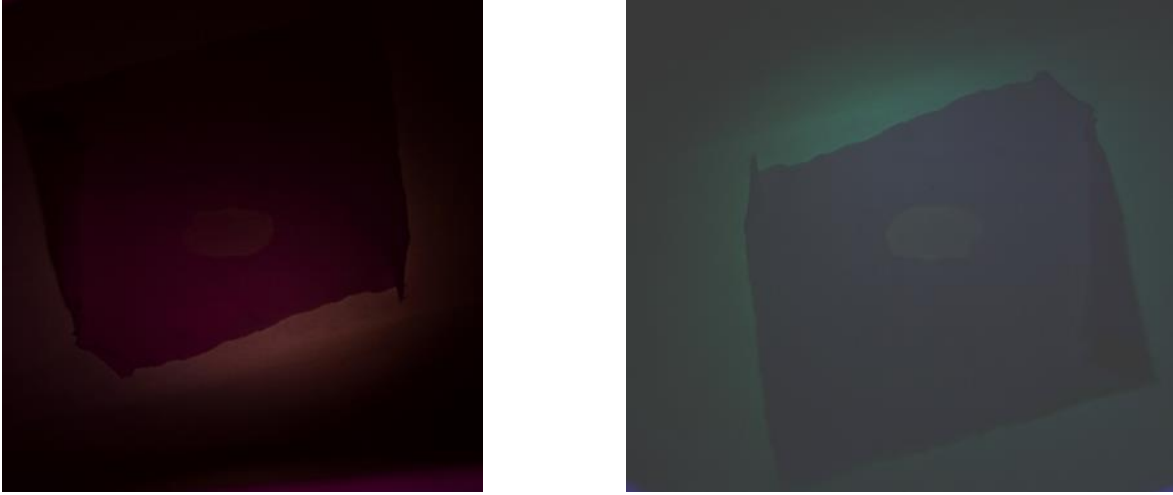
Şekil 11. Kurumuş semen lekelerinin yıkanmadan önceki UV ışık altındaki görüntüsü (Solda pamuklu kumaş, sağda naylon karışımı kumaş)



Şekil 12. Kurumuş semen lekelerinin 40°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü (Solda pamuklu kumaş, sağda naylon karışımı kumaş)



Şekil 13. Kurumuş semen lekelerinin 60°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü (Solda pamuklu kumaş, sağda naylon karışımı kumaş)



Şekil 14. Kurumuş semen lekelerinin 90°C' deki yıkanmadan sonraki UV ışık altındaki görüntüsü (Solda pamuklu kumaş, sağda naylon karışıklı kumaş)

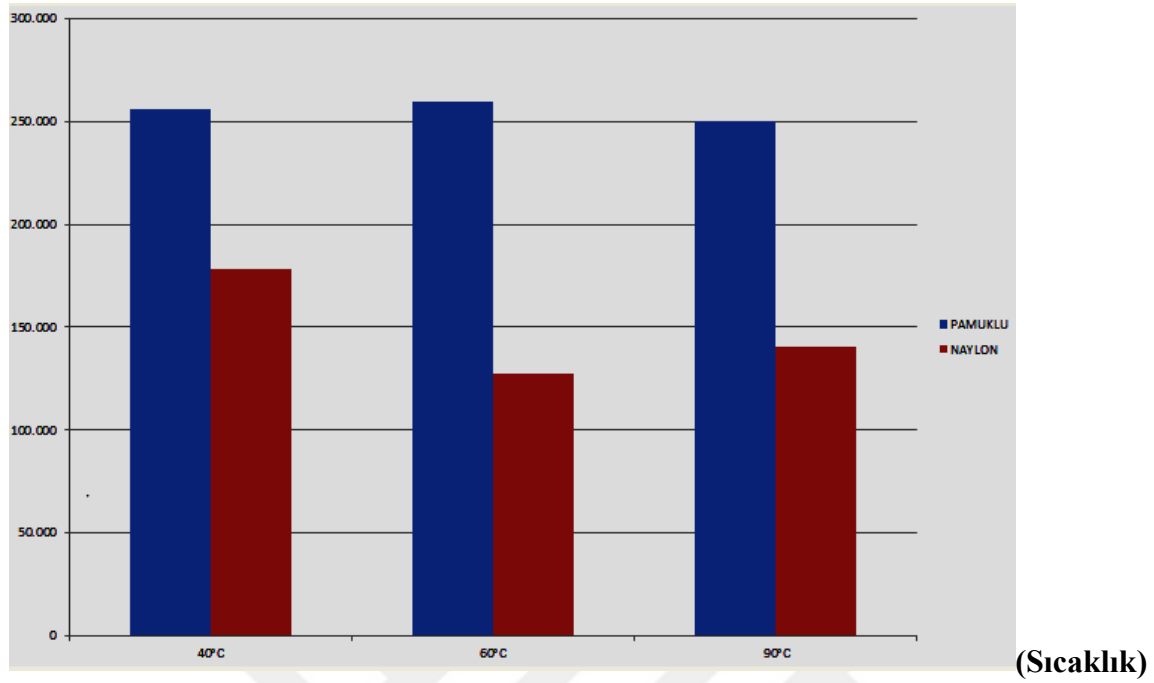
İzole edilen DNA miktarını belirleyebilmek için Allsheng 400A Nano-Spektrofotometre kullanıldı. Her örnek için 3 kez ölçüm yapılarak ortalama değer kaydedildi. Cihazın vermiş olduğu sonuç, nükleik asitlerin yoğunluğuna göre ışığı soğurması sebebiyle ortaya çıkan sayısal değerdir. Nükleik asitler 260 nm de maksimum seviyede soğurma gösterirken, proteinler 280 nm de, diğer organik bileşikler ise 230 nm de soğurma gösterir. Cihazın otomatik olarak hesapladığı 260/280 nm oranı ile elde edilen DNA'nın saflık oranı kontrol edildi ve elde edilen oranın 1.8-2.0 arasında olması durumunda DNA örneklerinin saf olduğu kabul edildi. Oranı <1.8 olan örneklerde protein varlığı olduğu ve oranın >2.0 olması durumunda organik bileşiklerin varlığının olduğu kabul edildi (67). İki farklı kumaş türünden iki farklı izolasyon yöntemi kullanılarak elde edilen DNA miktarları Tablo VI ve Tablo VII de verilmiştir. Ayrıca iki farklı kumaş türü ve iki farklı izolasyon yönteminden elde edilen DNA miktarları ortalamalarına ait karşılaştırma Şekil 15. ve Şekil 16. da verilmiştir.

Tablo VI. Yıkanmış Semen Lekeli Pamuklu kumaşlardan iki farklı izolasyon yöntemi ile elde edilen DNA Miktarı ve Safılık Oranı (260/280 nm)

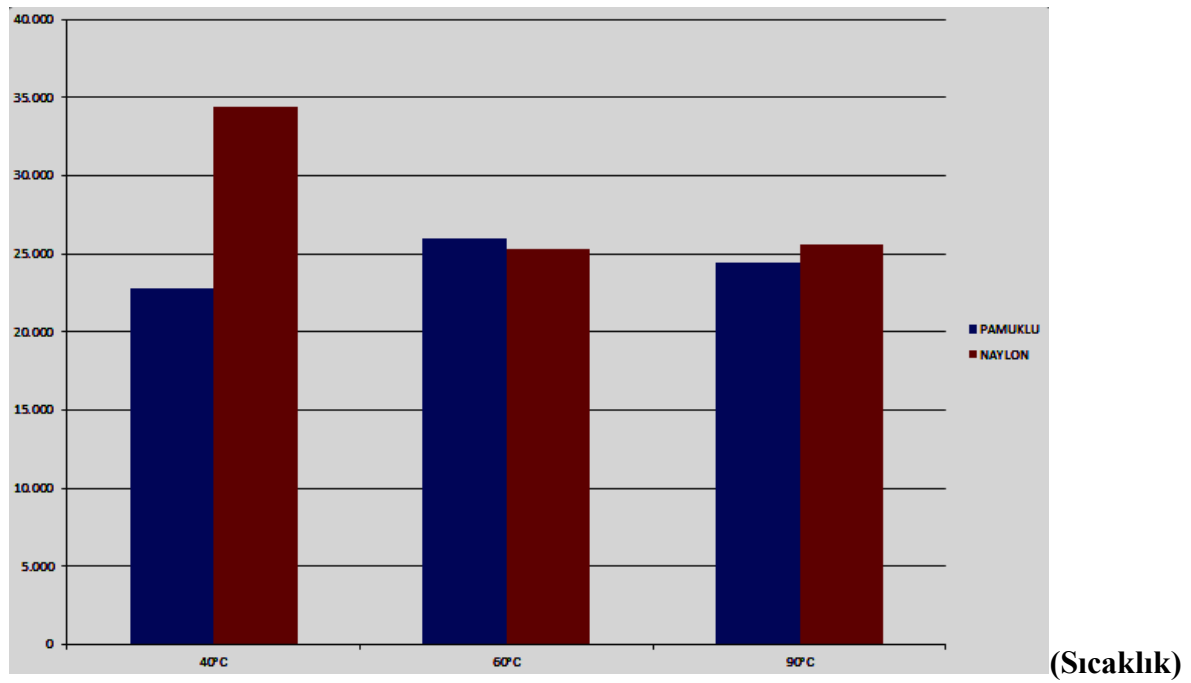
	Yöntem	40°C (ng/µl)	Safılık	60°C (ng/µl)	Safılık	90°C (ng/µl)	Safılık
A	Organik	185.171	1.11	348.269	1.19	315.44	1.19
	Spin Kolon	31.306	2.17	31.114	2.5	31.399	2.52
B	Organik	187.275	1.14	169.397	1.14	316.468	1.18
	Spin Kolon	25.208	2.64	26.137	2.29	21.355	3.00
C	Organik	251.507	1.17	316.408	1.19	169.465	1.13
	Spin Kolon	23.720	3.20	24.765	2.75	18.861	4.61
D	Organik	388.06	1.22	326.271	1.20	142.592	1.13
	Spin Kolon	19.818	3.60	25.099	3.64	28.131	3.45
E	Organik	256.27	1.17	412.064	1.19	377.108	1.05
	Spin Kolon	11.758	2.73	17.468	3.00	18.780	3.60
F	Organik	416.783	1.22	317.753	1.20	267.08	1.16
	Spin Kolon	19.574	4.57	30.189	3.45	24.695	4.11
G	Organik	300.645	1.19	246.841	1.17	327.119	1.04
	Spin Kolon	27.249	4.07	20.331	4.01	23.707	3.97
H	Organik	267.031	1.17	257.00	1.17	313.806	1.18
	Spin Kolon	20.605	4.58	23.562	3.37	22.635	3.58
K	Organik	142.016	1.10	58.865	1.14	115.189	1.02
	Spin Kolon	19.022	3.16	30.131	3.40	30.174	3.01
L	Organik	167.728	1.13	140.121	1.11	157.058	1.15
	Spin Kolon	29.578	3.53	30.904	3.39	24.989	4.21

Tablo VII. Yıkanmış semen lekeli naylon karışım kumaşlardan iki farklı izolasyon yöntemi ile elde edilen DNA Miktarı ve Safılık Oranı

	Yöntem	40°C (ng/µl)	Safılık	60°C (ng/µl)	Safılık	90°C (ng/µl)	Safılık
A	Organik	260.269	1.18	107.433	1.13	207.384	1.18
	Spin Kolon	50.951	3.08	35.351	2.62	26.575	4.20
B	Organik	69.012	1.04	127.346	1.21	62.346	1.10
	Spin Kolon	35.607	2.46	28.934	3.54	31.527	3.31
C	Organik	70.112	1.11	42.06	1.15	86.591	1.20
	Spin Kolon	29.513	1.94	30.776	2.94	28.637	3.44
D	Organik	237.659	1.15	95.237	1.10	71.444	1.11
	Spin Kolon	72.063	1.53	25.402	3.93	13.689	4.75
E	Organik	83.393	1.09	36.348	1.21	52.418	1.12
	Spin Kolon	28.111	2.36	26.314	3.19	29.721	3.60
F	Organik	262.363	1.19	329.213	1.22	357.577	1.22
	Spin Kolon	23.448	3.49	26.773	3.32	36.419	2.36
G	Organik	272.854	1.20	90.999	1.14	327.863	1.22
	Spin Kolon	39.839	2.31	23.701	3.62	30.633	2.26
H	Organik	283.486	1.20	79.577	1.06	198.636	1.15
	Spin Kolon	21.069	2.79	26.760	3.64	28.595	2.95
K	Organik	210.882	1.16	248.287	1.17	15.967	1.04
	Spin Kolon	28.985	3.43	19.081	1.97	18.320	2.43
L	Organik	31.160	1.17	29.869	1.14	24.092	1.14
	Spin Kolon	14.349	2.59	10.000	3.83	11.850	4.69

(ng/μl)

Şekil 15. Organik yöntem ile pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerindeki yıkanmış semen lekelerinden izole edilen DNA miktarları

(ng/μl)

Şekil 16. Spin Kolon Yöntemi ile pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerindeki yıkanmış semen lekelerinden izole edilen DNA miktarları

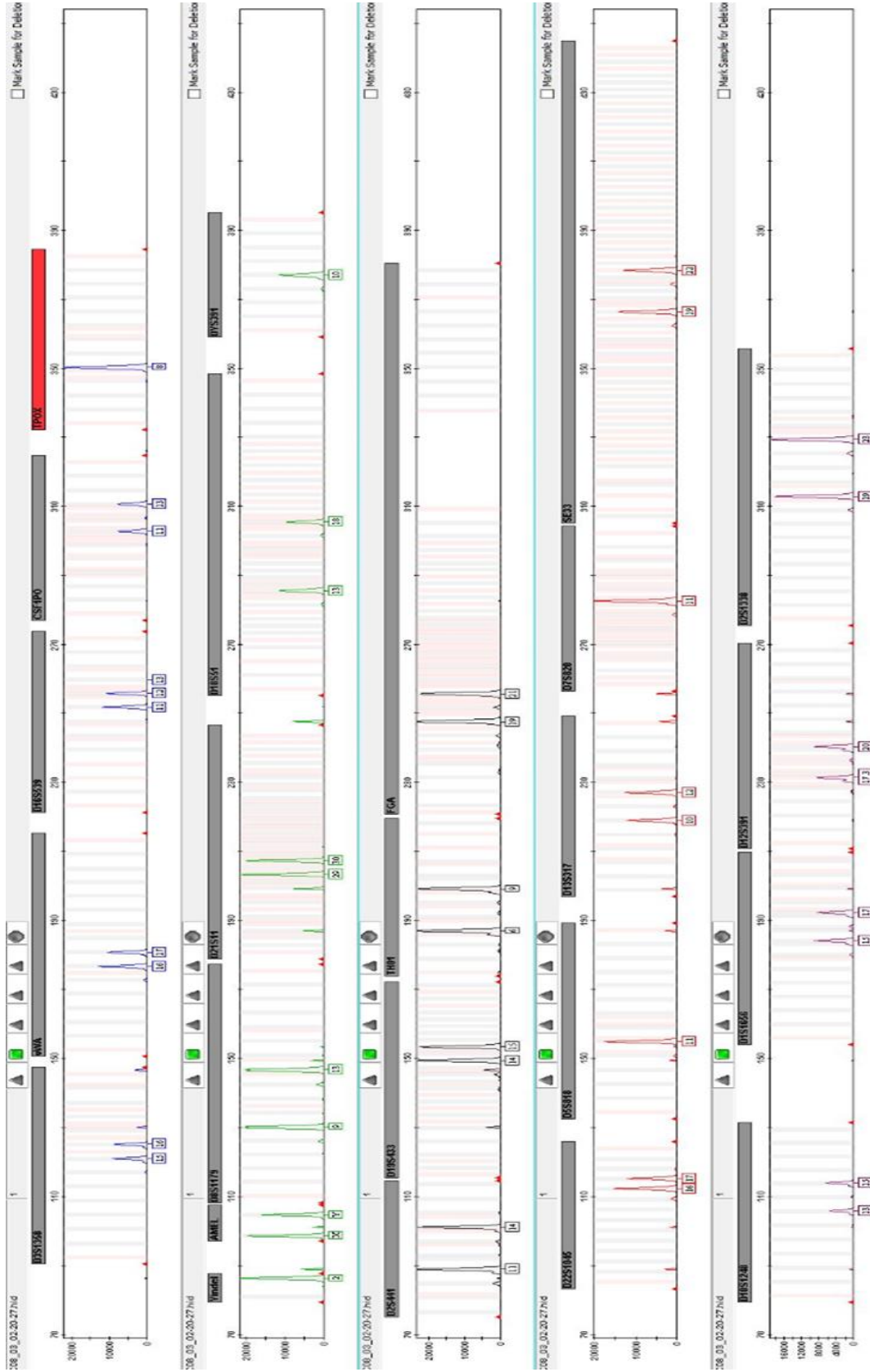
Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Elde edilen DNA miktarları ölçüldükten sonra bu DNA' lardan tam bir kimliklendirme yapıp yapılamadığının değerlendirilmesi için, örnekler GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) kullanılarak amplifiye edildi ve ABI PRISM®3500 Genetik analizörde elektroforez aşaması gerçekleştirildi. Çalışmanın doğruluğu ve performansın değerlendirilmesi, amacı ile allelik leader ve 9947A Kontrol DNA örneği çalışıldı. Çalışılan örneğin tam bir profil verip vermediğinin kontrolü ise kişiye ait tam kan örneğinden elde edilen profil ile karşılaştırılması ile sağlandı. Çalışılan örneklerin GeneMapper™ ID-X Software yazılımı kullanılarak tiplendirilmesi sonucu elde edilen elektroforegramları kişinin tam kanından elde edilen profili ile karşılaştırılarak, tam bir profil elde edilip edilemediği kontrol edildi. Örneğe ait tam kandan elde edilen DNA profiline ait profil görüntüsü Şekil 17' de verilmektedir.

Spin Kolon Yöntemi ile yapılan izolasyon sonrasında 40°C' de yıkanmış pamuklu kumaştaki semen lekesinden tam DNA profili elde edilebilmiş fakat 60°C' de yıkanmış naylon karışumlu kumaş ve 90°C' de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden DNA profili elde edilememiştir. Ayrıca 90°C' de yıkanmış naylon karışumlu kumaş üzerindeki semen lekesinden ise parçalı DNA profili elde edilebilmiştir. Spin Kolon Yöntemi ile yapılan izolasyon sonucu elde edilen profil görüntüleri Şekil 18, 19, 20 ve 21' de verilmiştir.

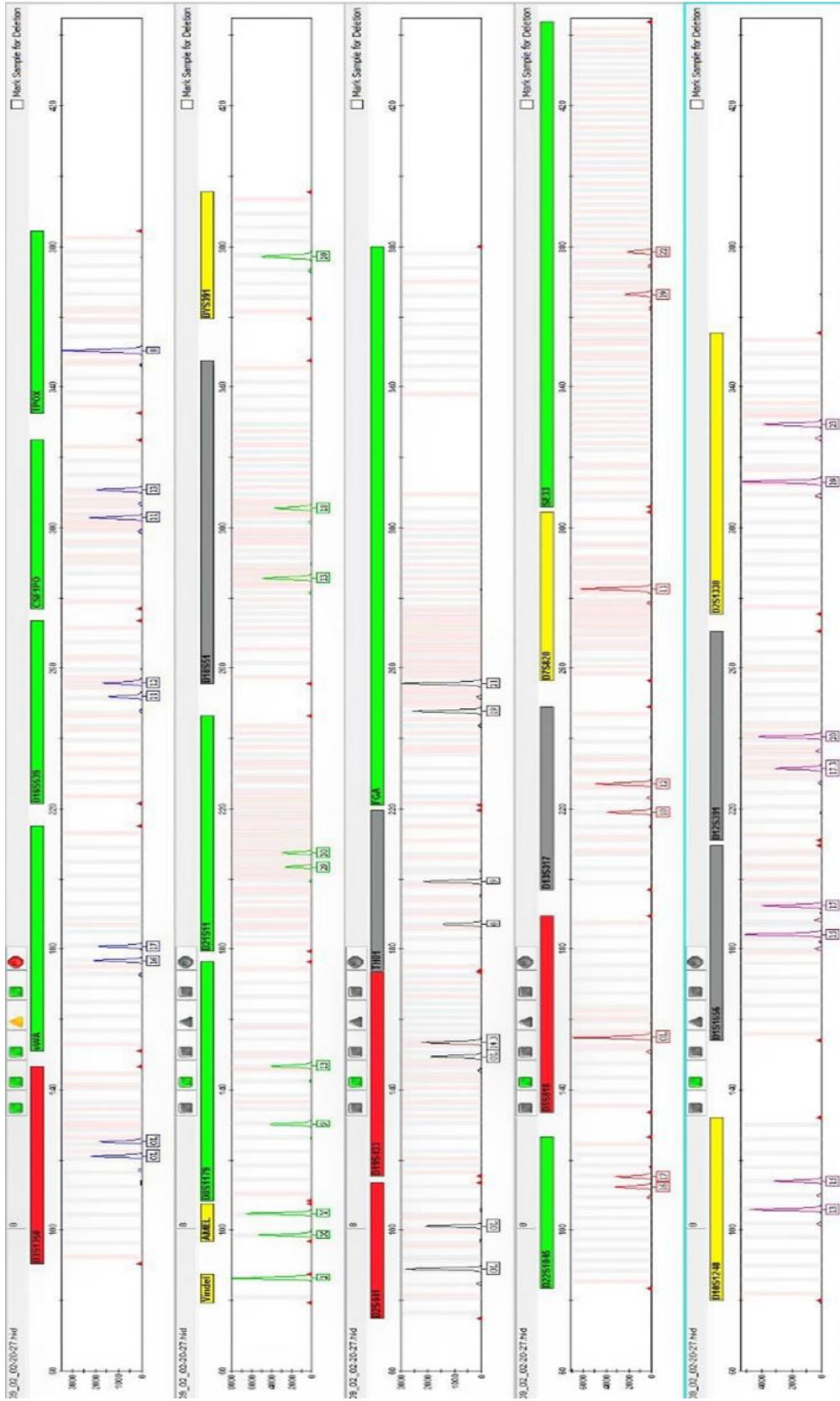
40°C, 60°C ve 90°C' de yıkanmış olan semen lekeli kumaşlardan organik yöntem kullanılarak gerçekleştirilen yürütmelerin tümünde DNA profili elde edildi. Bu profillere ait görüntüler ise Şekil 22, 23 ve 24' de verilmiştir.

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

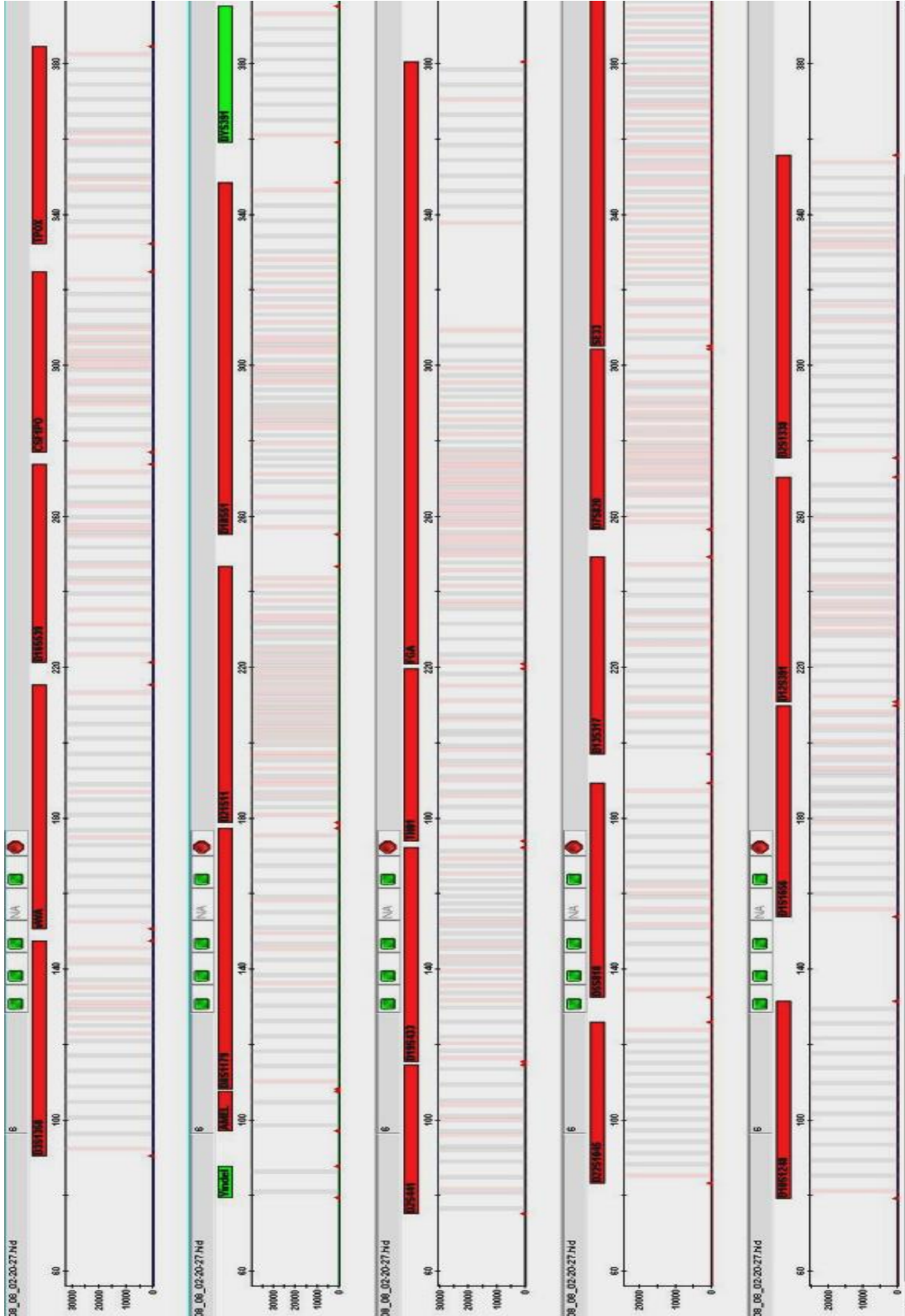


Şekil 17. Çalışılan örneğe ait tam kan örneğinden elde edilen DNA'ya ait profil görüntüsü

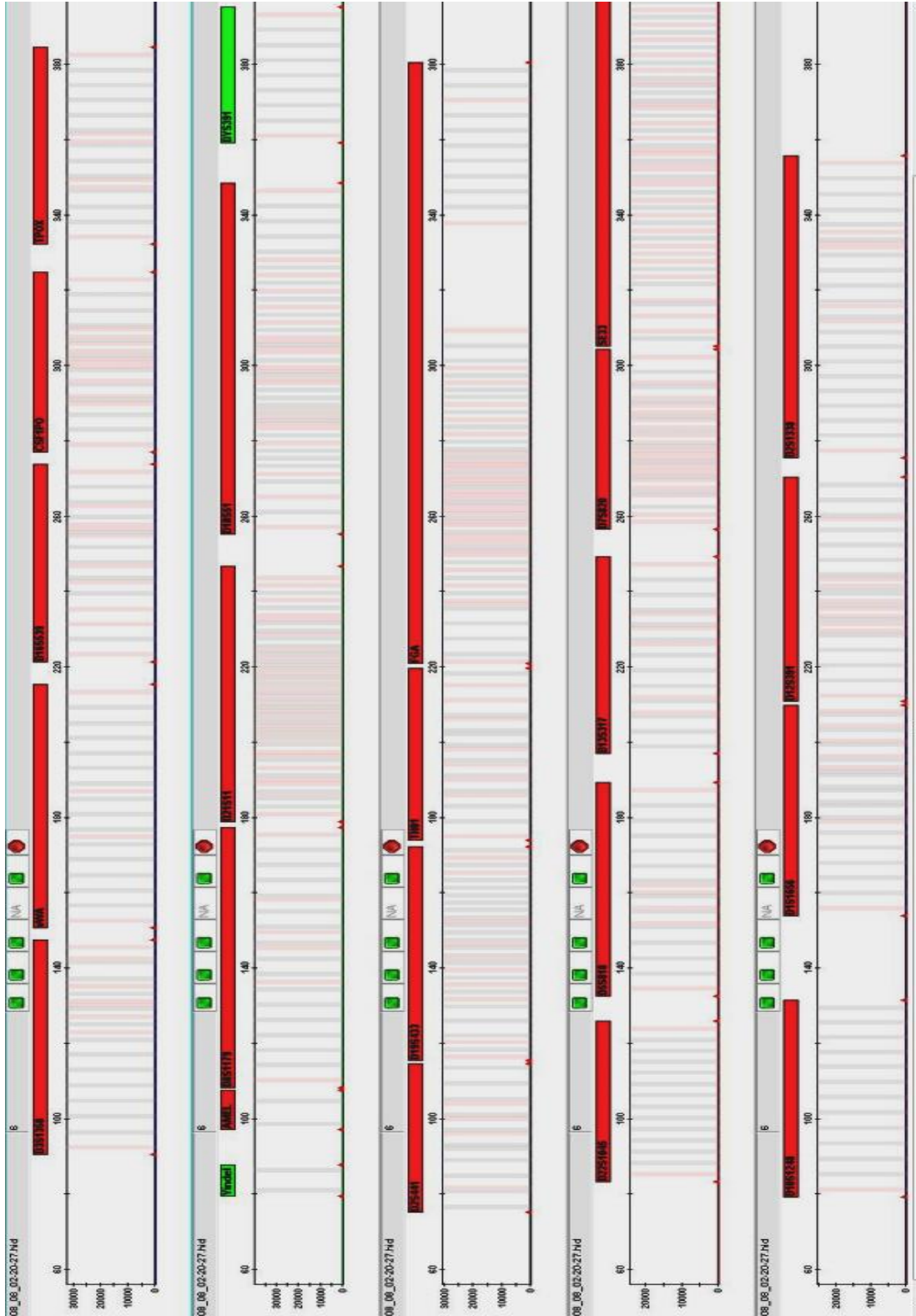
Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi



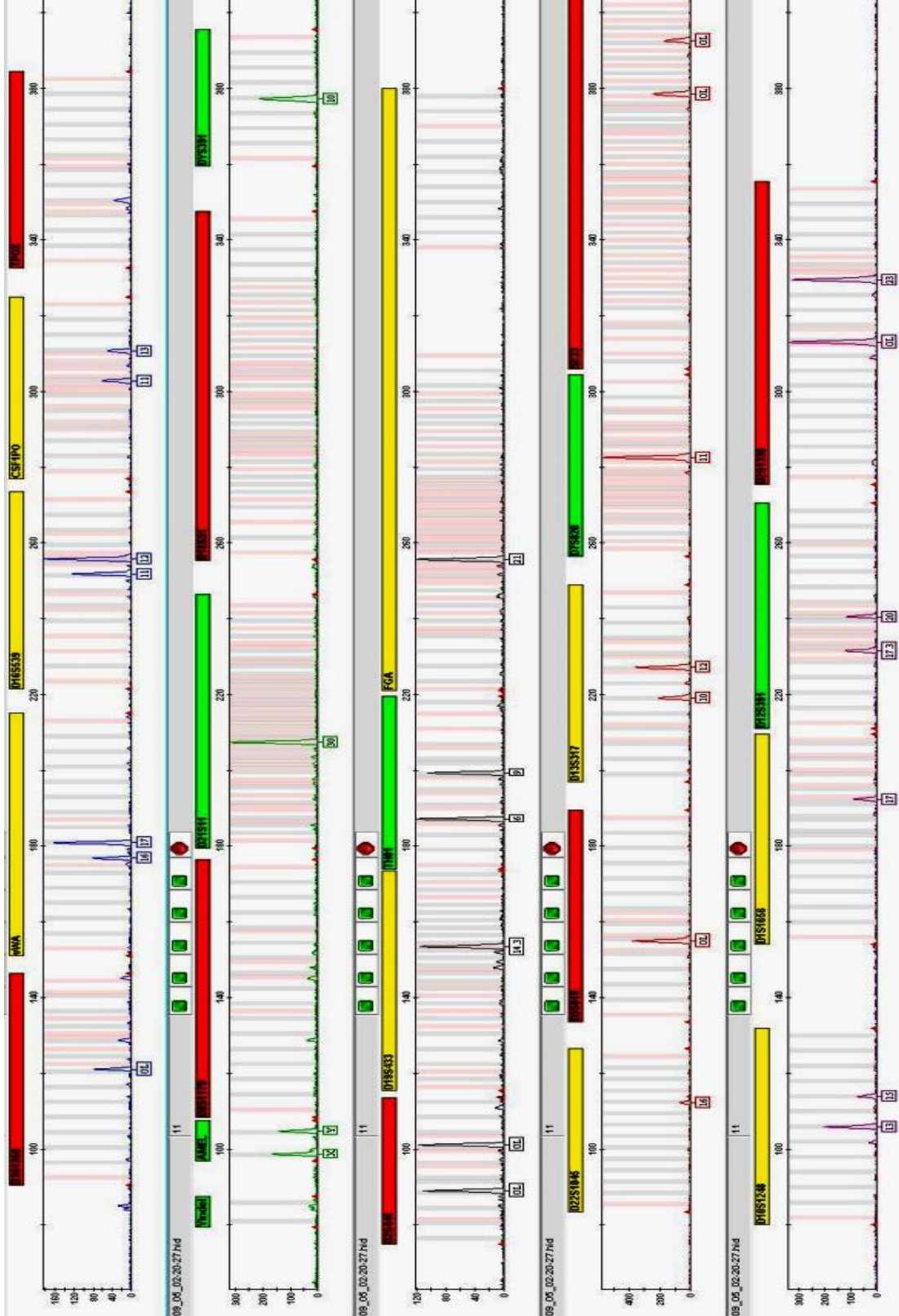
Şekil 18. 40 °C de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü



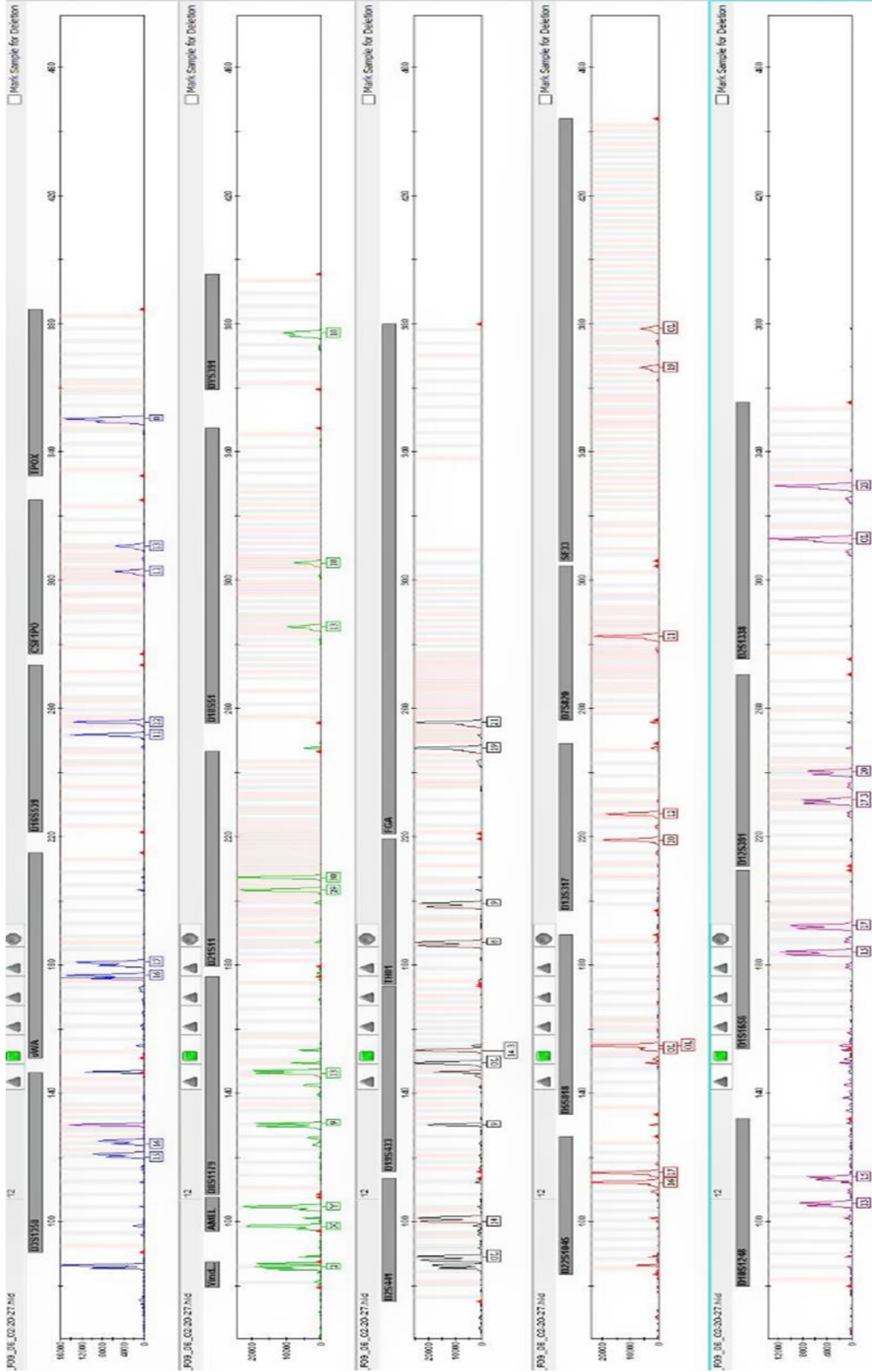
Şekil 19. 60 °C de yıkanmış naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü



Şekil 20. 90 °C de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profili görüntüsü

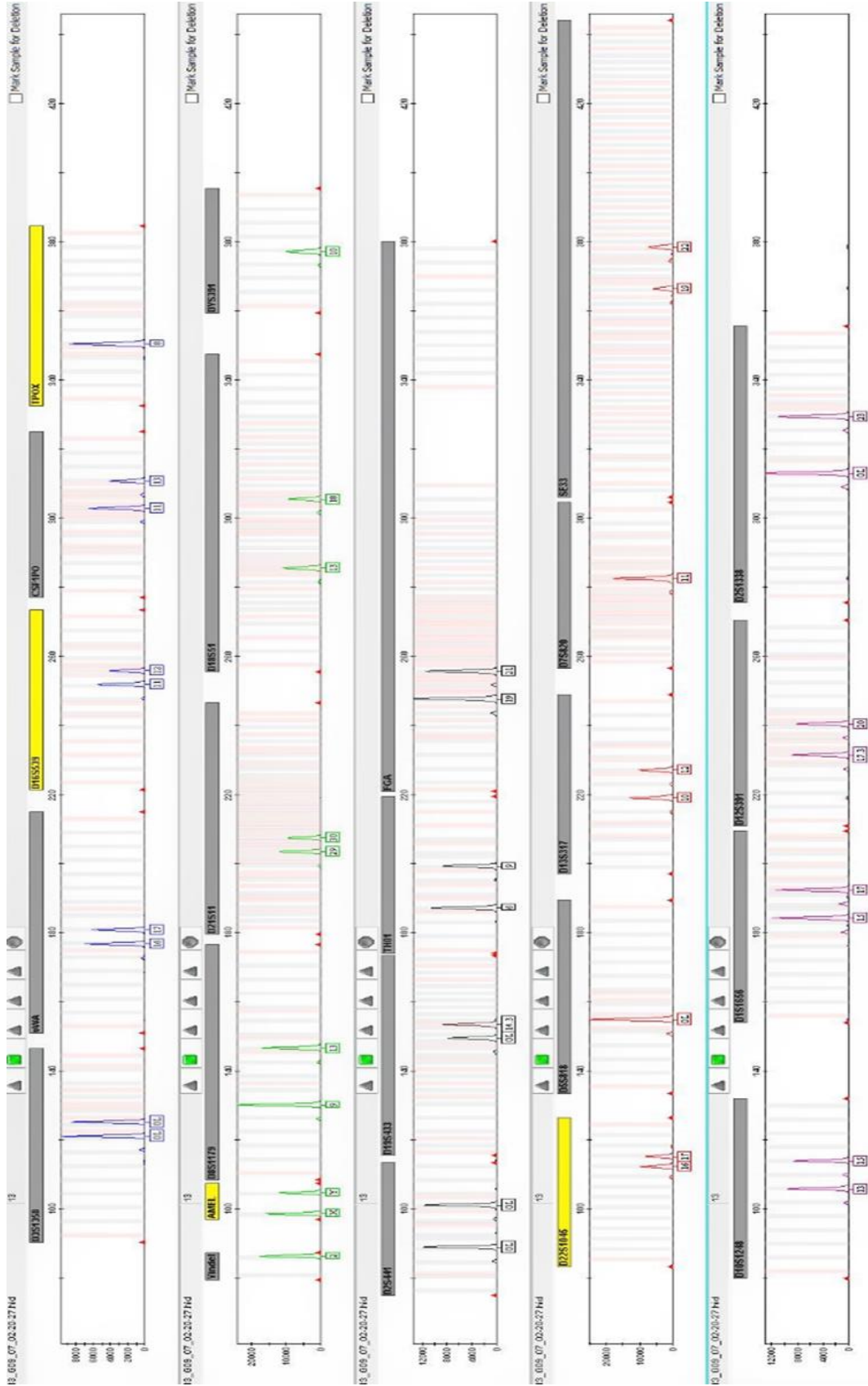


Şekil 21. 90 °C de yıkanmış naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekesinden spin kolon yöntemi kullanarak izole edilen DNA'ya ait profili görüntüsü



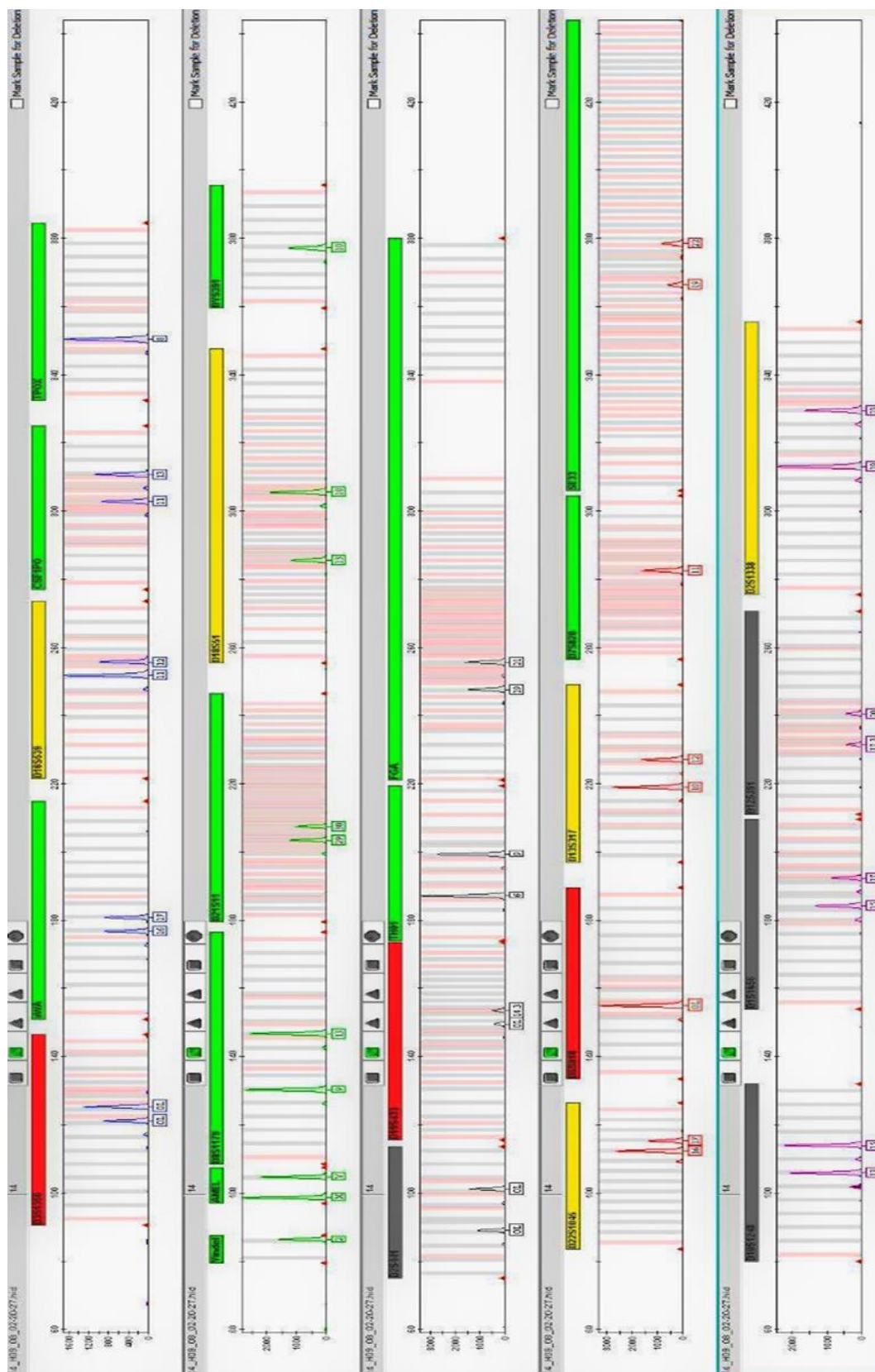
Şekil 22. 40 °C de pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi



Şekil 23. 60 °C de naylon karışumlu kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi



Şekil 24. 90 °C de pamuklu kumaş üzerindeki semen lekesinden organik yöntem ile izole edilen DNA'ya ait profil görüntüsü

5. TARTIŞMA

Toplumlarda şiddetin gün geçtikçe artarak devam etmesi, adli makamlara yeni ve büyük sorumluluklar yüklemektedir. Adli Bilimlerde olayın aydınlatılması 1900'lü yıllardan itibaren maddi deliller ışığında gerçekleştirilmektedir. Bu anlamda en önemli delil olarak biyolojik deliller mağdurun hakkının savunulması ve suçlunun hak ettiği cezayı alması için hayati önem taşımaktadır. Ülkemizde de olduğu gibi dünyada sıklıkla gündeme gelen kadına veya çocuğa yönelik şiddetin en fazla oranda görünen cinsel saldırı ve istismardır. Bu olaylarda ise olayı çözecek en önemli biyolojik delil semen lekesidir. Özellikle mağdurun vücudu, çamaşırı veya eşyaları üzerinde şüpheli DNA' sının bulunması olayın aydınlanmasında hayati önem taşır. Üstelik suçlu çoğu zaman mağdurun en yakınında bulunan bireyler arasından çıkmaktadır. Mağdurun birçok zaman, birden fazla kez cinsel saldırıya veya istismara maruz kaldığı, çevrenin tepkilerinden veya saldırganın tehditlerinden korktuğu, olay sonrasında ciddi psikolojik travmalar yaşadığı ve suçluluk psikolojisine büründüğü için olay sonrasında adli makamlara başvurmadığı görülmektedir (71-73).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada; cinsel saldırı/istismar şüphelisinin cinsel saldırı sırasında prezervatif kullanmadığı ve olay sonunda seminal sıvısını mağdurun direk olarak üzerine, kıyafetlerine veya yatak örtülerine transfer ettiği belirtilmiştir (74,75). Ayrıca korku, depresyon ve birçok sebeple mağdurların büyük bir kısmının saldırı sonrasında kendilerini ve çamaşırlarını temizleme eğiliminde olduğu, bu nedenle hemen duş aldıkları veya çamaşırlarını yıkadıkları görülmüştür (74-76). Aynı şekilde şüpheli de kendi çamaşırlarını delil karartmak için yıkayıp, delilleri ortadan kaldırmaktadır. Şok, korku ve birçok sebeple olay sonrasında hemen adli makamlara başvuramamış olan mağdurlar, zaman geçtikten sonra başvuru yapmak istediklerinde bu çamaşırlardan DNA elde edilemeyeceğini

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

düşündüklerinden bu çamaşırları adli laboratuvarlara inceleme için vermek istemezler. Fakat yapılan birçok çalışma, çamaşırların çamaşır makinesinde yıkandıktan sonra dahi üzerinde DNA tespit edilebildiğini göstermiştir (74-76,82).

Bu çalışmanın amacı; farklı yıkama sıcaklıklarında, otomatik çamaşır makinasında, deterjan ilavesi ile yıkanmış pamuklu veya naylon karışımı çamaşırlar üzerindeki suçluya ait semen lekelerinden iki farklı izolasyon yöntemi kullanarak DNA elde edebilmek, miktarını belirlemek ve suçluya ait kimliklendirme yapabilmektir.

Bu doğrultuda: Bu çalışmada özellikle literatürdeki gerçek vakalardaki durum göz önüne alındığında; iç çamaşır ve çarşaf üzerindeki lekelenmeler baz alınarak çarşaf ve iç çamaşırlarında en çok kullanılan kumaş türleri olan pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar kullanılmıştır.

2018 yılında Nolan ve arkadaşları pamuk, polyester, naylon, havlu, polar dokuma gibi kumaş türleri üzerinde bir ve birden fazla yıkama sonrasında semen lekesi tespiti üzerine çalışmalar yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada hem AP (asit-fosfataz) testi, hem UV ışığı ile lekelerin görünürleştirilmesi hem de kumaşların lifleri üzerinde sperm hücrelerinin kalıcılığı ile ilgili sonuçlar elde etmişlerdir. Sonuçlarına göre 1. Yıkama sonrasında tüm örneklerde UV ışığı altında lekeler floresans göstermişlerdir. Ayrıca spermlerin pamuklu ve havlu gibi kumaş türlerinin lifleri içinde 6 yıkama sonrasına kadar kalabildiği tespit edilmiştir. Naylon kumaşların emiciliklerinin az olması ve dokuma şeklinin farklı olması sebebiyle mikroskopik incelemelerde lifler arasında daha az miktarda sperm hücrelerine rastlanmıştır (75). Bu tez çalışmasında da Nolan ve Ark. Çalışmasına paralel şekilde pamuklu ve naylon karışımı kumaşların hepsinde yıkama sonrası semen lekeleri başarılı bir şekilde gözlenebilmiştir (Şekil

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

9, 10 , 11 ve 12).Yine benzer şekilde izole edilen DNA miktar ölçümleri karşılaştırılmıştır. 2 farklı izolasyon yöntemi ile elde edilen DNA miktarının kullanılan izolasyon metoduna göre değişkenlik gösterebileceği gözlemlenmiştir (Şekil 15. ve 16.) Organik yöntemle pamuklu kumaşlardan elde edilen DNA miktarı daha fazla iken, spin kolon yöntemi ile yapılan izolasyon sonrasında elde edilen DNA miktarlarında farklılık gösterdiği görülmüştür.

Daha önce Kulstein ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda 40 ve 60 °C sıcaklıklarda yıkanmış olan çamaşırlar üzerinde DNA miktarı RT-PCR ile belirlenmiş, fakat kimliklendirme yapabilme açısından değerlendirilmemiştir (74), yine Brayley-Morris ve ark. nın yapmış olduğu çalışmada örnekler lekelenen sonra 8 ay boyunca bekletilmiş, farklı deterjanlarla 30 ve 60 °C de yıkandıktan sonra EZ1 DNA Investigator Kit ile DNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'lerden PowerPlex1 ESI 16 System (Promega) kiti kullanılarak DNA profilleri elde edilmiştir (76). Bu çalışmada ise kısıtlı çalışma zamanı nedeniyle zaman faktörü değerlendirilememiş olup, lekeli kumaşların kuruduktan sonra bir kaç gün içerisinde yıkanarak işleme alınması sağlanmıştır. Ancak bahsedilen çalışmalara artı olarak 90°C de yıkama çalışması yapılmış ve başarılı şekilde DNA profili elde edilebilmiştir (Şekil 17-24).

Noel ve ark. yaptıkları çalışmada pamuklu yatak çarşafı üzerinden 3 farklı makinede ve 2 farklı deterjan türü ile 6 yıkamaya kadar serolojik, mikroskopik ve genetik olarak semen lekesinin tespit edilebildiğini göstermişlerdir. Örnek alım şekillerini değerlendirmiş ve leke üzerinden svap ile alınan örneğin, keserek alınan örnekten daha az miktarda DNA kazanımı sağladığını göstermişlerdir. Kullanılan deterjan türünün elde edilen DNA miktarını değiştirdiğini söylemişlerdir. Ayrıca ilave ettikleri çamaşır suyunun sonuçlar üzerine çok büyük etkisi olmadığını göstermişlerdir (78). Bu tez çalışmasında DNA kazanımı açısından keserek örnek alınmış olup, 90 °C de yıkama eklendiği için maliyet göz önünde

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

bulundurulmuş ve deterjan farklılığına dayalı bir çalışma yerine; farklı yıkama sıcaklığı, farklı kumaş türü ve 2 farklı izolasyon yöntemi karşılaştırılmasına yer verilmiş ve DNA profillerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 17-24).

Ogawa ve arkadaşları 2017 yılında sundukları vaka raporunda yaklaşık 1 yıl önce cinsel saldırıya maruz kalmış bir mağdurun kuru temizleme sonrasında ve daha sonrasında birçok kez giyilmiş eteği üzerinden şüpheliye ait DNA Profili elde edebilmişlerdir. Fenol-Kloroform yöntemi ile izole ettikleri DNA dan DyNA Quant™ 200 (Hoefer Pharmacia Biotech, San Francisco, CA) kiti ile miktar ölçümü yapılmış, Midi-6 multiplex system ile D20S480, D6S2439, D6S1056, D9S1118, D4S2639 ve D17S1290 mini STR lokuslarını, AmpFISTR_ Identifier_ kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve AmpFISTR_ Yfiler_ kit (Applied Biosystems) kullanarak, şüpheliye ait DNA profili elde etmişlerdir (82). Bu tez çalışmasında öncelikle yıkama yapılmış örneklerde başarı hedeflendiğinden bekletilmiş örneklere yer verilmemiş olup bir sonraki çalışmalarda beklemiş ve yıkanmış örneklerde DNA profili eldesi hedeflenmiştir.

Daha önce yapılan tüm çalışmalarda çamaşırların yıkanmış olduğu makinenin yıkama programları, kullanılan deterjanın kimyasal özellikleri, kurutma koşulları, kumaş türü gibi değişkenlerin DNA Profili elde etme miktarı üzerinde etkili olduğu düşünülerek, bu tez çalışmasında diğer çalışmalardan farklı olarak ile ***ilk defa 90°C de yıkama sonrası semen lekesinden DNA elde edilebileceği değerlendirilmiş ve kimliklendirmeye ait tam profil elde edilebilmiştir.*** Ayrıca bu çalışmada, hem zorlu örneklerde izolasyon başarısı yüksek olan organik yöntem, hem de kullanımı kolay, standart, semen lekeleri ve cinsel saldırı konusunda olay yeri vücut sıvılarından DNA izole etmede yüksek başarı sağlayan QIAamp® DNA Investigator Kit (QIAGEN) ile DNA izolasyonu yapılarak yöntem araştırması yapılmıştır. Kimliklendirme için en son teknoloji ürünü, ayırım gücü yüksek, 24 lokus karşılaştırması

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

yapabilen GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems) kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.



6. SONUÇ

Bu çalışmada tüm semen lekeli kumaşlardan başarılı bir şekilde DNA izolasyonu yapılabilmiş ve hepsinde DNA miktarları ölçülebilmştir.

Her iki kumaş türünden de her iki izolasyon yöntemi ile tam veya parçalı DNA profilleri elde edilebilmiştir. Her iki izolasyon yöntemine göre elde edilen DNA miktarları karşılaştırıldığında; organik yöntem ile pamuklu kumaşlarda yüksek miktarda DNA elde edilebilirken, spin kolon yöntemi ile elde edilen miktar değişkenlik gösterebilmektedir. Ayrıca yıkanmış semen lekelerinde organik yöntem ile spin kolon yöntemine göre daha fazla miktarda DNA izole edilebilmiş ve bunun sonucu olarak da bu yöntem ile daha iyi profiller elde edilebilmiştir. Bu da organik yöntemin zorlu örneklerdeki başarısından kaynaklanmaktadır.

Bir başka deyişle, Organik yöntem ile 40, 60 ve 90°C ' de yıkanmış pamuklu ve naylon karışımı kumaşlar üzerindeki tüm semen lekelerinden tam profil elde edilmiştir.

Spin kolon yöntemi yöntemi ile 40°C 'de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki lekeden tam profil elde edilebilmiş, 90°C 'de yıkanmış naylon karışımı kumaş üzerindeki semen lekelerinden tam profile yakın parçalı profil elde edilebilmiş, 60°C 'de yıkanmış naylon karışımı kumaş ve 90°C 'de yıkanmış pamuklu kumaş üzerindeki lekelerden ise DNA profili elde edilememiştir.

Çalışma sonucunda, DNA miktar ölçümüne bakıldığında tüm yıkanmış lekelerde DNA varlığı tespit edilmiştir. Buna rağmen 90°C 'de yıkanmış lekelerde spin kolon yöntemi ile izolasyon

Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

sonrası kimliklendirme yapıldığında profil elde edilememesinin sebebinin; çalışma sırasında meydana gelen teknik aksaklıklar ya da uygulama esnasındaki pipetaj hatalarından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Çalışma, elde tekrar edilebilecek miktarda örnek ve kit bulunamadığından tekrar edilememiş olup, tekrarlanırsa profil elde edilebileceği düşünülmektedir. Çünkü Mevcut DNA varlığı tespit edilmiştir.

Bu tezde amaçlandığı şekilde farklı sıcaklıklarda otomatik çamaşır makinasında deterjan ilavesi ile yıkanmış, farklı kumaşlar üzerindeki semen lekelerinden kimliklendirme yapabilecek düzeyde DNA elde edilebilmiş ve şahısların kimliklendirmesi yapılabilmektedir. Ayrıca ilk defa birçok otomatik makinada en yüksek yıkama sıcaklığı olan 90°C' de yıkanmış olan lekeli kumaşlardan kişi kimliklendirmesi yapabilecek düzeyde DNA profili elde edilebilmiştir. Bu çalışma birden fazla kez yıkanmış çamaşırlarda tam profil elde edilip edilemediği, kullanılan deterjanın yanında çamaşır suyunun veya leke çıkarıcı olarak kullanılan farklı kimyasalların DNA üzerine etkisi gibi çalışmalara öncü bir çalışma olarak yapılmış bir çalışmadır. Bir sonraki çalışmalarda bunlar hedeflenmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma; cinsel saldırı mağduru olan ve olay sonrasında hemen adli birimlere başvuramamış, ayrıca da üzerinde olay anında bulunan kıyafetleri yıkamış mağdurlar için umut ışığı olmakta ve kriminal laboratuvarlara incelenmek üzere gönderilen yıkanmış çamaşırlar üzerinde daha ayrıntılı ve dikkatli çalışmalar yapılması gerekliliğini ve bu gibi durumlarda yıkanmış çamaşırlardan DNA elde edilip, başarılı kimliklendirme yapılabileceğini ortaya koymaktadır.

7. KAYNAKLAR

- 1) Robertson J., Ross A. M., Burgayne L. A. DNA in Forensic Science: Theory, Techniques and Applications, London. 1990
- 2) Chan L. Advances in molecular biology with applications in clinical medicine, Klin Lab.1992; 38: 2-4.
- 3) Dival GB. The application of electrophoretic techniques in the field of criminology. Electrophoresis 1982; 6: 249-58.
- 4) Gaensleen R.E. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and Biochemistry, Washington USA Government Printing Office.1984; 293-320.
- 5) Duncan GT., Tracey ML. Serology and DNA Typing. In “Introduction to Forensic Sciences” Ed. Eckert WG. CRC Press. New York. 1992; p. 233–294.
- 6) Doğan Alakoç Y. Adli Bilimlerde DNA Analizleri. Ankara Üniversitesi Dikimevi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, 2010 ; 9, 2
- 7) Witkowski JA. Milestones in The Development of DNA Technology. Ed. MA Farley and Harrington JJ. “Forensic DNA Technology” . Boca Raton: CRC Press. 1991; pp. 10–17.
- 8) Cotton R.W, Fisher M.B. Review: Properties of sperm and seminal fluid, informed by research on reproduction and contraception. Forensic Science International: Genetics 2015; (518) 66–77
- 9) Jeffreys AJ., Wilson V., Thein SL. Individual-Specific ‘‘Fingerprints’’ of Human DNA. Nature 1985; (316) 76-79.
- 10) Sensabaugh GF., Beroldingen CV. The Polymerase Chain Reaction: An Application to The Analysis of Biological Evidence. Ed. MA Farley and Harrington JJ. “Forensic DNA Technology” . Boca Raton: CRC Press. 1991; pp. 66–78.
- 11) Knight B. Adli Tıp. Editör Dr. N. Birgen. İstanbul: Simpson. 1999; s.72.
- 12) Bozkurt Y. Hayatın Sırlı Molekülü DNA. 2001
Alıntı: <https://yildizindunyasi.wordpress.com/2001/04/28/hayatin-sirli-molekulu-dna/>
Son Erişim : 25. 08. 2019

13) Akar N. Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş. Ankara: Antıp AŞ Yayınları. 1999; s. 262

14) Kahn R. An Introduction to DNA Structure and Genome Organization Ed. MA Farley and Harrington JJ. "Forensic DNA Technology" . Boca Raton: CRC Press, 1991; pp. 25–38.

15) Saferstein R. Criminalistics: An Introduction to Forensic DNA Analysis. 2. Edition New Jersey: Pearson Prentice Hall. 2004; pp. 34-50.

16) Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. Hypervariable Minisatellite Regions In Human DNA. Nature, 1985; (314) 67-73.

17) Brinkmann B. The use of STR's in stain analysis. Proceedings from the Third International Symposium on Human Identification. 1992, Madison, USA: Promega Corporation

18) Kloosterman A.D., Budowle B., Daselaar P. PCR Amplification and Detection of the Human D1S80 VNTR Locus Amplification Conditions, Population Genetics and Application in Forensic Analysis. International Journal of Legal Medicine. 1993; 105(5): 257-264.

19) Venter J.C , Adams M.D , Myers E.W , Li P.W , Duvar RJ , Sutton G.G. ve ark. Sequence of The Human Genome. *Science*. 2001; 291(5504): 1304-1351.

20) Yılmaz E. Tanı Amaçlı Moleküler Genetik Yöntemler. Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumu, 2006; 100.Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi – Van.

21) Naslund K, Saetre P, Salome J, Bergström FT, Jareborg N, Jazin E. Genome-wide prediction of human VNTRs. *Genomics*, 2005; 85: 24–35

22) Destro-Bisol G, Capelli C, Belledi M. Inferring microevolutionary patterns from allele-size frequency distributions of minisatellite loci: a worldwide study of the APOB 3' hypervariable region polymorphism. *Human Biology*, 2000; 72: 733–751

23) Chen B, Guo Z, He P, Ye P, Buresi C, Roizes G. Structure and function of alleles in the 3' end region of human apoB gene. *Chin Med J (Engl)*, 1999; 112: 221–223

24) Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlick H.A. ve ark. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 1985; 230: 1350-4.

25) Weber J. L., May P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction, *Am J Hum Genet*, 1989; 44:388-96.

26) Dönbak L. Kısa Ardarda Tekrar Eden DNA Dizilerinin Adli Amaçlı DNA Çalışmalarındaki Yeri. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, 2002; 22:233-238.

- 27) Ünsal T. D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 Yeni Mini Str Lokuslarının Kan Ve Kan Lekelerinde Optimizasyonu.[Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Üniversitesi, 2011.
- 28) Kitamura M. DNA Typing for Individual Identification. *Yakugaku Zasshi*, 2019; 139 (5), 725-730. doi: 10,1248 / yakushi.18-00166-6
- 29) Yavuz D. SLC6A4, TPH-1, TPH-2 Genlerine Ait Polimorfik Varyantların Tamamlanmış İntihar Olgularında Araştırılması.[Yüksek Lisans Tezi]. Ankara Üniversitesi. 2016.
- 30) Kayser M, Knijff P. Improving human forensics through advances in genetics, genomics and molecular biology. *Nature Reviews Genetics*, 2011; 12:179–192
- 31) Phillips C. Forensic genetic analysis of bio-geographical ancestry. *Forensic Science International: Genetics*, 2015; 18: 49-65. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.05.012>
- 32) Vidaki A, López CD, Carnero-Montoro E, Ralf A, Ward K, Spector T, Bell JT, Kayser M. Epigenetic discrimination of identical twins from blood under the forensic scenario. *Forensic Science International: Genetics*, 2017; 31: 67-80
<https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.07.014>
- 33) J Weber-Lehmann J, Schilling E, Gradl G, Richter DC, Wiehler J, Rolf B. Finding the needle in the haystack: Differentiating “identical” twins in paternity testing and forensics by ultra-deep next generation sequencing. *Forensic Science International: Genetics*, 2014; 9:42-46
- 34) Kayser M. Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. *Forensic Science International: Genetics*, 2015; 18: 33-48
- 35) Bar W., Brinkmann B., Lincoln P., Mayr W.R. and Rossi U. DNA recommendations--1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) systems. *Int. J. Leg. Med.*, 1994; 107: 159-160.
- 36) Caskey C.T., Pizzuti A., Fu Y-H., Fenwick R.G., Nelson D.L. Triplet repeat mutations in human disease. *Science*, 1992; 256:784-9.
- 37) Shiriver M.D., Smith M.W., Jin L., Marcini A., Akey J.M., Deka R., ve ark. Ethnic affiliation estimation by use of populationspecific DNA markers. *Am J Hum Genet*, 1997; 60: 957-64.
- 38) Alford R.L, Hammond H.A, Coto I, Caskey C.T. Rapid and efficient resolution of parantage by amplification of short tandem repeats. *Am J Hum Genet*, 1994; 55:190-195.

- 39) Schmitt C., Schmutzler A., Prinz, M., Staak, M. High sensitive DNA typing approaches for the analysis of forensic evidence: comparison of nested variable number of tandem repeats (VNTR) amplification and a short tandem repeats (STR) polymorphisms. *Forensic Sci Int.*, 1994; 66: 129-41.
- 40) Edwards A., Hammond H. A., Jin L., Caskey T., Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeats, *Genomics*, 1992; 12: 241-53
- 41) <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis/codis-and-ndis-fact-sheet>. (Son erişim :15.07.2019)
- 42) AmpFISTR® Identifiler® Plus PCR Amplification Kit User Guide, 2015; Applied Biosystems®, USA
- 43) Coble M. D., Butler J. M. “Characterization of New MiniSTR Loci to Aid Analysis of Degraded DNA” . *J Forensic Science*, 2005; 50: 43-53.
- 44) Butler J. M., Shen Y., McCord B. R. The Development of Reduced Size STR Amplicons as Tools for Analysis of Degraded DNA. *J Forensic Sci.*, 2003; 48: 1054-1064.
- 45) Butler J. M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Bio Techniques*, 2007; 43(4): 2-4.
- 46) Coble M. D., Butler J. M. “Characterization of New MiniSTR Loci to Aid Analysis of Degraded DNA”. *J Forensic Science*, 2005; 50: 43-53.
- 47) Hill C. R., Kline M. C., Coble M. D., Butler J. M. Characterization of 26 MiniSTR Loci for Improved Analysis of Degraded DNA Samples. *J Forensic Science*, 2008; 53(1): 73-80
- 48) Filoğlu G., Altunçul H., Bülbül Ö., Raimoğlu G., Elmas I., Cengiz S. Y-STR Kromozomunun Türk Populasyonunda Polimorfizmi Ve Adli Bilimlerdeki Önemi. *Jorensic For Medicine*, 2016; 30(3): 213-221
- 49) Gökalp Özkorkmaz E. ve Özkorkmaz A. Y-STR Belirteçleri: Adli Önemi ve Terminolojisi: DERLEME. *Türkiye Klinikleri Adli Tıp ve Adli Bilimler Dergisi*, 2011; 8(2) : 85-91
- 50) Eroğlu A., Yüksel B., Ergüder B.İ., Kayaaltı Z., Rüstemoğlu A. X-STR Analizinin Adli Bilimlerdeki Önemi. *Adli Tıp Dergisi*, 2015; 29 (3): 187-194
- 51) Sipahi E., 6 Mini STR Lokusu’ nun (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) Adli İdentifikasyondaki Önemi Ve Türkiye’ Deki Gen Sıklığı.[Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Üniversitesi, 2012

- 52) Budowle B., Moretti T.R. Genotype Profiles for Six Population Groups at the 13 CODIS Short Tandem Repeat Core Loci and Other PCR-Based Loci, *Forensic Science Communications*, 1999; 1(2)
- 53) Bianchi L, Liò P. Forensic DNA and bioinformatics. *Brief Bioinform*, 2007; 8(2):117-28.
- 54) Lee HC., Ladd C., Scherczinger CA., Bourke MT. Forensic Applications of DNA Typing. Part II: Collection and Preservation of DNA Evidence. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 1998;19(1):10–18.
- 55) Lee HC., Ladd C. Preservation and Collection of Biological Evidence. *Croatian Medical Journal*, 2001; 42(3): 225–228.
- 56) Oorschot R.H, Ballantyne K.Y and Mitchell R.J. Forensic trace DNA: a review. *Investigative Genetics*, 2010; 1(14) : 1-17
- 57) Rudin N., Inman K. An introduction of forensic DNA analysis 2nd edition. Boca Raton: CRC Press, 2002; pp 97-131.
- 58)Esen Melez İ. Adli Genetiğe Giriş, İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi, 2013.
- 59) Gill P., Kirkham A. Development of a simulation model to assess the impact of contamination in casework using STRs. *J Forensic Sci*, 2004; 49(3): 485-491.
- 60) Newton M. The forensic aspects of sexual violence. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 2013; 27: 77–90
- 61) Alaeddini R., Walsh S.J. and Abbas A. Forensic implications of genetic analyses from degraded DNA—A review. *Forensic Science International: Genetics* 4, 2010; 148–157. doi:10.1016/j.fsigen.2009.09.007
- 62) Rudin N., Inman K. An introduction of forensic DNA analysis 2nd edition. Boca Raton: CRC Press, 2002; pp 97-131.
- 63) Karadayı B., Karadayı Ş. ve Sezgin N. Biyolojik Delillerin Tespitinde Kullanılan Tarama ve Doğrulama Testleri ve Bu Konudaki Son Gelişmeler. *Türkiye Klinikleri J Foren Sci Leg Med.*, 2018; 15(2): 80-92
- 64) Karaca M.(Ed.).Adli DNA Analiz Teknikleri. (2009). s. 97-105. T.C. İçişleri Bakanlığı Emniyet Genel Müdürlüğü KPL Dairesi Başkanlığı Yayınları. Yayın No: KPL-BYL-001, EGM idari ve Mali İşler Dairesi Başkanlığı Basımevi Şube Müdürlüğü, Ankara
- 65) <http://geneticeeducation.co.in/different-types-of-dna-extraction-methods/> (Son Erişim. 06.08.2019)

- 66) Koh CM. Isolation of Genomic DNA from Mammalian Cells. Abelson JN and Simon MI Editors. METHODS IN ENZYMOLOGY. California: Pasadena, 2013; 529, pp:161-169
- 67) Küçükodacı Z. Nükleik Asitlerin Saklama Koşulları. 22. Ulusal Patoloji Kongresi. 7 Kasım 2012. Manavgat.
- 68) Mullis K.B. PCR and Scientific Invention. The Trial of Du Pont U.S. Cetus. The National Academy of Science, 1994; 74: 560-564
- 69) Dixit R., Bisen K., Kumar A., Borah A., Keswani C. Polymerase Chain Reaction. Keswani C. Editor. LAB MANUAL ON MOLECULAR BIOLOGY. Delhi: Media Associates, 2016; pp:51-60
- 70) https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/49987/mod_resource/content/0/kapiller%20elektroforez.pdf. (Son Erişim 17.08.2019)
- 71) Mason F, Lodrick Z. Psychological consequences of sexual assault. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology ,2013; 27: 27–37
- 72) Yalçın M.A. ve Öztürk E. Cinsel Saldırı Suçu Mağduru Kadınlara Karşı Toplumsal Tutumlar ile Adil Dünya İnancı ve Çelişik Duygulu Cinsiyetçiliğin İlişkisi. Türkiye Klinikleri J Foren Sci Leg Med., 2018; 15(2):43-51
- 73) Stene L.E., Ormstad K. ve Schei B. Implementation of medical examination and forensic analyses in the investigation of sexual assaults against adult women: A retrospective study of police files and medical journals. Forensic Science International, 2010; 199: 79–84
- 74) Kulstein G., Schacker U., Wiegand P. Old meets new: Comparative examination of conventional and innovative RNA-based methods for body fluid identification of laundered seminal fluid stains after modular extraction of DNA and RNA. Forensic Science International: Genetics, 2018; 36: 130–140
- 75) Nolan A., Speers S. J., Murakamib J., Chapmana B. A pilot study: The effects of repeat washing and fabric type on the detection of seminal fluid and spermatozoa. Forensic Science International, 2018; 289: 51–56
- 76) Brayley-Morris H., Sorrellb A., Revoirc A. P., Meakina G. E., Courtc D. S., Morgana R.M. Persistence of DNA from laundered semen stains: Implications for child sex trafficking cases. Forensic Science International: Genetics, 2015; 19: 165–171
- 77) Newton M. The forensic aspects of sexual violence. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 2013; 27: 77–90.

- 78) Noël S., Lagacé K., Raymond S., Granger D., Loyer M., Bourgoin S., Jolicoeur C., Séguin D. Repeatedly washed semen stains: Optimal screening and sampling strategies for DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics*, 2019; 38: 9–14
- 79) Kobus HJ., Sileniaks E. ve Scharnberg J. Improving the Effectiveness of Fluorescence for the Detection of Semen Stains on Fabrics. *Journals Forensic Scienc.*, 2002; 47: 4
- 80) Virkler K, Lednev I.K. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci. Int.*, 2009; 188: 1-17
- 81) Kılınç N., Güngördü H.İ. Seroloji: Kan ve Vücut Sıvılarının Analizi .[ppt. Dosyası]
Alıntı: web.itu.edu.tr/~ozcanm/kim/seroloji.ppt
- 82) Ogawa H., Hiroshige Y., Yoshimoto T., Ishii A., Yamamoto T. STR Genotyping from a Dry-Cleaned Skirt in a Sexual Assault Case. Case report *Criminalistics. Journal of Forensic Science*. 2017; doi: 10.1111/1556-4029.13698
- 83) QIAamp[®]-DNA-Investigator-Handbook-- Isolation of Total DNA from Sexual Assault Specimens. 2012; pp:47-50. QIAGEN[®], Germany
- 84) Allsheng Nano-400 Micro-Spectrophotometer Technical Data
<http://www.allsheng.com/Products/Nano400.html> (Son Erişim. 27.08. 2019)
- 85) GlobalFiler™ PCR Amplification Kit User Guide, 2016; Applied Biosystems[®], USA
- 86) Veriti™ 96-Well Thermal Cycler User Guide, 2010; Applied Biosystems[®], USA
- 87) 3500 / 3500xL Genetic Analyzer, 3500 Series Software 2 User Guide, 2013; Applied Biosystems[®], USA



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU BAŞKANLIĞI

SAYI: 61351342-/ 2019-340

30/06/2019

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Tuğba ÜNSAL
(Aysun GÜNGÖR)

Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 30/06/2019 tarihinde yapılan 06 No.lu toplantısında “**Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi**” adlı araştırma projenizin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Cumhuri TAŞ
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

**ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	“Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi”
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Öğr.Üyesi Tuğba ÜNSAL
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Adli Bilimler-Genetik
	YARDIMCI ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Aysun GÜNGÖR

KARAR BİLGİLERİ	Toplantı No: 06 Karar No: 02	Tarih: 30/06/2019
	Yukarıda bilgileri verilen girişimsel olmayan araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik açıdan sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

**ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Doç. Dr. Cumhuri TAŞ					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Doç. Dr. Cumhuri TAŞ	Psikiyatri/Sinirbilim	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr.Üyesi Meltem NARTER	Psikoloji	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Abulfaz SÜLEYMANOV	Sosyoloji	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr.Üyesi Asil ÖZDOĞRU	Psikoloji	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr.Üyesi Çiğdem Yavuz GÜLER	Psikoloji	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr.Üyesi Fatma Duygu KAYA YERTUTANOL	Psikiyatri	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Üyesi Mesut KARAHAN	Biyokimya	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Defne KAYA	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr.Gör.Nuri BİNGÖL	İş Sağlığı ve Güvenliği	Üsküdar Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının

*:Toplantıda Bulunma

Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Cumhuri TAŞ



BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ (BGOF)

ÇALIŞMANIN ADI: Yıkanmış Semen Lekelerinden DNA Elde Edilmesi

Aşağıda bilgileri yer almakta olan bir araştırma çalışmasına katılmamız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını, bilgilerinizin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neleri içerdiğini, olası yararları ve risklerini ya da rahatsızlık verebilecek yönlerini anlamamız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılma kararı verirsiniz, **Çalışmaya Katılma Onayı Formu**'nu imzalayınız. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Çalışmaya katıldığınız için size herhangi bir ödeme yapılmayacak ya da sizden herhangi bir maddi katkı istenmeyecektir. Araştırmada yapılabilecek tüm harcamalar araştırmacı tarafından karşılanacaktır.

ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI : Adli Bilimlerde kişilerin kimliklendirilmesi en önemli basamaklardan biridir. Cinsel saldırılarda mağdura ait çamaşırdaki şüphelinin DNA sını bulunması, olayın çözülmesinde ve soruşturmanın devamında verilecek ceza açısından büyük önem taşır.

Saldırı sonrasında mağdurlar da suçlular da genel olarak temizlenme eğiliminde olurlar ve gerek kendileri, gerekse üzerinde bulunan eşyaları yıkayarak delillerin ortadan kalkmasına sebep olabilirler.

Bu çalışma sonucunda; Katılımcılardan alınan örnekler ile farklı kumaş türlerine yapılacak lekeleme ve çamaşır makinesinde farklı sıcaklıklarda yıkanmış olan lekelerden izole edilen DNA miktarına bakarak kumaş çeşidi, yıkama sıcaklığı ve izolasyon yöntemi değerlendirilecek, tecavüz olgularında farklı sebeplerle adli makamlara hemen başvuramamış ve çamaşırları yıkanmış olan mağdurlar için yıkanmış da olsa çamaşırlarından DNA elde edilip edilemeyeceği ve bu DNA ile adli genetik kimliklendirmenin mümkün olup olmayacağı sorusuna cevap aranacaktır.

ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına bağlıdır. 6698 sayılı kanununun 11. Maddesi uyarınca öğrenme, bilgi talep etme, düzeltilmesini talep etme ve verileri yok etme hakkınız bulunmaktadır. Araştırmaya katıldığınızda, araştırmanın herhangi bir aşamasında bir gerekçe göstermeksizin ayrılabilirsiniz. Bunun için herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalması söz konusu değildir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılması bildirilebilir.

Alınan kişisel veriler, hukuka ve dürüstlük kurallarına, bilimsel çalışma kurallarına uygun olarak, işbu proje kapsamında ve projenin yapılması amacı ile sınırlı ve ölçüde anonim olarak kullanılacaktır. Kişisel veriler işbu projenin yapıldığı bitirilmesi için gerekli olan süre ile sınırlı olarak muhafaza edilecektir. Kişisel veriler projenin sona ermesini müteakip proje yürütücüsü tarafından silinecek veya anonim hale getirilecektir.

Sizden araştırma ile ilgili herhangi bir para talebinde bulunulmayacağı gibi kendisine de ödeme yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumundan (SGK)dan herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Araştırmanın sizin açısından hedeflenen herhangi bir klinik yararını bulunmamaktadır.

Araştırma konusu ile ilgili ve sizin araştırmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde siz ya da yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.

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.

Bu çalışmaya katıldığınız takdirde size doldurmanız gereken bir kişisel bilgi formu verilecektir. Kişisel bilgi formu çalışmacı tarafından hazırlanmıştır. Sizden, alınacak semen örnekleri ile farklı kumaş türlerine lekeleme yapılacaktır. ve çamaşır makinesinde farklı sıcaklıklarda yıkanmış olan lekelerden izole edilen DNA miktarına bakarak kumaş çeşidi, yıkama sıcaklığı ve izolasyon yöntemi değerlendirilecek, tecavüz olgularında farklı sebeplerle adli makamlara hemen başvuramamış ve çamaşırları yıkanmış olan mağdurlar için yıkanmış da olsa çamaşırlarından DNA elde edilip edilemeyeceği ve bu DNA ile adli genetik kimliklendirmenin mümkün olup olmayacağı sorusuna cevap aranacaktır.



ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?

Bu çalışma ile ülkemizdeki adli bilimler alanının gelişmesi için katkı sağlamış olacaksınız.

KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?

İsim, soy isim veya şahsınızı deşifre edebilecek hiçbir bilgi kullanılmayacak ve açıklanmayacaktır. Örneklerin tamamına yakın bir kısmı çalışmada kullanılacağından örnekleriniz herhangi bir başka çalışma için kullanılmayacaktır. Çalışma sona erdikten sonra sizden alınan örnekler ve kişisel verileriniz tarafımızca usulüne uygun olarak imha edilecektir.

SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :

Aysun GÜNGÖR (Yüksek Lisans Öğrencisi)
Cep Telefonu: 0508 552 14 87

Çalışmaya Katılma Onayı

Yukarıdaki bilgileri ilgili araştırmacı ile ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Araştırmacı, saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Telefon:</i>		

<i>Vasi (var ise) Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Telefon:</i>		

<i>Araştırmacı² Adı Soyadı:</i>	Aysun GÜNGÖR	<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>	Barbaros Hayrettin Paşa Mahallesi 1999. Sk. Bankkent St. A3 Blok D:17 Esenyurt/İSTANBUL 0508 552 14 87	

1: Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2: Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi

ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

ADI, SOYADI:	Aysun GÜNGÖR
DOĞUM TARİHİ ve YERİ:	31.12.1987 Bakırköy
HALEN GÖREVİ: Yüksek Lisans Öğrencisi	
ADRESİ: Barbaros Hayrettin Paşa Mahallesi 1999. Sokak Bankkent Sitesi A3 Blok D:17 Esenyurt/İstanbul	
TELEFON: 0506 552 14 87	
E-MAIL: aysungungor8@gmail.com	

2. EĞİTİM

YILI	DERECESİ	ÜNİVERSİTE	ÖĞRENİM ALANI
2004-2008	Lisans	Trakya Üniversitesi	Biyoloji
2012-2014	Ön Lisans	Atatürk Üniversitesi	İş Güvenliği Uzmanlığı

3. YETKİNLİKLER

Proje Döngüsü Yönetimi Eğitim Programı Sertifikası – 2018