



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEN RENGİ TAYİNİNDE SLC45A2 GEN POLİMORFİZMİ

Biyomüh. HÜMA ERKOÇ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Kaan Yılcıoğlu

İSTANBUL-2018

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
ADLİ GENETİK BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEN RENGİ TAYİNİNDE SLC45A2 GEN POLİMORFİZMİ

Biyomüh. HÜMA ERKOÇ

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Kaan Yılcıoğlu

İSTANBUL -2018

EK 1. TEZ ONAY SAYFASI



T.C.
ÜSKÜDAR
ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI

Bağcılar, Keleşli, Adli Bilimler..... ENSTITÜSÜ

GENEL BİLGİLER

Öğrenci No	: 164501068
Öğrenci Adı Soyadı	: Hüma Erkoç
Anabilim Dalı	: Adli Bilimler
Tez Danışmanı	: Dr. Şpr. Üy. Koen YILANCIOĞLU
Tezin Başlığı	: Ten Rengi Tayininde SLC45A2 Gen Polimerizmi

Toplantı Tarihi	: 24.10.2018	Saati	: 09:00
-----------------	--------------	-------	---------

Öğrenci Savunmaya : 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.

- Yapılan savunma sınavında adayın tez çalışması başarılı bulunarak **KABUL** edilmesine,
 Yapılan savunma sınavı sonunda tez çalışmasının **DÜZELTİLMESİNE**, düzeltme için adaya ay **EK SÜRE** verilmesine (en fazla 3 ay)
 Yapılan savunma sınavının sonunda tezin **REDEDİLMESİNE**

OY BİRLİĞİ **OY ÇOKLUĞU**

İle karar verilmiştir.

Savunmada Tezin Başlığı : Değişmedi Değişti

Tezin Yeni Başlığı : Değişmedi

Öğrenci Savunmaya : 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,

OY BİRLİĞİ İLE REDDEDİLMİŞTİR.

Tez Sınavı Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Sevil ATAJOY	
Danışman Üye	Dr. Şpr. Üy. Koen YILANCIOĞLU	
Üye	Doc. Dr. Emel TİMUCİN	
Üye	Dr. Şpr. Üy. Tuğba ÜNSAL	
Üye	Dr. Şpr. Üy. Pinar ÖZ	

[Tüm durumlarda jüri üyelerinin tez değerlendirmeye raporları gerekir.]

Sayı No :

Tarih : 24 / 10 / 2018

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.

Anabilim Dalı Başkanı
(Unvanı, Adı Soyadı, İmza)

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
TABLolar DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 İnsan Teni/ Derisi	2
2.1.1 Epidermis	2
2.1.2 Dermis	2
2.1.3 Deri Altı Doku	3
2.2 Ten Rengi	3
2.2.1 Ten Rengi Tarihsel Evrimi	3
2.2.2 Dünya Ten Rengi Dağılımı	4
2.3 Pigmentasyon	5
2.3.1 Genetik Polimorfizm	6
2.3.2 Adli Bilimlerde SNP'lerin Kullanılması ve Avantajları	7
2.3.3 Adli Bilimlerde Pigmentasyon Tahmini İçin Kullanılan Genler	7
2.4 Adli DNA Fenotiplemesi	9
2.4.1 Pigmentasyon Özelliklerinin Adli Bilimlerde DNA'dan Tahmin edilmesi	9
2.5 Fitzpatrick Renk Skalası	12
2.5.1 Adli Bilimlerde Fitzpatrick Renk Skalası Kullanılması	13
2.6 Kırmızı, Yeşil, Mavi (KYM) Renk Düzeni	13
2.6.1 Adli Bilimlerde KYM Ren Düzeni Kullanılması	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1 Örneklem Grubunun Seçilmesi ve Biyolojik Örneklerin Toplanması	14
3.2 Etik Koşullar	14
3.3 Laboratuvar	14
3.3.1 Kullanılan Kimyasallar	14
3.4 Ten Rengi Sınıflandırılması ve Renk Skalası	15
3.5 Fotoğraf Çekimi ve Renk Ölçümleri	16
3.6 Seçilen Gen Bölgesi ve SNP'ler	16

3.7 DNA İzolasyonu	17
3.8 DNA'nın Miktar Tayini ve Görüntülenmesi	18
3.9 Primer Tasarlanması	18
3.10 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	19
3.11 PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi	20
3.12 PZR Ürünlerinin Elektroforezi ve Sanger Sekanslama	22
3.13 Verilerin Analizi ve Sonuçların Değerlendirilmesi	22
4. BULGULAR	23
4.1 SLC45A2 Geni rs13289 SNP Bölgesi Ten Rengi Tayini	25
4.2 SLC45A2 Geni rs16891982 SNP Bölgesi Ten Rengi Tayini	26
4.3 rs16891982 ve rs13289 SNP Bölgeleri Ortak Ten Rengi Tayini	27
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	31
7. KAYNAKLAR	32
Ek 2 Beyan Formu	35
Ek 3 Etik Kurul Kararı	36
Ek 4 Özgeçmiş	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	Adenin
C	Sitozin
G	Guanin
T	Timin
dATP	Deoksiadenozin trifosfat
dCTP	Deoksisitozin trifosfat
ddNTP	Dideoksiribonükleotid trifosfat
dGTP	Deoksiguanin trifosfat
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
dTTP	Deoksitimin trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	Red (Kırmızı)
G	Green (Yeşil)
B	Blue (Mavi)
SLC45A2	Solute carrier family 45 member 2
bp	Baz Çifti
DHI	dihidroksiindol
DHICA	5,6-dihidroksiindol-2-karboksilik
sn	Saniye
µl	Mikrolitre
mL	Mililitre
g	Gram
UV	Ultraviyole
KYM	Kırmızı, Yeşil, Mavi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Yeniden ölçeklendirilen ten rengi sınıflandırması ve renk skalası

Tablo 2 Seçilmiş SNP'lerin genel özellikleri

Tablo3 Tasarlanmış primerlar ve özellikleri

Tablo 4 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için kullanılan bileşenler ve miktarları

Tablo 5 Thermal cycler döngü koşulları

Tablo 6 Açık ve Buğday ten rengi KYM renk dağılımı

Tablo 7 SLC45A2 (rs13289) ten rengi tayini – ortalama KYM değerleri grafik üzerinde gösterimi

Tablo 8 SLC45A2 (rs16891982) ten rengi tayini – ortalama KYM değerleri grafik üzerinde gösterimi

Tablo 9 rs13289 SNP bölgesi genotip- fenotip dağılımları

Tablo 10 rs16891982 SNP bölgesi genotip- fenotip dağılımları

Tablo 11 Fitzpatrick ölçeğine göre rs16891982 ve rs13289 SNP bölgeleri genotip- fenotip karşılaştırılması

Tablo 12 SLC45A2 gen polimorfizmi bulunan P değerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Dünya genelinde ortalama pigmentasyon seviyeleri

Şekil 2 HirisPlex DNA test sistemi web arayüzü

Şekil 3 Snapshot Adli DNA fenotipleme sistemi

Şekil 4 Fitzpatrick renk kalası

Şekil 5 Ten renklerinin imaj j programında görüntülenmesi

Şekil 6 SLC45A2(rs 13289) PCR jel görüntüsü

Şekil 7 SLC45A2(rs 16891982) PCR jel görüntüsü

Şekil 8 Açık ten rengine sahip bireylerin ortalama KYM değerleri

Şekil 9 Buğday ten rengine sahip bireylerin ortalama KYM değerleri

Şekil 10 rs13289 SNP bölgesi G ve C genotipine sahip bireylerin ortalama ölçüm değerleri ve ten renkleri

Şekil 11 rs16891982 SNP bölgesi G ve C genotipine sahip bireylerin ortalama ölçüm değerleri ve ten renkleri

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında, ilgisi ve önerileri ile yol gösterici olan Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Sevil Atasoy'a, birikim ve tecrübeleri ile bana destek olan değerli danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Kaan Yıllancıoğlu'na

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen değerli arkadaşlarım Hamide Sümeyye Bozkurt ve Mert Sönmez'e;

Sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım...

ÖZET

İnsan ten rengi tamamen kalıtsal olarak aktarılır ve bu aktarım fenotipe yansımaktadır. Göz ve saç renginin tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tarafından yüksek doğrulukla önceden tahmin edilebilmesine rağmen ten renginin genetik yapısıyla ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmada daha önce insan ten pigmentasyonu ile ilişkisi belirlenmiş SLC45A2 geni üzerinde tanımlı iki Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) bölgesinden 14 birey üzerinde genotiplendirme yaparak ten rengi tahmin değeri araştırılmıştır. Öncelikle bireylerin ten renkleri ortalama Kırmızı, Yeşil, Mavi (KYM) değerlerini ölçebilmek için fotoğraf çekimi yapıldı. Renk sınıflandırılması için Fitzpatrick renk ölçeği tip 1, tip 2, tip 3 ve tip 4 renk ölçekleri kullanılarak ten renkleri açık veya buğday olarak sınıflandırıldı. Ağız içi sürüntü numuneleri swab yardımıyla alınan gönüllü bireylerin DNA'ları kullanılarak genotiplendirme yapıldı. Ölçeklendirilen ten renkleri ile genotiplendirme analiz sonuçları değerleri chi-kare (X^2) ve Mann Whitney testleri kullanılarak değerlendirildi. SLC45A2 rs 13289 polimorfizmi buğday ten rengi polimorfizmi gösterdi. SLC45A2 rs16891982 polimorfizmi ise açık ten rengi polimorfizmi gösterdi. Genel olarak genotipe uygun olarak fenotipik ten rengi yansımalarının SLC45A2 gen polimorfizmi ile uyumlu olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre SLC45A2 geni rs13289 ve rs16891982 SNP bölgeleri Adli Genetik'te ten rengi tayini açısından kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak bu çalışma öncü niteliğinde olup tam bir sonuç elde etmek için Türkiye popülasyonunda en az 200 kişide bu SNP bölgelerinin çalışılması ve alel frekanslarının hesaplanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adli Bilimler, Adli Genetik, Ten rengi tayini, Pigmentasyon, SLC45A2, SNP Polimorfizmi.

ABSTRACT

Human skin color is highly heritable and this is reflected to the phenotype. There is limited information on the genetic structure of skin color but eye and hair color can be predicted with high accuracy by single nucleotide polymorphisms (SNPs). Here, we investigate the skin color predictive value of 2 single nucleotide polymorphisms (SNPs) from SLC45A2 genetic loci. We use DNAs taken by buccal swab from 14 volunteers and their skin colors classified as pale or intermediate. Firstly, volunteers photos were taken for measure the RGB mean values of skin colors. For skin color classifying Fitzpatrick scale type 1, type 2, type 3 and type 4 skin colors were used and rescaled as pale or intermediate. Genotyping was performed using the DNA of the volunteers who received buccal swab samples. Classified skin colors and genotyped DNAs analysis results were evaluated with using chi-square (χ^2) and Mann Whitney U tests. SLC45A2 rs13289 polymorphism showed intermediate skin color and also rs16891982 polymorphism showed pale skin color. All in all, phenotypic skin color reflections consistent with the genotype were observed to be compatible with the SLC45A2 gene polymorphism. These results shows that the rs13289 and rs16891982 SNPs can be used in the Forensic genetic. However, this study is lead the field in Turkiye. For a successful results at least 200 people need to study these SNP regions and calculate allele frequencies.

Keywords: Forensic Science, Forensic Genetics, Skin Color Prediction, Pigmentation, SLC45A2, SNP Polymorphism.

1. GİRİŞ

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) gibi genetik varyasyonlar, göz, saç ve ten pigmentasyonları dahil olmak üzere bireylerin fenotipik özellikleri hakkında bilgi sağlayabilir. Pigmentasyon, genlerin yanı sıra çevresel faktörlere bağlı karmaşık bir özelliktir. Pigmentasyonu oluşturan melanin; gözün, saçın ve tenin ana pigmentidir. Melanozom olarak adlandırılan melanositler içindeki organelde depolanır. Üretimi birtakım genler ve hormonlar tarafından gerçekleştirilir. Pigmentasyondaki farklılıklar, melanozomların sayısındaki, büyüklüğündeki, bileşimindeki ve dağılımındaki değişimlerden kaynaklanır ve dünyadaki bireyler arasında görülebilen göz, saç ve ten renklendirmesinin çeşitli kombinasyonlarını etkiler (Jablonski 2004).

Son dönemlerde adli genetik çalışmaları göz, saç ve ten renginin fiziksel özelliklerini tahmin etmek için DNA bazlı araçlar geliştirilmesi amacıyla insan pigmentasyon varyasyonlarına odaklanılmıştır ve bir dizi aday gen ortaya konmuştur (Walsh ve ark., 2014). Bu genlerden biri olan SLC45A2 (solute carrier family 45 member 2); melanin sentezine aracılık eden taşıyıcı proteini kodlar ayrıca melanositler adı verilen özel hücrelerde bulunan bir proteinin yapılması için talimatlar sağlar. Bu hücreler, cilt, saç ve göz rengini veren madde olan melanin pigmentini üretirler (Walsh ve ark., 2014).

Bu çalışmada amacımız, SLC45A2 geni rs16891982 ve rs13289 SNP varyasyonlarının, Türkiye'de adli bilimler ten rengi tahmininde kullanılabilirliğini araştırmak ve genotipik özelliklerin fenotipik özelliklerini etkilediğini göstermek. Elde edilen veriler sayesinde adli bilimlerde DNA'dan ten rengi belirlenmesinde bir kaynak oluşturulacaktır. 14 gönüllü bireyin DNA verileri ile gerçekleştirilmiş olan bu çalışma Avrupa popülasyonunda en çok karşılaşılan rs13289 ve rs168919 SNP bölgelerindeki polimorfizmlerine bakılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İnsan Teni/ Derisi

Deri, vücudun en büyük organıdır. Yetişkin bir bireyde yaklaşık 3,6 kg ve 2 metrekaredir. Vücudu aşırı sıcaklıklara, güneş ışığına ve zararlı kimyasallara karşı korur ve enfeksiyonu önler. Kalsiyumun sağlıklı kemiklere dönüştürülmesi için D vitamini üretebilen anti bakteriyel maddeler üretir. Aynı zamanda, Beyini dış dünyayla temas halinde tutmak için sinirlerle dolu devasa bir sensördür (Proksch ve ark., 2008).

Deri üç doku katmanından oluşur; Epidermis, dermis ve deri altı doku.

2.1.1. Epidermis

Kalınlığı yaşa, cinsiyete ve kişi yapısına göre farklılıklar göstermektedir (Stücker ve ark., 2002). Hiçbir kan damarı içermez. En derin katmanındaki hücreler, etrafındaki hücrelerden yayılan oksijen veya dermisin en dış katmanından uzanan kılcal kan damarları tarafından beslenir. Epidermisin ana hücresi %95 keratinositlerdir fakat melonsitler, Merkel hücreleri, Langerhans hücreleri ve inflamatuvar hücreleri de bulunur. Kan kapillerleri epidermisin altında bulunur ve bir arteriol ve bir venüle bağlanır (McGrath ve ark., 2004).

Epidermis, mitoz sırasında oluşan kornifiye tabaka, Granül Tabaka, Spinöz Tabakası ve Bazal Tabaka olmak üzere beş katmana bölünür (Elias,2007). Farklılaşma ve keratin ile dolu hale geldikçe şekil ve bileşimi değişen tabakaları yukarı taşırlar. Sonunda stratum corneum olarak adlandırılan üst tabakaya ulaşırlar ve dışarı doğru sarkarlar. Bu sürece keratinizasyon denir ve haftalar içinde gerçekleşir. (Hanukoglu ve ark., 2017).

2.1.2 Dermis

Epidermisin altında bulunan derinin kalın tabakasından ve bağ dokusundan oluşmaktadır (Silverman, 2014). Dermis; fibroblastlar, makrofajlar ve adipositler olmak üzere üç ana hücre tipinden oluşur (Pharma x change, 2018). Dermis, iki deri tabakası arasındaki bağlantıyı güçlendiren papiller bölge, parmak izlerinin kalıplarını belirleyen

dermal papiller ve kollajen, elastik liflerin esneklik sağladığı retiküler bölge olmak üzere üç bölgeden oluşmaktadır (Marks ve ark., 2006).

2.1.3 Deri Altı Doku

Deri altı doku aynı zamanda hypodermis olarak bilinmektedir. Cildin bir parçası değildir. Dermisin altındadır. Cildi, kemik ve kaslara tutturur aynı zamanda kan damarları ve sinir hücreleri ile besler. Gevşek bağ dokusu, yağ dokusu ve elastinden oluşur. Fibroblastlar, makrofajlar ve adipositler ana hücreleridir (Mosby's Medical, 1994).

2.2 Ten Rengi

İnsan ten rengi en açık renklere en koyu kahverengilere kadar çeşitlilik gösterir. Ten rengi bir insanın doğduğu, yaşadığı veya bulunduğu etnik grup hakkında bilgi sahibi olmamızı sağlar (Gonder ve ark., 2007). Araştırmalar gösteriyor ki ten rengi cinsiyetlere göre de farklılık göstermektedir. Yetişkin dişi bireylerin ten renklerinin yetişkin erkek bireylere göre daha açık tonda olduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedeni ise dişilerin hamilelik ve emzirme döneminde vücutlarının daha fazla kalsiyum ihtiyaç duymasındır. Vücut, güneş ışığından D vitamini sentezler, bu da kalsiyumu emmesine yardımcı olur. Dişiler daha açık bir ten rengine sahip olmak için evrimleşmiştir, böylece vücutları daha fazla kalsiyumu emer (Jablonski ve Chaplin, 2000).

2.2.1 Ten Rengi Tarihsel Evrimi

Ten pigmentasyonu ortaya çıkması yaklaşık 1,2 milyon yıl öncesine dayanmaktadır. İlk çağlardaki insanların kuraklığa maruz kaldıkları ve açık havada yaşadıklarından dolayı fazlaca ultraviyole radyasyonuna maruz kaldıkları düşünülmektedir. Bu da güneş ışığına daha fazla maruz kalmadan dolayı deri kendini koruma altına almak için pigmentasyonun ortaya çıkmasını desteklemiştir (Jablonski ve Chaplin, 2010-2017). Fakat, pigmentasyonun epidermal bariyerini arttırarak deriyi koruduğu teorisi onaylanmamıştır (Jablonski ve Chaplin, 2017).

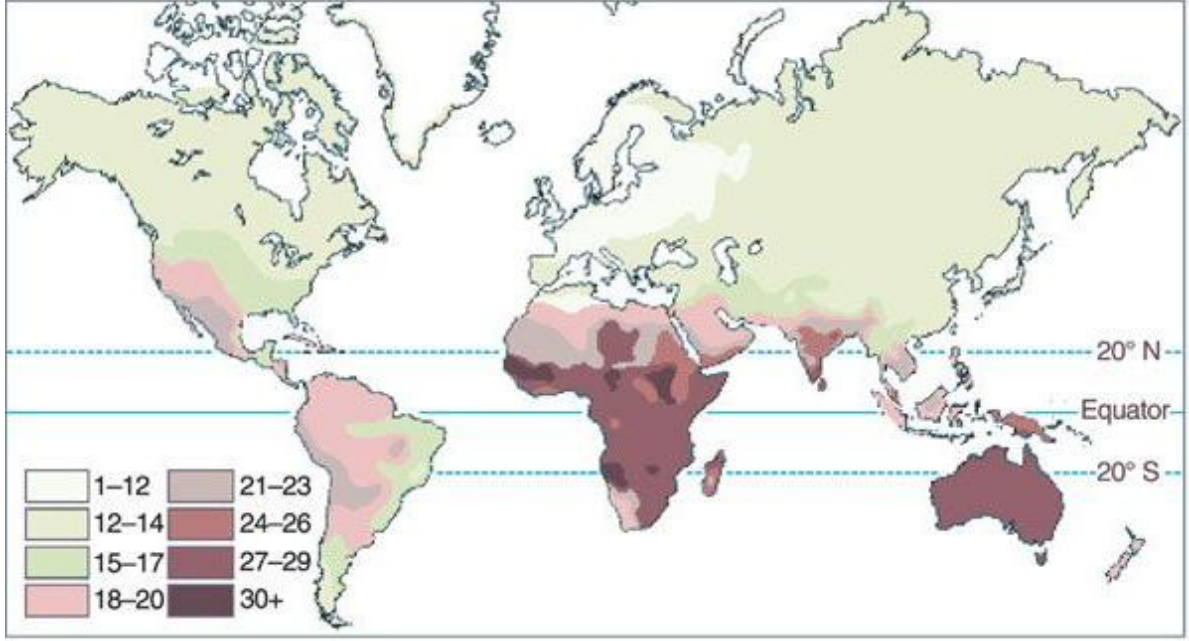
Yaklaşık 100.000 – 70.000 yıl önce, bazı Homo Sapiens popülasyonları daha az güneş ışığına maruz kaldıkları kuzey bölgelerine göç etmeye başladılar. Böylece açık ten rengi varyantlarının ortaya çıktığı düşünülmektedir (Jablonski ve Chaplin, 2000).

Bütün bunlara ek olarak insan ten rengi tarihsel evrimi ile ilgili bazı teoriler bulunmaktadır;

- Yaklaşık 1,2 milyon yıl öncesinden 100.000 yıl öncesine kadar, antik Homo sapiens gibi antik insanlar koyu tenliydi (Jablonski,2004).
- Homo sapiens popülasyonları göç etmeye başladıkça, cildin karanlık kalmasını sağlayan evrimsel kısıtlama, nüfusun göç ettiği kuzeye doğru orantılı olarak azaldı ve bu da kuzey popülasyonlarında bir dizi cilt tonuna neden oldu (Elias ve ark., 2010).
- Bir noktada, bazı kuzey popülasyonları, güneş ışığından D vitamini üretiminin artması ve daha koyu ciltler için genlerin bu popülasyonlardan kaybolması nedeniyle daha açık ciltler için pozitif seçim gerçekleşti (Elias ve ark., 2010).
- Farklı UV ortamlarına geçişler ve popülasyonlar arasındaki karışım, bugün gördüğümüz çeşitli cilt pigmentasyonları ile sonuçlanmıştır (Jablonski and Chaplin, 2017).

2.2.2 Dünyada Ten Rengi Dağılımı

Ekvatora daha yakın olan bölgeler genellikle daha yüksek miktarda UV ışınlar aldıkları için daha koyu tenli popülasyonlar görülmektedir. Ekvatorial bölgelerden uzak ve kutuplara yakın olan bölgeler daha az UV ışınlarına maruz kaldıkları için açık ten rengine sahip popülasyonlar görülmektedir (Jablonski, 2011). Araştırmacılar, son 50.000 yıldaki insan popülasyonlarının, farklı UV ışınlı bölgelerine göç ettikleri için koyu tenliden açık tenlere ve tersine değiştiğini ve pigmentasyondaki bu büyük değişikliklerin 100 kuşak kadar az bir sürede meydana gelebileceğini ileri sürüyorlar (Jablonski ve Chaplin, 2010). Önde gelen teoriye göre ten rengi, güneş ışınlarının UV kısmına karşı koruma sağlayabilmek ve uyum sağlayabilmek için çeşitli mutasyonlar geçirdiği öne sürülmüştür.



Şekil 1 Bu harita, coğrafyacı R. Biasutti'nin eserine dayanarak, dünya genelinde ortalama pigmentasyon seviyelerini göstermektedir. Daha yüksek sayılar koyu ten rengini temsil eder. (Source; D. O'Nei 1940) (nature genetics, 2004)

2.3 Pigmentasyon

Ten, saç ve göz rengimizi belirleyen pigmentasyon hem ebeveynlerin genetik yapısına hem de güneşe maruz kalma ile bağlantılıdır (Michael, 2010). Pigmentasyonun genetik kısmında birçok gen tarafından kontrol edilen melanin pigmenti etkilidir. Melanin, kelime olarak Yunancadan melas yani siyahtan gelmektedir (Jablonski ve Chaplin, 2000). Çoğu organizmada bulunan geniş bir terimdir. Epidermisin bazal tabakasında yer alan melanositler tarafından üretilir. Melanositler iki temel melanin üretirler (Solano, 2014);

- **Eumelanin:** insanlarda en yaygın olarak bulunan melanin formudur. Genellikle kahverengi-siyah ten ve saçlarda bulunur. Çok sayıda çapraz bağlı 5,6-dihidroksiindol (DHI) ve 5,6-dihidroksiindol-2-karboksilik asit (DHICA)

polimerleri içermektedir. Az bulunması albinizm hastalığına neden olur (Solano, 2014).

- **Feomelanin:** Konsantrasyonuna bağlı olarak pembe veya kırmızı renk verir. Özellikle dudak, meme ucu, penis başı ve vajinada yoğun bir şekilde bulunur. Feomelanin de ciltte bulunur ve bu nedenle kızıl bireyler genellikle daha pembemsi bir ten rengine sahiptir. Kimyasal açıdan ise feomelaninler DHI ve DHICA yerine, üretilen benzotiyazin ve benzotiyazol ünitelerini içermesi nedeniyle, eumelaninlerden farklıdır (Solano, 2014).

Melanin, melanozom olarak adlandırılan melanositler içindeki organellerde depolanır. Üretimi birtakım genler ve hormonlar tarafından gerçekleştirilir. Hipofiz hormonları, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve melanosit uyarıcı hormon (MSH) melanosit yapmak için melanositleri uyarır. Hormonlar, bir grup transmembran reseptörüne, melanokortin reseptörlerine bağlanır (Thong ve ark., 2003). Bu sınıfın önemli bir reseptörü Melanokortin 1 Reseptörü (MCR-1)'dür ve melanin üretimi MCR-1 tarafından gerçekleştirilir. Tirozin ve 3,4-dihydroxyphenylalanin (DOPA)'den elde edilir (Solano, 2014). Melanin sentezi melanositte ve tirozinin tirozin hidroksilaz enzimi tarafından hidroksilasyonu ile DOPA'ya dönüşerek başlar (Hsiung ve ark, 2015). DOPA, tirozinaz enzimi oksidasyonu ile DOPAquinone dönüşür. Daha sonra eumelanin ve feomelanin üretilmek üzere polimerizasyon gerçekleşir (Yao ve Qi, 2016). DOPAquinone sentezi sırasında sistein eklenirse feomelanin üretilir (Nishimura ve ark., 2002). Melanin üretildikten sonra, melanozom içindeki paketlenmiş melanin, ekzositoz yoluyla ve dendritler aracılığıyla keratonisitlere taşınır. Algılanan ten pigmenti; melanin tipine, melanositlerdeki melanin yoğunluğuna bağlıdır. Aynı zamanda melanozomların farklı cilt tiplerinde yaptığı düzenleme, boyut ve sayı bakımından farklılıklara da bağlıdır (Laluf ve ark., 2002).

2.3.1 Genetik Polimorfizm

Bir varyasyonun toplumun en az % 1'inde görülmesi ve bireyler arasında farklılıklar oluşturmaya genetik varyasyon denir (Gonzalez, 1999). Bir varyasyonun toplumun %1'inden daha az bireyde görülüyorsa mutasyon olarak adlandırılır. Polimorfizmlerin

bir popülasyonda görülme sıklığı daha fazladır. Genetik polimorfizmler, dış etkenlerden kaynaklı mutasyonlardan, virüslerden veya tesadüfi süreçlerin sonucunda ortaya çıkabilir. (Gonzalez, 1999). Genetik çeşitliliğe neden olan polimorfizmler ve mutasyonlar Mendel kalıtlı yasalarına göre aktarılır.

Adli DNA analizlerinde bilinmeyen kişilerin olay yerinde bulunan biyolojik materyalden polimorfizm çeşidi olan “kısa tekrarlı dizi (STR)” eşleştirmesi yoluyla tanımlanması, adli bilimlerde altın standart olarak kabul edilmiştir (Santos ve ark., 2013). Bununla birlikte karşılaştırmalı DNA profili eşleştirmesi için polimorfizm çeşidi olan “tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)” kullanılmaktadır (Kayser ve Schneider, 2009). Ancak karşılaştırma yapılabilecek DNA profili eşleştirmesi mevcut olmadığı durumlarda şüpheliyi bulmak için SNP genotiplendirilmelerinden fenotip özelliklerini tahmin modelleri oluşturulmuştur (Chaitanya ve ark., 2018).

2.3.2 Adli Bilimlerde SNP’lerin Kullanılması ve Avantajları

STR’lar çok az DNA örneğinden aynı anda birkaç STR lokusunun amplifikasyonu yapılabildiği, multipleks sistemlerle çalışabildiği için tercih edilmektedir fakat DNA’da kodlama yapmayan bölgelerde yer alırlar ve fenotip hakkında bilgi vermezler (Flanagan ve ark., 2000). Adli bilim alanında SNP’lerle duyulan ilgi her geçen gün artmaktadır. Bunun nedeni, SNP’leri adli araştırmalar için uygun hale getiren bir dizi özelliklere sahip olmalarıdır. Birincisi ve ne önemlisi; çok düşük mutasyon oranlarına sahip olmalarıdır. Böylece daha kolay şekilde testler uygulanabilmektedir ve yüksek oranda doğruluk belirtmektedir. İkincisi ise; yeni, yüksek verim sağlayan biyoteknolojik analiz yöntemleri için uygun olmalarıdır (Sobriono ve ark., 2005). Adli bilim için kullanılacak yöntemler yüksek verimlilikte ve düşük maliyette olmalıdır. SNP’lerde daha düşük maliyetle yüksek verimli, doğru sonuçlar elde etmek mümkündür (Sobriono ve ark., 2005).

2.3.3 Adli Bilimlerde Pigmentasyon Tahmini İçin Kullanılan Genler

Saç, göz ve ten rengi özelliklerinin çoğu yarı- Mendel kalıtım yasalarının etkili olduğunu ve önemli bir gen etkisinin olduğunu göstermektedir (Lango Allen ve ark.,

2010). TYR, TYRP1, OCA2, SLC45A2, SLC24A5, MC1R, ASIP, KITLG, HERC2, SLC24A4, IRF4, TPCN2, LYST ve BNC2 genlerindeki SNP'ler insan pigmentasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Walsh ve ark., 2017). TYR, SLC45A2 ve SLC24A5 büyük ölçüde kıtalar arasındaki ten rengi değişimini açıklar (Kenny ve ark., 2012).

MC1R: Melanokortin 1 reseptörü (MC1R) geni esas olarak feomelanin ve eumelaninin insan vücudunda üretilip üretilmediğinin belirlenmesinden sorumludur. Araştırmalar, Afrika ve şempanze örnekleri arasında MC1R'de en az 10 fark olduğunu ve genin yaklaşık 1,2 milyon yıl önce Hominins'de güçlü bir pozitif seçim (seçici bir süpürme) geçirdiğini göstermektedir. Bu, Afrika'da görülen yüksek eumelanin fenotipi ve yüksek UV ışın maruziyetine sahip diğer ortamlar için pozitif seçim ile tutarlıdır (Primorac ve Schanfield ,2014).

SLC45A2: Melanin için bir öncü olan tirozinin taşınmasına ve işlenmesine yardımcı olur. Aynı zamanda karışık popülasyonlarda ten renk değişimi ile doğrudan ilişkilendirilmiş olan Phe374Leu (rs16891982) aleli ile modern Avrupalıların ten renginin önemli bileşenlerinden biri olduğu da gösterilmiştir (Maroñas ve ark., 2014). Bu varyasyon Avrupa ülkelerindeki bütün popülasyonlarda her yerde mevcuttur ve son derece yaygındır. Diğer kıtalarda nadirdir ve güçlü seçim belirtileri gösterir (Walsh, ve ark., 2017).

OCA2: Oculokütanöz albinizm II (OCA2), melanositlerdeki pH'ın düzenlenmesinde yardımcı olur. OCA2 geni türetilmiş His615Arg alelinin, Toronto'da yaşayan bir Doğu Asyalı nüfusun ve bir Çinli Han popülasyonunun çalışmalarında Afrika ve Doğu Asya popülasyonları arasındaki cilt tonu farkının yaklaşık %8'ini oluşturduğu gösterilmiştir. Bu varyant, Doğu Asya'da (%49–63) en yüksek frekanslar, Güneydoğu Asya'daki orta frekanslar ve Batı Çin ve bazı Doğu Avrupa ülkelerindeki en düşük frekanslarla Doğu Asya ile sınırlıdır (Primorac ve Schanfield ,2014).

ASIP: Agouti sinyalleme peptidi (ASIP), alfa-MSH yerine bağlanan ve böylece eumelanin üretimini inhibe eden bir ters agonist gibi davranır. Çalışmalar, ASIP civarındaki iki alelin insanlarda deri rengi varyasyonu ile ilişkili olduğunu bulmuştur. Bir, rs2424984, Kafkas, Afrikalı-Amerikalı, Güney Asya, Doğu Asya, Latin Amerika ve Yerli Amerikan popülasyonları arasında insan fenotiplerinin adli analizinde ten

yansımalarının bir göstergesi olarak tanımlanmıştır ve Afrika dışındaki popülasyonlarda yaklaşık 3 kat daha yaygındır (Maroñas ve ark., 2014). Afrika'da. Diğer allel, 8188G, Afrikalı-Amerikalılarda cilt rengi varyasyonu ile önemli ölçüde ilişkilidir ve atasal versiyon Batı Afrika örneklerinin%80'i ile karşılaştırıldığında Avrupalıların sadece %12'sinde ve Doğu Asya örneklerinin %28'inde görülür (Primorac ve Schanfield ,2014).

SLC24A5: Solven taşıyıcı aile 24 üye 5 (SLC24A5), melanositlerdeki kalsiyumu düzenler ve melanogenez sürecinde önemlidir. SLC24A5 geninden elde edilen Ala111Thr alelinin açık cilt pigmentasyonunda önemli bir faktör olduğu ve Batı Avrasya'da yaygın olduğu gösterilmiştir (Walsh ve ark., 2014). Son çalışmalar varyantın Avrupalılar ve Batı Afrikalılar arasındaki ortalama cilt tonu farkının%25-40'ını temsil ettiğini bulmuştur. Bu türden alel, bir dizi popülasyonda fenotipin güvenilir bir tahmincisidir. Batı Avrasya'da son seçimlere konu olmuş ve Avrupa toplumlarında sabitlenmiştir (Primorac ve Schanfield ,2014).

TYR, TYRP1: melanogenesizin ilk adımını katalize eden tirozinazı kodlar. Varyantları göz, saç ve ten rengi varyasyonu ile ilişkilidir (Kayser, 2015).

2.4 Adli DNA Fenotiplemesi

Adli DNA fenotiplemesi, adli genetik içerisinde yeni bir alan olup, bir suç mahallinde geride kalan DNA'dan bir örnek vericinin görünüm özelliklerini öngörmeyi (Kayser, 2015). Adli DNA fenotiplemesi, DNA profili henüz soruşturma makamları tarafından bilinmeyen ve geleneksel DNA profillemesi ile tespit edilemeyen failleri izlemek için polis soruşturması sırasında yararlı olacağı düşünülmektedir (Kayser, 2015). Bu yüzden Adli DNA fenotiplemeleri adli amaçlı ipucu sağlayıcı için desteklenmelidir.

2.4.1 Pigmentasyon Özelliklerinin Adli Bilimlerde DNA'dan Tahmin Edilmesi

DNA'dan, dışarıdan görünen pigmentasyon özelliklerini tahmin etmek önemli adli etkilere sahiptir. Bu yüzden son dönemlerde adli genetik çalışmaları göz, saç ve ten renginin fiziksel özelliklerini tahmin etmek için DNA bazlı araçlar geliştirilmesi amacıyla insan pigmentasyon varyasyonlarına odaklanılmıştır. Şimdilerde, birçok adli

durumlarda doğruluk payı çok düşük olan ya da adli bilimciler tarafından bulunamayan görgü tanığı yerine genetik testler uygulanabilmektedir (Maroñas ve ark., 2014).

DNA analizör genotiplendirilmesi ile saç, göz ve ten rengi tayini; Belirli bir DNA örneğinin CODIS veritabanındaki herhangi bir kimseyle uyuşmadığı ve verici hakkında başka bir bilginin bulunmadığı durumlarda kullanılmak üzere geliştirilmiş bir yöntemdir. SLC45A2, SLC24A5, MC1R, HERC2, and ASIP genlerinin polimorfizimlerinin saç, göz ve ten rengi tayini etmek üzere yapılmaktadır. Geliştirilerek adli amaçlı kullanılabilceği düşünülmektedir (Valenzuela ve ark., 2010).

HirisPlex DNA test sistemi; eş zamanlı olarak saç ve göz rengi tahmini için 24 farklı SNP genotipleme yapabilmektedir. Oldukça hassas ve sağlam bir multipleks genotipleme yapmaktadır. HirisPlex sistemi validasyon aşamasında olmasına rağmen, adli genetik araştırmalarında göz ve saç rengi tahmini için yüksek bir başarı oranı sağlamıştır (Chaitanya ve ark., 2018). Kolay kullanım amaçlı online <https://hirisplex.erasmusmc.nl/> web arayüzü oluşturmuşlar.

HirisPlex-S Eye, Hair and Skin Colour DNA Phenotyping Webtool

Welcome to the Department of Genetic Identification of Erasmus MC

With the advancement of DNA phenotyping as a tool in Forensic and Anthropological usage, we now provide an easy to use interactive website to predict eye, hair and skin colour from DNA using the IrisPlex, HirisPlex and HirisPlex-S systems.

This work is in collaboration with the Walsh laboratory of Indiana-University-Purdue-University-Indianapolis (IUPUI), USA.

Please see the manual for instructions. We hope you enjoy using this tool and find it a useful addition to your analyses. If you have any issues regarding this website, please contact us at dnaphenotyping...at...gmail...com

The HirisPlex-S System

Gene	SNP	Allele	No. of Alleles
1 MC1R	rs312262906	A	0 1 2 NA
2 MC1R	rs11547464	A	0 1 2 NA
3 MC1R	rs885479	T	0 1 2 NA
4 MC1R	rs1805000	T	0 1 2 NA
5 MC1R	rs1805005	T	0 1 2 NA
6 MC1R	rs1805006	A	0 1 2 NA
7 MC1R	rs1805007	T	0 1 2 NA
8 TUBB3	rs1805009	C	0 1 2 NA
9 MC1R	rs291326893	A	0 1 2 NA
10 MC1R	rs2228479	A	0 1 2 NA
11 MC1R	rs1110400	C	0 1 2 NA
12 SLC45A2	rs28777	C	0 1 2 NA
13 SLC45A2	rs16951982	C	0 1 2 NA
14 KITLG	rs12821256	G	0 1 2 NA
15 LOC105374875	rs4959270	A	0 1 2 NA
16 IRF4	rs12203592	T	0 1 2 NA
17 TYR	rs1042602	T	0 1 2 NA
18 OCA2	rs1800407	A	0 1 2 NA
19 SLC24A4	rs2402130	G	0 1 2 NA
20 HERC2	rs12913832	T	0 1 2 NA
21 PIGU	rs2378249	C	0 1 2 NA
22 LOC105370627	rs12896399	T	0 1 2 NA
23 TYR	rs1983350	T	0 1 2 NA
24 TYRP1	rs683	G	0 1 2 NA
25 ANKRD11	rs3114908	T	0 1 2 NA
26 OCA2	rs1800414	C	0 1 2 NA
27 EWC2	rs19758819	G	0 1 2 NA
28 HERC2	rs2238289	C	0 1 2 NA
29 SLC24A4	rs17128291	C	0 1 2 NA
30 HERC2	rs6497292	C	0 1 2 NA
31 HERC2	rs1129038	G	0 1 2 NA
32 HERC2	rs1667394	C	0 1 2 NA
33 TYR	rs1126809	A	0 1 2 NA
34 OCA2	rs1470808	A	0 1 2 NA
35 SLC24A5	rs1426954	G	0 1 2 NA
36 ASIP	rs6119471	C	0 1 2 NA
37 OCA2	rs1545397	T	0 1 2 NA
38 RALY	rs6059655	T	0 1 2 NA
39 OCA2	rs12441727	A	0 1 2 NA
40 MC1R	rs3212355	A	0 1 2 NA
41 DEF8	rs8051733	C	0 1 2 NA

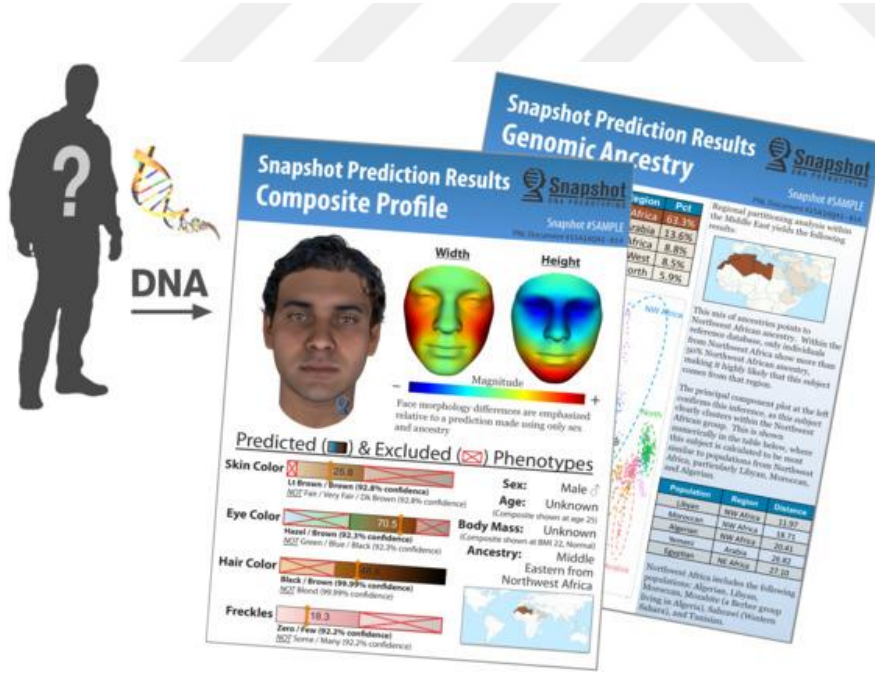
Display Predicted Phenotype Download Predicted Phenotype

Instructions

Şekil 2 HirisPlex DNA test sistemi web arayüzü (<https://hirisplex.erasmusmc.nl/>)

8-plex sistemi; HirisPlex sistemine alternatif olarak geliştirilmiş bir sistemdir. Adli amaçlı İskelet kalıntılarının göz, saç ve ten renklerinin belirleyebilmek için geliştirilmiş bir sistemdir. 8 SNP kullanılarak yapılan sistem genomik DNA'nın verimli kullanımı sağlar, bozulmuş DNA üzerinde uygulanabilir ve ucuzdur (Hart ve ark., 2013).

Snapshot Adli DNA fenotipleme sistemi; herhangi etnik kökenden, karma ataları olan bireylerden genetik soy, göz, saç ve ten rengi, çil ve yüz şeklini kesin olarak öngörmektedir. DNA fenotiplemesi, insanlar arasındaki farklılıkları kodlayan genomun parçalarını okumak için modern SNP teknolojisinden yararlanır. Bilinmeyen bireyin DNA örneğinden gelen SNP bilgisini deri rengi, saç rengi, göz rengi, çil ve hatta yüz morfolojisi gibi ataların ve fiziksel görünüm özelliklerinin tahminlerine dönüştürür. Her fenotip tahmini, yüksek güven ile dışlanabilecekler de dahil olmak üzere, bir güven ölçüsü ile yapılır.(Parabon, 2018)



Şekil 3 Snapshot Adli DNA fenotipleme sistemi (Parabon, 2018)

2.5 Fitzpatrick Renk Skalası

Fitzpatrick Skalası, dermatolojinin babası olarak kabul edilen Thomas Fitzpatrick tarafından 1975 yılında bulunmuştur. İnsan ten rengi için sayısal sınıflandırma şemasıdır. Sınıflandırma cilt tenine ve güneşe maruz kalma tolerans derecesine dayanır ve derideki Melanin pigment miktarı ile ilgilidir. Farklı tiplerdeki tenin UV ışığa tepkisini tahmin etmek için geliştirmiştir. Bu sisteme göre, 1 ila 6 arasında sınıflandırılan altı ten rengi çeşidi vardır (Fitzpatrick, 1975-1988).

Tip 1: Çok açık tenli, sarışın, mavi gözlü, çilli veya kırmızı saçlı insanlardır. Güneşte daima yanarlar fakat bronzlaşmazlar (Fitzpatrick, 1975-1988).

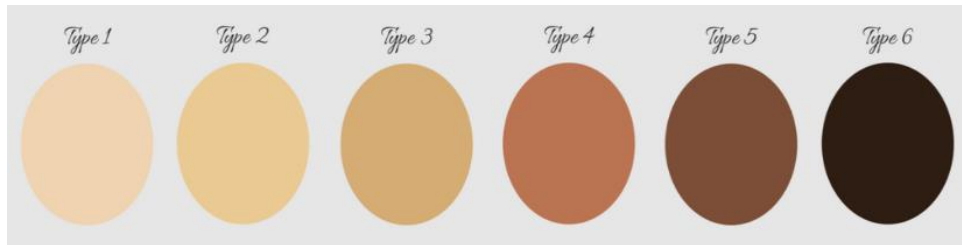
Tip 2: Açık- sarışın ten rengine sahiptirler. Güneşe maruz kaldıklarında çabucak yanarlar ve hafif bronzlaşırlar (Fitzpatrick, 1975-1988).

Tip 3: Buğday tonuna sahiptirler. Güneşe maruz kaldıklarında çillenme olmaz. Hafif güneş yanığı olurlar ve düzgün bir şekilde bronzlaşırlar (Fitzpatrick, 1975-1988).

Tip 4: Esmer ten rengine sahiptirler. Minimal derecede güneş yanığı olurlar ve her zaman bronzlaşırlar (Fitzpatrick, 1975-1988).

Tip 5: Kahverengi ten rengine sahiptirler. Çok nadiren güneş yanığı olurlar ve çok kolay bronzlaşırlar (Fitzpatrick, 1975-1988).

Tip 6: Koyu kahve veya siyah ten rengine sahiptirler. Asla güneş yanığı olmazlar (Fitzpatrick, 1975-1988).



Şekil 4: Fitzpatrick renk skalası (Fitzpatrick, 1975-1988).

2.6.1 Adli Bilimlerde Fitzpatrick Renk Skalası Kullanılması

Son dönemlerde Adli bilimlerde pigmentasyon araştırmalarının çoğalmasıyla birlikte Fitzpatrick renk skalası ve özellikleri ten rengi tahminleri için kullanılmaya başlanmıştır (Walsh, ve ark., 2014; Maroñas ve ark.,2014). Çalışmalarda kullanılan SNP bölgeleri ve araştırma yapılan popülasyonlara göre değişiklik göstererek ten rengi tonları ve tipleri kullanılmaktadır.

2.7 Kırmızı, Yeşil, Mavi (KYM) Renk Düzeni

Kırmızı, Yeşil, Mavi (KYM) genel adıyla Red, Green, Blue (RGB) insan gözünü taklit eden fotoğrafçılıkta, televizyon ve bilgisayar gibi teknolojik aletlerin ekranlarında kullanılacak renkleri temsil eder. Herhangi bir renk elde etmek için çeşitli oranlarda Kırmızı, Yeşil ve Mavi renk karıştırılır. Her bir renk 0 ile 255 arasındaki ondalık sayılar aralığı ile temsil edilir (Charles, 2003).

2.7.1 Adli Bilimlerde KYM Renk Düzeni Kullanılması

Adli genetik; Saç, göz ve ten rengi tahmini araştırmalarında renk kantifikasyonları ve renk yoğunluğu dağılımlarını sayısal olarak ölçebilmek için KYM renk düzeni kullanılmaktadır (Liu ve ark., 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklem Grubun Seçilmesi ve Biyolojik Örneklerin Toplanması

DNA örnekleri için; 18- 80 yaş aralığında, aralarında akrabalık bulunmayan, sağlıklı ve çalışmaya onay veren gönüllülerden oluşan toplam 14 kişiden alınan ağız içi sürüntü numuneleri kullanıldı. Numunelerini almak için özel çubuk olan True Line steril swab kullanıldı. Gönüllü bireylerden biyolojik numuneleri alındıktan sonra kontaminasyonu önlemek amacıyla her bir swab ayrı ayrı paketlenerek üzerine gönüllü bireyin ismi ve biyolojik örnek alınan tarih yazılmıştır.

3.2 Etik Koşullar

Yapılan uygulamalar Helsinki Bildirgesi etik kurallarına uygun olarak yapılmıştır. Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulundan B.8.6.YÖK.2.ÜS.0.05.0.06/2018/716 sayılı 25/06/2017 tarihli gerekli etik kurul onayı alınmıştır.

3.3 Laboratuvar

Çalışmalar; Üsküdar Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik laboratuvarında ve Ankara BM laboratuvar sistemlerinde tamamlanmıştır.

3.3.1 Kullanılan Kimyasallar

- TBE (Tris-borate-EDTA) (Thermo-Fisher Scientific, USA) buffer distile su ile çözülerek kullanılmıştır.
- EtBr (Etidium Bromür) (Invitrogen, USA)
- Agarose (Thermo-Fisher Scientific, USA) distile su ile çözülerek kullanılmıştır.
- DNA Gel Loading Dye (6X) (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- 100 bp DNA Ladder (Invitrogen, USA)
- 10 x PBS (phosphate-buffered saline) (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- Etanol: %70 etanol çözeltisi hazırlanarak kullanılmıştır.

- Proteinaz K (RTA, TR)
- Taq DNA polimeraz (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- Nuclease Free Su (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- Taq DNA Polymerase PZR Buffer (10X) (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- Primerlar (Forward-Reverse) (Macrogen, Avrupa)
- BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Thermo-Fisher Scientific, USA)
- RTA kandan genomik DNA izolasyon kiti (RTA, Türkiye)
- Exo-Sap, Sephadex (Thermo-Fisher Scientific, USA)

3.4 Ten Rengi Sınıflandırılması ve Renk Skalası

Fenotipleme açısından ten rengi sınıflandırılmaları için Fitzpatrick ölçeği kullanılmıştır (Fitzpatrick 1988). 6 sınıftan oluşan Fitzpatrick ölçeği analiz için koyu ten renkleri dışarıda bırakılacak şekilde 2 ana ten rengi kategorisinde yeniden sınıflandırılmıştır. Fitzpatrick ölçeğinin tip 1 ve tip 2 ten rengi tonları birleştirilerek aynı kabul edildi. Tip 3 ve tip 4 tonları birleştirilerek aynı kabul edildi. Bu çalışmada tablo 3'deki gibi açık ve buğday olmak üzere 2 ana ten renginden renk skalası oluşturulmuştur. Ayrıca bu çalışmada rs13289 ve rs16891982 SNP bölgeleri ortak ten rengi tayini için; Fitzpatrick ölçeği tip1, tip2, tip 3 ve tip 4 ten rengi tonları ve özellikleri (Fitzpatrick, 1988) göz önünde bulundurularak yeniden ölçeklendirilmeden değerlendirilmeler yapıldı.

Tablo 1 Yeniden ölçeklendirilen ten rengi sınıflandırması ve renk skalası

Ten Rengi	Renk Tonu	Fitzpatrick Ölçeği	Von Luschan Ölçeği
Açık		Tip 1- Tip 2	0-13
Buğday		Tip 3- Tip 4	14 -27

3.5 Fotoğraf Çekimi ve Renk Ölçümleri

Gönüllü bireylerin ten renklerinin, oluşturulmuş olan renk skalasında bir renk ile eşleştirebilmek ve analizler sonrasında çıkan sonuçlar ile karşılaştırabilmek için fotoğraf çekimi yapılmıştır. Cildine herhangi bir kimyasal işlem (solaryum, ten rengi açma uygulaması vb.) uygulamamış gönüllü bireyler seçilmiştir. Fotoğraflar 8 cm uzaklıktan, kolun ön tarafından 5 cm olarak çekilmiştir (Şekil 7). Fotoğraflar gün ışığında çekilmiştir. Çekilen fotoğraflar “Image j” (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>) programı ile renk ölçümleri yapılmıştır.



Şekil 5 Ten renklerinin imaj j programında görüntülenmesi

3.6 Seçilen Gen Bölgesi ve SNPLer

Kullanılan SNP bölgelerinin seçiminde Chaitanya ve arkadaşlarının 2018 yılında yapmış oldukları (Chaitanya ve ark.,2018), Walsh ve arkadaşlarının 2017 yılında yapmış oldukları (Walsh ve ark., 2017), Maroñas ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları (Maroñas ve ark., 2014) çalışmalardan yararlanılmıştır. Ten rengi ile ilgili olduğu bilinen ve varyasyonlarının Avrupa ülkelerindeki popülasyonların ten renklerinin etkilediği bilinen SLC45A2 gen bölgesindeki rs13289 ve rs16891981 SNP lokuslarındaki mutasyonlar bakıldı. Gerçekleşen bu mutasyonların Türkiye’de oluşturulmuş olan örneklem grubunda ten renginin belirlenmesinde ne gibi varyasyonlara neden olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlar adli bilimler pratiğine uygun olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 2 Seçilmiş SNP'lerin genel özellikleri

SNP	Gen	Alel	Pozisyon
rs13289	SLC45A2	C/G	33986409
rs16891982	SLC45A2	C/G	33951693

3.7 DNA İzolasyonu

14 kişinin ağız içinden alınan swab örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu çalışma RTA kandan genomik DNA izolasyon kiti ağız içi sürüntü örnekleriyle çalışmaya uygun olacak şekilde modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. RTA firmasının önermiş olduğu protokol modifiye edilerek izlenilmiştir. Uygulanan protokol:

1. Gönüllü bireylerin biyolojik örneklerinin bulunduğu yanak için sürüntü eküvyon çubukları 2ml'lik mikrosentrifüj tüpüne yerleştirildi. Üzerlerine 200 µl PBS ekledikten sonra kısa bir vortex yapıldı.
2. 20 µl Proteinaz K eklendi (DNA-protein birleşimindeki proteinlerin peptit bağlarını kırmak için) ve kısa bir vorteks yapıldıktan sonra mikrosentrifüj tüpün içindeki numune bulunan swablar çıkartıldı.
3. 200 µl Solüsyon B eklendi ve 20 sn vorteks yapılarak karıştırıldı.
4. 55°C'de 20 dk inkübe edildi
5. 260 µl etanol eklendi (DNA'nın tüpün içindeki diğer çözeltilerden ayrılması için) ve 20 sn vorteks yapılarak karıştırıldı.
6. Yeni spin kolona aktarıldı ve 5.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Sıvı içeren alttaki tüp atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
7. 700 µl Solüsyon W1 eklendi ve 5.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi.
8. 700 µl Solüsyon W2 eklendi ve 16.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon yeni toplama tüpüne yerleştirildi.

9. 16.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı ve spin kolon steril 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi.
10. 200 µl Solüsyen E 5 dakika 70°C'de ısıtıldı ve mikrosantrifüj tüpün içindeki spin kolona aktarıldı. Oda sıcaklığında 3 dakika bekletildi.
11. 5.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
12. 16.000 x g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
13. Spin kolon atıldı ve ve mikrosantrifüj tüpün içinde bulunan DNA'yı -20°C'de saklandı.

3.8 DNA'nın Miktar Tayini ve Görüntülenmesi

Tüm izolatların Thermo Multiskan Go spektrofotometresinde DNA miktarları ölçüldü.

1. DNA 1:100 oranında nuclease- free su ile seyreltildi.
2. Ölçümlerin doğruluk derecesini kontrol etmek amacıyla ilk önce distile su referans örnek olarak kullanıldı ve spektrofotometrenin ölçeği sıfırlandı.
3. Spektrofotometrenin kuvetine seyreltilmiş DNA solüsyonu koyuldu. 260 nm ve 280 nm dalga boylarında ölçümler yapıldı.
4. DNA miktarı hesabı için; $DNA (\mu g/ml) = Absorbans\ değeri \times sulandırma\ oranı \times 50$ formülü kullanılmıştır.
5. DNA saflığı için $A (260 / 280)$ dalga boyu değerlerine bakılmıştır.

3.9 Primer Tasarlanması

Amplifikasyon için Forward ve Reverse primerleri tasarlandı. Primerlar tasarlanma işlemleri web tabanlı Primer3plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) programı kullanılarak tasarlanmıştır. Tasarlanan primerlar Macrogen firması tarafında sentezlendi. SLC45A2 geni rs 16891982 ve rs 13289 SNP bölgeleri primer listesi Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 3 Tasarlanmış primerlar ve özellikleri

Gen Adı	SNP kodu (NCBI)	Primer Dizisi	Tm (°C)	Uzunluk (bp)
SLC45A2	rs13289	F: 5'- CCG CTC TTG AGG AAA TCA AA - 3'	56.4	20
		R: 5'- TTC CAC ACA CAC AGC TCA GG - 3'	60.5	20
SLC45A2	rs16891982	F:5'- TCC AAG TTG TGC TAG ACC AGA - 3'	59.4	21
		R:5'- CCT CAA CAG CCT CCA ATC TC -3'	60.5	20

3.10 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Bu çalışmada SLC45A2 gen bölgesi rs 16891982 ve rs 13289 SNP lokuslarında genotip tayini yapılmıştır. Daha önceden tasarlanmış olan Forward ve Reverse primer çifti PZR yöntemi ile amplifiye edilmeden önce optimizasyon denemeleri SNP bölgelerinin en yüksek ve en düşük Tm sıcaklıkları baz alınarak yapılmıştır. Bu denemeler sunucunda en iyi protokol tespit edilmiştir. PZR reaksiyonu için Forward ve Reverse primerlerin en iyi bağlanma sıcaklıkları belirlenmiş ve primerler ile PZR reaksiyonu gerçekleştirilirken ilgili bağlanma sıcaklıkları uygulanmıştır.

PZR işlemi T100 Thermal Cycler cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Hedeflenen DNA bölgesi için 39 döngü yapıldı.

PZR protokolü iki basamakta gerçekleştirilmiştir:

a) PZR Bileşenlerinin Hazırlanması:

Tablo 4'deki gibi çalışmada kullanılan 14 örnek için PZR karışımı hazırlanmıştır ve Thermal cycler'a örnekler yerleştirilmiştir.

Tablo 4 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) için kullanılan bileşenler ve miktarları

PZR Bileşenleri	1x Hacim/ Reaksiyon (µl)
Taq DNA Polymerase PZR	5 µl
Buffer	
F Primer	1 µl
R Primer	1 µl
Taq DNA polimeraz	0,5 µl
Nuclease Free Su	15,5 µl
DNA	2 µl (1ng/ µl)
Toplam Hacim	25 µl

b) Thermal cycler Döngüsü:

Tablo 5 Thermal cycler döngü koşulları

Basamaklar	Sıcaklık	Zaman
Başlangıç denatürasyon	95°C'	5 dakika
Denatürasyon	95°C'	1dakika
Bağlanma	56°C	45 saniye
Uzama	72°C	1 dakika
Son uzama	72°C	4 dakika
Döngü Sayısı		39

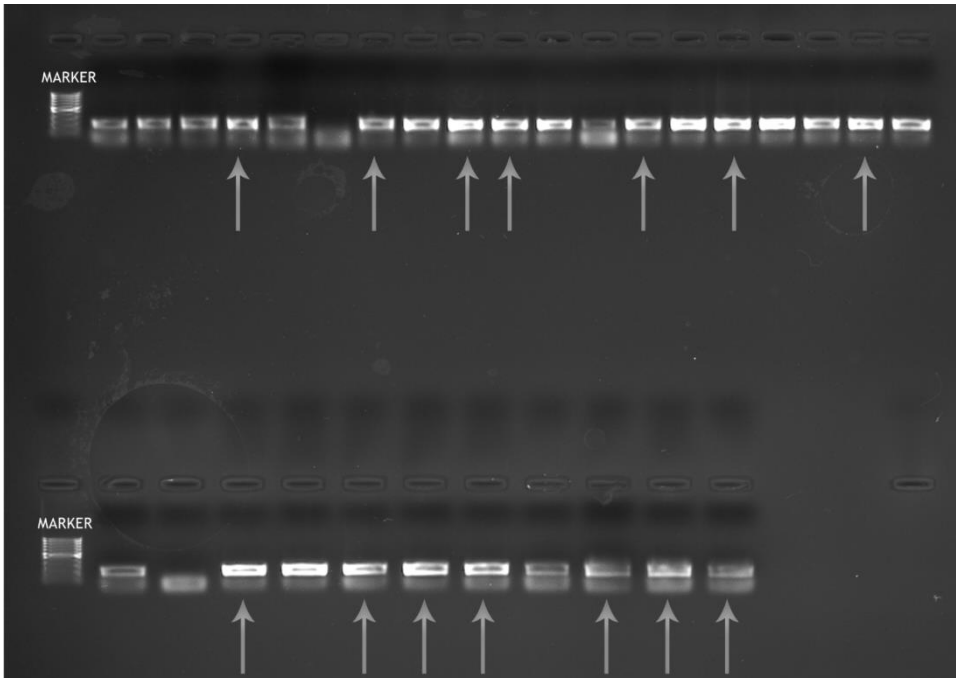
3.11 PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez ile Görüntülenmesi

PZR ürünlerinin doğru bir şekilde amplifiye olup olmadığı %1'lik agaroz jel elektroforez ile belirlendi.

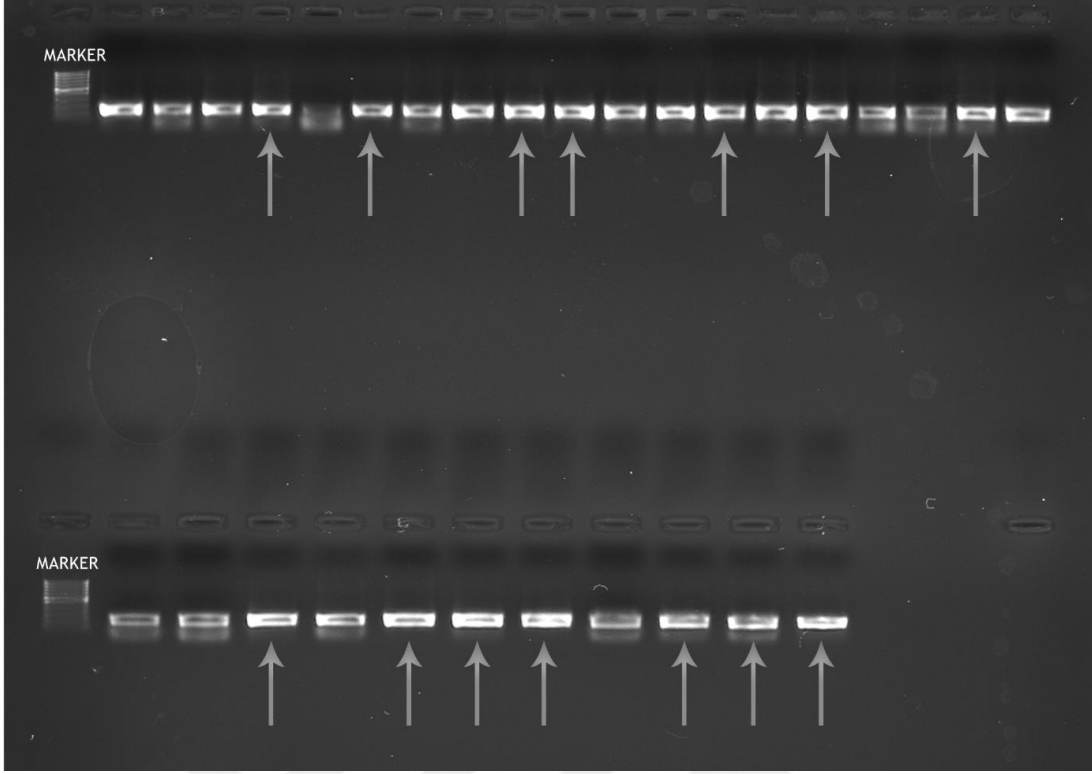
Jelin hazırlanması: 150 ml TBE çözeltisi içerisine 1,5 gr Agaroz tartılarak konuldu. Yaklaşık 3 dakika mikrodalga fırında ağzı yarı kapalı şekilde kaynatıldı. Çeker ocak altında 2 µl EtBr (10 mg/ml) eklendi. Elektroforez jel kalıplarına jel tarakları yerleştirildi ve homojen karışımı içerisine döktükten sonra çeker ocak içinde bir süre jelin katılaşması beklenildi.

Örneklerin yüklenmesi: Elektroforez tankının içerisine jel tankı yerleştirildi ve yeteri miktarda TBE çözeltisi ile dolduruldu. Jelin ilk kuyusuna 2 µl DNA ladder yüklendi. Mikropipetler yardımı ile 2 µl PZR ürünü alındı ve 1 µl DNA gel loading dye ile karıştırılarak boş olan kuyucuğa yüklendi. 14 örnek için ayrı ayrı tekrarlandı.

Elektroforez: Elektroforez tankının yönü DNA'nın Katottan (-) anoda (+) yürüyeceği şekilde ayarlandı. 100 V'ta 20 dakika yürütülmüştür. UV ışık altında Şekil 8 ve Şekil 9'da gösterildiği gibi fotoğraflandı. Kullanıma uygun görülen örnekler işaretlenmiştir.



Şekil 6 SLC45A2 (rs13289) PZR jel görüntüsü ve sekanslama için seçilen örnekler



Şekil 7 SLC45A2(rs 16891982) PZR jel görüntüsü ve sekanslama için seçilen örnekler

3.12 PZR Ürünlerinin Elektroforezi ve Sanger Sekanslama

Elektroforeze hazırlık ve sekanslama aşaması hizmet alımı kapsamında “BMLabosis” firmasının hizmet alımı laboratuvarında 16 kapilerli, kapiler uzunluğu 36 cm olan ABI Prism 3130 XL Genetik Analizör cihazında (Applied Biosystems) POP7 polimeri kullanılarak gerçekleştirildi.

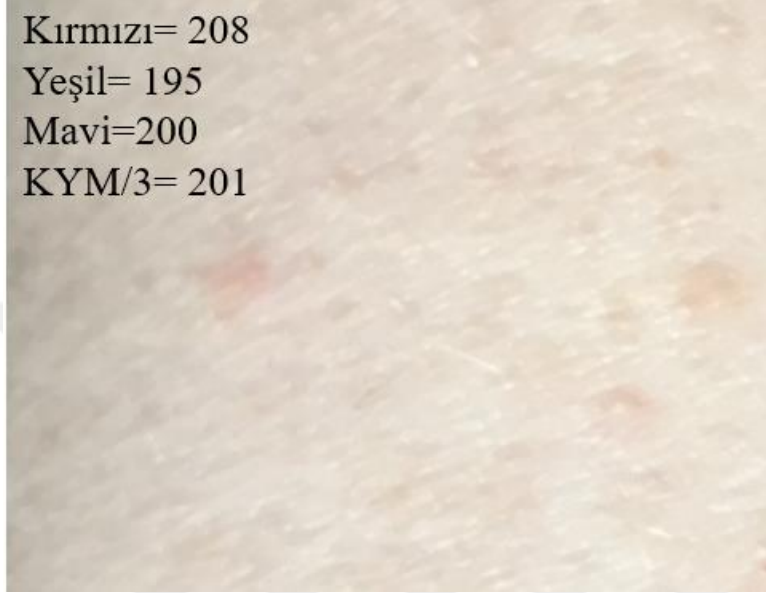
3.13 Verilerin Analizi ve Sonuçların Değerlendirilmesi

14 gönüllü birey için yapılmış olan sanger dizi sekansı FinchTV Chromatogram Viewer (Digital World Biology, USA) (<https://digitalworldbiology.com/FinchTV>) uygulaması kullanılarak analiz edilmiştir. The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) web sitesindeki Pairwise Sequence Alignment (Çift yönlü sekans hizalama) (https://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/) programı ile güvenilirliği en yüksek olan diziler karar verilmiştir.

Sonuçların değerlendirilmesi Chi-Kare (X^2) bağımsızlık testi ve Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. P değeri $P < 0.05$ kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Gönüllü bireylerden alınan DNA örneklerinden elde edilen SNP gentotiplendirilmeleri ile ten rengi Kırmızı, Yeşil, Mavi (KYM) renk ölçümleri karşılaştırılmıştır.

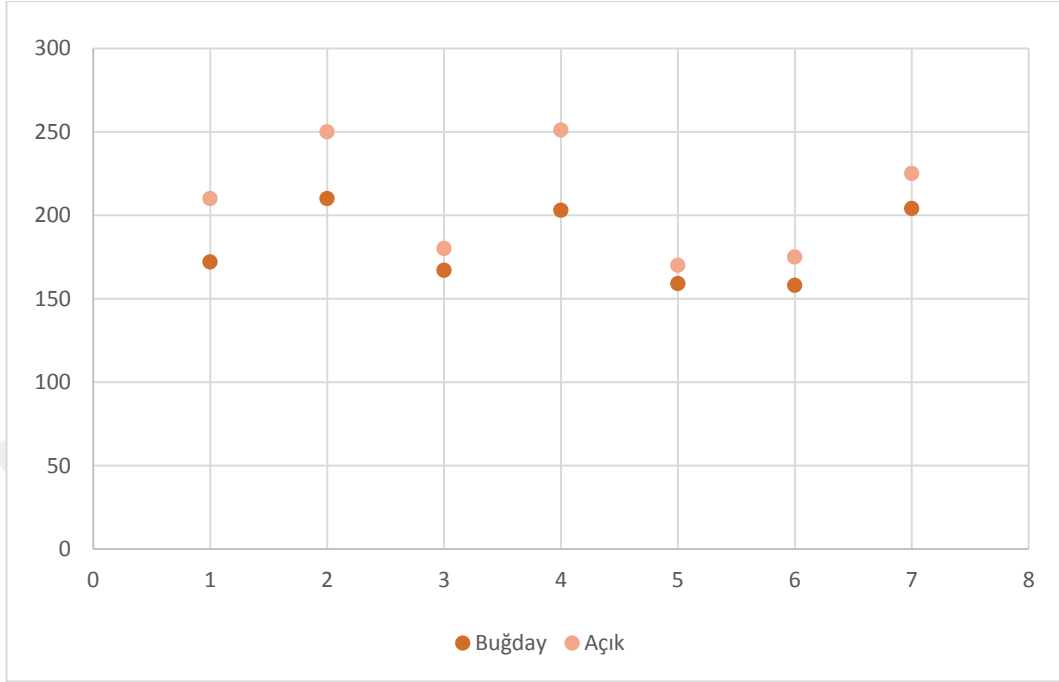


Şekil 8 Açık ten rengine sahip bireylerin ortalama KYM değerleri

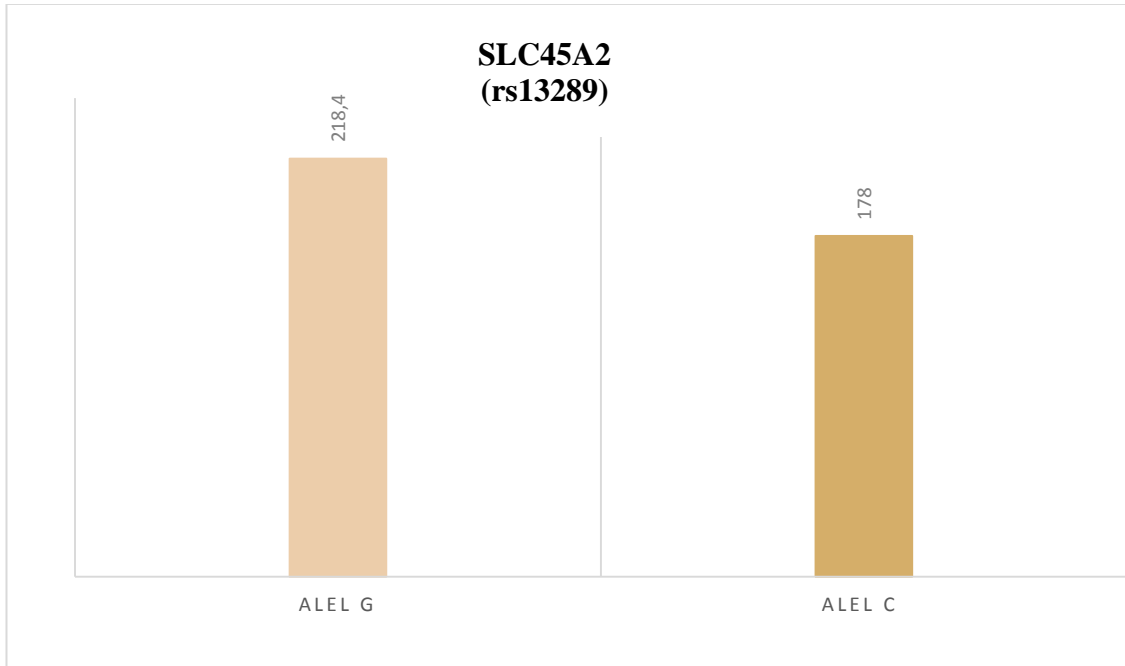


Şekil 9 Buğday ten rengine sahip bireylerin ortalama KYM değerleri

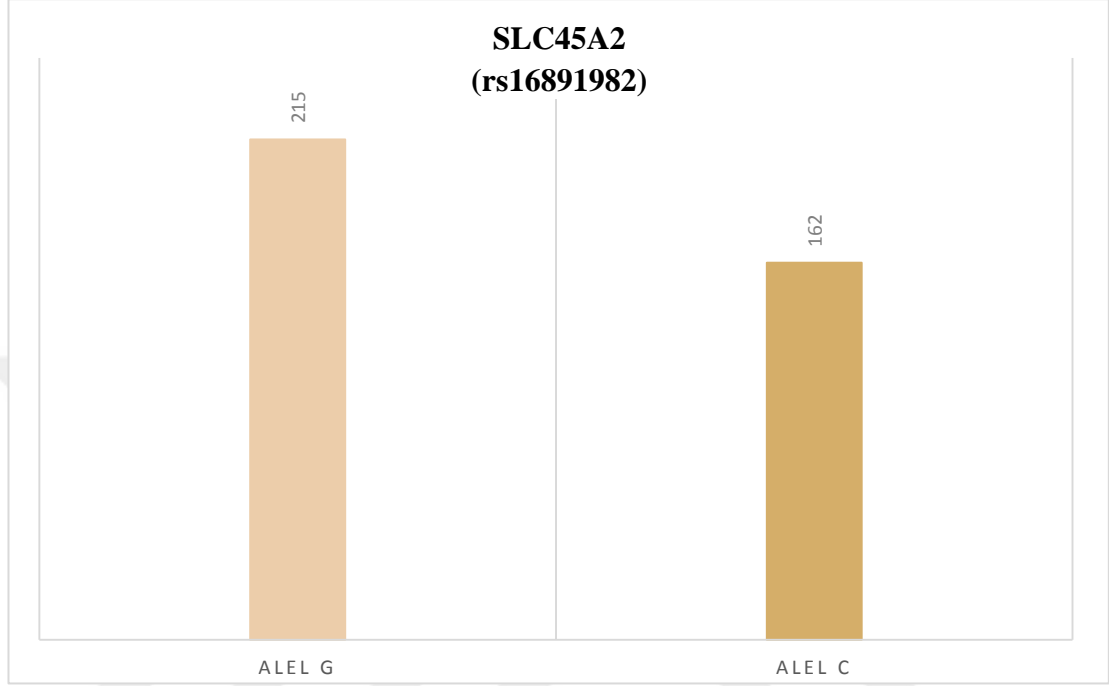
Tablo 6 Açık ve Buğday ten rengi KYM renk dağılımı



Tablo 7 SLC45A2 (rs13289) ten rengi tayini – ortalama KYM değerleri grafik üzerinde gösterimi



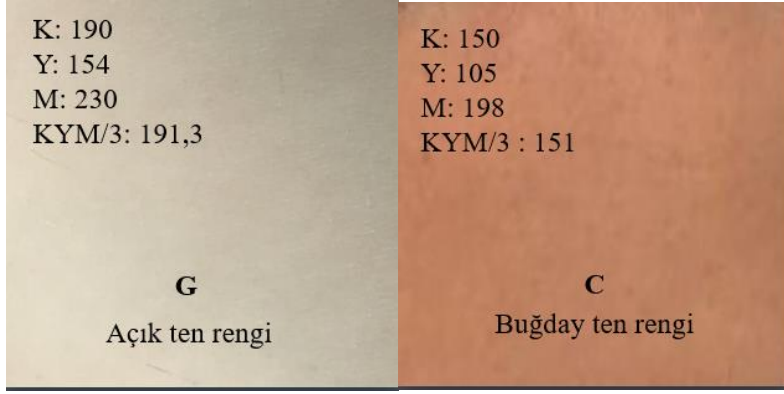
Tablo 8 SLC45A2 (rs16891982) ten rengi tayini – ortalama KYM değerleri grafik üzerinde gösterimi



4.1 SLC45A2 Geni rs13289 SNP Bölgesi Ten Rengi Tayini

SLC45A2 rs13289 polimorfizmi için gönüllü bireylerin ten renkleri Tablo 3’de oluşturulmuş olan ölçek ile karşılaştırılarak sınıflandırıldı. Yapılan ten rengi sınıflandırılması ile SNP genotiplendirme verileri karşılaştırıldı. G genotipine sahip bireyler açık ten rengine sahip iken C genotipine sahip bireylerin buğday ten rengine sahip oldukları gözlendi. Chi kare (X^2) bağımsızlık testinde $P < 0,05$ değerine göre hesaplama yapıldığı zaman P değeri $P=0.030$ olarak hesaplanmıştır. rs1389 polimorfizmi ile ten rengi arasında anlamlı bağlantı bulunmuştur.

G genotipine sahip bireyler ile C genotipine sahip bireyler arasında Mann Whitney anlamlı farklılık testi uygulandığı zaman, $P < 0.05$ ’te $U=6$ olması gerekirken U değeri 12 olarak hesaplanmıştır. P değeri ise $P=0,9$ olarak hesaplanmıştır. G genotipine sahip bireyler ile C genotipine sahip bireyler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 10 rs13289 SNP bölgesi G ve C genotipine sahip bireylerin ortalama ölçüm değerleri ve ten renkleri

Tablo 9 rs13289 SNP bölgesi genotip- fenotip dağılımları

Genotip	Gönüllü Bireyler (kişi sayısı)	
	Açık	Buğday
G	5	2
C	1	6

4.2 SLC45A2 Geni rs16891982 SNP bölgesi Ten Rengi Tayini

Yapılan ten rengi sınıflandırılması ile SNP genotiplendirme verilerine göre: C genotipine sahip bireyler buğday ten rengine sahipken G genotipine sahip bireylerin açık ten rengine sahip oldukları gözlemlendi. Chi kare (X^2) bağımsızlık testinde $P < 0,05$ değerine göre hesaplama yapıldığı zaman P değeri $P=0.036$ olarak hesaplanmıştır. rs16891982 polimorfizmi ile ten rengi arasında anlamlı bağlantı bulunmuştur.

G genotipine sahip bireyler ile C genotipine sahip bireyler arasında Mann Whitney anlamlı farklılık testi uygulandığı zaman $p < 0.05$ 'te $U=6$ olması gerekirken U değeri 10 olarak hesaplanmıştır. P değeri ise $P= 0,2$ olarak hesaplanmıştır. G genotipine sahip bireyler ile C genotipine sahip bireyler arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 11 rs16891982 SNP bölgesi G ve C genotipine sahip bireylerin ortalama ölçüm değerleri ve ten renkleri

Tablo 10 rs16891982 SNP bölgesi genotip- fenotip dağılımları

Genotip	Gönüllü Bireyler (kişi sayısı)	
	Açık	Buğday
G	7	2
C	1	4

4.3 rs16891982 ve rs13289 SNP Bölgeleri Ortak Ten Rengi Tayini

rs16891982 ve rs13289 SNP bölgeleri ortak ten rengi tayini değerlendirmeleri; yeniden ölçeklendirilme yapılmamış sayfa 12'deki Fitzpatrick ölçeğinin (Fitzpatrick, 1988) tip1, tip2, tip3 ve tip 4 renk sınıflandırılması renk ve özelliklerine göre yapılmıştır. SNP varyasyonlarının her ikisinde de G genotipine sahip bireylerin Fitzpatrick ölçeğinin Tip 1 çok açık ten rengi özelliklerine sahip oldukları, her ikisinde de C genotipine sahip bireylerin Fitzpatrick ölçeğinin Tip 4 esmer ten rengi özelliklerine sahip oldukları gözlenmiştir. rs16891982 SNP varyasyonunda G genotipine, rs13289 SNP varyasyonunda C genotipine sahip bireyler Fitzpatrick ölçeğinin Tip 2 açık ten rengi özelliklerine sahip oldukları gözlenmiştir. rs16891982 SNP varyasyonunda C genotipine, rs13289 SNP varyasyonunda G genotipine sahip bireyler Fitzpatrick ölçeğinin Tip 3 buğday ten rengi özelliklerine sahip oldukları gözlenmiştir.

Tablo 11 Fitzpatrick ölçeğine göre rs16891982 ve rs13289 SNP bölgeleri genotip-fenotip karşılaştırılması

Fitzpatrick ölçeği	Ten Rengi	rs16891982	rs13289
Tip 1	Çok Açık	G	G
Tip 2	Açık	G	C
Tip 3	Buğday	C	G
Tip 4	Esmer	C	C

Bütün bunlara ek olarak değerlendirildiği zaman rs13289 SNP varyasyonunda C genotipinin açık tenli bireylerde bronzlaşma özelliği oluşturduğu gözlenmiştir. rs16891982 SNP varyasyonun G genotipine sahip bireylerin bronzlaşma özelliklerinin olmadıkları gözlenmiştir.

Ayrıca Tablo 12 gösteriyor ki; Chi-Kare (X^2) ve Mann Whitney testlerinin farklı sonuçlar vermesi bu çalışmanın örneklem grubunun genişletilerek tekrarlanması gerektiğini göstermektedir.

Tablo 12 SLC45A2 gen polimorfizmi bulunan P değerleri

SNP	Test Değerleri (P)	
	Chi- Kare	Mann Whitney
rs13289	0,03	0,9
rs16891982	0,036	0,2

5. TARTIŞMA

Son dönemlerde adli genetik alanındaki çalışmalar olay yerinde bulunan şüpheliye ait biyolojik örneklerden göz, saç ve ten rengi gibi fenotipik özelliklerin belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. DNA bazlı araçlar geliştirilerek insan pigmentasyonu varyasyonlarına odaklanılmıştır. Çünkü ten rengi pigmentasyonundaki varyasyonlar, insan popülasyonlarını ayırt eden en belirgin fenotipik özellikleridir. Bu sebepten dolayı adli bilimlerde geçerliliği doğru olmayan görgü tanıkları yerini genetik testler almaya başlamıştır.

Bu çalışmada; gen polimorfizmleri ile ten rengi arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için ten rengi üzerinde yapılan Fitzpatrick (Fitzpatrick,1988) renk ölçeklendirilmesi ve genotiplendirilme verileri kullanıldı. Ten rengi görüntülenmesi dijital fotoğraf yöntemini kullanıldı ve KYM renk ölçümlerini “Image J” programını kullanarak gerçekleştirildi. Bulgularımız; SLC45A2 geninin rs16891982 ve rs13289 SNP bölgelerinin Fitzpatrick renk ölçeği Tip1, Tip2, Tip3 ve Tip 4 ten renkleri ile ilişkili olduğunu gösterdi.

SLC45A2 (Solute carrier family 45, member 2), melanin sentezine aracılık eden taşıyıcı proteini kodlar. Melanin için bir öncü olan tirozinin taşınmasına ve işlenmesine yardımcı olur. Aynı zamanda karışık popülasyonlarda ten renk değişimi ile doğrudan ilişkilendirilmiş olan Phe374Leu (rs16891982) aleli ile modern Avrupalıların ten renginin önemli bileşenlerinden biri olduğu da gösterilmiştir (Maroñas ve ark., 2014). Bu varyasyon Avrupa ülkelerindeki bütün popülasyonlarda her yerde mevcuttur ve son derece yaygın olduğu gösterilmiştir. (Walsh, ve ark., 2017). Maroñas ve arkadaşlarının (Maroñas ve ark., 2014) ayrıca Walsh ve arkadaşlarının (Walsh, ve ark.,2017) yapmış oldukları çalışmalarda da ten rengi tayininde anlamlı sonuçlar gözlemlenmiştir. SLC45A2 geni ten rengi belirlemesinin yanı sıra çeşitli varyasyonlarının albinizm hastalığına sebep olduğu gözlenmiştir (Kayser, 2015).

Avrupalıların ten renginin önemli bir bileşeni olarak kabul edilen ve ten renk değişimi ile doğrudan ilişkilendirilmiş SLC45A2 geni rs16891982 ve rs13289 SNP bölgeleri (Primorac ve Schanfield, 2014) varyasyonlarının, Türkiye’de adli bilimler pratiğinde kullanılabilirliğini araştırdık. Bu amaç doğrultusunda oluşturmuş olduğumuz örneklem

grubumuzun rs16891982 ve rs13289 bölgeleri gentotiplendirilmeleri yapıldıktan sonra fenotip-genotip karşılaştırılmaları yapılmıştır.

Bu çalışmamızda; oluşturmuş olduğumuz örneklem grubumuzdaki bireylerde SLC45A2 rs16891982 ve rs13289 polimorfizmi için ten rengi belirlemede yardımcı olacak, açık ve buğday olmak üzere 2 ten rengi tonundan oluşan bir tablo oluşturduk (Tablo 2). rs 13289 SNP varyasyonu G genotipine sahip bireylerin açık tenli oldukları C genotipine sahip bireylerin buğday ten rengine sahip oldukları değerlendirilmeler sonucunda tespit edildi. Çalışma sonuçlarının Walsh ve arkadaşlarının (Walsh ve ark., 2014) geliştirmiş oldukları HirisPlex DNA test sisteminde ki gibi tespit edilmesine rağmen Chi-Kare (X²) ve Mann Whitney U testi farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar gösteriyor ki örneklem grubu artırılarak çalışmanın tekrarlanması gerekmektedir. rs16891982 SNP varyasyonunda ise HirisPlex DNA test sisteminde olduğu gibi G genotipine sahip bireylerin açık tenli oldukları tespit edildi. Çalışma sonuçları Walsh ve arkadaşlarının 2017'de yapmış oldukları (Walsh ve ark., 2014) ve Özlem Bülbül'ün 2014 yılında doktora tezinde yapmış olduğu (Bülbül, 2014) çalışmalar ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Fakat ki-kare ve Mann Whitney testlerindeki sonuç farklılıklarından dolayı çalışmanın tekrarlanması gerektiği söylenebilir. Ayrıca; rs 13289 SNP varyasyonlarının ve rs16891982 SNP varyasyonlarının göz ve saç rengi tahmin modelleri de bulunmasına rağmen (Walsh ve ark., 2014; Chaitanya ve ark., 2018; Bülbül, 2014) biz bu çalışmamızda örneklem grubumuz yetersiz olduğu için göz ve saç rengi tahmin modelleri oluşturmadık. Bir sonraki çalışmalarda oluşturulması planlanmaktadır. Bu gözlemlere dayanarak; rs16891982 ve rs 13289 SNP varyasyonları ile ten rengi tayini Türkiye'de adli bilimler pratiğinde uygulanabilir olduğu söylenebilir. Bu fikrin desteklenmesi için örneklem grubunun artırılarak daha çok çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada dikkate değer bir başka nokta ise; her iki SNP bölgesi varyasyonları birlikte, yeniden ölçeklendirilmemiş Fitzpatrick ölçeği tip 1(açık) , tip2 (sarışın), tip 3 (buğday) ve tip 4 (esmer) ten renkleri ve özellikleri göz önünde bulundurularak değerlendirme yapılmıştır ve sonuçlar tablo 11'deki gibi tespit edilmiştir. Sonuç olarak her iki SNP varyasyonu birlikte değerlendirilerek adli bilimler kullanılabilir fakat Tablo 11'deki gibi tespitlerin doğruluğunun kanıtlanması için örneklem grubunun artırılarak yeniden çalışma yapılması gerektiği söylenebilir.

6. SONUÇ

Gerçekleştirmiş olan bu çalışma Türkiye’de örneklem grubu oluşturularak gen polimorfizmlerinin ten rengi üzerindeki etkisini değerlendiren ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz veriler sonucunda SLC45A2 geni rs13289 ve rs16891982 SNP polimorfizmlerinin ten renklerini etkilediğini ortaya koymuştur. rs13289 SNP polimorfizminin buğday ten rengi ve özellikleri sağladığı rs16891982 SNP polimorfizminin ise açık ten rengi ve özellikleri sağladığı görülmüştür. Fakat genotiplendirme yapılan örneklem sayısı az olduğu için uygulanan istatistiksel testler arasında farklılıklar görülmüştür. Bununla birlikte bulunan sonuçlar Maroñas ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları (Maroñas ve ark., 2014), Walsh ve arkadaşlarının 2017’de yapmış oldukları (Walsh ve ark, 2017) çalışmalar ile örtüşmektedir.

Yaptığımız çalışmanın sonuçları, Adli Bilimlerde DNA’dan ten rengi belirlenmesinde bir kaynak olacağını düşünmekteyiz. Kullanılabilir olması için Türkiye popülasyon verileri elde edilerek ve ikiden fazla fenotipik özellik SNP’leri eklenerek daha detaylı ve kapsamlı yeni projelerle tekrarlanması gerekmektedir. Bir sonraki çalışmada bu amaçlanmıştır.

7. KAYNAKLAR

Bülbül Ö. Fenotip ve Soya Ait Bilgi Veren Snp Noktalarının (Markırlarının) Belirlenmesi Ve Multipleks Kit Geliştirilmesi [Doktora tezi] İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2014

Chaitanya L, Breslin K, Zuñiga S, Wirken L, Pośpiech E, Kukla-Bartoszek M, Sijen T, Knijff P, Liu F, Branicki W, Kayser M and Walsh S. The HIrisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation. *Forensic Science International: Genetics*, 2018; 35, pp.123-135.

Charles A. Poynton Digital Video and HDTV: Algorithms and Interfaces. Morgan Kaufmann. 2003; ISBN 1-55860-792-7.

Elias P, Menon G, Wetzel B and Williams J. Barrier requirements as the evolutionary “driver” of epidermal pigmentation in humans. *American Journal of Human Biology*. 2010; 22(4), pp.526-537.

Fitzpatrick T B. Soleil et peau. *Journal de Médecine Esthétique*. 1975; (2): 33–34

Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types i through vi. *Archives of Dermatology*, 1988;124 (6): 869–871, doi:10.1001/archderm.1988.01670060015008

Flanagan N, Healy E, Ray A, Phillips S, Todd C, Jacson I.J, Birch Machin MA. and Reys JL. Pleitropic effects of the MC1R gene human pigmentation. *Hum. Mol. Gen.* 2000; 9: 2531-2537

Gonder MK, Mortensen HM, Reed FA, de Sousa A, Tishkoff SA. Whole-mtDNA genome sequence analysis of ancient African lineages. *Molecular Biology and Evolution* 2007; 24: 757–768.

Gonzalez FJ. Polymorphisms in xenobiotic metabolism. In *Molecular and Applied Aspects of Oxidative Drug Metabolizing Enzymes*. Life Sciences Pharmacogenetics.1999; 303: 91-110.

Hanukoglu I, Boggula V, Vaknine H, Sharma S, Kleyman T and Hanukoglu A. Expression of epithelial sodium channel (ENaC) and CFTR in the human epidermis and epidermal appendages. *Histochemistry and Cell Biology*. 2017; 147(6), pp.733-748.

Hart K, Kimura S, Mushailov V, Budimlija Z, Prinz M and Wurmbach E. Improved eye- and skin-color prediction based on 8 SNPs. *Croatian Medical Journal*. 2013; 54(3), pp.248-256.

<https://pharmaxchange.info/2011/03/the-ageing-skin-part-1-structure-of-skin-and-introduction/> (20.07.2018)

Jablonski N, Chaplin G. The colours of humanity: the evolution of pigmentation in the human lineage. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. May 2017; 372 (1724): 20160349.doi:10.1098/rstb.2016.0349.

Jablonski N and Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *Journal of Human Evolution*. 2000; 39(1), pp.57-106. doi:10.1006/jhev.2000.0403

Jablonski N, Chaplin G. The evolution of human skin coloration. *Journal of Human Evolution*. 2000; 39 (1): 57–106. doi:10.1006/jhev.2000.0403. PMID: 10896812.

Jablonski N. The evolution of human skin and skin color. *Annual Review of Anthropology*. 2004; 33: 585-623. doi:10.1146/annurev.anthro.33.070203.143955.

Kayser M, Schneider F. DNA-based prediction of human externally visible characteristics in forensics: motivations, scientific challenges, and ethical considerations, *Forensic Sci. Int. Genet.* 2009; 3/ 154–161

Kayser M. Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. *Forensic Science International: Genetic*. 2015; 18, pp.33-48.

Kenny EE, Timpson NJ, Sikora M, Yee MC, Moreno-Estrada A, Eng C ve ark. Melanesian blond hair is caused by an amino acid change in TYRP1. *Science* 2012; 336:554.

Laluf S ve ark. Ethnic variation in melanin content and composition in photoexposed and photoprotected human skin. *Pigment Cell Res* 2002; 15:112 – 118.)

Lango Allen H, Estrada K, Lettre G, Berndt SI, Weedon MN, Rivadeneira F ve ark. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. *Nature*. 2010; 467:832–8.

Liu F, Wollstein A, Hysi P, Ankra-Badu G, Spector T, Park D, Zhu G, Larsson M, Duffy D, Montgomery G, Mackey D, Walsh S, Lao O, Hofman A, Rivadeneira F, Vingerling J, Uitterlinden A, Martin N, Hammond C and Kayser M. Digital Quantification of Human Eye Color Highlights Genetic Association of Three New Loci. *PLoS Genetics*. 2010; 6(5), p.e1000934. doi: 10.1371/journal.pgen.1000934

Marks JG, Miller J. *Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology* (4th ed.). Elsevier Inc. 2006; pp 8–9. ISBN 1-4160-3185-5.

Maroñas O, Philips C, Söchtig J, Gomez-Tato A, Cruz R., Alvarez-Dios J, Casares de Cal M , Ruiz Y, Fondevila M., Carracedo A, Lareu MV. Development of a forensic skin colour predictive test. *Forensic Science International: Genetics*. 2014; 13, 34–44

McGrath JA, Eady RA, Pope FM. *Rook's Textbook of Dermatology* (7th ed.). Blackwell Publishing.2004; pp. 3.1–3.6. ISBN 978-0-632-06429-8.

Michael M. *Human Evolutionary Biology*. Cambridge University Press. 2010; pp. 192–213. doi: 10.1017/CBO9780511781193

Mosby's Medical, Nursing & Allied Health Dictionary (4th ed.). St. Louis: Mosby. 1994; pp. 998, 774, 1497. ISBN 978-0801672255.

Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H ve ark. Dominant role of the niche in melanocyte stem-cell fate determination. *Nature* 2002; 416:854e60.

Parabon. *Parabon® Snapshot® DNA Analysis Service - Powered by Parabon NanoLabs*.2018; (online alıntı) Snapshot.parabon-nanolabs.com. Alıntı: <https://snapshot.parabon-nanolabs.com/> (28 Ağustos 2018)

Primorac D and Schanfield M. *Forensic DNA Applications: An Interdisciplinary Perspective*. 1st edition. USA: Florida. 2014; 429-448 ISBN 9781466580220

Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*.2008; 17 (12): 1063–72. doi:10.1111/j.1600-0625.2008.00786.x. PMID 19043850.

Santos F, Machado H, Silva S, Forensic DNA databases in European countries: is size linked to performance? *Life Sci. Soc.* 2013; Policy 9- 12

Silverman R. *Pediatric Dermatology*, 4th ed. L.A.Schachner and R.C.Hansen, eds., Philadelphia: Elsevier, 2011, ISBN 9780723435402. *Pediatric Dermatology*. 2014; 31(4), pp.e90-e90.

Sobrino B, Brióna M, Carracedo A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Science International*. 2005; 154 /181–194 DOI:10.1016/j.forsciint.2004.10.020

Solano F. Melanins: Skin Pigments and Much More—Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science*. 2014; 1–28. doi:10.1155/2014/498276. ISSN 2356-7740

Thong HY ve ark. The patterns of melanosomes distribution in keratinocytes of human skin as one determining factor of skin color. *Br J Dermatol*. 2003; 149:498 – 505.

Valenzuela R, Henderson M, Walsh M, Garrison N, Kelch J, Cohen-Barak O, Erickson D, John Meaney F, Bruce Walsh J, Cheng K, Ito S, Wakamatsu K, Frudakis T, Thomas M and Brilliant M. Predicting Phenotype from Genotype: Normal Pigmentation. *J. Forensic Sci.* 2010; 55 (2) 315–322 doi: 10.1111/j.1556-4029.2009.01317.x

Walsh S, Chaitanya L, Breslin K, Muralidharan C, Bronikowska A , Pospiech E, Koller J, Kovatsi L, Wollstein A, Branicki W, Liu F, Kayser M, Global skin colour prediction from DNA, *Hum Genet* 2017; 136, 847–863

Yao ZY, Qi JH. Comparison of Antioxidant Activities of Melanin Fractions from Chestnut Shell". *Molecules*. 2016; 21 (4):487. doi:10.3390/molecules21040487

Ek 2 Beyan Formu

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Ten Rengi Tayininde SLC45A2 Gen Polimorfizmi” 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

Adı SOYADI

İmza

Ek 3 Etik Kurul Kararı



info@uskudar.edu.tr

Altunizade Mah. Haluk Türksoy Sk. No:14, 34662 Üsküdar / İstanbul / Türkiye
Tel: +90 216 400 22 22 Faks: +90 216 474 12 56

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

SAYI: B.08.6.YÖK.2.ÜS.0.05.0.06 /2018/834

25/09/2018

Dr.Öğr.Üyesi Kaan YILANCIOĞLU
(Hüma ERKOÇ)

Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 23/06/2018 tarihinde yapılan 07 No.lu toplantısında uygun görülen “Türkiye Popülasyonunda DNA’dan Açık Ten Rengi Tayini” adlı araştırma projenizin adının 25/09/2018 tarihli 10 no lu Girişimsel Olmayan Etik Kurul toplantısında “Ten Rengi Tayininde SLC45A2 Gen Polimorfizmi” olarak değiştirilmesinin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

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

EK 4 Özgeçmiş

Hüma Erkoç

Email: humaerkoc@gmail.com

Eğitim

2016 -

Yüksek Lisans, Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Genetik Programı, Üsküdar Üniversitesi

2010-2015-

Lisans, Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul Bilgi Üniversitesi

Deneyimler

Haziran 2013, Temmuz
2013-

Stajyer, Novartis İlaç MS&T (Manufacturing Science and Technology) Departmanı

Temmuz 2013-Ağustos 2013-

Stajyer, Ülker Bisküvi Fabrikası Mikrobiyoloji Laboratuvarı

Haziran 2014-Temmuz2014-

Stajyer, Bezmi Âlem Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı

Lisans Tezi

Detection of *Acinetobacter Baumannii* With Using Real Time PCR
Doğa Bilimleri ve Mühendislik Fakültesi, İstanbul Bilgi Üniversitesi

Aktiviteler

- | | |
|-------------------|--|
| Kurucu | • BİLGİ IBE (Institute of Biological Engineering) Kulübü |
| Başkan | • BİLGİ IBE (Institute of Biological Engineering) Kulübü |
| Başkan yardımcısı | • BİLGİ Biyomühendislik Kulübü |
| Üye | • BİLGİ IGEM 2014 Team |

Bilimsel Programlar

- | | |
|------|---|
| 2012 | • Biotech'12, İstanbul Teknik Üniversitesi |
| 2013 | • Uluslararası Moleküler Biyoloji ve Genetik kış okulu, İstanbul Üniversitesi |
| 2015 | • Bioform 3, Yıldız Teknik Üniversitesi |

