

T. C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI
Danışman: Yrd. Doç. Dr. E. Hülya YÜKSELOĞLU

**EVCİL KÖPEKLERDE (*Canis lupus familiaris*)
MİTOKONDRIAL DNA ANALİZİNİN
ADLİ AMAÇLI KULLANIMI**

**FEN BİLİMLERİ
DOKTORA TEZİ**

**ITIR ERKAN
Biyolog, MSc.**

İstanbul - 2012

T. C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI
Danışman: Yrd. Doç. Dr. E. Hülya YÜKSELOĞLU

**EVCİL KÖPEKLERDE (*Canis lupus familiaris*)
MİTOKONDRIAL DNA ANALİZİNİN
ADLİ AMAÇLI KULLANIMI**

**FEN BİLİMLERİ
DOKTORA TEZİ**

**İTİR ERKAN
Biyolog, MSc.**

İstanbul - 2012

İstanbul, 18 Aralık 2012

**İ.Ü.ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA**

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 50.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın doktora öğrencisi İtir ERKAN'ın

"Evcil Köpeklerde (Canis Lupus Famillaris) Mitokondrial DNA Analizinin Adli Amaçlı Kullanımı"

Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.

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

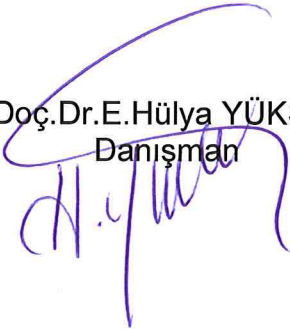


Prof.Dr.Hüseyin YILMAZ
Jüri Başkanı



Yard.Doç.Dr.Şule Beyhan ÖZDAŞ
Üye

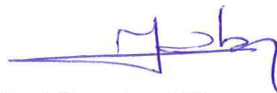
Yard.Doç.Dr.E.Hülya YÜKSELOĞLU
Danışman



Yard.Doç.Dr.Havva ALTUNÇUL
Üye



Yard.Doç.Dr.Hüseyin ÇAKAN
Üye



Bu tez, İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje Numarası: 15716

BEYAN

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

Itr ERKAN

ITHAF

Ailem'e...

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında,

Doktora eğitimim boyunca bana sonsuz destek veren, mesleki gelişimimde çok büyük katkıları bulunan, gülyüzüne ve sabrına hayran olduğum değerli hocam
Yrd. Doç. Dr. E. Hülya Yükseloğlu'na,

Doktora eğitimim için Adli Tıp Enstitüsünü seçmemin sebebi olan, akademik gelişimim için değerli fikirleriyle bana yol gösteren değerli hocam
Prof. Dr. Ersi Abacı Kalfoğlu'na,

Doktora tez izleme komitesinde yer alarak değerli fikirleriyle yol gösteren
Yrd. Doç. Dr. Havva Altunçul, Yrd. Doç. Dr. Şule Beyhan Özdaş'a ve
İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsündeki tüm hocalarıma,

Sadece tez çalışmam sırasında değil, birçok anlamda desteğini hissettiğim Sayın
Yrd. Doç. Dr. Ş. Şebnem Özkal'a ve Yrd. Doç. Dr. Gavril Petridis'e,

Tezimde kullanmış olduğum tüm malzemelerin temini ve vermiş oldukları teknik destek için başta Sayın Sedat Karadeniz, Yemliha Yıldız ve Dilek Alpsar olmak üzere tüm Medsantek firması çalışanlarına,

Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde birlikte çalışmakta olduğum,
göstermiş oldukları tüm anlayış ve destekleri için
Hava Yıldar, Arş. Gör. Duygu Sezgin ve Öğr. Gör. İoakim İpseftel'e,

Çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen Sayın Gülten Rayimoğlu,
Sayın Elvan Uğur ve tüm İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü çalışanlarına,

Hayatımda olmasından büyük huzur duyduğum, desteğini her daim bana hissettiren
değerli arkadaşım Uzm. Biyolog Arzu Eğriboz'a,

Bütün hayatım boyunca olduğu gibi doktora tez çalışmam sırasında da göstermiş
oldukları anlayış, sabır ve tüm destekleri için,
annem Nursen Erkan ve babam Yalçın Erkan'a

sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.KÖPEĞİN ORJİNİ	5
2.2.KÖPEKLERİN TARİHTEKİ YERİ	8
2.3. KÖPEKLERİN EVCİLLEŞTİRİLMESİ	9
2.4. ADLİ OLGULARLA KÖPEKLERİN İLİŞKİLENDİRİLMESİ	11
2.5. KÖPEKLERDE KIL VE KAN ANALİZLERİ	14
2.5.1. Kıl Analizi	14
2.5.2. Kan Analizi	17
2.6. DNA İZOLASYON YÖNTEMLERİ.....	18
2.7. DNA TİPLENDİRMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER.....	20
2.7.1. Köpeklerde Minisatellit ve Mikrosatellit Analizi	20
2.7.2. Köpeklerde SNP Analizi	22
2.7.3. Köpeklerde Mitokondrial DNA Analizi	23
2.7.3.1. Mitokondri Genetik Sistemi	23
2.7.3.2. Köpeklerde Mitokondri Genomu	25
2.8. YAPILAN GENETİK ÇALIŞMALAR	33
2.8.1. Köpekler ile ilgili yapılan çalışmalar.....	33
2.8.2. Adli amaçlı olarak diğer hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1. KAN ÖRNEKLERİ ALINAN KÖPEKLERLE İLGİLİ BİLGİLER	36
3.2. KAN ÖRNEKLERİNDEN DNA İZOLASYONU	37
3.2.1. DNA Miktar Tayini	37
3.2.2. DNA Örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi	38
3.3. PRİMERLERİN SEÇİMİ.....	38
3.4. BİRİNCİ PCR PROTOKOLÜ	39

3.4.1. Birinci PCR ürünlerinin saflaştırılması	40
3.4.4.1. Exo-Sap ile saflaştırma.....	40
3.4.4.2. ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup Kit ile saflaştırma	40
3.5. İKİNCİ PCR PROTOKOLÜ	41
3.5.1. İkinci PCR ürünlerinin saflaştırılması	42
3.5.1.1. Sephadex yöntemi ile saflaştırma.....	43
3.5.1.2. ABI Big Dye XTerminator kiti ile saflaştırma	43
3.6. ELEKTROFOREZ AŞAMASI.....	43
3.6.1. Analizi Tamamlanan Örneklerin Sonuçlarının İncelenmesi.....	43
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	44
4. BULGULAR	45
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
6. ÖNERİLER.....	72
7. ÖZET	73
8. SUMMARY.....	74
9. KAYNAKLAR.....	75
EKLER	88
EK 1 Hayvan deneyleri yerel etik kurul onay yazısı	88
EK 2 Onam formu örneği	89
EK 3 Çalışmada kullanılan kimyasal ve gereçler.....	91
EK 4 Kan örnekleri alınan köpeklerle ilgili bilgiler	93
EK 5 Örneklerin DNA miktarı	95
EK 6 <i>Canis lupus familiaris</i> 'in mitokondri genomu dizisi.....	97
EK 7 Köpeklerde mtDNA dizilerinin referans dizi ile karşılaştırılması.....	104
EK 8 Köpeklerde mtDNA'nın VNTR bölge dizinlemesi.....	105
ÖZGEÇMİŞ	106

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Köpekler arasındaki genetik uzaklıklara ait dendrogram	5
Şekil 2.2. Mısır firavunu II. Antef'in mezartaşındaki köpek kabartmaları	9
Şekil 2.3. İsrail'in Ein Mallaha bölgesindeki mezarlıkta 12.000 yıl öncesine ait birlikte gömülü halde bulunan insan ve köpek iskeleti.....	10
Şekil 2.4. Kurt köpeği dişlerinden yapılmış bir kolye	13
Şekil 2.5. Kıl gövdesine ait kesitin şematik gösterimi	14
Şekil 2.6. İnsan saçı ile köpek kılının kutikula ve medulla bakımından karşılaştırılması ...	15
Şekil 2.7. mtDNA'da heteroplazmi.....	24
Şekil 2.8. Köpek mtDNA kontrol bölgesinin şematik gösterimi	27
Şekil 2.9. <i>Canis lupus familiaris</i> 'e ait bir karyotip	33
Şekil 4.1. 1-16 DNA izolatlarının %1.5'lik agaroz jel elektroforezi üzerindeki görüntüsü.....	45
Şekil 4.2. F15416 ve R00056 primerleri ile gerçekleştirilen ilk PCR sonucu bantların agaroz jelde görünümü	45
Şekil 4.3. Yüksek polimorfizm gösteren pozisyonların görülme sıklığı grafiği	47
Şekil 4.4. Sivas kangal'a ait mtDNA'nın 15798-16043 pozisyonları arası görülen elektroforegramı (86. Örnek)	49
Şekil 4.5. Golden retriever'a ait mtDNA'nın 15798-16043 pozisyonları arası görülen elektroforegramı (19. örnek)	50
Şekil 4.6. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-I bölgesinin 15639. pozisyonuna ait elektroforegram	51
Şekil 4.7. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-I bölgesinin 15639. pozisyonunun gösterilmesi	52-53
Şekil 4.8. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-I bölgesinin 15814. pozisyonuna ait elektroforegram	54
Şekil 4.9. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-I bölgesinin 15814. pozisyonunun gösterilmesi	55-56
Şekil 4.10. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının VNTR bölgesinin 16148. pozisyonuna ait elektroforegram	57
Şekil 4.11. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının VNTR bölgesinin 16148. pozisyonunun gösterilmesi	58-59

Şekil 4.12. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının VNTR bölgesindeki 10 nükleotid aralığında oluşan polimorfizmlerin gösterilmesi.....	60
Şekil 4.13. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-II bölgesinin 16619. pozisyonuna ait elektroforegram	61
Şekil 4.14. <i>Canis lupus familiaris</i> ırklarının HV-II bölgesinin 16619. pozisyonunun gösterilmesi	62-63

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Canidae familyasının tanımlanmış türleri	6
Tablo 2.2. <i>Canis lupus familiaris</i> 'in taksonomik yeri	7
Tablo 2.3. Hayvan kılları ile ilgili yapılmış bir araştırmanın sonuçları.....	16
Tablo 2.4. Köpeklerde kan grupları	17
Tablo 2.5. <i>Canis lupus familiaris</i> 'e ait mitokondrial genomun özellikleri	26
Tablo 2.6. Universal kodon ve aminoasit karşılıkları	28
Tablo 2.7. <i>Canis lupus familiaris</i> 'e ait kodon-aminoasit karşılıkları	28
Tablo 2.8. HV-I ve HV-II bölgelerindeki polimorfizmlerin ırklar arasında karşılaştırılması	32
Tablo 3.1. Köpeklerin ırk ve sayı bilgileri.....	36
Tablo 3.2. Primer dizileri.....	38
Tablo 3.3. Birinci PCR karışım bileşenleri ve miktarları	39
Tablo 3.4. Birinci PCR döngü parametreleri	39
Tablo 3.5. Exo-Sap karışım miktarları	40
Tablo 3.6. BigDye kiti içeriğindeki ddNTP'ler ve işaretlendikleri floresan boyalar	41
Tablo 3.7. İkinci PCR karışım bileşenleri ve miktarları.....	42
Tablo 3.8. İkinci PCR döngü parametreleri.....	42
Tablo 4.1. HV-I ve HV-II bölgelerinde en sık görülen polimorfizmler ve yüzdeleri	46
Tablo 4.2. Elektroforegramda görülen bazların harf karşılıkları	48
Tablo 4.3. HV-I ve HV-II bölgelerinde sık gözlenen polimorfizmler.....	64

SEMBOL LİSTESİ

A	Adenin
ABI	Applied Biosystems, Foster City, CA, USA
ATPaz	Adenintrifosfataz
bp	Baz Çifti (Base Pear)
C	Sitozin
dH₂O	Distile Su
ddATP	Didioksiadenozin Trifosfat
ddCTP	Didioksisitozin Trifosfat
DEA	Köpek Eritrosit Antijeni (Dog Erythrocyte Antigen)
DNA	Deoksiribonükleik asit
ddGTP	Didioksiguanin Trifosfat
ddNTP	Didioksinukleotid Trifosfat
ddTTP	Didioksitimidin Trifosfat
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
EDTA	Etilendiamin tetra-asetik asit (Ethylenediamine tetra-acetic acid)
ENFSI	Avrupa Adli Bilimler Enstitüleri Ağı (European Network of Forensic Science Institutes)
EtBr	Etidyum bromür
EtOH	Etanol
G	Guanin
IUPAC	Saf ve Uygulamalı Kimya Uluslararası Birliği (The International Union of Pure and Applied Chemistry)
M	Molar
mg	Miligram
MgCl₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mtDNA	Mitokondrial DNA
ng	Nanogram
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
RFLP	Kısıtlayıcı parçacık uzunluk polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
Rpm	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
STR	Kısa Ardışık Tekrar (Short Tandem Repeat)
T	Timin

Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris + Borik asit + EDTA tamponu
Tm	Primer bağlanma sıcaklığı
QIA	Qiagen
µl	Mikrolitre (Microlitre)
UV	Ultraviolet (Mor ötesi ışın)
V	Volt
VNTR	Değişken sayıda ardışık tekrar (Variable Number of Tandem Repeat)

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Adli olaylar, kanunlarda açıkça suç olarak belirtilen fiil ve hareketlerin belirli bir zaman ve mekânda gerçekleşmesi ile ortaya çıkar. Adli olgunun üç temel unsuru; olay yeri, mağdur ve faildir. Adli bilimler, olay yerinde başlar. Zira Adli soruşturmanın en önemli unsurlarından biri olan olay yeri incelemeleri ancak doğru gerçekleştirildiğinde, adli olayların çözülmesinde doğru sonuca ulaşılabilir (Yükseloğlu ve ark., 2008). Olay yeri, suç - mağdur - sanık hakkında birçok bilgi verir. Olay yerinde kriminal uzmanları, soruşturma uzmanı, adli tıp vb. uzmanlar modern teknikleri kullanarak olay yerini dikkatlice incelediklerinde çoğu zaman suçluya/suçlulara ulaşacakları ipuçları bulabilmektedirler. Burada yapılan çalışmalar soruşturmanın başlamasının, seyrinin değerlendirilmesine ipucu verir ve sonucu derinden etkiler (Kaygısız, 2003).

Adli bilimlerde bir suç araştırılmasında toplanan biyolojik kanıtların çoğu insana ait olmasına rağmen olay yerinde bulunan hayvanlara ait kanıtlar da olabilir. Bir olay yerinde hayvana ait biyolojik materyallerin bulunmasıyla, kayıp bir evcil hayvan kalıntılarının belirlenmesi, bir kişi ya da hayvana yapılmış bir saldırıda saldıran hayvanın kimliğinin belirlenmesi, bir kaza olayında kazaya sebep olan hayvanın kimliğinin belirlenmesi, maddi hasardan sorumlu hayvanın kimliğinin tespiti, hayvan zülumu ve hayvan hırsızlığı gibi konularında olayı aydınlatmaya yaramaktadır (Ganço ve ark., 2009).

Köpekler evcilleştirilebilir olabilmeleri sebebiyle adli bilimler açısından önemli bir yere sahiptir. Köpeğe ait kan, kıl, salya gibi biyolojik örnekler, olay yeri ile mağdur arasında bağlantı kurmaya yarar. Bir evcil hayvanın yaşadığı ortama girildikten sonra o hayvanın tüyleriyle kontamine olunmaması imkânsızdır. Üstelik köpeklerin buldukları ortama kıllarının dökülmesi nedeniyle olay yerine, sahiplerinin biyolojik materyalinden daha fazla örnek bırakmış olurlar (D'Andrea ve ark., 1998). Kılların DNA analizi ile incelenmesi sonucunda kesin olarak kılın kaynağını, insana mı yoksa hayvana mı ait olduğunu, vücudun hangi bölgesine ait olduğunu, hangi hayvan türüne ait olduğunu, kaynağın yaş grubunu, zorlamayla mı yoksa kendiliğinden mi düştüğünü, kaynağın temizlik durumunu, saçkıran vb. hastalıkların bulunup bulunmadığını tespit etmek mümkündür.

Ayrıca olay yerinde köpeğe ait biyolojik materyalin saldırgan/mağdur üzerinde tespit edilmesi ya da köpeğe ait materyal üzerinde saldırgan/mağdura ait delilin saptanması olayın çözümünde etkili olmaktadır (Ganço ve ark., 2009; Arslan, 2000).

Adli bilimlerde olguların aydınlatılabilmesi için, eser miktarda mevcut olan biyolojik materyalin DNA analizini yapmak gerekmektedir. Ancak, bu tür biyolojik örneklerde yeterli miktarda genomik DNA'ya ulaşmak her zaman mümkün olamamaktadır. Bu tür örneklerde mitokondrial DNA analizi yapılarak daha başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir. Mitokondrial DNA'nın genomik DNA'ya göre hücre başına daha çok kopya sayısı içermesi ve az miktardaki ya da degrade olmuş biyolojik örneklerde DNA eldesinin daha uygun olması sebebiyle mitokondrial DNA, adli olayların aydınlatılmasında kullanılmaktadır. Böylece, adli olay çok daha hızlı ve kolay bir şekilde aydınlatılabilmektedir (Chen ve ark., 1995; Arı, 2004).

Mitokondrial DNA genomu üzerinde kontrol bölge (D-loop veya çok değişken bölge/HV-I ve HV-II) olarak bilinen bölgenin insan ve diğer memelilerde yüksek mutasyon oranına sahip olması bu bölgenin DNA analizleri açısından popüler olmasını sağlamıştır Köpek mitokondrial genomu halkasal ve 16,728 baz çiftine sahip olup, 13 protein, 22 tRNA ve 2 rRNA kodlamaktadır (Darok ve Gatterneg, 2005; Kim ve ark., 1998).

Bu çalışmanın amacı; 150 evcil köpeğe ait kan örneklerinden mitokondrial DNA elde edilerek çok değişken bölge olarak bilinen HV-I ve HV-II bölgelerinin analizini gerçekleştirmektir. Önceki çalışmalarda adli bilim alanında insanlara özgü kimliklendirmede mitokondrial DNA üzerine yapılmış çalışmalar mevcuttur ancak Türkiye'de adli amaçlı olarak köpeklerde mitokondrial DNA analizi ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu tez projesinde, olay yeri incelemelerinde köpeklere ait biyolojik örneklerin tespiti yoluyla olay yeri, mağdur ve saldırgan arasında bağlantı kurulabileceği vurgulanmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Köpekler, sürü koruyuculuğu, bekçilik, avcılık, yaşam yoldaşlığı gibi birçok amaç için yetiştirilmekte ve 400'ün üzerinde ırkı bulunmaktadır (Yılmaz, 2005). Taksonomik olarak Carnivora takımının Canidae familyasına ait olup, görünüş olarak uzun ve yassı bir kafatasına sahiptir. Diş ve çene yapıları koparmak ve çiğnemek için oldukça gelişmiştir. Her şey yiyici hayvanlardır ama en çok et ile beslenmeyi severler. Ön ayaklarında beş ve arka ayaklarında dört parmakları bulunur. En önemli duyu organı burunları olup koku alma kabiliyetleri çok iyi gelişmiştir. İnsanların sahip olduğu toplam beş santimetrekare olan koku bölgesinin büyüklüğünün, köpeklerde 150 santimetrekareye kadar çıktığı bilinmektedir. Koku hafızaları son derece gelişmiştir ve yeni bir kokuyu aldıktan hemen sonra, burunlarını yalayarak bu kokuyu hafızalarına alırlar. Böylelikle koku duyularını kullanarak hiçbir belirtinin görülmediği bölgelerde iz sürebilir ve bu izleri takip edebilirler (Pugnetti, 2005).

Yeni doğmuş bir yavru köpek hızla büyür, kısa süre içinde yetişkin köpek haline gelir ve yıllarca olgunluk dönemini yaşar. Yaşama süresi çeşitli faktörlere: çevre, cins, sağlık durumu, hijyen koşulları, egzersiz ve beslenmeye göre değişim gösterir. İnsan yaşına göre kaç yaşında olduğunu bulmak için köpeğin yaşını 7 ile çarpmak doğru bir sonuç vermez. Örneğin 12 aylık bir köpeğin yaşı insan yaşına göre 14 aylık olduğu, 10 yaşında bir köpeğin yaşı insan yaşına göre 65 olduğu hesaplanmaktadır (URL-1).

Biyolojik ve genetik olarak köpek belirli bir kalıba girmeye öteki memelilerden daha yatkın olup sadece itaate ve öğrenmeye uyum sağlamakla kalmamış, birbirini izleyen kuşaklar boyunca sadece uyum sağlama özelliğini değil yeni özellikleri de kendinden sonraki kuşaklara iletmıştır. Köpeğin bellekleri konusunda psikologlar, kısa süreli muhtemelen sadece birkaç saatlik hatırlama yeteneğine sahip olduğu konusunda birleşirler (Pugnetti, 2005).

Köpekler kendi aralarındaki iletişimi, birbirini anlamaya sağlayan işaretler, algılar ve kokular kompleksinden oluşan bir kodlama ile sağlarlar. Örneğin; kısılan kulaklar kaygı ve korkuyu, dikilen kulaklar dikkati, ileriye doğru tutulan kulaklar alarm halini, dikilen ve sallanan bir kuyruk neşe ve güvenlik duygusunu, bacakların arasında sıkıştırılan kuyruk korkuyu, hırlamayla birlikte gerilen dudaklar tehdidi ifade eder (URL-2).

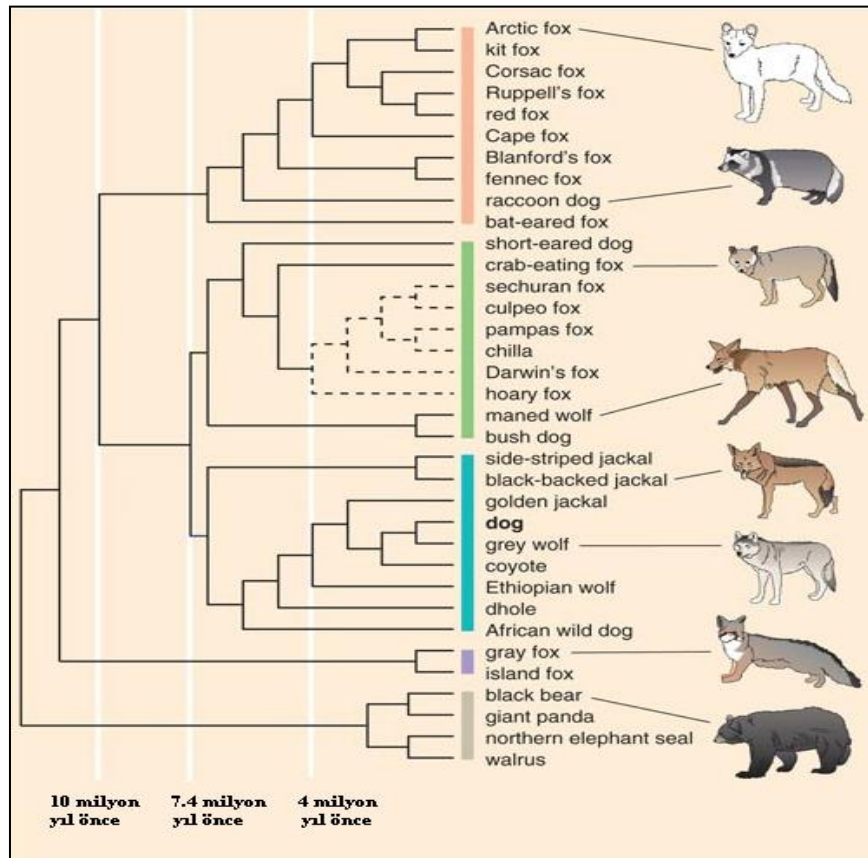
Köpekler sahip oldukları özelliklerine göre insanlar tarafından çeşitli hizmet alanlarında kullanılmışlardır. Örneğin, İskoçya'daki değirmenlerde çarkları çevirmişler, Galler'de yayık tereyağı imalatında çalışmış, Orta Avrupa'da ve Uzak Doğu'da çok çeşitli işler yapmışlardır. Alman çoban köpekleri, Hollanda ve Danimarka'da metrelerce yerin altından geçen gaz borularındaki küçük çatlakları araştırmak için kullanılmıştır. Köpekler sahiplerinin vücutlarındaki parazitleri bulup çıkarmak, koyunları demiryollarından uzak tutmak, sirklerde insanları eğlendirmek için ve tıbbi araştırmalarda denek olarak (özellikle diabet ve raşitizmde) kullanılmışlardır (URL-3).

İnsan hayatında oldukça önemli bir yer tutan köpeklerin bazıları yırtıcı ve saldırgan olmaları sebebiyle “tehlikeli köpekler” olarak tanımlanmışlardır. Bu bağlamda tehlikeli köpeklerin sahiplerinin uyması gereken çeşitli hükümler söz konusudur. 01.07.2004 tarihinde yürürlüğe giren 5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanununun 14. maddesinin 1. bendinde; “Pitbull Terrier, Japanese Tosa gibi tehlike arz eden hayvanları üretmek, sahiplendirilmesini, ülkemize girişini, satışını ve reklamını yapmak, takas etmek, sergilemek ve hediye etmek yasaktır” hükmü yer almaktadır. Bu hükme uymayanlara Kanunun 28. maddesi gereğince idari para cezası kesilir ve hayvanlara el konulur (Çevre ve Orman Bakanlığı, Tehlikeli Köpekler Genelgesi, 2008).

Günümüzde dünyadaki evcil köpek nüfusunun 120-150 milyon arasında olduğu tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde 35 milyon, Fransa'da 7-8 milyon, Almanya'da 5-6 milyon, İtalya'da 4 milyon, Belçika'da 1 milyon ve İsviçre'de 400.000 köpek olduğu saptanmıştır. Türkiye'de bulunan evcil köpek sayısı ise yaklaşık olarak 800.000 olarak belirlenmiştir (URL-3; URL-4).

2.1. KÖPEĞİN ORJİNİ

Canidae (Köpekçiller) familyasının ilk atalarının 60 milyon yıl evvel Kuzey Amerika'da ortaya çıktığı düşünülmektedir. "Miacis" cinsini oluşturan ilk ataları, uzun vücutlu, kısa bacaklı, kedilerde olduğu gibi tırnaklarını içeriye çekme yeteneğine sahip ve ayılar gibi ayak tabanlarına basarak yürüyen küçük hayvanlar olarak tanımlanmıştır. Bu yüzden Miacis cinsinden aynı zamanda kedigiller, sırtlangiller, sansargiller, rakungiller, misk kedisigiller ve ayıgiller familyalarının da türemiş olduğu kabul edilir. İlerleyen dönemlerde Canis cinsi ortaya çıkmış ve yaklaşık 300.000 yıl önce bu cins *Canis lupus*'a (kurt) dönüşmüş ve kurttan günümüzden 14.000 yıl önce ilk evcil köpekler türemiştir. Köpekler arasındaki genetik uzaklıklara ait dendrogram Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Clutton-Brock, 1991). Canidae familyasına ait 38 tür tanımlanmıştır (Tablo 2.1).



Şekil 2.1. Köpekler arasındaki genetik uzaklıklara ait dendrogram

(URL-5; http://math.ucr.edu/home/baez/diary/march_2010.html'den alınmıştır)

Tablo 2.1. Canidae familyasının tanımlanmış türleri (Clutton-Brock, 1995)

Kurt (<i>Canis lupus</i>)	Güney Afrika tilkisi (<i>Vulpes chama</i>)	Darvin tilkisi (<i>Pseudalopex fulvipes</i>)
Köpek (<i>Canis familiaris</i>)	Korsak tilkisi (<i>Vulpes corsac</i>)	Pampa tilkisi (<i>Pseudalopex gymnocercus</i>)
Dingo (<i>Canis familiaris dingo</i>)	Tibet tilkisi (<i>Vulpes ferrilata</i>)	Peru çöl tilkisi (<i>Pseudalopex sechurae</i>)
Kızıl kurt (<i>Canis rufus</i>)	Soluk tilki (<i>Vulpes pallida</i>)	Brezilya dövüş tilkisi (<i>Pseudalopex vetulus</i>)
Yeleli kurt (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	Kum tilkisi (<i>Vulpes rueppelli</i>)	Peru çöl tilkisi (<i>Pseudalopex sechurae</i>)
Kır kurdu (koyot) (<i>Canis latrans</i>)	Ova tilkisi (<i>Vulpes velox</i>)	Yengeç yiyen tilki (<i>Cerdocyon thous</i>)
Habeş kurdu (<i>Canis simensis</i>)	Çöl tilkisi (<i>Vulpes zerda</i>)	Kısa kulaklı tilki (<i>Atelocyon microtis</i>)
Kara sırtlı çakal (<i>Canis mesomelas</i>)	Boz tilki (<i>Urocyon cinereoargenteus</i>)	Kutup tilkisi (<i>Alopex lagopus</i>)
Çizgili çakal (<i>Canis adustus</i>)	Ada boz tilkisi (<i>Urocyon littoralis</i>)	Çalı köpeği (<i>Speothos venaticus</i>)
Altın çakal (<i>Canis aureus</i>)	İri kulaklı tilki (<i>Octocyon megalotis</i>)	Asya yaban köpeği (<i>Cuon alpinus</i>)
Kızıl tilki (<i>Vulpes vulpes</i>)	Falkland tilkisi (<i>Dusicyon australis</i>)	Afrika yaban köpeği (<i>Lycan pictus</i>)
Bengal tilkisi (<i>Vulpes bengalensis</i>)	And tilkisi (<i>Pseudalopex culpaesus</i>)	Rakun köpeği (<i>Nyctereutes procyonoides</i>)
Afgan tilkisi (<i>Vulpes cana</i>)	Arjantin gri tilkisi (<i>Pseudalopex griseus</i>)	

Canidae familyasına ait türler, kromozom sayısı ve yapısı bakımından incelendiğinde 36 metasentrik kromozom taşıyan kızıl tilki (*Vulpes vulpes*)'den, 78 akrosentrik kromozom taşıyan kurtlar (*Canis lupus*), koyotlar (*Canis latrans*) ve çakallar (*Canis aureus*)'a kadar farklılık gösteren türlerin olduğu görülmüştür (Wurster-Hill ve Centerwall, 1982). Bu çalışmalar türler arasındaki genetik uzaklığın belirlenmesinde önemli rol oynamıştır.

Evcil köpeğin taksonomik adı *Canis lupus familiaris* olup *Carnivora* takımının, *Canidae* ailesinin *Canis* cinsinde yer almaktadır (Tablo 2.2). *Canis lupus familiaris*'in sinonimleri; *Canis familiaris* ve *Canis familiaris domesticus* olarak bilinmektedir.

Canis lupus familiaris'in orjini konusunda birkaç hipotez ortaya atılmıştır: Buna göre; 1) golden çakal (*Canis aureus*) türünden türediği (Lorenz, 1954); 2) yabani köpekgillerin hibritlerinden türediği (Darwin, 1875; Clutton-Brock, 1977; Brisbin, 1997) 3) yabani köpeklerden veya çakallardan veya *C. lupus*'dan türediği düşünülmektedir (Epstein, 1971; Zeuner, 1963; Fox, 1973; Manwell ve Baker, 1983). Çakal ile evcil köpek, tek bir melezen türemesine rağmen (örneğin; *Canis simensis* veya *Cuon alpinus*, *C. lupus*'un alt türlerindedir), filogenetik açıdan uzak olduklarının tespit edilmesiyle birbirinden ayrılmıştır (Wayne ve O'Brien, 1987; Wayne ve ark., 1991).

Yapılan genetik çalışmalar sonucu; ortak protein dizisine (Wayne ve O'Brien, 1987), yüksek derecede polimorfik mikrosatellitlere (Garcia-Moreno ve ark., 1996) ve benzer mitokondriyal DNA dizilerine sahip olmaları (Wayne ve ark., 1992) evcil köpeğin kurtlardan türediğini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca yapılan morfolojik ve davranışsal çalışmalar da genetik bulgular ile aynı sonucu işaret etmektedir (Clutton-Brock, 1995; Sutter ve Ostrander, 2004).

Tablo 2.2. *Canis lupus familiaris*'in taksonomik yeri

Alem	: Animalia (Hayvanlar)
Şube	: Chordata (Kordalılar)
Sınıf	: Mammalia (Memeliler)
Takım	: Carnivora (Etçiller)
Alt takım	: Caniformia (Köpeğimsiler)
Familya	: Canidae (Köpekgiller)
Oymak	: Canini (Asıl köpekler)
Cins	: <i>Canis</i>
Tür	: <i>C. lupus</i>
Alt tür	: <i>C. l. familiaris</i>

2.2. KÖPEKLERİN TARİHTEKİ YERİ

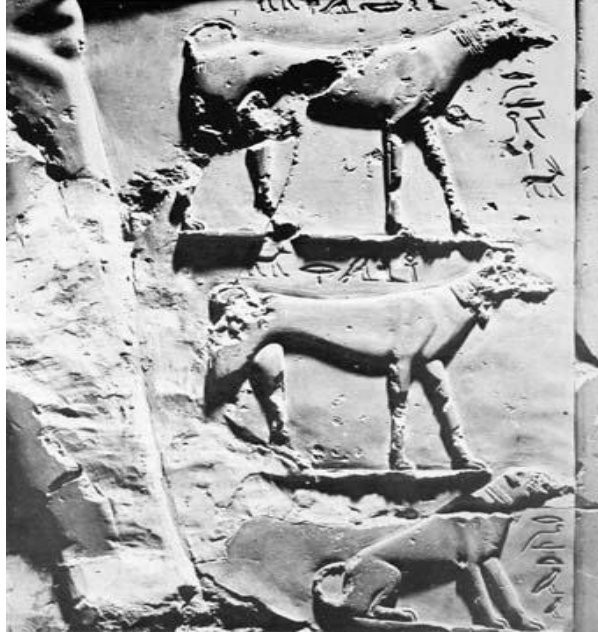
25-30 milyon yıl öncesine uzanan arkeolojik bulgular, köpeğin yeryüzündeki ilk varlığını göstermektedir. Prehistorik ressamlar avlanma ve iştah ile ilgili duyguları hatırlatan hayvanlardan esinlendikleri için o dönemlerde köpek ihmal edilmiştir. Süsledikleri mağaralarda geyik, bizon, yaban domuzu ve ren geyiği resimleri olduğu gözlenmiştir. Uzun bir süre *Canis familiaris*'ten bahsedilmemiştir. Muhtemelen o sırada köpek, ev halkının dostu idi ve günlük hayatta sanatçılara esin vermeyecek kadar sıradan bir unsurdu. Ancak daha sonra çakal ve sırtlanı resmetmeye başladılar. İlk köpek resmi M.Ö. 4500 yıllarında görüldü. Resimdeki köpek, doğal olarak bir avcıya yardım etme eylemi içindeydi, fakat görünümü günümüzdeki köpek türlerinden hiçbirine benzememekteydi.

Ortaçağ döneminde köpekler, savaşlarda mesaj iletme ve saldırı amacıyla kullanılmışlardır. Kerpeteni andıran dişlere sahip Molossus, saldırı ve savunma amacıyla üzeri keskin usturalarla kaplı demir boyunluklarla donatılırdı. Bu köpeklerin görüntüsü karşısında düşman genellikle savaşmaktansa kaçmayı tercih ederdi. Mesaj köpeği olarak seçilenlere, askeri emirler, küçük bir bakır tüpün içine konur ve yutturulurdu. Köpek, gideceği yere vardığında gönderilen emirleri bir an önce alabilmek için köpeğin tüpü, doğal yollardan çıkarmasını beklenmez ve köpek öldürüldükten sonra tüp çıkartılırdı.

Rönesans dönemine bakıldığında, Ortaçağ dönemindeki adetler değişmeye başladı. Bu arada köpeklere duyulan sevginin önceki dönemlere nazaran arttığı düşünülmektedir. Rönesansın eşliğinde, güzel bir köpeğe sahip olmak bir tür snopluk haline gelmişti. Köpekler yine ava götürülüyordu ancak bir köpekle yürüyüşe çıkmak, onunla arkadaşlık etmek te insanlara zevk veriyordu. Özellikle avla ilgilenmeyen aristokrat kadınlar, arkadaşlık ettikleri küçük köpekleri seviyorlardı. Bu köpekler kadınlar tarafından ev hayatına alıştırılıyordu.

İnsan hayatının bir parçasını oluşturan köpekler hakkındaki görüşler çeşitli dinler tarafından da ifade edilmiştir. Antik Mısır'da köpekler kutsal sayılıyor, sadece kraliyet ailesinin safkan köpek edinmesine izin veriliyordu. Mısırdaki ölen köpekler için mezarlar yapılmış, derin üzüntü ifade eden kitabeler yazılmış ve o dönemde mezartaşlarında köpek kabartmalarına yer verilmiştir (Şekil 2.2).

Rönesans dönemi itibariyle köpek öldürmek ağır bedensel ceza gerektiren bir suç olarak görülmüş ve yapılan gaddarlık belgelendiğinde köpek öldüren kişiye ölüm cezası verilmiştir (Pugnetti, 2005).



Şekil 2.2. Mısır firavunu II. Antef'in mezartaşındaki köpek kabartmaları (~ M.Ö 3000 yılı)

(URL-6; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Köpek>'den alınmıştır)

2.3. KÖPEKLERİN EVCİLLEŞTİRİLMESİ

Arkeolojik çalışmalar, Mezolitik (Orta) Çağ'da (M.Ö. 10.000-8.000) ilk evcil hayvanın köpek olduğunu göstermektedir (Clutton-Brock, 1995). İsrail'in Ein Mallaha bölgesindeki mezarlıkta 12.000 yıl öncesine ait birlikte gömülü halde bulunan insan ve köpek iskeleti Şekil 2.3'te gösterilmiştir. İnsanlar atı, ren geyiğini ya da fili evcilleştirmek için onları yakalamak (yani onlara hâkim olmak) belirli bir yerde kapalı tutmak ve zor kullanarak kazanmaları gerekiyordu. Hayvanlar arasında yalnızca köpek, insanın otoritesine, zor kullanmasına gerek kalmadan uyum sağlamıştır. İnsan tarafından evcilleştirilen ilk köpek, kurt olarak bilinir. İnsanlar ve kurtlar birbirlerine çok kısa süre içinde uyum sağlamışlardır.

Bunun sebebi her iki canlı türünün de aynı toplumsal örgütlenmeye ve içgüdüsel olarak genelde aynı zihin yapısına sahip olmalarıdır.

İnsan ile köpek arasındaki dostluk, tarihte görülen en eski ve en uzun süreli dostluklardan biridir. Hayatın bütün iniş çıkışlarında (barışta ve savaşta, sefalette ve zenginlikte, sanat, avcılık, savunma, spor, arkadaşlık ve bilimsel buluşlarda) köpek daima insana eşlik etmiştir. Paraguay ve Peru'nun bazı uzak köylerinde annesini kaybeden bir köpek yavrusunun bir kadın tarafından emzirilmesi çok sık görülen bir durumdur. Bu tür olaylar, insan ile hayvan arasındaki yakınlığın pekişmesinde önemli bir rol oynamıştır (Pugnetti, 2005).

Köpek, diğer hayvanlardan farklı olarak sahibine sevgi ve sadakat ile bağlı olması sebebiyle insan tarafından "sadık dost" olarak nitelendirilmiştir. İnsan ve köpek arasındaki bu güçlü dostluk nice hikâyelere ve filmlere konu olmuştur.

Köpeğe ait
iskelet



Şekil 2.3. İsrail'in Ein Mallaha bölgesindeki mezarlıkta 12.000 yıl öncesine ait birlikte gömülü halde bulunan insan ve köpek iskeleti (Clutton-Brock, 1995)

2.4. ADLİ OLGULARLA KÖPEKLERİN İLİŞKİLENDİRİLMESİ

Köpek ısırması ile ilgili yaralanmalar ve ölümlerin artması önemli bir halk sağlığı sorununu oluşturmaktadır. Köpek saldırıları sebebi ile meydana gelen yaralanmalar bazen ölümlerle sonuçlanabilmekte, bu sonuçlar da adli açıdan önem arz etmektedir (Tsuji ve ark., 2008). Köpek saldırısı olaylarında genellikle mağdur üzerinde ısırık izleri bulunur, mağdurdan elde edilen örnek karışımında insana ait DNA yüksek oranda olsa bile, köpeğin tükürüğünden DNA profili elde etmek mümkündür (Eichmann ve ark., 2004; Ostrander ve ark., 1995; Francisco ve ark., 1996). Bazen köpekler de yaralanma kurbanı olabilir. Örneğin bir köpeğin saldırı sonucu yaralanması olayında, olay yerinde bulunan kıl ve kan lekelerinden saldırıyı gerçekleştiren köpek/köpeklere ait DNA analizi ile kimliklendirme yapılarak olayın çözümlenmesi mümkündür (Dobosz ve ark., 2009).

Köpekler adli olgunun sebebi olabildikleri gibi, bazen de adli olguların çözümlenmesinde kullanılabilir. Narkotik, patlayıcı, canlı insan, ceset arama ve asayiş-devriye alanlarında yetiştirilen özel görev köpekleri adli bilimlerde hizmete yardımcı olmaktadır (Mesloh ve ark., 2002). Bu köpeklere, köpek, kurt, tilkinin bulunduğu ailenin adı olan ve İngilizce “kiy-nayn” şeklinde okunan “canine”i çağrıştırmamasından dolayı, K-9 köpekleri de denilmektedir (Özcan ve ark., 2009).

Olay yerinde bulunan köpeğe ait biyolojik materyaller sayesinde mağdur/fail hakkında ya da olayın oluş şekli hakkında fikir sahibi olabilmemize yarayacak çeşitli delillere ulaşmamızı sağlaması ile adli olguların çözümünde önemli rol oynayabilmektedir.

Köpeklerin adli olgularda olayın çözümlenmesinde başarı ile kullanıldığına dair birçok örnek bulunmaktadır. Bu örneklerden biri amatör fotoğrafçı, müzik yapımcısı 23 yaşındaki zenci Wayne Williams vakasıdır. 1979-1981 yılları arasında Atlanta'da 29 zenci erkek çocuğun ölümünden sorumlu tutulan Williams'ın olayında delil olarak, öldürülen çocukların üzerlerinde birbirine benzer birçok lif ve köpek kılları bulunmuştur. Soruşturmacılar, cinayetlerin bir seri katil işi olduğunu düşünmüşlerdir. Georgia Kriminal Laboratuvarı, öldürülen zenci Jimmy Lee Payne'in üzerindeki kırmızı şortunda iki adet menekşe renkte asetat lif, üç adet sarı-yeşil naylon halı lifi, bir adet mavi-yeşil rayon lif ve yedi adet köpek kılları bulur. Birkaç gün sonra bir başka zenci Nathaniel Cater'in cesedine

rastlanır. Bu ceset üzerinde de öncekilere benzer bir adet sarı-yeşil halı lifi, iki menekşe renkte asetat lif, dört de köpek kılı bulunur. Polis, bunun üzerine Williams'ın evini aramış, yerdeki, duvardan duvara döşeli sarı-yeşil halıyı ve Alman çoban köpeğini görünce araştırmayı bu deliller üzerinden yürütmüştür. Gerek cesetlerden, gerekse şüphelinin evinden ve aracından toplanan yüzlerce lif, stereobinoküler, polarize ve fluoresans mikroskopları, ayrıca mikrospektrofotometre, hatta bazıları elektron mikroskobu ile incelenmiştir, fiziksel ve kimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. FBI, cesetler üzerindeki köpek kıllarını da mikroskobik olarak incelemiş ve Williams'ın köpeğine ait olabileceklerini ileri sürmüştür. Bütün bu olasılıklar bir arada düşünüldüğünde Williams, 27 Şubat 1982'de iki kez ömür boyu hapse mahkûm edilmiştir. 2010 yılında dava yeniden görülmeye başlanmış ve Williams'ın köpeği Sheba'ya ait olan kıllar ile mağdurların üzerindeki kıllar mitokondrial DNA analizi yapılarak karşılaştırılmıştır. Sonuçta mağdurlar üzerindeki köpek kıllarının Sheba'nın kılları ile aynı olduğu tespit edilmiştir (URL-7, 2011).

Konu ile ilgili diğer bir örnek ise; 2000 yılında Amerika'nın Indiana eyaletinde 3 kişinin ölümünden sorumlu tutulan Phillip A. Stroud vakasında özellikle Nike marka ayakkabı delili dikkat çekmektedir. Stroud, hırsızlık ve cinayet amaçlı girdiği eve, olay esnasında kısa süreliğine çıkıp yeniden girmiştir. Stroud'un kız arkadaşının evinde olay günü giymiş olduğu bu ayakkabı, suçlanması için önemli bir delildir. Uzmanlar, Stroud'un ayakkabısının altındaki toprak, halı lifi ve köpek dışkısı örneklerini incelemişlerdir. Mağdurun evindeki halı lifleri, olay yeri çevresindeki toprak örneği ile failin ayakkabısı altındaki köpek dışkısı ile olay yerinde bulunan halının üzerinde de aynı dışkının olduğu belirlenmiştir. Bu olayda Stroud, ayakkabısı altındaki halı lifinin istatistiksel analizi, köpek dışkısının ise DNA analizi yapılarak olayla bağlantılı olduğu tespit edilerek suçlanmıştır (URL-8, 2011).

Adli amaçlı yapılan bir başka çalışma ise; 2003 yılında Estonia'da küçük bir kasabada genç bir kadın cesedi bulunması ile ilgilidir. Adli incelemeler, kadının bir köpek ya da birden fazla köpeğin saldırısına uğradığını işaret etmektedir. Kadının montu üzerinden, saldırıyı gerçekleştirdiği düşünülen köpek/köpeklere ait kıl ve salya örnekleri toplanır. O bölgenin yakınlarında yaşayan 6 farklı köpekten kıl ve salya örnekleri alınarak mtDNA ve genomik DNA analizi yapıp referans örnek ile karşılaştırılır. Sonuçta mağdur kadının montu üzerinden alınan örneklerle yapılan karşılaştırmada şüpheli köpeklere ait biyolojik örneklerin hepsi dışlanır. Kesin bir sonuca ulaşılmasa da bu olay, Estonia'da ilk kez köpeklerin adli amaçlı genetik incelemesinin yapılması bakımından önemlidir (Aaspo~llu ve Kelve, 2003).

2010 yılında Caniglia ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, İtalya'da yasa dışı avcılık olaylarında adli amaçlı analizler yapılarak türlerin belirlenmesinden bahsedilmektedir. Kaçak avcılık veya artan cinayetler İtalyan kurt nüfusunda değişimlere sebep olunca şüpheli seri kurt katili vakası gündeme gelmiştir. 2008 yılında kurt köpeği dişlerinden yapılan bir kolye tespit edilmiş ve bu durumun şüpheli kurt köpeği seri katili olayı ile ilişkili olup olmadığı araştırılmıştır. Bulunan kolyeye ait görüntü Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Şekilde görülen 10 kurt dişinin, daha önce ölü bulunan kurtların kas dokularından alınan örneklerle mtDNA ve STR analizleri yapılarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçların birbiriyle örtüştüğü gözlenmiştir. Bu veriler şüpheli seri kurt katile karşı sürmekte olan ceza davasında adli genetik delil olarak kullanılmıştır (Caniglia ve ark., 2010).



Şekil 2.4. Kurt köpeği dişlerinden yapılmış bir kolye

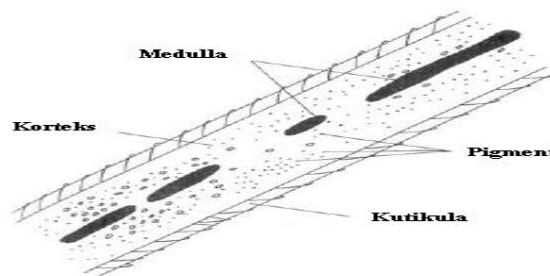
2003-2005 yılları arasında Amerika'da UC Davis Veterinary Genetics laboratuvarlarında çeşitli sebeplerle olaya karışmış köpekler üzerine bir vaka çalışması yapılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre bu tarihlerde gerçekleşen 32 vakadan 2'si maddi hasar, 6'sı ebevyn tespiti, 7'si yaralanma, ölüm ya da köpek dövüşü (köpek/diğer hayvan), 12'si köpek tarafından gerçekleşen bir saldırı (hayvana/insana), 1'i cinayet olayında köpeğin o ortamda bulunması sebebiyle köpeklerden biyolojik örnek almak yoluyla vakaların aydınlatılması sağlanmıştır. Bu amaçla 26 STR analizi ve 10 mtDNA analizi gerçekleştirilmiştir (Scharnhorst ve Kanthaswamy, 2011).

2.5. KÖPEKLERDE KIL VE KAN ANALİZLERİ

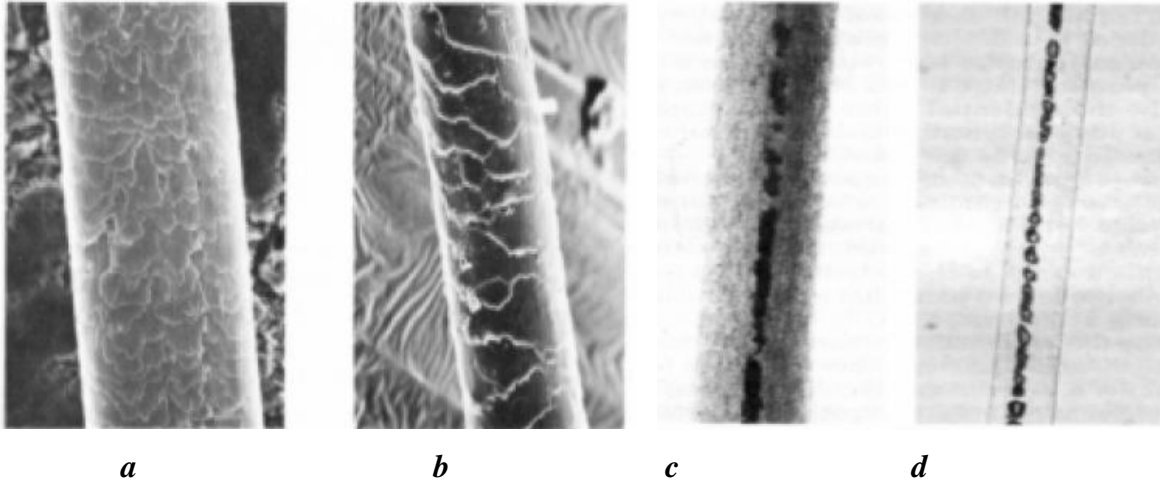
2.5.1. Kıl Analizi

Günümüz yaşamında kedi, köpek gibi evcil hayvanlar çok yoğun olarak insanlarla temas halindedir. İşlenen bir suç neticesinde evcil hayvanı olan bir fail, daha önceki temasları neticesinde hayvanına ait kılları olay yerinde bırakabileceği gibi olay yerinde bulunan hayvanlara ait kılları da kendi üzerine alabilir. Çünkü hayvana ait kıllar, günlük aktiviteler sırasında giysiler üzerine, ev, araba gibi yerlere kolayca transfer olabilmektedir. Elde edilecek bu deliller, şüphelileri olayla ilişkilendirmek açısından çok önemlidir (Bekaert ve ark., 2012).

Olay yerinde şüpheli kılların laboratuardaki incelemesinde ilk olarak söz konusu numunenin gerçekten kıl olup olmadığının tespiti yapılmaktadır. Daha sonra kıl örneğinin insana mı yoksa hayvana mı ait olduğuna bakılmaktadır. Bu amaçla kökün şekli, yüzey deseni, renk, pigment dağılımı ve medulla çapı incelenmektedir. Örnek insana ait değilse hangi hayvan türüne ait olduğunun tespitinin yapılması gerekir. İnsanların aksine hayvanlarda derinin dışındaki koruyucu kıl tabakası ve içindeki kıl tabakası olmak üzere iki tip kıl cinsi vardır. Birçok farklı tipteki hayvan kıllarının genellikle hayvan cinsini tayin edebilecek nitelikte karakteristik özellikleri vardır. Ancak köpekgiller gibi aynı tür hayvanların farklı cinslerinin tespitinin kısıtlı miktardaki kıl numunesi ile yapılabilmesi imkânsızdır. Aynı hayvan üzerinde çok farklı tipte kıllar bulunduğundan karşılaştırması yapılan kılın belirli bir kaynağa ait olup olmadığının tespitini yapmak zordur (De Forest ve ark., 1983). Cinsiyet tespiti, yapılacak genetik analizlerle mümkündür (Maraba, 1994). İnceleme için toplanan hayvan kılları belli bir hayvandan düşmüş olabileceği gibi failin veya bir başkasının giymiş olduğu kürkten de düşmüş olabilir. Bunun tespitini de makroskobik, immünolojik ve genetik incelemeler neticesinde yapmak mümkündür (FBI ATAP, 1999). Şekil 2.5'te kıl gövdesi kesiti (Bisbing, 2002) ve Şekil 2.6'da insan saçı ve köpeğe ait kıl görüntüsü karşılaştırması verilmiştir (Saferstein, 1995).



Şekil 2.5. Kıl gövdesine ait kesitin şematik gösterimi



Şekil 2.6. İnsan saçı ile köpek kılının kutikula ve medulla bakımından karşılaştırılması
 a. İnsan saçında kutikula'nın yapısı (600x) c. İnsan saçında medulla'nın görünümü (450x)
 b. Köpek kılında kutikula'nın yapısı (1250x) d. Köpek kılında medulla'nın görünümü (450x)

Farklı tür olaylarda evcil hayvanlara ait kılların transfer oranlarının tespiti amacıyla bir kediye altı, bir köpeğe ise oniki kişinin düştüğü İsviçre'de Lausanne Üniversitesi araştırmacıları tarafından bir araştırma yapılmış ve ilginç sonuçlara varılmıştır. Araştırmada içinde kedi ve köpeklerin yaşadığı dört apartman dairesinde yedi hırsızlık modellemesi ile bu hayvanlara temas etmiş kişilere karşı işlenmiş iki saldırı olayı canlandırılmıştır. Hırsızlıkların canlandırılacağı dört apartman dairesi canlandırma öncesinde iki gün boyunca elektrik süpürgesi ile temizlenmiştir. Birinci saldırı olayının kurbanı olan kadın, herhangi bir hayvana sahip olmadığı gibi hiçbir hayvanla da temas halinde yaşamamaktadır. Ayrıca canlandırmadan önce ceketi temizlenmiştir. Kadın, canlandırmadan sadece iki saat önce bir köpekle temas haline girmiş ve bu fiziksel temas sadece kadının pantolonuyla sınırlı kalmıştır. İkinci saldırı olayının kurbanı olan kadın iki kedisi ile birlikte yaşamaktadır ve giysileri canlandırma öncesi temizlenmemiştir. Hırsız ve saldırgan uzun kollu pamuk süveter, kot pantolon ve güderi şeritli tabanı Vibram™ marka olan ayakkabı giymişlerdir. Hırsızlık canlandırmasında şahıs apartman dairelerine hayvanlar olmadığı zaman girmiş yatak dolabını, dolapları ve kanepeleri karıştırarak dört dakika boyunca daire içinde gezinmiş ve bir hırsızın yapabileceği her şeyi yapmıştır. Saldırgan rolünü oynayan şahıs, kurban ile 15 saniye mücadele etmiş ve kollarıyla kurbanı sarılmıştır. Hırsızlık olayını canlandıranlardan örnek alınması sırasında bileklerden dirseklere kadar ve ayakkabı üzeriyle ayaklardan dize kadar yapışkan bantlar kullanılmıştır.

Saldırganın süveterinin ön kısmından, kollarından, arka üst kısmından ve pantolonundan örneklerin alınmasında yine yapışkan bantlar kullanılmış, pantolon şahsın üzerindeyken incelenmiştir. Transfer edilen kıllar mikroskop altında sayılmıştır. Araştırma sonuçları Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Hayvan kılları ile ilgili yapılmış bir araştırmanın sonuçları

Suç Tipi	İkametgahlarda Yaşayan Hayvan Sayısı	Örneklerin Alınma Zamanı	Bulunan Örnek Sayısı
1.Hırsızlık	1 Ankara Kedisi 1 Avrupa Kedisi 1 Poodle Köpeği	Hırsızlıktan hemen sonra	311 Kedi kılı 101 Köpek kılı
2.Hırsızlık	1 Melez Avrupa Siyam Kedisi	Hırsızlıktan hemen sonra	24 Kedi Kılı
3. Hırsızlık	1 İngiliz Seter köpeği	Hırsızlıktan hemen sonra	300 Köpek Kılı
4. Hırsızlık	1 İngiliz Seter köpeği	Hırsızlıktan 1 saat sonra	179 Köpek Kılı
5. Hırsızlık	1 İngiliz Seter köpeği	Hırsızlıktan 1 saat sonra (Sadece şahsın ayakkabılarında)	26 Köpek Kılı
6. Hırsızlık	2 Ankara- Avrupa Melez Kedi	Hırsızlıktan hemen sonra	610 Kedi Kılı
7. Hırsızlık	2 Ankara- Avrupa Melez Kedi	Hırsızlıktan 4 saat sonra (Sadece şahsın ayakkabılarında)	109 Kedi Kılı
1. Saldırı	1 İngiliz Seter köpeği	Saldırıdan hemen sonra	12 Köpek Kılı
2. Saldırı	2 Ankara- Avrupa Melez Kedi	Saldırıdan hemen sonra	255 Kedi Kılı

Bu çalışma, bir evcil hayvanın yaşadığı ortama girildikten sonra o hayvanın tüyleriyle kontamine olunmamasının imkânsız olduğunu göstermektedir. Üstelik köpeklerin buldukları ortama kıllarının dökülmesi ile olay yerine, sahiplerinin biyolojik materyalinden daha fazla örnek bırakmış olmaları da olay yeri incelemelerinde hayvanlara ait biyolojik materyallerin önemini vurgulamaktadır (D’Andrea ve ark., 1998; Arslan, 2000). Köpek kılları, tıpkı insan kılları gibi sürekli büyüme göstermeyip 3 aşamalı döngüyü tamamlar. Bunlar, aktif gelişmenin olduğu anajen fazı, gerilemenin olduğu katajen faz ve dinlenme evresi olarak bilinen telojen evresidir. Telojen evresinde, kıl folükülünün içerisindeki kıl ölmektedir. Dökülen kıllar çoğunlukla telojen fazdaki kıllar olup genomik DNA tipleme için yeterli epitel kök hücre içermezler. Kıl köklerinin olmadığı durumda örnekler, mtDNA analizi yapılarak tiplendirilebilmektedir (Bekaert, 2012).

2.5.2 Kan Analizi

İlk kez 1665 yılında Richard Lower tarafından köpekten köpeğe gerçekleşen kan nakli sonucu, kan nakli alan köpeklerin hayatta kaldığı bilinmektedir. 1875'te Landois ise köpek kanının başka bir cinsin kanı ile karıştırıldığında 2 dakika içerisinde hemen lizise (hücre parçalanması) neden olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmanın öncülüğünde Karl Landsteiner ise 22 kişinin kan örnekleri üzerine yaptığı çalışmada eritrosit ve serum arasındaki reaksiyonları tarif ederek 1901'de insan kan gruplarına ait sonuçları yayımlamıştır.

Köpeklerde kan gruplarının belirlenmesine yönelik çalışma ve yayınlar 1950'lerde başlamıştır. Kan gruplarının ırklara göre dağılımı çalışmaları halen sürmektedir. Köpeklerin alyuvarlarında 7 çeşit antijen, plazmalarında ise 11 çeşit antikor ve 14 farklı kan grubu faktörü ve 13'ün üzerinde kan grubu bildirilmiştir. Kan grupları İngilizce "Dog Erythrocyte Antigen" yani "Köpek Eritrosit Antijeni"nin kısaltması olan DEA ile ifade edilmektedir. Köpeklerde 8 adet numaralanmış universal (genel) kan grubu bulunur. Universal isimlendirilmesi ise 1.1, 1.2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 şeklinde yapılmakta olup (Giger ve ark., 1995), Tablo 2.4'te gösterilmiştir. Son yıllarda geliştirilen pratik test kitleriyle köpekler, DEA 1.1 ve DEA 1.2 yönünden pozitif veya negatif olarak sınıflandırılmaktadır. Ticari olan bu kitlerde yöntem, kan grubu antijenlerine karşı elde edilmiş monoklonal antikorların test kartı üzerinde antijenle verdiği reaksiyon temeline dayanmaktadır. DEA 1.1 ve DEA 1.2 negatif köpekler genel verici (universal donör) olarak kabul edilir. Greyhound ırkı köpekler bu özelliğe sahip köpekler olarak bilinir.

Tablo 2.4. Köpeklerde kan grupları

DEA grup	Eski adı	Antikor
1.1	A ₁	-
1.2	A ₂	-
3	B	+
4	C	-
5	D	+
6	F	-
7	Tr	+
8	He	-

Olay yerinde, olay ile bağlantısı olduğu düşünölen köpeğe ait kan materyalinden DNA analizi ile cinsiyet tayini yapılması ve genetik özelliklerinin belirlenmesi mümkündür. DNA izolasyonu amacı ile kan örneklerinin toplanmasında kanın pıhtılaşmasını önlemek için EDTA'lı ya da heparinli tüpler kullanılmaktadır. Ancak heparin, PCR için inhibitör olarak etki göstermesinden dolayı PCR çalışmaları için kan örneklerinin toplanmasında EDTA'lı tüpler tercih edilmelidir (Arı, 2004).

2.6. DNA İZOLASYON YÖNTEMLERİ

Kan, kıl, tükrök, salya gibi örneklerden DNA izolasyonu için, bugüne kadar birçok farklı yöntem kullanılmıştır. İzolasyon yapılırken, çevre şartları, kontaminasyon, elde edilen materyalin az ya da çok olması veya kullanılacak teknikler gibi birçok parametre göz önüne alınmaktadır. Köpeklerde DNA parmak izi, gen haritalamaları veya çeşitli moleküler genetik markerlere (işaretçi) ilişkin yapılan pek çok araştırmada kullanılan DNA, çoğunlukla kandan elde edilmektedir.

DNA analiz çalışmalarında, kan örneklerinden DNA izolasyonu için fenol kloroform ve yüksek tuz konsantrasyonu (trimetil amonyum bromür tuzu, doymuş NaCl) gibi, birçok farklı yöntemler kullanılarak ayrıştırma ve saflaştırma yapılmıştır (Jeffreys ve Morton, 1987). DNA izolasyonunda kullanılan yöntemlerden birisi olan fenol kloroform yönteminde, öncelikle proteinler fenol-kloroform kullanılarak uzaklaştırılır. Daha sonra yalnız kloroform kullanılarak bütünüyle saf DNA elde edilir. Bu işlemin en büyük avantajı, diğer inorganik çözücülerden daha saf ve daha verimli DNA elde edilmesidir. Bu yöntemde fenol, proteinleri etkili bir şekilde denatüre etmesine karşın RNAaz'ların aktivitesini bütünüyle engelleyememektedir. Bu durumda fenol-kloroform-izoamil alkol karışımının kullanılması önerilmektedir (Sambrook ve ark., 1989). DNA'nın tam kandan izolasyonunda kullanılan yöntemlerden birisi de, güçlü bir denatürasyona neden olan, yüksek tuz derişimi içerisindeki (1M NaCl) iyonik deterjan, dodesil trimetil amonyum bromür (DTAB) ve çökelmeye neden olan düşük tuz derişimi içerisinde bulunan katyonik deterjan, setil trimetil amonyum bromürün (CTAB) kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemle elde edilen DNA, ilgili uygulamalarda restriksiyon endonükleaz enzimleri ile parçalama, PCR gibi uygulamalarda başarıyla kullanılabilir. Elde edilen DNA'nın niteliği oldukça yüksektir.

Bu yöntemle çalışan Gustincich ve ark. (1991), spektrofotometredeki DNA miktarı ölçümleri için 260/280 dalga boyunda optik dansite (O.D.) oranını $2,0 \pm 0,1$ olarak bildirmiştir.

Yukarıda sözü edilen yöntemler, fazla miktardaki örneklerden yüksek moleküler ağırlıklı DNA elde edilmesinde başarılı olmasına rağmen, çeşitli işlem basamakları gerektirmesi ve bu basamaklarda DNA ekstraktının başka kaplara aktarımında veya yıkama gerektiren çeşitli ticari filtrelerin veya kolonların kullanıldığı tuz arıtma işlemini de içerdiğinden, bu ara basamaklar kontaminasyonun başlaması ya da örneklerin karşı-transfer (cross-transfer) oluşturma olasılıklarını yükseltmesi bir dezavantaj olarak kabul edilebilir. Ayrıca DNA izolasyonunda Chelex 100 ile izole edilen DNA'ların PCR aşamasında da oldukça başarılı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu yöntemin klasik yöntemlere göre belirgin üstünlükleri vardır. DNA ekstraksiyonu için basit, hızlı, tehlikesiz ve etkin bir yöntem olan Chelex yöntemi adli amaçlı örnekler için uygulanabilmektedir. Bu yöntemde hücre süspansiyonunun üzerine %5' lik Chelex çözeltisi eklenmesi ile yapılır. Chelex 100 kelatlaştırıcı reçine kullanımını, tam kan, sperm ve kıl kökü örneklerinden DNA izolasyonunda fazla tüp transferi ve işlem basamakları gerektirmemektedir (Walsh ve ark., 1991).

Günümüzde bu yöntemlerin dışında köpek kan veya kıl materyalinden DNA izolasyonu yapmak amacıyla çoğunlukla ticari kitler kullanılmaktadır. Kontaminasyonu önlemek ve işlemleri kısa zaman içinde gerçekleştirmek için kit kullanımı büyük avantaj sağlamaktadır.

2009 yılında yapılan bir araştırmaya göre, 21 farklı laboratuvarın adli amaçlı köpek kimliklendirmesi ile ilgili olarak kullandıkları DNA izolasyon yöntemleri karşılaştırılmıştır. Buna göre laboratuvarlar, köpek kanından DNA izolasyonu için %57'si Proteinaz K ile çöktürme veya fenol-kloroform metotlarını, %14'ü Chelex, %14'ü Qiamp (Qiagen) kitini ve %14'ü de başka kit ya da teknikler kullandığını; köpek kılından DNA izolasyonu için %58'i Proteinaz K ile çöktürme veya fenol-kloroform metotlarını, %16'sı Proteinaz K ile çöktürme veya Chelex metotlarını, %5'i Qiamp (Qiagen) kitini ve %21'i de başka kit ya da teknikler kullandığını belirtmiştir (van Asch ve ark., 2009).

2.7. DNA TİPLENDİRMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER

2.7.1. Köpeklerde Minisatellit ve Mikrosatellit Analizi

Canlıların genomunda sayıları bireyler arasında farklılık gösteren kısa tekrar bölgeleri bulunur. Ardışık tekrar eden bu diziler, sayılarına göre “minisatellitler” ve “mikrosatellitler” olarak bilinmektedir. Tekrar dizilerinin sayıları, beş ve daha fazla olursa “minisatellit” ya da “VNTR (Variable Number of Tandem Repeat / Değişken Sayıda Ardışık Tekrar)” olarak adlandırılırlar (Brooker, 2005). Köpeklerde minisatellitlerin ilk tanımlanması, 33.15 ve 33.6 insan problemleriyle yapılmıştır (Jeffreys ve Morton, 1987). VNTR incelenmesinde en sık kullanılan teknikler RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism / Kısıtlayıcı parçacık uzunluk polimorfizmi) ve PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) teknikleridir (Butler, 2005). Eichmann ve Parson tarafından yapılan bir çalışmada, Bearded collie, Husky, Cocker spaniel, Dachshund, German shepherd ve Rottweiler ırkları köpeklerin kan, kıl kökü, kas, karaciğer, kemik ve diş dokularından alınan örneklerin VNTR bölgeleri incelenmiştir. Sonuçta kas dokusu hariç tüm doku örneklerinin benzer tekrarlar gösterdiği belirlenmiştir. Ancak Bearded collie, Cocker spaniel, Rottweiler ve German shepherd ırklarının kas dokularına ait VNTR bölgelerinde farklılıklar gözlenmiştir (Eichmann ve Parson, 2007). Bu bölgenin adli amaçlı incelenmelerde kullanılıp kullanılmayacağı araştırma konusu olmuştur. Fridez ve ark.’nın 1999 yılında yaptığı bir çalışmada mtDNA’nın VNTR bölgesinin adli amaçlı incelenmesinin uygun olmayacağı bildirilmiştir (Fridez ve ark., 1999). Köpeklerde mtDNA’nın VNTR dizinlemesi Ek 8’de gösterilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda mtDNA’nın HV-I ve HV-II bölgelerinin analizi yapılarak tiplendirmeler gerçekleştirilmiştir.

Tekrar dizilerinin sayıları iki, üç veya dört baz çifti uzunluğunda ise bunlar kısa tekrar dizileri (STR) veya mikrosatellitler olarak adlandırılırlar (Russel, 2003). Mikrosatellitler, ilk olarak 1989 yılında insan genomunda dinükleotid tekrar dizileri olarak tanımlanmışlardır (Weber ve May, 1989). Köpeklerde ise, ilk mikrosatellit lokusları 1993 yılında tanımlanmıştır (Ostrander ve ark., 1993). Ayrıca tilki, kutup tilkisi ve köpek genomu arasındaki varyasyonun ortaya konulmasında, köpek ırkları arasındaki genetik varyasyonun açığa çıkartılmasında da yine mikrosatellitlerden yararlanılmıştır (Atlet ve ark., 2001; Irion ve ark., 2003; Klukowska ve ark., 2003). STR analizleri ile hayvanların soy, cins, tür, ya da coğrafi kökenini keşfederek kimliğini değerlendirmek, bazı özel ve akademik laboratuvarlarında rutin olarak yapılmaktadır.

Bazı örneklerde, hayvana ait DNA analizleri ceza veya hukuk davalarının karar aşamasında kullanılmıştır. Örneğin STR analizleri sonuçları, yargı sürecinde olayla bağlantılı olan sığır, keçi, at ve koyun gibi çiftlik hayvanlarına ait davalarda sunulmuştur (Menotti-Raymond ve ark., 1997; Halverson ve Basten, 2005; Budowle ve ark., 2005). Çalışmalarda kullanılan STR markerları uygun bir adlandırma ve uluslar arası alanda güvenilir olarak kabul görmesi ile oldukça önem kazanmıştır (Eichmann ve ark., 2004). 1999 yılında yapılan çalışmalar köpek kollarına ait STR dizi analizlerinin adli amaçlı olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Savolainen ve Lundeberg, 1999; Schneider ve ark., 1999).

Köpek kimliklendirmelerinde yapılan STR analizleri, yüksek ayırıcılık özelliğine sahiptir ve insan STR'ları ile benzerlik göstermektedir. Böylece, saf veya karışık türlerin tanımlanması yapılabilmektedir (DeNise ve ark., 2003).

Ganço ve ark. (2009), 63 köpekten alınan kıl örneklerinin STR analizini yaptıkları bir çalışmada, kıl örneklerinin DNA izolasyonu sonrasında ABI 310 Genetik Analizör cihazında kapiler elektroforez yapılarak PEZ1, FHC2054, FHC2010, PEZ5, PEZ20, PEZ12, PEZ3, PEZ6, PEZ8 ve FHC2079 lokusları analiz edilerek tiplendirilmiş ve GeneScan Analiz 3.1 software programında sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre olay yeri ile bağlantılı hayvanlarla ilgili yapılan çalışmalarda, çalışılan bu lokusların önemli derecede ayırt edici olduğu ve olayı aydınlatmada kullanılmasının yararlı olacağı bildirilmiştir.

Bu konuda yapılmış bir başka çalışmada, olay yerinde köpeğe ait kıl ve kan örnekleri ile saldırıya uğrayan çocuğun boyun bölgesinden alınan sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA örnekleri 19 canine mikrosatellit markerları (AHTK211, CXX279, REN169O18, INU055, REN54P11, INRA21, AHT137, REN169D01, AHTH260, AHTK253, INU005, INU030, FH2848, AHT121, FH2054, REN162C04, AHTH171, REN247M23, Amelogenin) Canine Genotypes™ Panel 1.1 (Finnzymes Diagnostics, Finland) kullanılarak PCR işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra ABI PRISM 3100 Genetik Analiz cihazı ile tiplendirilmiştir. Sonuçta mağdurun boyun yüzeyinden elde edilen DNA miktarı az olmasına rağmen, mağdurun en az iki köpek tarafından saldırıya uğradığı tespit edilmiştir (Dobosz ve ark., 2009).

2012 yılında İngiltere’de yapılan bir çalışmada, köpeklerde DNA profillemesinin beş yıl boyunca cinayet, köpek hırsızlığı ile mücadele ve hayvan istismarı gibi suçları araştırmak için başarıyla kullanıldığı ifade edilmiştir. Ancak veri tabanı eksikliği sebebiyle, yapılan kimliklendirme istatistiklerinin yetersiz kaldığı, sadece ABD veritabanı kullanımının sonuçları sınırladığına dikkat çekilmiştir. Bu sorunu giderebilmek için İngiltere’de yaşayan 375 evcil köpeğin STR analizi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada sağlanan verilerin İngiltere için köpek kimliklendirmesinde yapılan hesaplamaların güvenilirliği için kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir (Ogden ve ark., 2012).

2.7.2. Köpeklerde SNP Analizi

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) bir genin toplumda %1 veya daha fazla sıklıkla rastlanan varyasyonları ile gerçekleşir. Bir veya daha fazla bazın diziye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) gibi birçok yolla oluşabilir. SNP’ler nesilden nesile fazla değişiklik göstermemeleri, degrade olmuş örneklerde bile iyi sonuçların alınması özelliklerinden dolayı moleküler çalışmalarda ve adli araştırmalarda tercih edilmektedir (Hwan ve ark., 2005). Özellikle olay yerinden az elde edilen ve degrade olmuş kan lekesi, saç, kemik ve diş gibi biyolojik materyallerden STR lokusları ile tiplendirme yapılamadığı durumlarda SNP lokusları ile başarılı amplifikasyon yapılabilmektedir (Gill ve ark., 2004).

2002 yılında yapılan bir çalışmada SNP analizlerinin adli kimliklendirmede oldukça etkili ve ucuz bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Andreåsson ve ark., 2002). Genom dizisi tamamlanan dördüncü memeli olan köpeklerde 2 milyondan fazla SNP olduğu saptanmıştır (Lindblad-Toh ve ark., 2005). 2009 yılında yapılan bir araştırmada, 552 evcil köpeğin ağız içi swap yoluyla alınan biyolojik örneklerinden mitokondriyal kontrol bölgesi içinde 36 yeni haplotip ve 24 yeni SNP belirlenmiş ve dışlama olasılığı 0,957 olarak tespit edilmiştir (Webb ve ark., 2009).

2012 yılında Imes ve ark. tarafından, 100 evcil köpeğin ağız içi swap yoluyla alınan biyolojik örneklerinden mtDNA analizi yapılmış ve 71 SNP belirlenmiştir. mtDNA’nın HV-I bölgesi daha önceki çalışmalarda yayınlanan 246 dizinin haplotip frekansları ile karşılaştırılmış ve bunların içinden en yaygın görülen 10 haplotip incelenmiştir. Gözlenen 10 haplotip 63 sub haplotipe ayrılmıştır. Sonuçta HV-I dizisinin rastgele eşleştirme oranı % 4 iken,

subhaplotiplere ayrılarak incelenmesi yoluyla köpekleri kimliklendirmede % 1'den daha düşük rastgele eşleştirme gösterdiği tespit edilmiştir (Imes ve ark., 2012).

2.7.3. Köpeklerde Mitokondrial DNA Analizi

2.7.3.1. Mitokondri Genetik Sistemi

Tüm ökaryotik hücrelerde bulunan mitokondrilerin kendi DNA'ları (mtDNA), gen anlatım sistemleri ve buna bağlı olarak ribozomları vardır; bunlar nukleustaki DNA ve sitoplazmadaki ribozomlardan farklıdır. Mitokondrinin genetik materyalinde taşınan genler döllere geçişte Mendelizme uygunluk göstermezler, onun yerine maternal (anneden gelen) kalıtım özelliğine sahiptirler. Bunun sebebi, mitokondrilerin sperm hücrelerinin baş kısmında yer almaması, bu nedenle de eşeyli üremede döllenme sırasında spermden mitokondri gelmemesi sebebiyle mitokondri, maternal kalıtım özelliği göstermektedir. Mitokondrial DNA, genomik DNA ile karşılaştırıldığında, mitokondrinin kendine has DNA'sının olması, sadece anneden kalıtılması ve rekombinasyon'a uğramaması gibi farklılıklar gösterir.

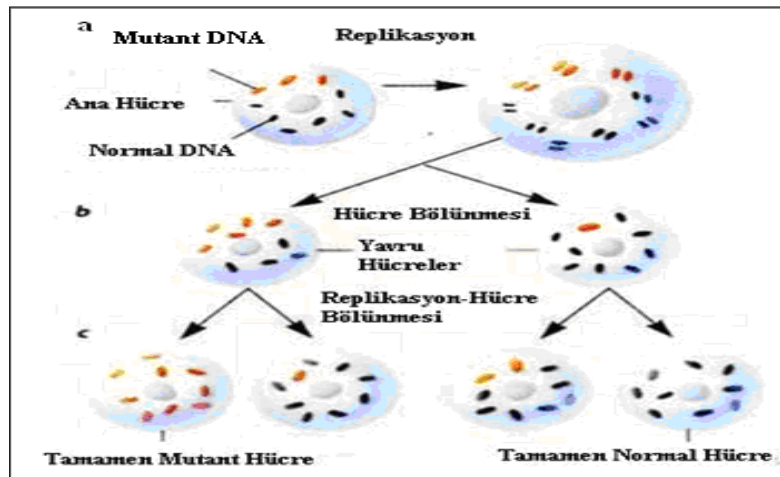
Mitokondri DNA'sı genleri aralarında gen dışı bölgeler olmayacak şekilde sıkı bir şekilde paketlenmiştir. Çift zincirli olan mtDNA molekülünün iki zincirinin baz içeriği birbirinden farklı olup H ve L zinciri olarak adlandırılır. H zinciri Guanin nükleotidi açısından, L zinciri ise Sitozin nükleotidi açısından zengindir (Strachan ve ark., 2004).

Mitokondri DNA'sının genomik DNA'dan bağımsız replikasyon ve transkripsiyon sistemi vardır. Ancak mtDNA'sının replikasyonu ve transkripsiyonu için gerekli bütün enzimler genomik DNA tarafından kodlanır. Mitokondri DNA'sının replikasyonu tek çeşit mitokondriyal DNA polimeraz tarafından yapılır ve bu enzimin fonksiyonu nukleustakilerden bağımsızdır. Mitokondrilerdeki ribozomlar ve rRNA'lar da sitoplazmadakilerden farklıdır. Ağır zincirin replikasyon orijinininden sentez başlar ve 5' → 3' saat yönünde ilerlerken H zincir açılır. Yeni sentezlenen zincir L zincirin replikasyon orijinine geldiği anda ters yönde yeni L zincir sentezlenmeye başlar. Böylece iki zincirin replikasyonu birbirine ters yönde ilerler ve 5' → 3' yönünde devamlı sentez olduğu için Okazaki fragmentleri içermez.

mtDNA'nın diğer bir önemli özelliği ise heteroplazmi göstermesidir. Maternal kalıtım özelliğine göre mtDNA'nın tüm kopyaları maternal akrabaları ile aynı olmalıdır. Ancak yüksek mutasyon oranı sebebiyle bazen aynı mitokondride, hücrede, dokuda veya bireyde iki

veya daha fazla mtDNA tipi görülebilir. Buna “heteroplazmi” denir (Brandstätter ve Walther, 2003). Eğer tüm mtDNA’lar aynı ise bu duruma da “homoplazmi” adı verilir.

Şekil 2.7’de heteroplazmik (hem mutant hem normal mtDNA içeren hücre) bir hücrede bulunan mtDNA’ların kalıtımı gösterilmektedir. Mitokondri bölünme aşamasına geldiğinde ilk önce hücrede bulunan mutant ve normal mtDNA’lar replikasyona uğrar (a) ve daha sonra hücre bölünmesi gerçekleşir. Bu esnada normal ve mutant mtDNA’lar mitokondrilere rastgele olarak dağılır. Aynı şekilde bu mitokondriler de hücrelere rastgele dağılır. Oluşan heteroplazmik hücrelerdeki mtDNA’lar tekrar replikasyona uğrar ve sonrasında bölünme gerçekleşir (b). Sonuçta tamamen mutant ve normal mtDNA (homoplazmik) taşıyan hücrelerin yanı sıra heteroplazmik hücreler de oluşur (c). Ancak homoplazminin oluşabilmesi için mitotik bölünmelerde belli bir sürenin geçmesi gereklidir (Hancock ve ark., 2005). İki çeşit heteroplazmi vardır. İlki, nokta heteroplazmisi (dizin heteroplazmisi)’dir. İki farklı mtDNA topluluğunda bir nükleotid pozisyonunda görülen farklılıktır. Çok yaygın değildir ve kanıtların yorumlanmasında önem taşır. İkinci tip heteroplazmi ise uzunluk heteroplazmisidir. Özellikle HV-I ve HVII’de görülür. MtDNA’da bulunan polisitozin (C stretch-uzaması) uzamalarının farklı uzunluklarda görülmesidir (Stewart ve ark., 2001). Heteroplazminin derecesi doku türlerine göre farklılık gösterebilmektedir. Örnek olarak, kıl kana göre daha fazla heteroplazmiktir (Paneto ve ark., 2007). Bu nedenle, kılda mtDNA analizi ile ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır (Salas ve ark. 2001; Brandstätter ve Walther, 2003; Argaç, 2009).



Şekil 2.7. mtDNA’da heteroplazmi

(URL-9; http://www.carolguze.com/text/442-10-nontraditional_inheritance.shtml alınmıştır)

Adli olaylarda olguların aydınlatılabilmesi için, kimi zaman eser miktarda mevcut olan biyolojik materyalin DNA analizini yapmak gerekmektedir. Ancak, bu tür biyolojik

örneklerde yeterli miktarda genomik DNA'ya ulaşmak her zaman mümkün olamamaktadır. Bu amaçla yapılan mtDNA analizi, nükleer DNA analizine göre daha çok avantaj sağlamaktadır. Ayrıca mtDNA'nın hücre başına daha çok kopya sayısı içermesi ve az miktardaki ya da degrade olmuş biyolojik örneklerden elde edilmesinin mümkün olması sebebiyle mtDNA analizi yapılarak, adli olay çok daha hızlı ve kolay bir şekilde aydınlatılabilmektedir (Chen ve ark., 1995; Darok ve ark., 2005). mtDNA'nın kontrol bölgesi (D-loop veya çok değişken bölge/ HV-I ve HV-II), 20 yıldan beri insan popülasyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Richards ve Macaulay, 2001). mtDNA'nın yapısı türler arasında benzerlik göstermektedir (Hoelzel ve ark., 1993; Hoelzel ve ark., 1994). Genlerin konumları temelde her tür için aynı olup, kontrol bölge (HV-I ve HV-II) aynı zamanda en değişken kısımdır (Okumura ve ark., 1996; Savolainen ve ark., 1997). Ayrıca kontrol bölge içinde türden türe değişkenlik gösteren VNTR bölgesi bulunmaktadır (Hoelzel ve ark., 1993). Elde edilen verilerin standardize edilmesi adli genetikte önemli bir konu haline gelmiştir (Carrecedo ve ark., 2000).

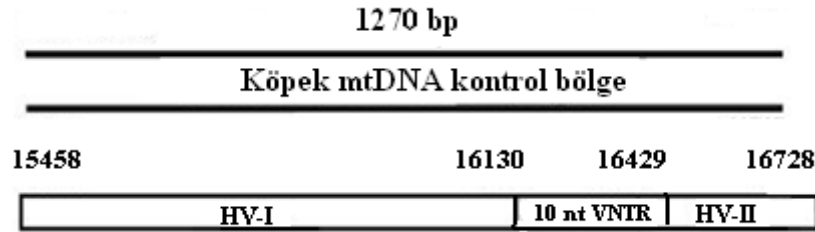
2.7.3.2. Köpeklerde Mitokondri Genomu

İnsan popülasyonlarından yola çıkarak elde edilen mitokondrial genoma ait bilgiler diğer türlerin üzerine de uygulanmıştır. Bu türlerden biri *Canis familiaris* olup, bu türün mitokondrial DNA çalışmaları, sadece popülasyon genetiği konusunda değil, gerek türlerin evrimi ve korunması konusunda (Savolainen ve ark., 2002), gerekse adli alanda (Savolainen ve ark., 1997; Savolainen ve ark., 1999; Wetton ve ark., 2003) ve eski kalıntılardaki DNA örnekleri hakkında bilgi vermektedir (Leonard ve ark., 2002). Tek bir köpek kılından STR lokusları ile tiplendirme yapmak çok güvenilir olmamakla birlikte, bu durum yüksek kopya sayısı sebebiyle mtDNA analizi yapılarak çözülebilmektedir. 1992 yılında bir çalışmada türlerin tespiti için sitokrom b gen dizilerinin karşılaştırılmasının yapılmasından (Barlett ve Davidson, 1992) ve sonraki yıllarda sitokrom b gen dizilerinin her canlıda farklı olduğundan söz edilmiştir (Wilson ve ark., 1995; Savolainen ve ark., 1997). İnsan mitokondrial DNA dizisi 1981 yılında (Anderson ve ark., 1981), köpek mitokondrial DNA dizisi ise 1998 yılında yayınlanmıştır ve referans dizi olarak kullanılmaktadır (Kim ve ark., 1998). Köpek mtDNA referans dizisi Ek 6'da gösterilmiştir. Köpek mitokondrial genomu halkasal ve 16,728 baz çiftine sahip olup, 13 protein, 22 tRNA ve 2 rRNA kodlamaktadır. *Canis lupus familiaris*'e ait mitokondrial genomun bölgeleri Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5. *Canis lupus familiaris* 'e ait mitokondrial genomun bölgeleri (Kim ve ark., 1998)

Gen bölgesi	5' -- 3'	Baz uzunluğu	Başlam kodonu	Bitiş kodonu
tRNA Phe	1-70	70		
12S rRNA	71-1,024	954		
tRNA Val	1-025-1,091	67		
16S rRNA	1,092-2,673	1582		
tRNA Leu	2,674-2,747	74		
NADH dehidrogenaz subünite 1	2,750-3,706	957	ATG	TAA
tRNA Ile	3,706-3,774	69		
tRNA Gln	3,771- 3,845	75L		
tRNA Met	3,847-3,916	70		
NADH dehidrogenaz subünite 2	3,917-4,960	1044	ATA	TAG
tRNA Trp	4,959-5,026	68		
tRNA Ala	5,040-5,108	69L		
tRNA Asn	5,110-5,181	72L		
OLR bölgesi	5,182-5,218	37		
tRNA Cys	5,215-5,282	68L		
tRNA Tyr	5,283-5,350	68L		
Sitokrom c oksidaz subünite 1	5,352-6,896	1545	ATG	TAA
tRNA Ser	6,894-6,964	71L		
tRNA Asp	6,969-7,036	68		
Sitokrom c oksidaz subünite 2	7,037-7,720	684	ATG	TAA
tRNA Lys	7,738-7,804	67		
ATPaz 8	7,806-8,009	204	ATG	TAA
ATPaz 6	7,967-8,647	681	ATG	TAA
Sitokrom c oksidaz subünite 3	8,647-9,430	784	ATG	Taa ^c
tRNA Gly	9,431-9,498	68		
NADH dehidrogenaz subünite 3	9,499-9,845	347	ATA	TAA ^c
tRNA Arg	9,845-9,912	68		
NADH dehidrogenaz subünit 4L	9,913-10,209	297	ATG	TAA
NADH dehidrogenaz subünit 4	10,203-11,580	1378	ATG	Taa ^c
tRNA His	11,579-11,649	71		
tRNA Ser	11,650-11,709	60		
tRNA Leu	11,710-11,779	70		
NADH dehidrogenaz subünite 5	11,780-13,600	1821	ATA	TAA
NADH dehidrogenaz subünite 6	13,584-14,111	528L	ATG	TAA
tRNA Glu	14,110-14,179	70L		
Sitokrom b	14,184-15,323	1140	ATG	AGA
tRNA Thr	15,324-15,393	70		
tRNA Pro	15,393-15,458	66L		
Kontrol bölge	15,459-16,728	1270		

Mitokondrial DNA genomu üzerinde kontrol bölge olarak bilinen bölgenin insan ve diğer memelilerde yüksek mutasyon oranına sahip olması bu bölgenin DNA analizleri açısından popüler olmasını sağlamıştır (Kim ve ark., 1998; Webb ve ark., 2009). 15458-16727 bp arasında olan yaklaşık 1270 bp'lik D-loop bölgesi, 10 bp'lik VNTR içermektedir, 16130-16429 bp arasındaki bölge 30 tekrardan oluşmaktadır ve 9. bazında A/G transisyonu vardır (Kim ve ark., 1998). Her tekrar birimin ilk 6 nükleotidi sabit bir değişken içerirken, son 4 nükleotidi ise değişken bir yapıya sahiptir. Bununla birlikte Savolainen ve ark. (2000), VNTR bölgesinde meydana gelen varyasyonlar sebebiyle, bu bölgenin aynı cins içerisinde büyük farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Köpek mtDNA kontrol bölgesi Şekil 2.8'de şematik olarak gösterilmiştir (Eichmann ve Parson, 2007).



Şekil 2.8. Köpek mtDNA kontrol bölgesinin şematik gösterimi

Canis lupus familiaris'in mitokondri genetik kodu prokaryotik ve ökaryotik universal kod'a göre farklıdır. Bu farklılıklar Tablo 2.6 ve Tablo 2.7'de gösterilmiştir. Universal kod ile farklılıkları;

- a) Başlatıcı kodon mitokondride "ATA/ATG" iken, nükleer genomda "AUG"dir.
- b) Stop kodonu mitokondride "TAA/TAG" iken, nükleer genomda "UAA/UAG/UGA" dır.
- c) Nükleer genomda AGA/AGG "Arginine" aminoasidini, mitokondri genomunda ise "Serin" aminoasidini kodlamaktadır.

Tablo 2.6. Universal kodon ve aminoasit karşılıkları

İlk harf	İkinci harf				Üçüncü harf
	U	C	A	G	
U	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	U
	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	C
	Leucine	Serine	Stop	Stop	A
	Leucine	Serine	Stop	Tryptophan	G
C	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	U
	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	C
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	A
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	G
A	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	U
	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	C
	Isoleucine	Threonine	Lysine	Arginine	A
	Methionine (Start)	Threonine	Lysine	Arginine	G
G	Valine	Alanine	Aspartate	Glycine	U
	Valine	Alanine	Aspartate	Glycine	C
	Valine	Alanine	Glutamate	Glycine	A
	Valine	Alanine	Glutamate	Glycine	G

Tablo 2.7. *Canis lupus familiaris* 'e ait kodon-aminoasit karşılıkları (Kim ve ark., 1998)

Phenylalanine	TTT	Serine	TCT	Tyrosine	TAT	Cysteine	TGT
	TTC		TCC		TAC		TGC
Leucine	TTA		TCA	Stop	TAA	Tryptophan	TGA
	TTG		TCG		TAG		TGG
Leucine	CTT	Proline	CCT	Histidine	CAT	Arginine	CGT
	CTC		CCC		CAC		CGC
	CTA		CCA	Glutamine	CAA		CGA
	CTG		CCG		CAG		CGG
Isoleucine	ATT	Threonine	ACT	Asparagine	AAT	Serine	AGT
	ATC		ACC		AAC		AGC
Methionine	ATA		ACA	Lysine	AAA		AGA
	ATG		ACG		AAG		AGG
Valine	GTT	Alanine	GCT	Aspartate	GAT	Glycine	GGT
	GTC		GCC		GAC		GGC
	GTA		GCA	Glutamine	GAA		GGA
	GTG		GCG		GAG		GGG

mtDNA polimorfizmleri genellikle kolay ve anlaşılır olan Kim ve ark. 1998 yılında yayınladıkları dizi ile karşılaştırılarak yapılır. Bazı araştırmacılar referans olarak başka dizileri kullanmışlardır. Örneğin; Vila ve ark., 1997 yılında bir kurt dizisini, Takahasi ve ark., 2002 yılında, Shiba 1 dizisini ve Kim ve ark., 2001 yılında, Sapsare A dizisini referans almışlardır. Her araştırmacı önceden yayınlanmış verileri referans olarak alıp kendi dizi sonuçları ile karşılaştırmaktaydı. Ancak bu durum hem zahmetli hem de hatalı sonuçlara neden olabilmektedir. Bu hataları önleyebilmek için Kim ve ark.'nın, 1998 yılında yayınladıkları köpek mtDNA dizisi araştırmacılar tarafından referans olarak kullanılmıştır. Daha sonra Savolainen ve ark., tarafından oluşturulan veritabanı ise gelecekte oluşacak eksikliklerin giderilmesi açısından daha güvenilir bir referans olarak bildirilmiştir (Savolainen ve ark., 2002). En sık kullanılan referans dizi karşılaştırmaları ise Ek 7'de gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise elde edilen diziyi kontrol etmek için mevcut gen bankaları sitelerinden karşılaştırma yapmak mümkün hale gelmiştir.

Bazı araştırmacılar, tamamlanan insan dizisinde rastlanan bazı hatalarının yanlış numaralandırmadan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bu durumun önlenmesi için Pereira ve ark., (2004), köpek dizisinin tamamlanması ile tespit edilen VNTR bölgesindeki tekrarın bitimini takiben 16430. bazdan başlanarak varyasyonların belirlenmesini önermişlerdir.

Polimorfizmlerin belirlenebilmesi için, meydana gelen değişikliklerin doğru adlandırılması da oldukça önemli bir konudur. Örneğin, bir baz delesyonu 15938^{del} şeklinde ifade edilmelidir. Diziye bir baz eklenmesi durumunda ise, örneğin 15461-15464 bazları arasında bir C bazı eklendiğini 15461.1C şeklinde belirtmek yerine 15464.1C olarak belirtmek doğru olacaktır. Belirlenen dizilerin okunuşları aşağıdaki örneklerde gösterilmiştir:

F1 AAACCCT-----CCCCCTATG

Ref AAACCCTTCTCCCCTCCCC-TATG

Bu dizi; 15523del 15524del 15525del 15526del 15527del 15528del 15529del 15530del 15534.1C şeklinde okunurken;

F1 AAACCCTC-----CCCCTATG

Ref AAACCCTTCTCCCCTCCCCTATG

Bu dizi ise 15523 15524del 15525del 15526del 15527del 15528del 15529del 15530del şeklinde okunmalıdır. 15523. bazda transisyon görülmektedir (Pereira ve ark., 2004).

Uluslararası kodlama sistemine göre pürin bazlarının birlikte görüldüğü heterozigotluk R harfi ile, pirimidin bazlarının birlikte görüldüğü heterozigotluk ise Y harfi ile ifade edilmektedir (Eichmann ve Parson, 2007).

İsveç (Savolainen ve ark., 1997; Vila ve ark., 1997), Japonya (Okumura ve ark., 1996) ve İsviçrede yapılan araştırmalar (Randi ve ark., 2000) adli amaçlı köpek mitokondrial DNA dizileme çalışmalarının önemi vurgulamaktadır. Köpek mtDNA kontrol bölgesi dizileme çalışmaları adli çalışmalar için yeterince ayırt edici olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmalarda bazı mutasyonların oldukça yaygın olduğu görülmüş ve bu mutasyonların sadece dışlama için kullanılabilir olduğu belirtilmiştir. Nadir görülen profillerin sıklığını tahmin etmek için, uluslararası çalışmaların daha da genişletilmesi gerektiği görüşü savunulmaktadır (Desmyter ve Gijbers, 2012).

Yapılan başka bir çalışmada Avrupa, Asya, Afrika ve Avrasya'daki 654 köpekten sağlanan mtDNA'nın 582 bp'lik bölgesi üzerindeki genetik değişimler belirlenmiştir. Bu yaklaşımın temeli genetik şablonlardaki çeşitliliklerin zaman içerisinde azalacağı düşüncesi olmuştur. Bu düşünce, ilerleyen soyların genetik çeşitliliklerinin, atalarının genetik çeşitliliklerine göre daha az bir miktarını taşıyacağı anlamını taşımaktadır. Yani köpek soyu eskidikçe çeşitliliğin daha fazla olması beklenmektedir. Bu çalışma sonucunda Doğu Asya kökenli köpeklerin genetik şablonlarındaki çeşitlilik, dünyanın diğer bölgelerindeki köpeklere göre belirgin şekilde fazla çıkması sebebiyle köpeğin kökeninin Doğu Asya olduğu görüşünü ortaya çıkarmıştır (Savolainen ve ark., 2002).

Savolainen ve ark., (1997) bir köpeğin koparılmış kıl örneğinden mtDNA tiplendirmesini yapabilmıştır (Savolainen ve ark., 1997). 1999 yılında Schnedier ve ark., trafik kazası sonrası olay yerinden alınmış tek köpek kılından mtDNA tiplemesi yaparak başarılı sonuç elde edebilmiştir (Schneider ve ark., 1999).

Kurt (*Canis lupus*) İsviçre'de korunan türlerden biridir ve bazı araştırmacılar tarafından kurt kaçakçılığının tespiti yapılmaktadır. Bu amaçla şüphelilerin yaşadıkları ortamda yapılan araştırmalarda elde edilen biyolojik örneklerin mtDNA analizlerinin yapılmasıyla kişilerin suçlanması ya da masumluğun tespiti mümkün olabilmektedir (Fumagalli ve ark., 2009).

2012 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, 208 Belçika köpeğinin HV-I (15458-16129) ve HV-II (16430-16727) bölgelerinin VNTR bölgesi dışında kalan mtDNA dizilemesini gerçekleştirmiştir. Araştırma sonucunda HV-I bölgesinde 45, HV-II bölgesinde ise 14 polimorfik bölge bulunmuş, bunlardan 49'u transisyon göstermekte iken, HV-II bölgesinde (16661-16674) polyCpolyTpolyC şeklinde dizilere rastlanılmıştır. Ayrıca 21 pozisyonda tekli polimorfizmlerin bulunduğu belirtilmiştir (Desmyter ve Gijbers, 2012).

Köpeklerde mtDNA analizi dünyanın birçok bölgesinde çalışıldığı gibi Türkiye'de de araştırmacılar tarafından genellikle endemik türler üzerine çalışma yapılmaktadır. 2005 yılında Gökçek tarafından yapılan bir yüksek lisans tez çalışmasında, Kangal ve Akbaş köpeklerinin genetik farklılığı araştırılmıştır. Bu amaçla 105 Kangal ve 9 Akbaş köpeği'nin 585 baz uzunluğundaki mitokondrial DNA kontrol bölgesinin sekans analizi yapılmıştır. Sonuçlar Kangal ve Akbaş köpeklerinin birbirlerinden farklı olduklarına işaret etmektedir. Türkiyeden elde edilen verilerin diğer köpek verileri ile karşılaştırılması Kangal köpeklerinin sadece İskandinavya (%36), Portekiz (%20), Türkiye (%20) köpeklerinde ve sadece bir İspanya köpeğinde bulunan ama Akbaş, Orta Doğu, Avrupa, Doğu Asya ve Hindistan köpeklerinde bulunmayan çok nadir bir haplogrupa sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca Kangal ve Akbaş köpeklerinin mtDNA kontrol bölgesi sekanslarına dayanarak farklı coğrafik bölgelerdeki köpekler ile karşılaştırılması Kangal köpeklerinin genetik olarak İskandinavya ve Kuzey Batı Asya köpeklerine, buna karşılık Akbaş köpeklerinin Avrupa ve Doğu Asya köpeklerine daha yakın olduğunu göstermiştir (Gökçek, 2005).

Köpeklerde STR, SNP, mtDNA incelemelerinde kapiler elektroforez yöntemi kullanılmaktadır. ABI310, 3730, 3100, 3100 Avant, 3130, 3130 XL cihazları ile köpekler tiplendirilmektedir (van Asch ve ark., 2009). Araştırmalarda köpek mtDNA kontrol bölgesinin analizinde kullanılan Kim ve ark.'nın 1998 yılında hazırladıkları referans dizi EK 6'da, VNTR bölgesindeki tekrar dizileri EK 8'de verilmiştir (Eichmann ve Parson, 2007).

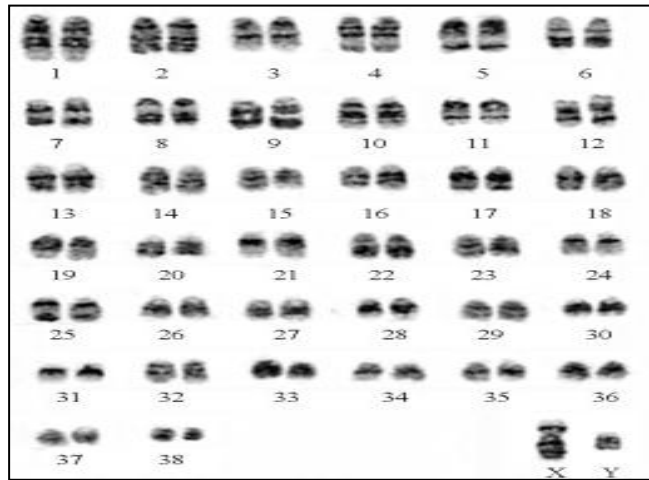
2012 yılındaki bir çalışmaya göre mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinin 15483-16672. pozisyonları arası meydana gelen polimorfizmler Tablo 2.8'de gösterilmiştir (Bekaert ve ark., 2012). Çalışmaya göre en fazla Sitozin-Timin değişimlerinin olduğu ve Boxer, French bulldog ile Cocker ırklarının 15938. pozisyonunda delesyon meydana geldiği belirtilmektedir.

2.8. YAPILAN GENETİK ÇALIŞMALAR

2.8.1. Köpekler ile ilgili yapılan çalışmalar

Köpeklerle ilgili yapılan çalışmalardan bazıları, köpeklerin sitogenetik analizlerinin yapılarak türler arası farklılıkların belirlenmesi hakkındadır. Canidae familyasının FISH (Fluoresan *In situ* Hybridization) tekniği ile yapılan kromozom analiz sonuçlarına göre farklı türlerde kromozom sayıları değişiklik göstermektedir. Örneğin; *Vulpes velox* (Kit fox) 50 kromozoma (Nash ve ark., 2001), *Vulpes corsac* (Cape fox) 36 kromozoma, *Fennecus zerda* (Fennec fox) 64 kromozoma ve *Urocyon cinereoargenteus* (Gray fox) 66 kromozoma sahiptir (Graphodatsky ve ark., 2008). *Canis lupus familiaris* ise, 38 çift otozomal ve 2 cinsiyet kromozomu olmak üzere toplam 78 kromozoma sahiptir (Yang ve ark., 1999; Graphodatsky ve ark., 2000). *Canis lupus familiaris*'e ait bir karyotip Şekil 2.9'da gösterilmiştir.

Köpekler ile ilgili yapılan uluslar arası çalışmalara bakıldığında, araştırmaların çoğunlukla köpekler arası genetik uzaklıkların tespiti, popülasyon çalışmaları, arkeolojik araştırmalar ve çeşitli mikroorganizmaların karakterizasyon tespiti gibi konulardan oluştuğu görülmektedir. Türkiye'de köpekler üzerine yapılmış Yüksek lisans ve Doktora tezlerinde ise genellikle klinik araştırmalar söz konusudur. Genetik araştırmalara bakıldığında ise "Kangal köpeklerin genetik yapılarının moleküler yöntemlerle araştırılması" (Altunok, 1998), "Bazı köpek ırklarında kan protein polimorfizmi ve ırklar arası genetik mesafelerin tahmin edilmesi" (Erdoğan, 2000), "Türkiye'deki kangal köpeklerinin mitokondrial DNA (mtDNA) dizi analizi" (Gökçek, 2005), "Mikrosatellitler kullanılarak DNA tipleme yöntemi ile köpeklerde ebeveyn tayini" (Avanus, 2007) başlıklı doktora tezleri yapılmıştır.



Şekil 2.9. *Canis lupus familiaris*'e ait bir karyotip

2.8.2. Adli amaçlı olarak diğer hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar

Adli amaçlı araştırmalarda olay yeri ile bağlantılı olduğu düşünülüp, biyolojik örnek alınarak olgunun aydınlatılmasında kullanılan, köpeklerden başka hayvanlar da bulunmaktadır. Örneğin, *Felis catus* (kedi) kıl örneğinden ilk kez 1996 yılında geręekleřen bir cinayet olgusunu aydınlatabilmek için adli amaçlı mtDNA analizi yapılmıştır. Cinayeti çözmek için olay yeri inceleme ekibi bir ceketin cebinde buldukları kedi kılını incelemeye almışlardır. Önce STR analizi ile tiplendirme yoluna gidilmiş ancak dökülmüş kıl örneğinden genomik DNA eldesi sağlanamayıp, başarılı tiplendirme geręekleřtirilememiřtir. Bu amaçla mtDNA analizi yapılarak örnek tiplendirilebilmiştir (Menotti-Raymond ve ark., 1997; Budowle ve ark., 2003).

Adli amaçlı olarak atlar üzerinde de mtDNA çalışmaları yapılmaktadır. Buradaki amaç, at hırsızlığı, saldırıda bulunan hayvanın kimliğinin tespiti ve soy tespiti gibi konularda olguları çözümlenektir. İngiltere’de at popülasyonu 400.000 olup 172 at hırsızlığı, Almanya’da 500.000 olan at popülasyonundan 85 at hırsızlığı olayı yaşandığı rapor edilmiştir. 2010 yılında 39 at’a ait kıl örnekleri üzerinde yapılan mtDNA çalışmasında, mtDNA genomunun 15,580-15,779 nükleotidleri arasındaki 200 bp’lik bölge incelenmiş ve bu bölgedeki farklılıklara göre atlar kimliklendirilmiştir (Gurney ve ark., 2010).

2009 yılında Fumagalli ve ark.’nın hazırlamış oldukları çalışmada çeşitli vaka örneklerden bahsedilmiştir. Bu çalışmalardan biri; ormanlık bir alanda bulunan bozulmuş doku parçalarının o dönemde kaybolanan bir kişiyle bağlantılı olabileceğinden şüphelenen polis, doku örneklerinden tür tayini yapılmasını istemiştir. Doku örneklerinden mtDNA’nın kontrol bölgesinin analizi yapılarak, tiplendirilmiş ve referans dizi incelemesinde örneklerin insan kaynaklı olmadığı tespit edilmiştir. Tespit edilen türlerin muhtemelen ormanlık alanda yapılan bir barbekü sonrasında domuz (*Sus scrofa*) ve inek (*Bos taurus*) etlerinin kalmasından kaynaklandığı düşünölmüştür. Bu çalışma ile hayvan türlerinin kimliklendirilmesi yapılarak adli olay ile ilgisinin olmadığı kanıtlanmıştır (Fumagalli ve ark., 2009).

2005 yılında, 40’dan fazla parçalanmış hayvan cesedi olduğu rapor edildi. Bu raporda sığır, koyun, keçi, eşek ve at gibi hayvanlar yer almaktaydı. Ölü bulunan iki inek üzerinde yapılan makroskobik analizler, insan müdahalesine ait hiçbir kanıt bulunamayınca, tür tespiti için cesetlerin etrafından steril swap ile örnekler alınmıştır. Örneklerin mtDNA analizi

yapıldığında inek (*Bos taurus*) ve kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) türleri tespit edilmiştir. Bulunan bu iki türün, tilkilerin inek cesedi ile beslenmesi sonucu oluştuğu düşünülmüştür (Fumagalli ve ark., 2009).

Bu konuda bir diğer olgu ise Pelikan türü ile ilgilidir. Hayvanat bahçesinde bir pelikan (*Pelecanus spp.*) ölü olarak bulunmuş ve vücut yüzeyinde yaraların olduğu gözlenmiştir. Saldırıyı gerçekleştiren hayvanın belirlenmesi amacıyla pelikanın yaralarından örnekler alınmış ve mtDNA'nın kontrol bölgesi analiz edilmiştir. Analiz sonucunda köpek (*Canis familiaris*) ve alageyik (*Dama dama*) türleri tespit edilmiştir. Ancak bu durumun, örnek alma işlemi sırasında veterinerin neden olduğu bir kontaminasyon sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Fumagalli ve ark., 2009).

Yaban hayatı koruma amacıyla avcıların karacaları öldürüp öldürmediğini tespit etmek için, şüpheli bölgedeki yapraklar ve taşlar üzerindeki kan örnekleri analiz edilmiştir. Analiz sonucu mtDNA'nın kontrol bölgesi çalışılmış, örneklerin yaban domuzu (*Sus scrofa*) ve köpek (*Canis familiaris*)'e karşılık geldiği, karaca (*Capreolus capreolus*)'ya ait olmadığı tespit edilmiştir (Fumagalli ve ark., 2009).

2006 yılında yapılan bir yüksek lisans tez çalışmasında ise nesli tükenmekle karşı karşıya kalan *Caretta caretta* (deniz kaplumbağası) türünün kimliklendirilmesi amaçlanmıştır. Tezde türün devamı amacıyla, kaçak avlanmalara karşı koruma kanunları çıkarılmış olduğu ancak kontrollerin etkin şekilde yapılabilmesi için laboratuvarların kurularak, yeni analiz tekniklerinin geliştirilmesi ve uygulanması gerektiği vurgulanmaktadır. Çalışmada tür için polimorfik özellik taşıyan Cc7 mikrosatellit lokusunun çoğaltımı gerçekleştirilmiş ve Poliakrilamid jel üzerinde alleler gözlenmiştir. *Caretta caretta*'ya ait bu lokusun belirlenmesi ile bireylerin kimliklendirilmesinde yüksek bir ayırcı güce sahip olduğu belirlenmiştir (Uysal, 2006).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu tez projesi 2010-2012 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Adli Moleküler Genetik Laboratuvarında çalışılmış olup, örneklerin kapiler elektroforez ile tiplendirilmesi “Medsantek” firmasından hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Bu tez için İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.12.2010 tarihli 204 sayılı kararı gereğince, etik kurul onayı alınmıştır (Bknz. Ek 1). Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine sağlık kontrolü ve aşılama için getirilmiş olan 150 evcil köpeğe ait kan materyalleri kullanılmıştır. Bu amaçla köpek sahiplerine çalışmanın amacı konusunda bilgi verilip, kendilerinden onam alınmıştır (Onam formu örneği için Bknz. Ek 2). Kan alımı işlemi sırasında genel asepsi ve antisepsi kurallarına uyulmuştur. Veteriner hekim tarafından köpeklerin sol arka ayağındaki safen (saphenous) venden alınan 2cc kan, EDTA'lı tüplere konulmuştur. Adli Moleküler Genetik Laboratuvarına kuru buz içerisinde taşınan kan örnekleri, analizleri yapılarına kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.1. KAN ÖRNEKLERİ ALINAN KÖPEKLERLE İLGİLİ BİLGİLER

Çalışmada 54 dişi, 96 erkek olmak üzere toplam 150 evcil köpekten kan örneği alınmıştır. Alınan örneklerin 20 farklı köpek ırkına ait olduğu görülmektedir (Tablo 3.1). Ayrıca köpeklerin ırk, yaş ve cinsiyet bilgileri EK 4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Köpeklerin Irk ve Sayı Bilgileri

Sıra	Köpeğin Irkı	Sayı (Yüzde)	Sıra	Köpeğin Irkı	Sayı (Yüzde)
1	Terrier	24 (% 16)	11	Boxer	5 (% 3)
2	American cocker	20 (% 13,3)	12	Cocker	4 (% 2)
3	Golden retriever	19 (% 12,6)	13	Siberian husky	2 (% 1,3)
4	German shepherd	15 (% 10)	14	Pekingese	2 (% 1,3)
5	Sivas kangal	12 (% 8)	15	Pointer	2 (% 1,3)
6	Rottweiler	11 (% 7,3)	16	Doberman	1 (% 0,6)
7	Irish setter	8 (% 5,3)	17	German pinscher	1 (% 0,6)
8	English setter	8 (% 5,3)	18	Yorkshire terrier	1 (% 0,6)
9	Bulldog	7 (% 4,6)	19	Saint Bernard puppies	1 (% 0,6)
10	Beagle	6 (% 4)	20	Chow chow	1 (% 0,6)

3.2. KAN ÖRNEKLERİNDEN DNA İZOLASYONU

Kan örneklerinden DNA izolasyonu “Invitrogen PureLink™ Genomic DNA” İzolasyon Kiti (Katalog No: K1820-02) kullanılarak yapıldı. Bu aşamada hazırlanan çözeltiler, kullanılan kimyasallar ve gereçler Ek 3’te verilmiştir.

1. 1.5 ml’lik tüp içine 200 µl kan örneği pipetle konuldu. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 20 µl RNase A ilave edildi, kısa süre vortekslendi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
2. Karışımın üzerine 200 µl Binding Buffer (bağlayıcı tampon) ilave edildi.
3. Tüp 55°C’de 10 dakika boyunca Etüv’de bekletildi.
4. 200 µl %96’lık Etanol eklendi ve 5 saniye vortekslendi.
5. Eppendorftaki çözeltilerin tamamı (~640 µl) spin kolona boşaltıldı ve 10.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
6. Toplama tüpü atılarak, spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi. Üzerine 500 µl Wash Buffer 1 (yıkama tamponu 1) ilave edildi ve 10.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
7. Toplama tüpü atılarak, spin kolon temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi. Üzerine 500 µl Wash Buffer 2 (yıkama tamponu 2) ilave edildi ve 14.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi.
8. Spin kolon, temiz bir 1.5 ml’lik tüpe alındı. Üzerine 200 µl Elution Buffer (elüsyon tamponu) ilave edildi. Tüp 1 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 14.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Tüpün içinde kalan DNA, PCR aşamasına kadar -20°C’de muhafaza edildi.

3.2.1. DNA Miktar Tayini

Bu çalışmada DNA miktarları Florometrik yöntem ile Qubit® Florometre (Invitrogen) cihazında belirlendi. Bu amaçla The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kiti (Katalog No: Q32851) kullanıldı. DNA miktarları 260nm dalga boyunda, aşağıdaki adımlar izlenerek ölçüldü. Örneklerin DNA miktarları Ek 5’te verilmiştir.

1. 1.5 ml’lik mikrosantrifüj tüpünün içine çalışılan her bir örnek için 199 µl Quant-iT™ dsDNA HS Buffer (tampon) ve çalışılan örnek sayısı kadar her tüp üzerine 1 µl Quant-iT™ reagent (reaktif) ilave edilerek bir karışım oluşturuldu.

2. Cihazın kalibrasyonu için her ölçümde Standart 1 ve Standart 2 olmak üzere kontroller kullanıldı. Her bir standart için 0.2 ml'lik tüpe Buffer-reagent (200µl) karışımından 190 µl alındı, üzerine 10 µl standart eklendi.
3. Örnekler için ise 0.2 ml'lik tüpe Buffer-reagent (200 µl) karışımından 190 µl alındı, üzerine 10 µl DNA örneği eklendi. Tüpler birkaç saniye vortekslendi.
4. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Standart 1 okutularak cihaz sıfırlandı. Daha sonra Standart 2 okutularak cihazın ölçüm yapılıp yapılmadığı kontrol edilerek kalibrasyon yapıldı.
6. Örnek cihaza yerleştirildi, karışım içindeki ölçümü yapıldı.

3.2.2. DNA Örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Görüntülenmesi

İzole edilen DNA'lar % 1.5'lik agaroz jel kullanılarak analiz edildi. 1.5 g agaroz (Sigma) tartılıp, 100 ml 1xTBE (Tris Borik asit EDTA) tamponunda mikrodalga fırınında eritildi. Tamponun sıcaklığının yaklaşık 50-55°C'ye düşmesi beklendi. DNA'nın UV ışık altında gözlenebilmesi için jele 3 µl etidyum bromür eklenerek, elektroforez kasedine döküldü. 30 dakika sonra donan jel, içinde TBE bulunan elektroforez tankına alındı. DNA'ların kuyulara çökmesini sağlamak için 1 µl elektroforez yükleme tamponu kondu. 4 µl DNA örneği ile yükleme tamponunun iyice karışmasını sağlandıktan sonra jel kuyularına 5 µl yükleme yapıldı. Elektroforez, sabit 70 V ve 110 mA serbest akım altında yarım saat yapıldı. UV ışık altında gözlenen DNA örnekleri Sony DSC-T100 dijital makinası üzerinde fotoğraflandı.

3.3. PRİMERLERİN SEÇİMİ

Primerlerin seçimi, köpek mitokondrial bölgesinin çoğaltımının uygun olduğu belirtilen literatür bilgilerine göre yapıldı (Eichmann ve Parson, 2007). Buna göre "Invitrogen" firmasının sentezlemiş olduğu primerler "Medsantek" tarafından sağlandı. Çalışmada 1 forward ve 1 reverse olmak üzere 2 adet primer kullanıldı. Primer kodları ve dizileri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Primer Dizileri

Primerin Kodu	Primerin Dizisi (5' - 3')
F15416	CATCAGCACCCAAAGCTGAGA
R00056	GTGCGACTCATCTTGGCATT

3.4. BİRİNCİ PCR PROTOKOLÜ

Birinci PCR için AmpliTaq Gold® PCR Master Mix kiti (Katalog No: 4318739) kullanıldı, karışım Tablo 3.3’de gösterildiği gibi hazırlandı. Köpek mtDNA kontrol bölgesi için F15416 ve R00056 primerleri kullanıldı. PCR karışımları hazırlandıktan sonra PCR tüplerinin üst yüzeylerine yapışmış olan damlaları tüpün alt yüzeyine indirebilmek için kısa süre santrifüj yapıldı. Genamp 9700 PCR cihazında belirlenen programı ayarlandıktan sonra tüpler cihaza yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı.

Tablo 3.3. Birinci PCR karışım bileşenleri ve miktarları

Karışımın İçeriği	1 örnek için
PCR Master Mix (2X)	10 µl
F15416 primeri	2 µl
R00056 primeri	2 µl
DNA	2 µl
Distile su	4 µl
Son hacim	20 µl

PCR cihazı Tablo 3.4’te verilen sıcaklık ve zaman parametrelerine göre ayarlandı.

Tablo 3.4. Birinci PCR döngü parametreleri

Aşama	Başlangıç İnkübasyonu	30 döngü			Son uzama sıcaklığı
		Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	
Sıcaklık (°C)	95 °C	95 °C	60 °C	72 °C	72 °C
Zaman	5 dakika	15 saniye	15 saniye	60 saniye	7 dakika

3.4.1. Birinci PCR ürünlerinin saflaştırılması

PCR ürünlerini saflaştırma işlemi iki şekilde gerçekleştirildi. Öncelikle tüm örneklerde Exonuclease ve Shrimp Alkaline Phosphatase enzimleri, tiplendirmesi başarı ile gerçekleşmeyen örneklerde ise ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup Kit (Katalog No.: CS32250) kullanıldı.

3.4.4.1. Exo-Sap ile saflaştırma

PCR işleminin ardından PCR ürünlerini saflaştırmak için her tüpe Exonuclease 1 ve Shrimp Alkaline Phosphatase enzimleri Tablo 3.5'te belirtilen miktarlarda ilave edildi. Exonuclease 1 enzimi, ortamdaki bağlanmamış primerlerin parçalanması için, Shrimp Alkaline Phosphatase enzimi de ortamdaki bağlanmamış dNTP'lerin parçalanması için kullanıldı.

Tablo 3.5. Exo-Sap karışım miktarları

Exo-Sap Bileşenleri	Eklene miktarlar (µl)
PCR ürünü	15
Exonuclease 1 (5U/ µl)	0.80
Shrimp Alkaline Phosphatase (1U/ µl)	1.60

PCR cihazında Exo-Sap programı seçildi. Tüpler cihaza yerleştirildi ve cihaz çalıştırıldı. 37°C'de 90 dakika boyunca bağlanmamış primer ve dNTP'ler parçalandı. 80°C'de 20 dakika boyunca enzimlerin inaktivasyonu sağlandı.

3.4.4.2. ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup Kit ile saflaştırma

1. Her bir PCR tüpüne 20 µl Purification Buffer (saflaştırma tamponu) ilave edilip, kısa süreli vorteks yapıldı.
2. Karışım, toplama tüpünün içindeki kolona aktarıldı.
3. 10000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj yapıldı.
4. Üzerine 500 µl Wash Buffer (yıkama tamponu) ilave edildi.
5. 10000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj yapıldı.
6. Toplama tüpü atılarak, kolon temiz bir toplama tüpü içerisine alındı.

7. Üzerine 50 µl Elution Buffer (elüsyon tamponu) ilave edilip, 1 dakika boyunca oda ısısında bekletildi.
8. 10000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj yapıldı.
9. Tüpün içinde kalan saflaştırılmış DNA, PCR aşamasına kadar +4°C'de muhafaza edildi.

3.5. İKİNCİ PCR PROTOKOLÜ

Bu aşamada saflaştırılmış birinci PCR ürünlerinin dizinlenmesi için BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Katalog No: 4337455) kullanıldı. Kitin esası Sanger Zincir Sonlandırma prensibine dayanmaktadır. Kitin içeriğinde, hazır reaksiyon karışımı, 5X Dizinleme tamponu, Kontrol DNA, Kontrol primer karışımı yer almaktadır. Hazır reaksiyon karışımında bulunan ddNTP'lerin hangi floresan boyalarla işaretlenmiş oldukları Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. BigDye kiti içeriğindeki ddNTP'ler ve işaretlendikleri floresan boyalar

Dideoksi bazlar	Floresan boya	Elektroforegram rengi
ddGTP	dR110	Siyah
ddATP	dR6G	Yeşil
ddCTP	dTAMRA	Mavi
ddTTP	dROX	Kırmızı

İkinci PCR reaksiyonunda, HV-I bölgesi için F15416, HV-II bölgesi için R0056 primerleri kullanıldı. İkinci PCR karışımı için gerekli bileşenler ve miktarları Tablo 3.7'de, döngü parametreleri ise Tablo 3.8'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. İkinci PCR karışım bileşenleri ve miktarları

Bileşenler	Örnek (µl/reaksiyon)	Negatif Kontrol (µl/reaksiyon)	Pozitif Kontrol (µl/reaksiyon)
BigDye Terminator 3.1 hazır reaksiyon karışımı	4 µl	8 µl	8 µl
5X dizileme tamponu	2 µl	-	-
Dizileme primeri	6,4 µl	-	-
Saflaştırılmış PCR ürünü	2 µl	-	-
-M13 kontrol primeri	-	1	1
pGEM [®] -3Zf(+) kontrol DNA	-	-	1
Distile su	5,6 µl	11	10

Tablo 3.8. İkinci PCR döngü parametreleri

Aşama	25 döngü				Saklama sıcaklığı
	Başlangıç İnkübasyonu	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	
Sıcaklık (°C)	96 °C	96 °C	50 °C	60 °C	4°C
Zaman	1 dakika	10 saniye	5 saniye	240 saniye	∞

3.5.1. İkinci PCR ürünlerinin saflaştırılması

İkinci PCR ürünleri ortamda bulunan bağlanmamış floresan işaretli ddNTP'lerin uzaklaştırılması için tüm örneklerde Sephadex yöntemi, başarılı tiplendirme gerçekleştirilemeyen bazı örneklerde ise Applied Biosystems BigDye[®] XTerminator[™] Purification Kit (Katolog No: 4376486) kullanılıp aşağıdaki adımlar izlenerek örnekler saflaştırıldı.

3.5.1.1. Sephadex yöntemi ile saflaştırma

1. 3 gr. Sephadex G-50 tartılıp, bir falkon tüp içerisinde 45 ml distile su ile karıştırıldı.
2. Karışım 1 dakika boyunca vortekslendi.
3. 1.5 ml'lik tüplere temiz kolonlar yerleştirildi.
4. Her tüpe hazırlanan karışımdan 650 µl ilave edilip 5 dakika oda ısısında bekletildi.
5. Tüpler 3800 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi.
6. Kolonlar dikkatlice tüplerin içinden alınıp, temiz 1.5 ml'lik tüplere yerleştirildi.
7. PCR ürünleri kolondaki dolgu maddesinin merkezine gelecek şekilde yavaşça bırakıldı. Tüpler 3800 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüj edildi.
8. Kolonlar atılarak, tüplerin ağzı kapatıldı.

3.5.1.2. ABI Big Dye XTerminator kiti ile saflaştırma

1. Kitin içeriğinde belirtildiği gibi örnek hacmi 20 µl olduğundan, örneklerin üzerine 90 µl SAM Solution (çözültisi) ilave edildi.
2. Karışımın üzerine 20 µl XTerminator Solution (çözültisi) eklendi.
3. Çalkalayıcının üzerinde 30 dakika boyunca bekletildi.
4. 1000 rpm'de 2 dak. boyunca santrifüj edildi.
5. Örneklerin saflaştırma işlemi tamamlanmış olup elektroforez aşamasına geçildi.

3.6. ELEKTROFOREZ AŞAMASI

Elektroforez aşaması hizmet alımı kapsamında 4 kapilerli, kapiler uzunluğu 36 cm olan ABI Prism 3130 Genetik Analizör cihazında (Applied Biosystems) POP7 polimeri kullanılarak "Medsantek" firmasının hizmet alımı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.6.1. Analizi Tamamlanan Örneklerin Sonuçlarının İncelenmesi

Ham verilerin analizi Sequencing Analysis (Applied Biosystems), SeqScape 3.7 (Applied Biosystems), BioEdit ve ClustalX programları kullanılarak yapıldı. "Sequencing Analysis" programı ile yürütmelerin başarılı olup olmadığı belirlendi ve örneklerin dizileri saptandı. Sonuçlar Kim ve ark.'nın 1998 yılında yayınladıkları *Canis familiaris* referans dizisi ile karşılaştırılarak tiplendirme aşaması gerçekleştirildi.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

150 evcil köpeğin kan örneklerinden elde edilen mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinde gözlenen haplotipler incelenmiştir. Kimliklendirme çalışmalarında köpeklerin rastgele eşleşme olasılığı, yöntemin ayırım gücü ve genetik çeşitlilik gibi faktörler aşağıdaki eşitliklerden yararlanılarak hesaplanmıştır.

X_i : Haplotip sayısı, n : Toplam birey sayısı

Rastgele eşleşme olasılığı

$$P = \sum (X_i^2) / n$$

Ayırım gücü

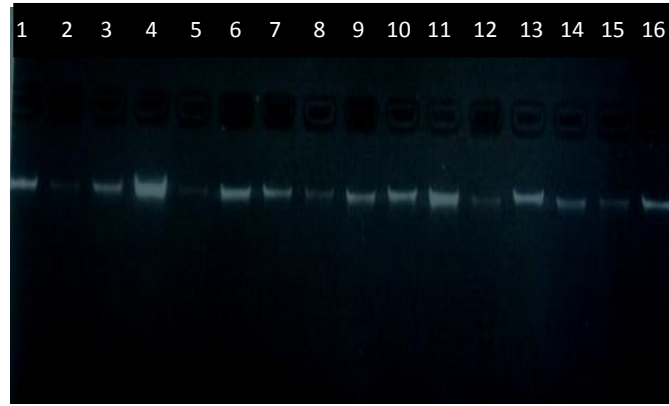
$$DP = 1 - \sum (X_i^2)$$

Genetik çeşitlilik

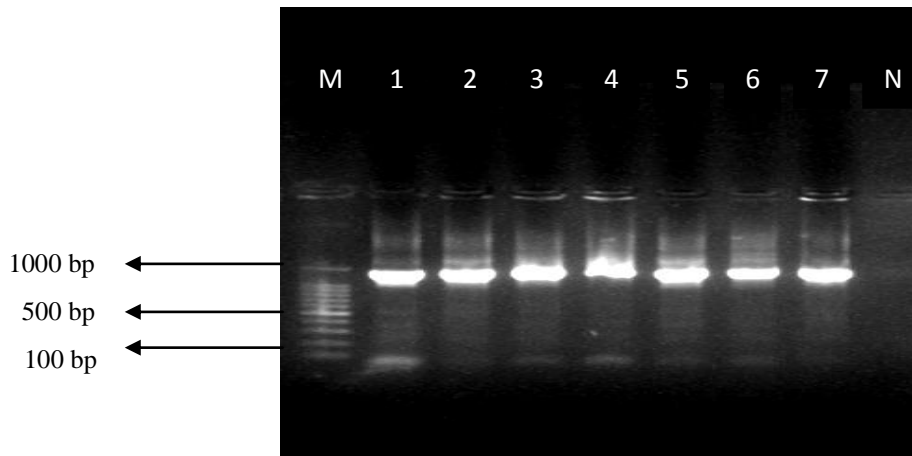
$$h = (1 - \sum X_i^2) n / (n-1)$$

4. BULGULAR

Bu çalışmada, 150 evcil köpeğe ait kan örneklerinden 124'ünde mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinin dizin analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi'nden temin edilen kan örneklerinden "Invitrogen PureLink™ Genomic DNA" İzolasyon Kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA izolatlarının agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü Şekil 4.1'de gösterilmiştir. DNA miktarları Florometrik yöntem ile Qubit® Florometre (Invitrogen) cihazında belirlendi (Elde edilen miktarlar için Bknz. Ek 5). Ayrıca F15416 ve R00056 primerleri ile gerçekleştirilen ilk PCR sonucu bantların agaroz jelde görünümü Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. 1-16 DNA izolatlarının %1.5'lik agaroz jel elektroforezi üzerindeki görüntüsü

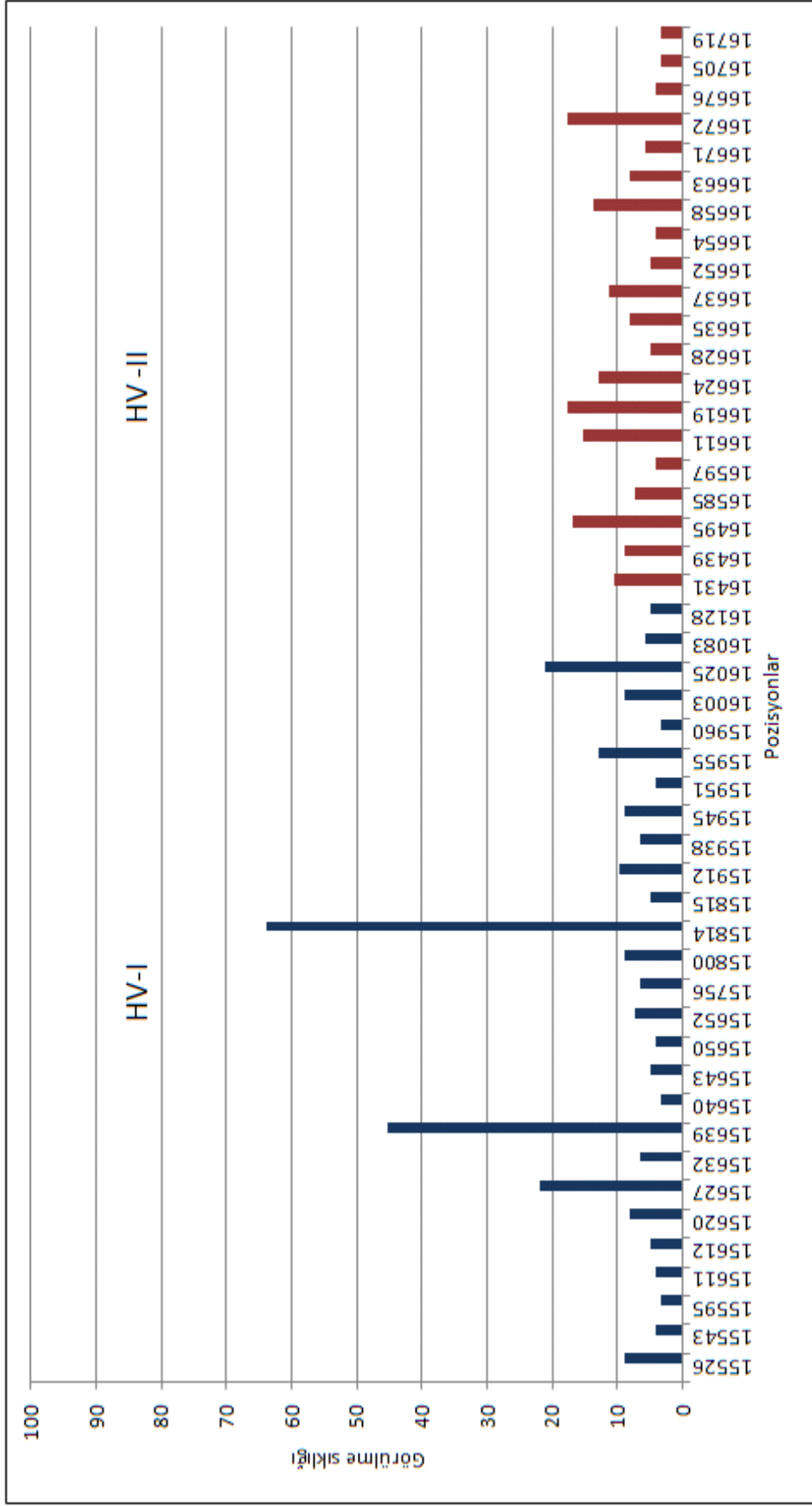


Şekil 4.2. F15416 ve R00056 primerleri ile gerçekleştirilen ilk PCR sonucu bantların agaroz jelde görünümü, M: 100 bp'lik marker 1-7 :DNA örnekleri N: Negatif Kontrol

HV-I ve HV-II bölgelerinde en sık görülen polimorfizmler ve yüzdeleri Tablo 4.1'de, grafiği ise Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.1. HV-I ve HV-II bölgelerinde en sık görülen polimorfizmler ve yüzdeleri

Sıra	Pozisyonlar	Polimorfizm sayısı	Yüzde	Sıra	Pozisyonlar	Polimorfizm sayısı	Yüzde
1	15526	11	% 8,87	25	16025	26	% 20,97
2	15543	5	% 4,03	26	16083	7	% 5,65
3	15595	4	% 3,23	27	16128	6	% 4,84
4	15611	5	% 4,03	28	16431	13	% 10,48
5	15612	6	% 4,84	29	16439	11	% 8,87
6	15620	10	% 8,06	30	16495	21	% 16,94
7	15627	27	% 21,77	31	16585	9	% 7,26
8	15632	8	% 6,45	32	16597	5	% 4,03
9	15639	56	% 45,16	33	16611	19	% 15,32
10	15640	4	% 3,23	34	16619	22	% 17,74
11	15643	6	% 4,84	35	16624	16	% 12,90
12	15650	5	% 4,03	36	16628	6	% 4,84
13	15652	9	% 7,26	37	16635	10	% 8,06
14	15756	8	% 6,45	38	16637	14	% 11,29
15	15800	11	% 8,87	39	16652	6	% 4,84
16	15814	79	% 63,71	40	16654	5	% 4,03
17	15815	6	% 4,84	41	16658	17	% 13,71
18	15912	12	% 9,68	42	16663	10	% 8,06
19	15938	8	% 6,45	43	16671	7	% 5,65
20	15945	11	% 8,87	44	16672	22	% 17,74
21	15951	5	% 4,03	45	126676	5	% 4,03
22	15955	16	% 12,90	46	16705	4	% 3,23
23	15960	4	% 3,23	47	16719	4	% 3,23
24	16003	11	% 8,87				

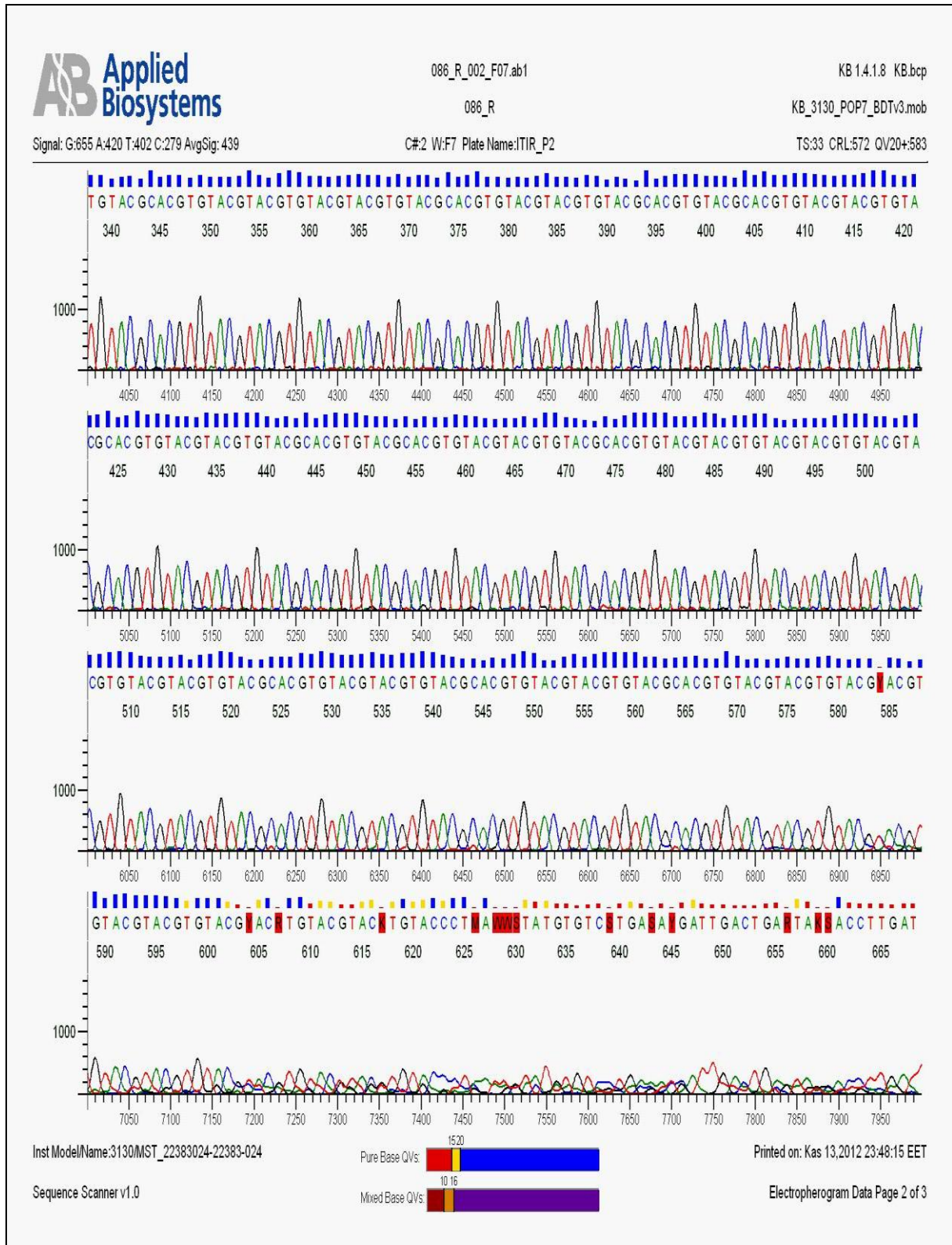


Şekil 4.3. Yüksek polimorfizm gösteren pozisyonların görülmeye sıklığı grafiği
(HV-I bölgesi mavi renkle, HV-II bölgesi kırmızı renkle belirtilmiştir)

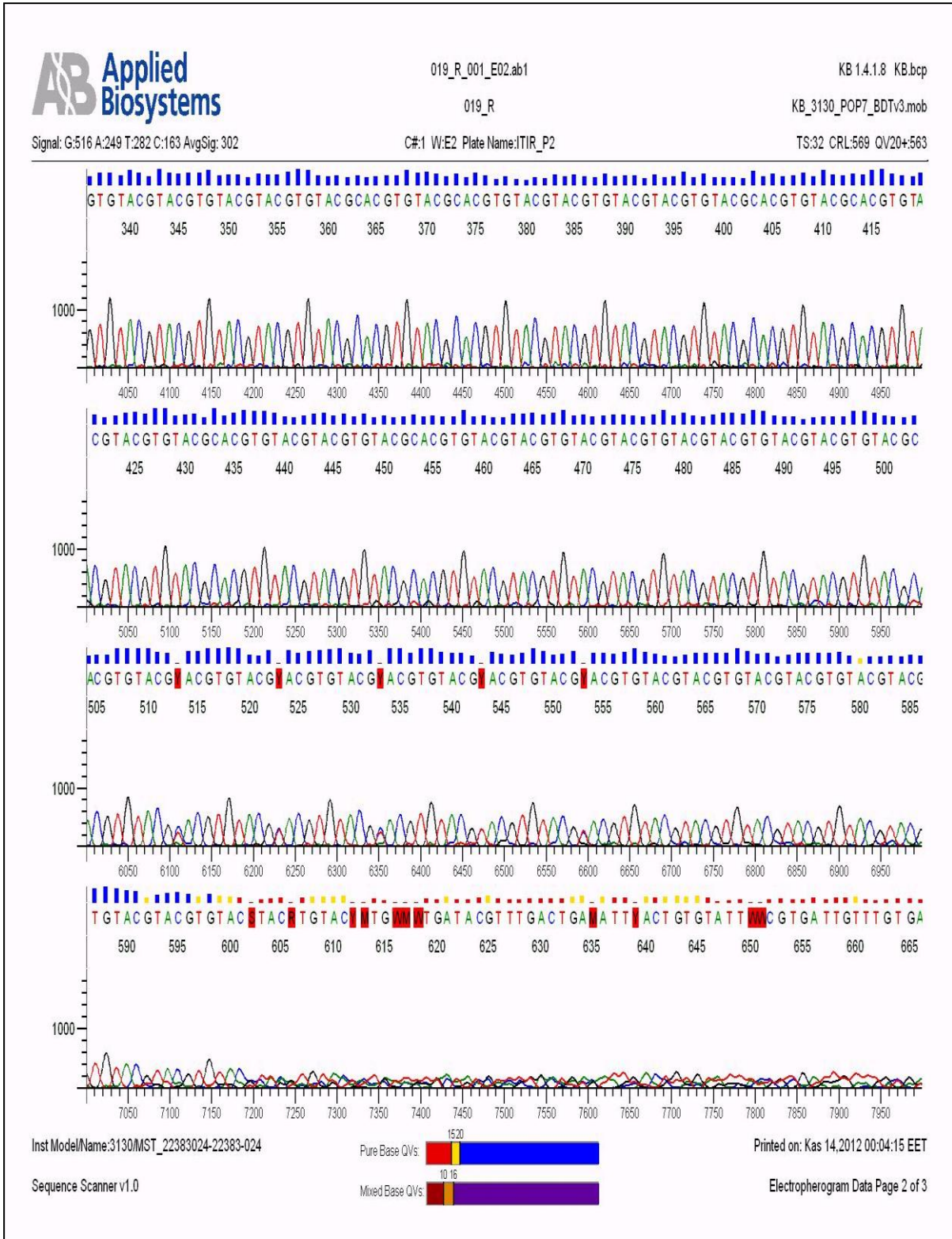
Şekil 4.4'te Sivas kangal ve Şekil 4.5'te Golden retriever ırkına ait mtDNA'nın HV-I bölgesinin 15798-16043 pozisyonlarına ait elektroforegram görüntüleri verilmiştir. HV-I bölgesi 15458. bazdan başlamaktadır ve 340. pozisyon 15798. pozisyona karşılık gelmektedir. Verilen dizilerde A, T, C ve G dışında harfler olduğu görülmektedir. Bu harfler, bazı teknik nedenlerden dolayı tam olarak okunamadığını göstermekte olup hangi bazların birlikte görüldüğünü ifade etmek için kullanılır. Saf ve Uygulamalı Kimya Uluslararası Birliği (IUPAC)'nin bu amaç için belirlemiş olduğu sembollere göre elektroforegramdaki harflerin karşılığı Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Elektroforegramda görülen bazların harf karşılıkları

D:	Adenin- Guanin- Timin heterozigotluğu (sitozin hariç hepsi)
K:	Guanin- Timin heterozigotluğu (keto gruplular)
M:	Adenin- Sitozin heterozigotluğu (amino gruplular)
R:	Adenin- Guanin heterozigotluğu (pürin grupları)
S:	Guanin- Sitozin heterozigotluğu (kuvvetli bağlar: ing. strong bands)
Y:	Timin- Sitozin heterozigotluğu (pirimidin gruplular)
W:	Adenin- Timin heterozigotluğu (zayıf bağlular: ing. weak bands)

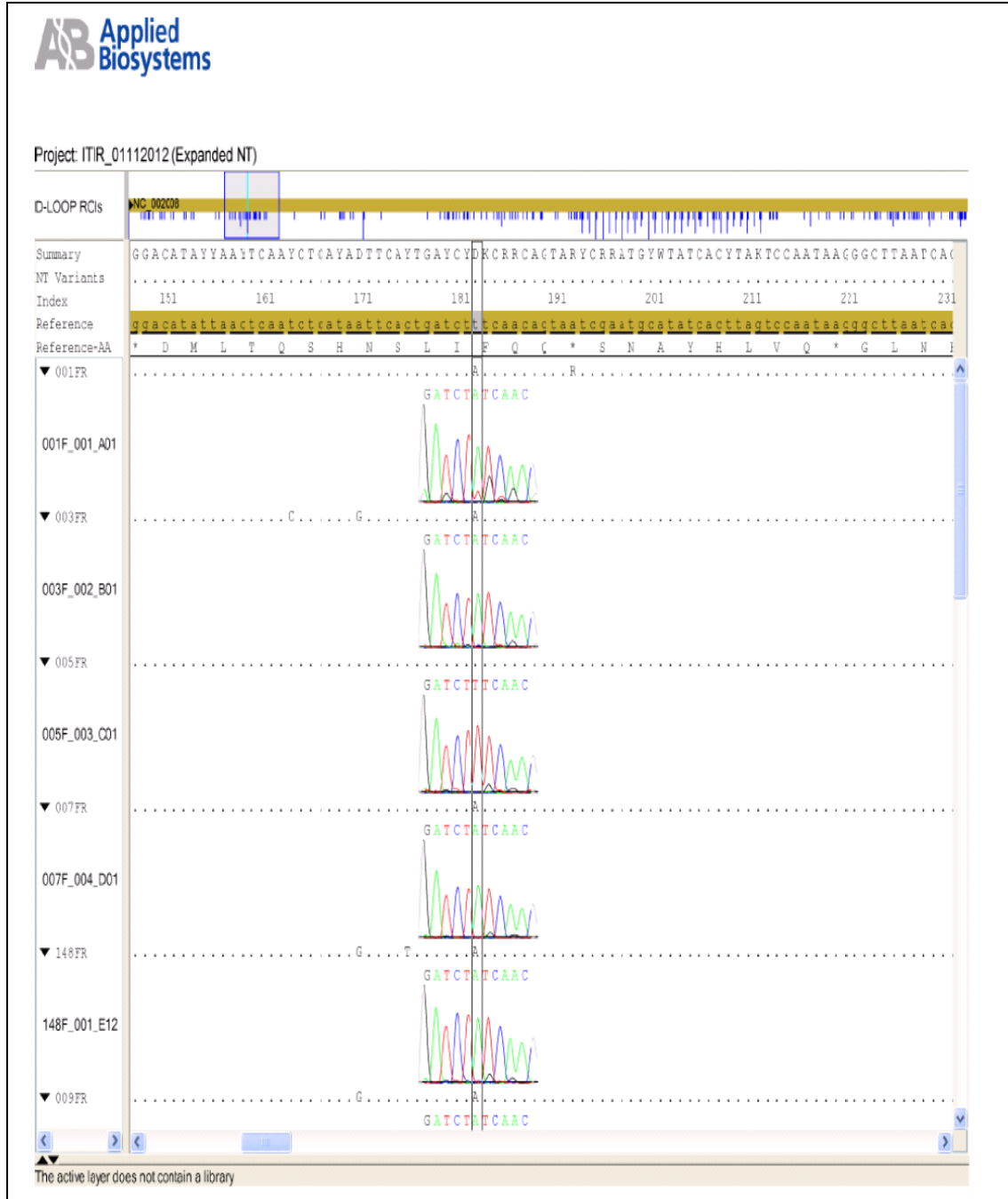


Şekil 4.4. Sivas kangal'a ait mtDNA'nın 15798-16043 pozisyonları arası görülen elektroforegramı (86. Örnek)



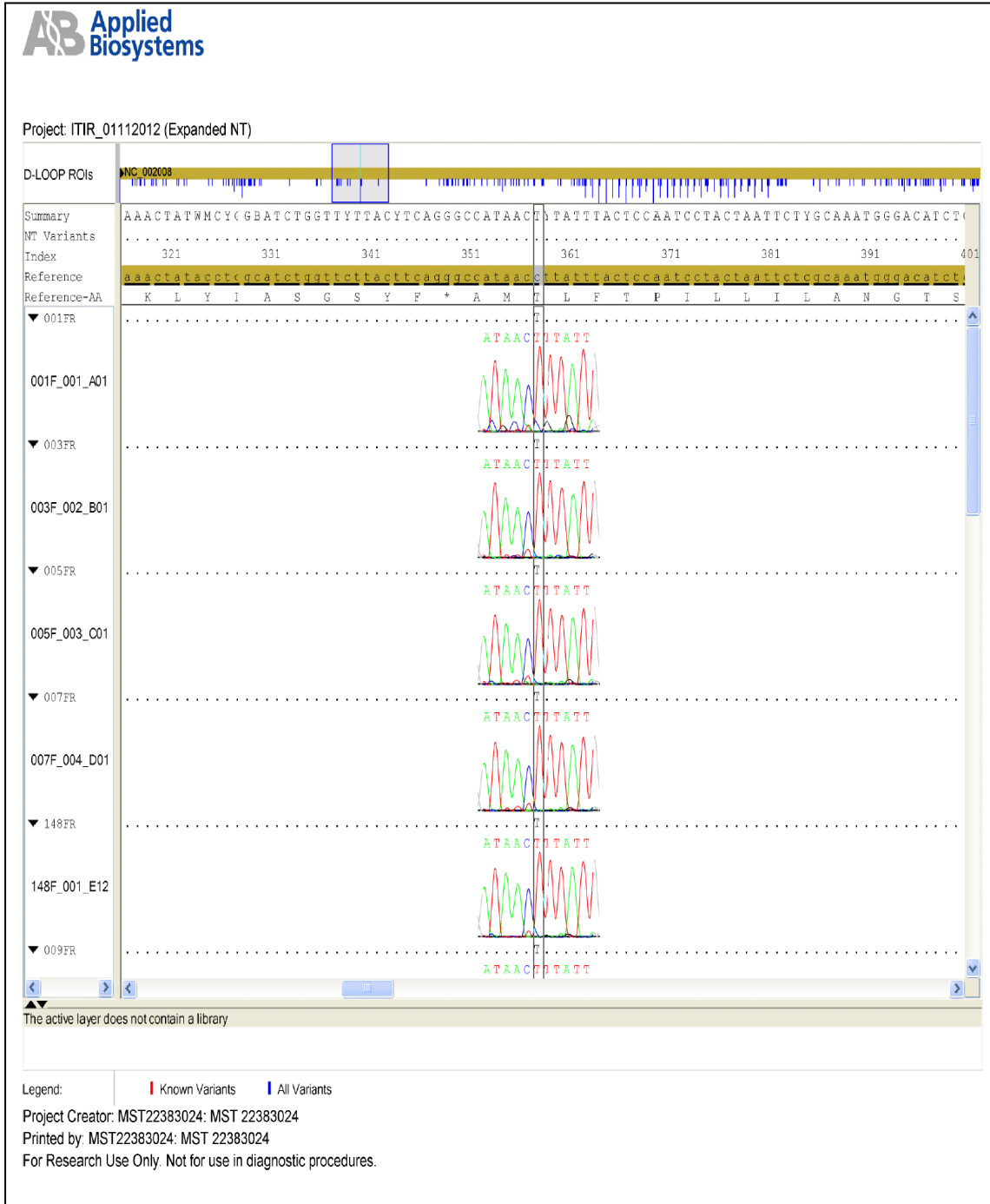
Şekil 4.5. Golden retriever'a ait mtDNA'nın 15798-16043 pozisyonları arası görülen elektroforegramı (19. örnek)

Şekil 4.6'da *Canis lupus familiaris* ırklarının 15639. pozisyonundaki dizin analizine ait elektroforegram, 4.7'de ise dizin analiz sonuçları gösterilmiştir. Referans dizide bu pozisyonda Timin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 56'sında (% 45,16) A/G değişimleri gözlenmektedir. Tüm şekillerde "Reference-AA" olarak yazılmış olan harfler, kodonların aminoasit karşılıklarıdır, bu yazının alt kısmında ise örnek numaraları gösterilmektedir.



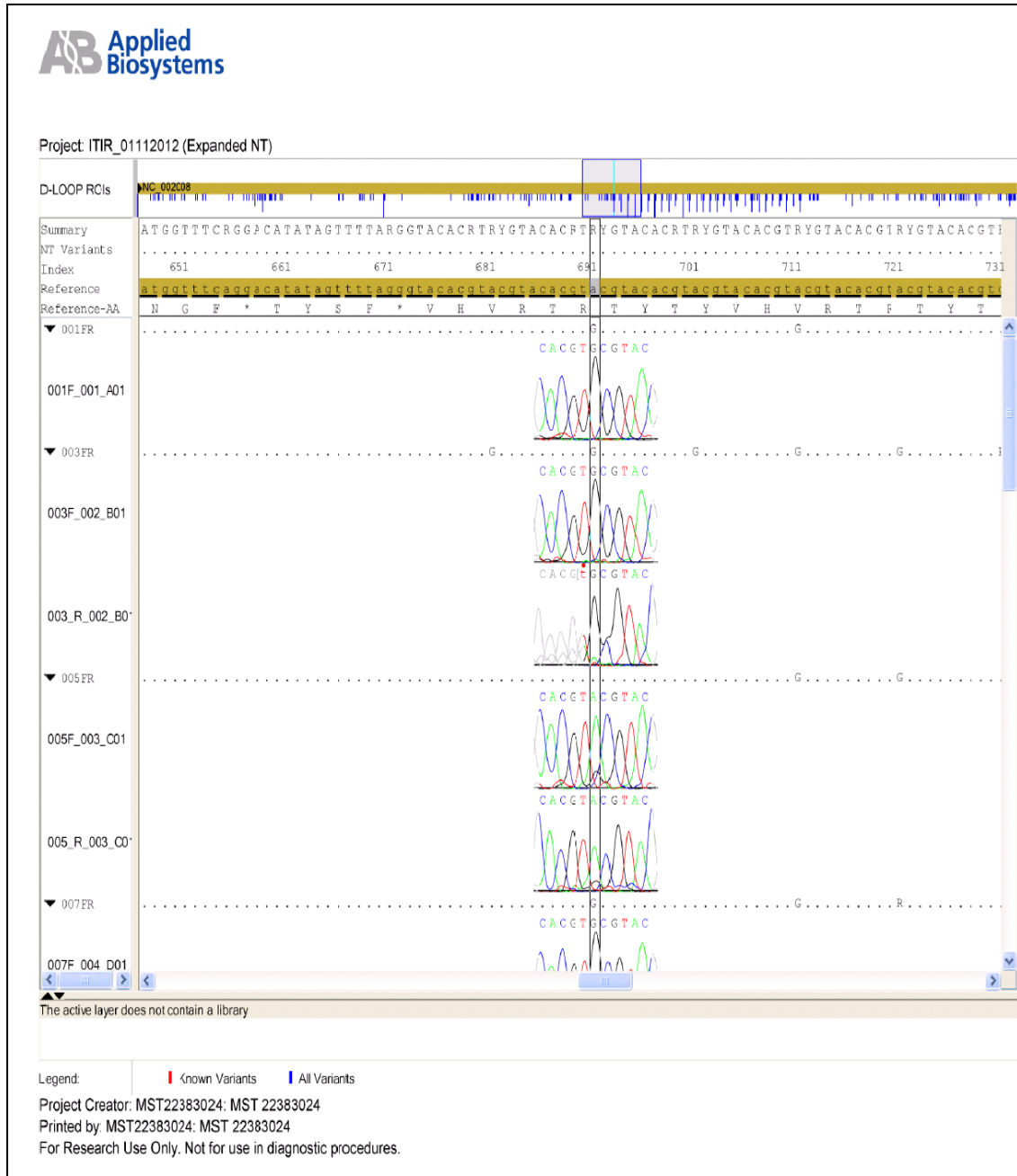
Şekil 4.6. *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-I bölgesinin 15639. pozisyonuna ait elektroforegram

Şekil 4.8’de *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-I bölgesinin 15814. pozisyonundaki dizin analizine ait elektroforegram, 4.9’da ise dizin analiz sonuçları gösterilmiştir. Referans dizide bu pozisyonda Sitozin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 79’unda (% 63,71) Timin bazı gözlenmektedir.



Şekil 4.8. *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-I bölgesinin 15814. pozisyonuna ait elektroforegram

Şekil 4.10'da *Canis lupus familiaris* ırklarının VNTR bölgesinin 16148. pozisyonundaki dizin analizine ait elektroforegram, 4.11'de ise dizin analiz sonuçları gösterilmiştir. Referans dizide bu pozisyonda Adenin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 45'inde (% 36,20) Adenin/Guanin değişimleri gözlenmektedir. 4.12'de VNTR bölgesinde 10 nükleotid aralığında görülen polimorfizmler gösterilmiştir.



Şekil 4.10. *Canis lupus familiaris* ırklarının VNTR bölgesinin 16148. pozisyonuna ait elektroforegram

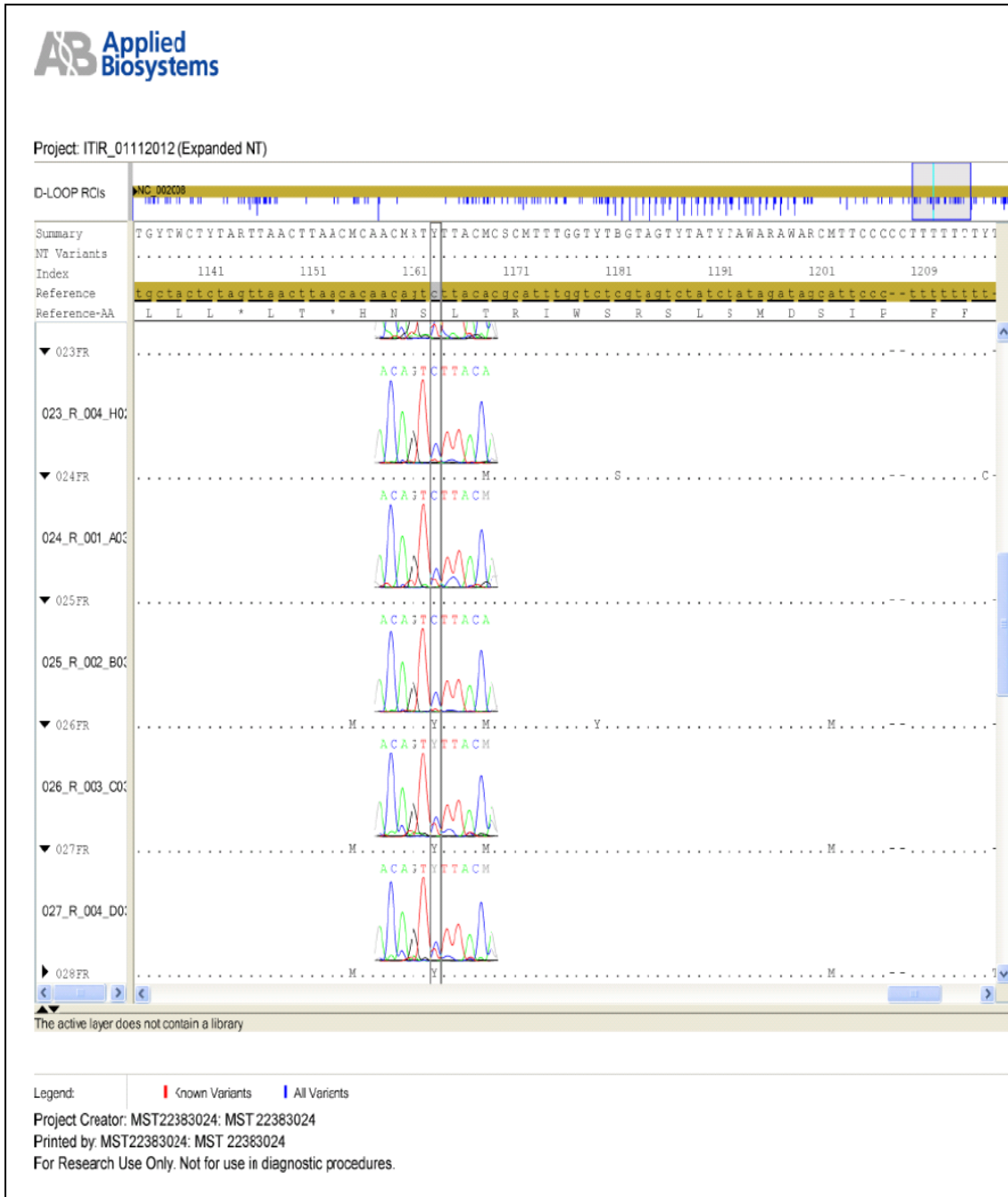
Project: ITIR_01112012 (Expanded NT)

```
060FR ..... A ..... ↓
062FR ..... G ..... ↓
066FR ..... R .....
068FR ..... R .....
069FR ..... G .....
070FR ..... GT .....
071FR ..... G .....
074FR ..... G .....
075FR ..... G .....
076FR ..... G .....
077FR ..... R .....
080FR ..... R .....
087FR ..... R .....
081FR ..... G .....
083FR ..... G .....
086FR ..... ? ? ? ? ?
089FR ..... G .....
091FR ..... R .....
093FR ..... G .....
095FR ..... G .....
097FR ..... G .....
098FR ..... G .....
099FR ..... R .....
100FR ..... R .....
101FR ..... G .....
103FR ..... G .....
105FR ..... G .....
107FR ..... G .....
108FR ..... G .....
109FR ..... R .....
111FR ..... R .....
112FR ..... G .....
116FR ..... G .....
117FR ..... G .....
118FR ..... G .....
121FR ..... R .....
126FR ..... G .....
127FR ..... G .....
129FR ..... R .....
130FR ..... R .....
..... ? ? ? ? ?
```

Project Creator: MST22383024; MST 22383024
Printed by: MST22383024; MST 22383024
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Şekil 4.11. *Canis lupus familiaris* irklarının VNTR bölgesinin 16148. pozisyonunun gösterilmesi (devamı)

Şekil 4.13'te *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-II bölgesinin 16619. pozisyonundaki dizin analizine ait elektroforegram, 4.14'te ise dizin analiz sonuçları gösterilmiştir. Referans dizide bu pozisyonda Sitozin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 22'sinde (% 17,74) Sitozin- Timin heterozigotluğu gözlenmektedir.



Şekil 4.13. *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-II bölgesinin 16619. pozisyonuna ait elektroforegram



Project: ITIRL_01112012 (Expanded NIT)

NT Variants Index	Sequence
1101	ACTTCMCMAAGCCTTAAATTTAATAACAAAGTATTTGGTATTCATTAACCTTAACTTAACMCAACMRTYITTAACMCSCTTTTGG
1102 1101
1103 1102
1104 1103
1105 1104
1106 1105
1107 1106
1108 1107
1109 1108
1110 1109
1111 1110
1112 1111
1113 1112
1114 1113
1115 1114
1116 1115
1117 1116
1118 1117
1119 1118
1120 1119
1121 1120
1122 1121
1123 1122
1124 1123
1125 1124
1126 1125
1127 1126
1128 1127
1129 1128
1130 1129
1131 1130
1132 1131
1133 1132
1134 1133
1135 1134
1136 1135
1137 1136
1138 1137
1139 1138
1140 1139
1141 1140
1142 1141
1143 1142
1144 1143
1145 1144
1146 1145
1147 1146
1148 1147
1149 1148
1150 1149
1151 1150
1152 1151
1153 1152
1154 1153
1155 1154
1156 1155
1157 1156
1158 1157
1159 1158
1160 1159
1161 1160
1162 1161
1163 1162
1164 1163
1165 1164
1166 1165
1167 1166
1168 1167
1169 1168
1170 1169
1171 1170
1172 1171
1173 1172
1174 1173
1175 1174
1176 1175
1177 1176
1178 1177
1179 1178
1180 1179
1181 1180
1182 1181
1183 1182
1184 1183
1185 1184
1186 1185
1187 1186
1188 1187
1189 1188
1190 1189
1191 1190
1192 1191
1193 1192
1194 1193
1195 1194
1196 1195
1197 1196
1198 1197
1199 1198
1200 1199

Şekil 4.14. *Canis lupus familiaris* ırklarının HV-II bölgesinin 16619. pozisyonunun gösterilmesi

(Y: Sitozin-Timin heterozigotluğu, R: Adenin-Guanin heterozigotluğu, M: Adenin-Sitozin heterozigotluğu, W: Adenin-Timin heterozigotluğu, S: Guanin-Sitozin heterozigotluğu)

Çalışmadaki 124 mtDNA örneğinin HV-I ve HV-II bölgeleri incelendiğinde, referans dizi ile gözlenen varyant karşılaştırması Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. HV-I ve HV-II bölgelerinde sık gözlenen polimorfizmler

Pozisyon	Referans dizi	Gözlenen varyant
15483	C	T
15508	C	T
15627	A	G
15632	C	T
15639	T	A/G
15643	A	G
15650	T	C
15652	G	A
15710	C	T
15800	T	C
15815	T	C
15912	C	T
15955	C	T
16003	A	G
16025	T	C
16083	A	G
16128	G	A
16431	C	T
16439	T	C
16671	T	C
16672	C	T
16705	C	T

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde HV-I bölgesine ait 16 haplotip tespit edilmiş; ayırım gücü 0.98, genetik çeşitlilik 0.96 olarak bulunmuştur. HV-II bölgesine ait 12 haplotip bulunmuş, ayırım gücü 0.89, genetik çeşitlilik ise 0.79 olarak saptanmıştır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bir suç araştırmasında olay yerinde toplanan biyolojik kanıtların çoğu insana ait olabileceği gibi hayvanlara ait kanıtlar da olabilir. Bir olay yerinde hayvana ait materyallerin bulunması ile o hayvana ait kimliklendirmenin yapılması son yıllarda önemli araştırma konularından biri haline gelmiştir.

Köpekler evcilleştirilebilir olabilmeleri sebebiyle adli bilimler açısından önemli bir yere sahiptir. Evcil köpeğe ait biyolojik örneğin tespiti, olay yeri ile mağdur arasında bağlantı kurmamıza yarayacak önemli bir delil kaynağı olacaktır. Bu konuda adli amaçlı çözümlenmiş birçok vaka örneği bulunmaktadır (Caniglia ve ark., 2010; Scharnhorst ve Kanthaswamy, 2011; URL-7; URL-8).

Köpeklere ait biyolojik örnekler üzerinde yapılan genetik dizi analizi çalışmalarının çoğu STR, SNP ve mtDNA analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Ancak bazı durumlarda biyolojik örneklerde yeterli miktarda genomik DNA'ya ulaşmak mümkün olamamaktadır. Özellikle bu gibi durumlarda mtDNA çalışmaları büyük avantaj sağlamaktadır. mtDNA, genomik DNA'ya göre hücre başına daha çok kopya sayısı içermesi ve az miktardaki ya da degrade olmuş biyolojik örneklerden yeterli DNA elde etmenin mümkün olması sebebiyle adli olayların aydınlatılmasında kullanılmaktadır. Araştırmalarda en çok mtDNA üzerinde bulunan kontrol bölge olarak bilinen 1270 bp'lik HV-I ve HV-II bölgelerinin analizi yapılmaktadır.

Bu çalışmada, 150 evcil köpeğe ait kan örneklerinden 124'ünde mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinin dizin analizi gerçekleştirildi. Bu amaçla İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi'nden temin edilen kan örneklerinden "Invitrogen PureLink™ Genomic DNA" İzolasyon Kiti (Katalog No: K1820-02) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Daha sonra DNA miktarları Florometrik yöntem ile Qubit® Florometre (Invitrogen) cihazında belirlendi. Bu amaçla The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kiti kullanılarak örneklerin DNA miktarları 260nm dalga boyunda belirlendi.

Örneklerin DNA izolasyonu yapılırken bir örnekte analiz öncesi kan tüplerinde pıhtılaşma sorunu tespit edildiği için DNA izolasyonu başarılı gerçekleştirilememiştir. Ayrıca santrifüj aşaması sonrasında iki örneğin filtreli tüplerden geçemediği gözlenmiştir, bu sorun da DNA eldesini engellemiştir. Bu nedenlerden dolayı söz konusu üç örnek değerlendirilememiştir.

mtDNA analiz çalışmalarında PCR analizi yapıldıktan sonra saflaştırma işleminin istenilen şekilde gerçekleşmesi çalışmanın en önemli aşamasını oluşturmaktadır. Aksi takdirde fosfat ve bağlanmamış primerler uzaklaştırılmayacağı için yapılacak ikinci (dizileme) PCR çalışmasında işaretli dNTP'ler istenilen bölgelere tam olarak bağlanmayacak ve dizi analizinde kirlilikler ortaya çıkacaktır. Bu amaçla çalışmamızda ilk PCR aşamasından sonra Exo-Sap yöntemi ile saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Ancak bazı örneklerin bu aşamada yeterli derecede saflaşmadığı gözlenmiştir. İstenilen şekilde saflaştırılmayan bu örnekler için ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup Kit ile saflaştırma yapılmıştır. Bu yöntem ile Exo-Sap yöntemi karşılaştırıldığında, Exo-Sap yönteminin PCR aşaması gerektirmesi (37°C'de 90 dakika boyunca bağlanmamış primer ve dNTP'ler parçalanması, 80°C'de 20 dakika boyunca enzimlerin inaktivasyonu) süre açısından dezavantaj oluşturmaktadır. Ayrıca kit ile yapılan saflaştırmanın Exo-Sap yöntemine oranla daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Dizileme PCR'ı aşamasından sonra gerçekleştirilen saflaştırma işlemleri için öncelikle Sefhadex yöntemi, daha sonra Applied Biosystems BigDye® XTerminator™ Purification Kit kullanılmıştır. İki saflaştırma yöntemi karşılaştırıldığında kit ile yapılan saflaştırmanın Sefhadex yöntemine göre hem daha kısa sürede hem de daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Sefhadex yöntemi ile yapılan saflaştırma için tüp içerisinde oluşturulan dolgu maddesinde bazı örneklerde kırıklar oluştuğu gözlenmiş ve bu örnekler not edilmiştir. Bu aşamada PCR ürünleri, dolgu maddesine bağlanmadan tüpün alt yüzeyine hızlı bir geçiş yapmaktadır. Dolayısıyla saflaştırma işlemi tam olarak gerçekleşmemektedir. Sefhadex yöntemi ile saflaştırma yapılırken tüp içerisinde oluşacak dolgu maddesinin kırılmamasına dikkat edilmelidir. Aksi takdirde istenen saflaştırma gerçekleşmeyecek ve dizinleme sonrasında kirlilikler gözlenecektir. Dizinleme sonucu ortamdaki kirliliklerden dolayı bazılar tespit edilemeyince kit ile saflaştırma yöntemine geçilmiştir.

Çalışmada her PCR işleminin ardından çoğaltımın gerçekleşip gerçekleşmediğini belirleyebilmek için örnekler agaroz jel üzerinde yürüterek kontrol edildi. Eğer bu aşamada herhangi bir problem gözlenirse (bant yoğunluğu ya da yoksunluğu) PCR işlemi tekrar edilmelidir. Bant yoğunluğunun gözlenmesi ile dizileme PCR'ında istenmeyen çoğaltımların

olacağı (tiplendirmede yalancı pikler), bant gözlenememesi ile dizileme PCR işlemine geçilmesi zaman ve maddi açıdan kayıplara neden olacaktır.

Köpek mtDNA'sının HV-I ve HV-II bölgelerinin analizinde birçok araştırmacı tarafından farklı sayıda ve dizide primerler kullanılmıştır. Bu seçim, çalışmanın süresini, kalitesini ve maliyetini etkilemektedir. Özellikle dizileme PCR'ı yapılırken kullanılan primerler, ileri ve geri dizinlemelerde dizinin örtüşebilmesi ve genomun bütün halinde tiplendirilmesi açısından önem arz etmektedir. Yanlış yapılan primer seçimlerinde genomun istenen bölgelerinin tiplendirilmesi eksik yapılacağından, polimorfik bölgelerin tam tespiti mümkün olmayacak, bu durumda analiz sonuçları güvenilir olmayacaktır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada H15404, H15430, H15706 olmak üzere 3 forward; L16102, L16092, L15791 olmak üzere 3 reverse primer toplamda 6 primer kullanılmıştır (Angleby ve ark., 2005). Gundry ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, F15412, F15719, F16072, F16431 olmak üzere 4 forward; R15803, R16114, R16527, R42 olmak üzere 4 reverse primer, toplamda 8 primer kullanılmıştır (Gundry ve ark., 2007). 2012 yılında yapılan bir başka çalışmada ise 5 forward (F15412, F15412L, F15719, F16010, F16431) ve 5 reverse (R00042, R00056, R15803, R16114, R16643) olmak üzere 10 primer kullanılmıştır (Desmyter ve Gijssbers, 2012). Çalışmamızda 15458-16130 HV-I bölgesinin çoğaltımı için F15416 (CATCAGCACCCAAAGCTGAGA) ve 16429-16727 HV-II bölgesinin çoğaltımı için R00056 (GTGCGACTCATCTTGGCATT) primerleri kullanılmıştır. Aynı zamanda bu primerler dizileme PCR'ı sırasında da kullanılmıştır. 1270 bp'lik mtDNA genomu sadece 2 primer kullanarak dizinlenebilmiştir. Bunun sebebi çalışmada kullanılan ABI3130 cihazının POP7 polimeri ile örnekleri 850 baza kadar dizinleyebilmesidir (URL-11). Diğer kapiler elektroforez cihazları karşılaştırıldığında; ABI310'da 45 cm kapiler ile 450-500, 61 cm kapiler ile 650 baza kadar (URL-12), ABI373 ve ABI377 cihazları 400-450 baza kadar dizinleme yapabilmektedir (URL-13). Bu sebeplerden dolayı çalışmada diğer cihazların kullanılması halinde dizinlenecek bölge daha küçük parçalar halinde ayrı ayrı dizinlenmesi gerekecekti. Ancak bizim yaptığımız çalışma bu açıdan büyük kolaylık sağlamıştır. Ayrıca ABI3130'da örneğin cihaza yerleştirilmeden önce herhangi bir işleme tabi tutulmaması da, diğer cihazlara göre kolaylık sağlayan bir başka özelliğidir. Bu konuda yayınlanmış diğer çalışmaların daha fazla primer ile işlemlerini gerçekleştirmelerinin sebebinin cihaz ve yöntem farkından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu çalışmada yaptığımız çeşitli modifikasyonlarla diğer çalışmalara göre daha kısa sürede ve daha düşük maliyetle köpeklerin kimliklendirilebileceği belirlenmiştir.

Ham verilerin analizi SeqScape 3.7 (Applied Biosystems), BioEdit (Hall, 1999) ve ClustalX (Thompson ve ark., 1997) programları kullanılarak yapıldı. Elde edilen sonuçlar, 1998 yılında Kim ve ark.'nın yayınladıkları referans dizi ile karşılaştırılarak analiz edildi.

Bulgular değerlendirildiğinde 12 örneğin HV-I bölgesinin başında, 6 örneğin HV-II bölgesinin son kısmında tiplendirme gerçekleşmeyince, söz konusu örnekler değerlendirme dışı bırakılmıştır. Aynı zamanda 5 örnekte birden fazla DNA tespit edilmiştir. Bu durumun kan alım işlemi sırasında meydana gelen kontaminasyondan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Daha önce bahsedildiği üzere DNA izolasyon aşamasında da 3 örnekten DNA elde edilememiş olup sonuç olarak 150 örnekten 124'ü tiplendirilmiştir.

Eichmann ve Parson (2007) tarafından yapılan bir çalışmada mtDNA'nın HV-I bölgesinde 15627, 15639 ve 15955; HV-II bölgesinin 16431 ve 16672. pozisyonunda yüksek derecede polimorfizm tespit edilmiştir. 15627. pozisyonda 14 (%44), 15955'te 12 (%38), 16431'de 12 (%38), 16672'de 16 (%50) polimorfizm saptanmıştır. 15639'da tespit edilen 28 polimorfizmden (%87,5) 20'si Adenin (%62,5), 8'inde ise Guaninin (%25) transversiyonu görülmüştür (Eichmann ve Parson, 2007). Çalışmamızda 15627. pozisyonda 27 (%21,77), 15955'te 16 (%12,90), 16431'de 13 (%10,48), 16672'de 22 (%17,74) polimorfizm saptanmıştır. 15639'da tespit edilen 56 polimorfizmden (%45,16) 40'ı Adenin (%32,5), 16'sında ise Guanin (%12,66) transversiyonu görülmüştür. Bu sonuçlar çalışmamızla örtüşmekte olup, bunların dışında mtDNA'nın HV-I bölgesinde 15543 (%4,03), 15640 (%3,23), 15756 (%6,45), 15945 (%8,87), 15951 (%4,03), 15960 (%3,23), HV-II bölgesinde 16495 (%16,94), 16585 (%7,26), 16611 (%15,32), 16619 (%17,74), 16624 (%12,90), 16628 (%4,84), 16635 (%8,06), 16637 (%11,29), 16652 (%4,84), 16654 (%4,03), 16658 (%13,71), 16676 (%4,03) pozisyonlarındaki polimorfizmlere ilk kez rastlanılmaktadır.

mtDNA'nın HV-I bölgesinin yüksek polimorfik özellik gösterdiği daha önceki çalışmalarla da desteklenmektedir (Savolainen ve ark., 1997; Angleby ve Savolainen, 2005; Okumura ve ark., 1996). Angleby ve Savolainen'in yaptığı bir çalışmada mtDNA'nın 15627. pozisyonunda 49 (%39,5), 15639.'da 109 (%88), 15955.'de 48 (%39) polimorfizm saptanmıştır (Angleby ve Savolainen, 2005). Yapılan çalışmalar sonucu mtDNA'nın incelenen bu bölgelerinin köpekler arası farklılıkların belirlenmesi açısından aday bölgeler olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda mtDNA'da en fazla polimorfizmlerin HV-I bölgesinde gözlemlendiği

belirlenmiştir. En sık gözlenen polimorfizmler incelendiğinde 15458-16129 pozisyonları arası 17, 16429-16727 pozisyonları arasında ise 5 polimorfizm belirlenmiştir.

Kim ve ark.'nın yayınladıkları referans dizinin 15639. pozisyonunda Timin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 56'sında (%45,16) A/G değişimleri gözlenmiştir. 15814. pozisyonunda Sitozin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 79'unda (%63,71) Timin bazı saptanmıştır. Referans dizinin 16619. pozisyonunda Sitozin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 22'sinde (%17,74) Sitozin- Timin heterozigotluğu saptanmıştır.

Çalışmamızın amacı mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinin analizi olmasına rağmen, çoğaltım ve dizileme aşamaları sonrasında bu iki bölgenin arasında yer alan VNTR bölgesi de dizinlenmiştir. Sonuç olarak referans dizinin VNTR bölgesinde yer alan 16148. pozisyonunda Adenin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 45'inde (%36,29) Adenin/Guanin transisyonu gözlenmiştir. Bir diğer değişim ise referans dizinin VNTR bölgesinde yer alan 16188. pozisyonunda Guanin bazı bulunurken, bu çalışmadaki örneklerin 71'inde (%57,2) Guanin/ Adenin transisyonu gözlenmiştir. VNTR bölgesinde 10 nükleotid aralığında bir polimorfizmin saptanması beklenen bir durum olup, örneklerin dizinleme sonuçları Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Çalışmamızda VNTR bölgesinin tüm pozisyonları incelendiğinde 15 pozisyonunda Adenin/Guanin transisyonu (16138, 16148, 16158, 16168, 16178, 16208, 16248, 16268, 16288, 16298, 16318, 16358, 16388, 16398, 16418), 14 pozisyonunda Guanin/Adenin transisyonu (16188, 16198, 16218, 16228, 16238, 16258, 16278, 16308, 16328, 16338, 16348, 16368, 16378, 16408) gerçekleştiği gözlenmiştir. Ayrıca Ek 8'de verilen tabloya göre, çalışmamızdaki ırkların GTACACGTRC dizini taşıdıkları görülmektedir. R harfi ile ifade edilen baz, bazı ırklarda Adenin, bazılarında ise Guanin olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda ırklara özgü tespit edilen polimorfizmler, Bekaert ve ark.'nın yayınladıkları çalışmada belirttiği polimorfizmler ile örtüşmektedir (Bekaert ve ark., 2012). 26, 27, 42, 58 numaralı örnekler Beagle ırkından olup 15595. pozisyonunda Sitozin-Timin transisyonu, 15612. pozisyonunda Timin-Sitozin transisyonu, 15800. pozisyonunda Timin-Sitozin transisyonu görülmektedir. Aynı örneklerin 15815. pozisyonunda Timin-Sitozin transisyonu, 15955. pozisyonunda Sitozin-Timin transisyonu belirlenmiştir. 9, 41, 69, 97, 137 numaralı örnekler Terrier ırkından olup 15627. pozisyonunda Adenin-Guanin transisyonu görülmektedir. 3, 33, 98, 99, 132, 141, 149 numaralı örnekler Golden retriever ırkından olup

15639. pozisyonunda Timin-Adenin transversiyonu; 24 ve 62 numaralı örnekler Boxer ırkından olup aynı pozisyonda Timin-Guanin transversiyonu saptanmıştır.

87, 93, 107, 129 numaralı örnekler Rottweiler ırkından olup 16025. pozisyonunda Timin-Sitozin transisyonu belirlenmiştir. 8, 56, 95 numaralı örnekler German shepherd ırkından olup 16083. pozisyonunda Adenin-Guanin transisyonu saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde HV-I bölgesine ait 16 haplotip tespit edilmiş; ayırım gücü 0.98, genetik çeşitlilik 0.96 olarak bulunmuştur. HV-II bölgesine ait 12 haplotip tespit edilmiş, ayırım gücü 0.89, genetik çeşitlilik ise 0.79 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak en fazla haplotip sayısının HV-I bölgesinde tespit edilmesi ve genetik çeşitliliğin yüksek olması, bu bölgenin HV-II'ye göre bireyleri birbirinden daha yüksek oranda ayırım gücüne sahip olduğunu göstermektedir.

Daha önceki çalışmalarda adli bilimler alanında insanlara özgü kimliklendirmede mtDNA üzerine yapılmış çalışmalar mevcuttur. Örneğin bir tez çalışmasında, mtDNA üzerinde SNP lokuslarının analizi yapılmıştır (Arçaç, 2009). Başka bir tez çalışmasında birbirleriyle akrabalık ilişkisi bulunmayan 5 kişiden kan, saç, tırnak, küpe, diş fırçası, kulak pamuğu, bardak kenarı swabı, sakız, jilet, sigara izmariti gibi materyaller ve farklı 12 kişiden alınan kan örnekleri çalışılmıştır. Sonuçta aynı kişilere ait farklı örneklerden aynı sonuçlar elde edilmiştir (Erdem, 2011). Ancak Türkiye'de adli amaçlı olarak köpeklerde mtDNA analizi ile kimliklendirme çalışması bulunmamaktadır. Bir evcil hayvanın yaşadığı ortama girildikten sonra o hayvanın tüyleriyle kontamine olunmaması imkânsız olup, biyolojik materyallerin karşılıklı aktarımı söz konusu olacaktır. Bu amaçla çalışmamızda aynı yöntem ve gereçler kullanarak insan kanından mtDNA analizi gerçekleştirilmek istenmiştir. Ancak tiplendirme gerçekleşmemiştir. Bu sonuç, olay yerinde insan ve köpeğe ait biyolojik örneğin karışım halinde bulunması söz konusu olduğunda bu yöntemle sadece köpek mtDNA'sının analizinin yapılabileceğini göstermektedir. Bu açıdan elde edilen sonuçlar ile köpeklere ait kan, kıl, salya gibi biyolojik örnekler, olay yeri ve mağdur arasında bağlantı kurmaya yarayacaktır. Üstelik köpeklerin buldukları ortama kıllarının dökülmesi nedeniyle olay yerine, sahiplerinin biyolojik materyalinden daha fazla örnek bırakmış olurlar (D'Andrea ve ark., 1998). Böylece olay yerinden alınan örnekler içerisinden, evcil hayvana ait örnekler daha fazla sayıda bulunacaktır. Bütün bu sonuçlar düşünüldüğünde yaptığımız çalışma, Türkiye'deki köpek kimliklendirme çalışmalarının adli açıdan ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu çalışma ve verilen örnek vakalar ile olay yeri denilince sadece insanların değil, hayvanların da olayın çözülmesinde önemli rol oynadıkları bir kez daha vurgulanmıştır. Sonuç olarak çalışmamızda yapılan modifikasyonlar ile daha kısa sürede ve düşük maliyetle köpeklerin kimliklendirilebileceği gösterilmiştir. Gerçekleştirilen bu düzenleme ile adli bilimlerde yapılacak olan diğer çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

6. ÖNERİLER

Dünyada adli amaçlı evcil hayvanlar üzerine yapılan çalışmalar oldukça yaygındır. Ancak Ülkemizde yapılan çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır. Bu konudaki eksikliklerin tespit edilerek daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Diğer evcil hayvanların da mtDNA analizlerinin yapılmasının literatüre büyük katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışmada mtDNA dizi analizi, diğer çalışmalardaki yöntemlere göre modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Tartışma ve Sonuç kısmında, yapılan değişikliklerin sağladığı avantajlara değinilmiştir. Bu tür çalışmaların devamında, özellikle ülke çapında yürütülecek ve yöntem birliği oluşturacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada, mtDNA dizi analizi için uygun yöntem tespit etmek amacıyla 20 köpek ırkı üzerinde araştırma yapılmıştır. Ancak istatistiksel verilerin oluşturulabilmesi ve ırklar arası farklılıkların tespit edilebilmesi için tek ırk üzerinde çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca mtDNA'da bulunan SNP'lerin analizinin yapılması, kimliklendirme çalışmalarında ayırım gücünün arttırabilmesi açısından kolaylık sağlayacaktır. Elde edilen sonuçlar, tespit edilen hayvanın coğrafik orijininin belirlenmesinde, nesep çalışmalarında ve bozulmuş örneklerden kimlik tespiti gibi olayların çözümünde kullanılabilir.

Yapılmış çalışmalardan yola çıkarak elde edilen bilgilerin olayı aydınlatmadaki başarısı düşünüldüğünde, olay yerinde hayvan/hayvanlara ait bulunabilecek delillerin önemi unutulmamalı, bu konudaki çalışmaların sayısı arttırılmalıdır.

7. ÖZET

Köpekler evcilleştirilebilir olabilmeleri sebebiyle adli bilimler açısından önemli bir yere sahiptir. Olay yerinde köpeğe ait biyolojik materyalin saldırgan/mağdur üzerinde tespit edilmesi ya da köpeğe ait materyal üzerinde saldırgan/mağdura ait delilin saptanması olayın çözümünde etkili olmaktadır. Bu çalışmanın amacı *Canis lupus familiaris* kan örneklerinden mtDNA'nın HV-I ve HV-II bölgelerinin analiz edilmesi yoluyla olayın çözümünde önemli bir delil kaynağı olacağını kanıtlamaktır. Bu amaçla DNA izolasyonu sonrası yapılan birinci PCR aşamasında hedef bölge çoğaltıldı, Exo-Sap yöntemi ve ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup kiti ile saflaştırma işlemi yapıldı. İkinci PCR aşamasında Applied Biosystem BigDye v3.1 Cycle Sequencing kiti kullanıldı, Sefadex yöntemi ve ABI Big Dye XTerminator kiti ile saflaştırma işlemi yapıldı. Dizin analizi ise ABI3130 kapiler elektroforez cihazında gerçekleştirildi. Ham verilerin analizi SeqScape 3.7 (Applied Biosystems), BioEdit ve ClustalX programları kullanılarak yapıldı. Elde edilen sonuçlar, 1998 yılında Kim ve ark.'nın yayınladıkları referans dizi ile karşılaştırılarak analiz edildi. En yüksek polimorfizmler, HV-I bölgesinin 15627, 15639, 15800, 15814, 15945, 15955, 16003, 16025 pozisyonlarında; HV-II bölgesinin 16431, 16439, 16495, 16611, 16619, 16624, 16637, 16658, 16672 pozisyonlarında saptandı. Elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla örtüşmekte olup, HV-I bölgesinin 15543 (%4,03), 15640 (%3,23), 15756 (%6,45), 15945 (%8,87), 15951 (%4,03), 15960 (%3,23), HV-II bölgesinin 16495 (%16,94), 16585 (%7,26), 16611 (%15,32), 16619 (%17,74), 16624 (%12,90), 16628 (%4,84), 16635 (%8,06), 16637 (%11,29), 16652 (%4,84), 16654 (%4,03), 16658 (%13,71), 16676 (%4,03) pozisyonlarındaki polimorfizmler ilk kez tespit edilmiştir. HV-I bölgesine ait 16 haplotip tespit edilmiş; ayırım gücü 0.98, genetik çeşitlilik 0.96 olarak bulunmuştur. HV-II bölgesine ait 12 haplotip tespit edilmiş, ayırım gücü 0.89, genetik çeşitlilik ise 0.79 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak en fazla haplotip sayısının HV-I bölgesinde tespit edilmesi ve genetik çeşitliliğin yüksek olması, bu bölgenin HV-II'ye göre bireyleri birbirinden daha yüksek oranda ayırım gücüne sahip olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma Türkiye'de adli bilimler alanında ilk kez uygulanmış olmakla birlikte uluslararası yayınlarda kullanılan metodlara göre farklı optimize edilerek çalışma süresi ve maliyet azaltılmıştır. Gerçekleştirilen bu düzenleme ile yapılacak kimliklendirme çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

8. SUMMARY

Dogs play an important role in terms of forensic science due to become reclaimable. It is effective incident resolution that detection of dog's biological material at the crime scene on aggressive / victim material or detection of aggressive / victim material's on dog's material. The aim of this study analysis of HV-I and HV-II regions in mtDNA from *Canis lupus familiaris* blood samples and it demonstrate that it will be an important evidence source in illumination of the incident. For this purpose, after the isolation of the DNA target regions were amplified in the first PCR step, Exo-Sap method and ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup kit purification was performed. The second stage of PCR v3.1 Cycle Sequencing kit was used and ABI Big Dye XTerminator and Sefadex method purification kit was performed. Index analysis was performed in the ABI3130 capillary electrophoresis instrument. Analysis of the raw data SeqScape 3.7 (Applied Biosystems), and the ClustalX, BioEdit programs was used. The results obtained in 1998, Kim et al. were analyzed by comparison with published reference number. It was established high polymorphic positions 15627, 15639, 15800, 15814, 15945, 15955, 16003, 16025 (HV-I region), 16431, 16439, 16495, 16611, 16619, 16624, 16637, 16658, 16672 (HV-II region). The results is converged of previous studies, 15 543 (4.03%) 15,640 (3.23%) 15,756 (6.45%), 15 945 (8.87), 15,951 (4.03%) , 15 960 (3.23%) in HV-I region, 16 495 (16.94), 16 585 (7.26%), 16 611 (15.32%), 16 619 (17.74%), 16 624 (12.90%), 16 628 (4,84%), 16 635 (8.06%), 16,637 (11.29) 16,652 (4.84%) 16,654 (4.03%) 16,658 (13.71) 16,676 (4.03%) in HV-II region. 16 haplotypes have been identified in HV-I region; the distinction power is 0.98, the genetic diversity is 0.96. 12 haplotypes have been identified in HV-II region, the distinction power is 0.89, genetic diversity is 0.79. As a result, up to the number of haplotypes in HV-I region is identified and genetic diversity is high in this area, HV-I region is according to the members of each other the higher rate of distinction power to HV-II region.

These polymorphisms are seen for the first time. This study was performed for the first time in Turkey, but in the field of forensic science methods used in international publications have been optimized according to different working hours and the cost is reduced. Performed with this arrangement is considered to contribute to the identification study.

9. KAYNAKLAR

Aaspoõllu, A., Kelve, M., 2003, The first criminal case in Estonia with dog's DNA data admitted as evidence, *International Congress Series*, 1239, 847–851.

Altunok, V., 1998, Kangal köpeklerinin genetik yapılarının moleküler yöntemlerle araştırılması, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.

Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., De Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Schreier, P.H., Smith, A.J., Staden, R., Young, I.G., 1981, Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature*, 290, 457-465.

Andreåsson, H., Asp, A., Alderborn, A., Gyllensten, U., Allen, M., 2002, Mitochondrial sequence analysis for forensic identification using pyrosequencing technology, *Biotechniques*, 32: 124-133.

Angleby, H., Savolainen, P., 2005, Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences, *Forensic Sci Int*, 154: 99-110.

Arçaç, D., 2009, SNaPshot minisekanslama tekniği kullanılarak mitokondriyal DNA'da SNP lokuslarının analizi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

Arı, S., 2004, DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması, *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri; 102-110.

Arslan, T. A., 2000, Kıl delillerinin kriminalistik açısından önemi, *Polis Bilimleri Dergisi*, Cilt 2, Sayı 7-8.

Atlet, L., Francino, O., Sanchez, A., 2001, Microsatellite polymorphism in closely related dogs, *The Journal of Heredity*, 92, 276-279.

Avanus, K., 2007, Mikrosatellitler kullanılarak DNA tiplleme yöntemi ile köpeklerde ebeveyn tayini, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

Bartlett, S.E., Davidson, W.S., 1992, FINS (Forensically Informative Nucleotide Sequencing): a procedure for identifying the animal origin of biological specimens, *Biotechniques*, 12, 82-92.

Bekaert, B., Larmuseau, M.H.D., Vanhove, M.P.M., Opdekamp, A., Decorte, R., 2012, Automated DNA extraction of single dog hairs without roots for mitochondrial DNA analysis, *Forensic Science International : Genetics*, 6, 277-281.

Bisbing, R.E., 2002, Cross section of a hair shaft, *Forensic Science Handbook*, Vol. 1 2nd ed., Richard Saferstein editor, Prentice Hall.

Brandstätter, A., Walther, P., 2003, Mitochondrial DNA heteroplasmy or artefacts - A matter of the amplification strategy?, *Int. J. Legal Med.*, 117 : 180-184 .

Brisbin, I.L., 1997, Primitive dogs, their ecology and behavior: Unique opportunities to study the early development of the human-canine bond. *Journal American Veterinary Medical Association*, 210(8): 1122-1126.

Brooker, R.J., 2005, *Genetics: Analysis and Principles*. NY, Mcgraw-Hill.

Budowle, B, Allard, M.W., Wilson, M.R., Chakraborty, R., 2003, Forensics and mitochondrial DNA: applications, debates, and foundations, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, 4, 119-141.

Budowle, B., Garofano, P., Hellmann, A., Ketchum, M., Kanthaswamy, S., Parsons, W., van Haeringen, W., Fain, S., Broad, T., 2005, Recommendations for animal DNA forensic identity testing, *International Journal of Legal Medicine*, 119: 295-302.

Butler, J.M., 2005, Forensic DNA typing: Biology, technology and genetics of STR markers, 2nd. Edition, Elsevier Academic Press.

Caniglia, R., Fabbri, E., Greco, C., Galaverni, M., Randi, E., 2010, Forensic DNA against wildlife poaching: Identification of a serial wolf killing in Italy, *Forensic Science International : Genetics*, 4, 334-338.

Carracedo, A., Bar, W., Lincoln, P., Mayr, W., Morling, N., Olaisen, B., Schneider, P., Budowle, B., Brinkmann, B., Gill, P., Holland, M., Tully, G., Wilson, M., 2000, DNA commission of the international society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing, *Forensic Sci. Int.*, 110, 79-85.

Chen, X., Prosser, R., Simonetti, S., Sadlock, J., Jagiello, G., Schon, E.A., 1995, Rearranged mitochondrial genomes are present in human oocytes, *Am. J. Hum. Genet.*, 57: 239-247.

Clutton-Brock, J., 1977, Man-made dogs, *Science*, 197:1340-1342.

Clutton-Brock, J., 1991, Dogs. Londra: Dorling Kindersley.

Clutton-Brock, J., 1995, Origins of the Dog: domestication and early history. In The domestic dog: its evolution, behaviour and interactions with people. 7-20, ed. J. Serpell. Cambridge University Press, NY.

Çevre ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, 5199 Sayılı Hayvanları Koruma Kanunu, 22.04.2008, “Tehlikeli Köpekler” Genelgesi, Sayı:126.

D’Andrea, F., Fridez, F., Coquoz, R., 1998, Preliminary experiments on the transfer of animal hair during simulated criminal behavior, *J. Forensic Sci.*, 43:1257-1258.

Darok, M., Gatterneg, R., 2005, Suspected suicide and suicide attempt with mysterious concomitant circumstances, *Forensic Sci. Int.*, 147, 17-19.

Darwin, C., 1875, The variation of animals and plants under domestication, 2nd. ed. Vol. 1. John Murray, London.

De Forest, P.R., Gaensslen, R.E., Lee, H.C., 1983, *Forensic Science: An introduction to criminalistics*, New York: McGraw-Hill.

Denise, S., Johnston, E., Halverson, J., Marshall, K., Rosenfeld, D., Mckenna, S., Sharp, T., Edwards, J., 2003, Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers, *Animal Genetics*, 35(1), 14-17.

Desmyter, S., Gijssbers, L., 2012, Belgian canine population and purebred study for forensics by improved mitochondrial DNA sequencing, *Forensic Science International: Genetics*, 6, 113-120.

Dobosz, M., Lancia, M., Coletti, A., Grasso, C., Panarese, F., Iulii, P., 2009, Genetic typing of dogs' traces in biological samples, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2*, 283-285.

Eichmann, C., Berger, B., Reinhold, M., Parson, W., 2004, Canine-specific STR typing of saliva traces on dog bite wounds, *International Journal of Legal Medicine*, 118(6), 337-342.

Eichmann, C., Berger, B., Parson, W., 2004, A proposed nomenclature for 15 canine-specific polymorphic STR loci for forensic purposes, *Int. J. Leg. Med.*, 118(5):249-66.

Eichmann, C., Parson, W., 2007, Molecular characterization of the canine mitochondrial DNA control region for forensic applications, *Int. J. Legal Med.*, 121:411-416.

Epstein, H., 1971, *The origin of the domestic animals of Africa. Vol. 1*, Africana Publishing Corp., N.Y.

Erdem, S., 2011, Eski ve bozulmuş örneklerde mitokondriyal DNA dizin analizi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

Erdoğan, M., 2000, Bazı köpek ırklarında kan protein polimorfizmi ve ırklar arası genetik mesafelerin tahmin edilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.

FBI Atap, 1999, "Terrorist Crime Scene Course" Notları.

Fox, M.W. ,1973, Origin of the dog and effects of domestication, *American Kennel Club Gazette*, 90(7): 33-35.

Francisco, L.V., Langston, A.A., Mellersh, C.S., Neal, C.L., Ostrander, E.A., 1996, A class of highly polymorphic tetranucleotide repeats for canine genetic mapping, *Mammalian Genome*, 7, 359-362.

Fridez, F., Rochat, S., Coquoz, R., 1999, Individual identification of cats and dogs using mitochondrial DNA tandem repeats?, *Sci Justice*, 39: 167-171.

Fumagalli, L., Cabrita, C.J., Castella, V., 2009, Simultaneous identification of multiple mammalian species from mixed forensic samples based on mtDNA control region length polymorphism, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2*, 302-303.

Ganço, L., Carvalho, M., Serra, A., Balsa, F., Bento, A.M., Anjos, M.J., Xufre, A., Côte-Real, F., 2009, Genetic diversity analysis of 10 STR's loci used for forensic identification in canine hair samples, *Forensic Science International : Genetics Supplement Series 2*, 288-289.

García-Moreno, J., Matocq, M.D., Roy, M.S., Geffen, E., Wayne, R.K., 1996, Relationship and genetic purity of the endangered Mexican wolf based on analysis of microsatellite loci, *Conserv. Biol.*, 10:376-389.

Giger, U., Gelens, C.J., Callen, M.B., Oakley, D.A., 1995, An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 206: 1358-1362.

Gill, P., Werrett, D.J., Budowle, B., Guerrieri, R., 2004, An assessment of whether SNPs will replace STRs in national DNA databases– joint considerations of the DNA working group of the European Network of Forensic Science Institutes (ENFSI) and the scientific working group on DNA analysis methods (SWGDM), *Sci. Justice*, 44, 51-53.

Gökçek, Ç., 2005, Türkiye'deki Kangal köpeklerinin mitokondrial DNA (mtDNA) dizi analizi, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.

Graphodatsky, A.S, Yang, F., O'Brien, P.C., et al., 2000, A comparative chromosome map of the Arctic fox, red fox and dog defined by chromosome painting and high resolution G-banding. *Chromosome Res.*, 8: 253-263.

Graphodatsky, A. S., Perelman, P.L., Sokolovskaya, N.V., Beklemishev, Serdukova, N.A., Dobigny, G., O'Brein, S.J., Ferguson-Smith, M.A., Yang, F., 2008, Phylogenomics of the dog and fox family (Canidae, Carnivora) revealed by chromosome painting, *Chromosome Research*, 16:129-143.

Gurney, S.M.R., Schneider, S., Pflugrad, R., Barrett, E., Forster, A.C., Brinkmann, B., Jansen, T., Forster, P., 2010, Developing equine mtDNA profiling for forensic application, *Int. J. Legal Med.*, 124: 617-622.

Gustincich, S., Manfioletti, G., Giannino, S., Schneider, C.A., 1991, A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, 11, 298-301.

Hall, T.A., 1999, Bioedit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis Program for Windows 95/98/NT, *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41, 95-98.

Halverson, J., Basten, C., 2005, A PCR multiplex and database for forensic DNA identification of dogs, *Journal of Forensic Science*, 50(2):352-363.

Hancock, D.K., Tully, L.A., Levin, B.C., 2005, A Standard reference material determine the sensivity of techniques for detecting low-frequency mutation SNPs, and heteroplasmies in mitochondrial DNA, *Genomics*, 86(4), 446-461.

Hoelzel, A.R., Hancock, J.M., Dover, G.A., 1993, Generation of VNTRs and heteroplasmy by sequence turnover in the mitochondrial control region of two elephant seal species, *Journal of Molecular Evolution*, 37: 190-197.

Hoelzel, A.R., Lopez, J.V., Dover, G.A., O'Brien, S.J., 1994, Rapid Evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores, *Journal of Molecular Evolution*, 39: 191-199.

Hwan, Y.L, Myung, J.P, Ji-Eun, Y., Ukhee, C., Gil-Ro, H., Kyoung-Jin, S., 2005, Selection of twenty-four highly informative SNP markers for human identification and paternity analysis in Koreans, *Forensic Science International*, 148(2-3): 107-112.

Imes, D.L., Wictum, E.J., Allard, M.W., Sacks, B.N., 2012, Identification of single nucleotide polymorphisms within the mtDNA genome of the domestic dog to discriminate individuals with common HV1 haplotypes, *Forensic Science International: Genetics*, (doi:10.1016/j.fsigen.2012.02.004).

Irion, D.N., Schaffer, A.L., Famula, T.R., Eggleston, M.L., Hughies, S.S., Pedersen, N.C., 2003, Analysis of genetic variation in 28 dog breed populations with 100 microsatellite markers, *Journal of Heredity*, 94: 81-87.

Jeffreys, A.L., Morton, D.B., 1987, DNA fingerprints of dogs and cats, *Animal Genetics*, 18, 1-15.

Kaygısız, M., 2003, Suç soruşturmasında olay yerinde personel ve işlevleri, *Polis Bilimleri Dergisi*, 5 : 3-4

Kim, K.S., Lee, S.E., Jeong, H.W., Ha, J.H., 1998, The complete nucleotide sequence of the domestic dog (*Canis familiaris*) mitochondrial genome, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 10, No: 2, 210-220.

Kim, K.S., Jeong, H.W., Park, C.K., Ha, J.H., 2001, Suitability of AFLP markers for the study of genetic relationships among Korean native dogs, *Genes Genet. Syst.*, 76, 243–250.

Klukowska, J., Strabel, T., Mackowski, M., Switonski, M., 2003, Microsatellite polymorphism and genetic distances between the dog, red fox and arctic fox, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120, 88-94.

Leonard, J.A., Wayne, R.K., Wheeler, J., Valadez, R., Guillen, S., Vila, C., 2002, Ancient DNA evidence for old world origin of new world dogs, *Science*, 298, 1613-1616.

Lindblad-Toh, K., Wade, C.M., Mikkelsen, T.S., et al., 2005, Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog, *Nature*, 438, 803-819.

Lorenz, K., 1954. *Man meets dog*, Methuen, London.

Manwell, C., Baker, C.M.A., 1983, Origin of the dog: from wolf or wild *Canis familiaris*? *Speculations in Science and Technology* 6 (3): 213-224.

Maraba, F., 1994, *Olay Yeri İncelemesi*, Polis Okulları Ders Kitabı.

Menotti-Raymond, M., Davis, V., O'Brian, S., 1997, Pet cat hair implicates murder suspect, *Nature*, 386: 774.

Mesloh, C., Wolf, R., Henych, M., 2002, Scent as forensic evidence and its relationship to the law enforcement canine, *Journal of Forensic Identification; Criminal Justice Periodicals*, 52, 2, 169.

Nash, W.G., Menninger, J.C., Wienberg, J., Padilla-Nash, H.M., O'Brien, S.J., 2001, The pattern of phylogenomic evolution of the Canidae. *Cytogenet Cell Genet.*, 95: 210-224.

Ogden, R., Mellanby, R., Clements, D., Gow, A.G., Powell, R., Mcewing, R., 2012, Genetic data from 15 STR loci for forensi individual identification and parentage analyses in UK domestic dogs (*Canis lupus familiaris*), *Forensic Science International: Genetics*, 6, e63-e65.

Okumura, N., Ishiguro, N., Nakano, M., Matsui, A., Sahara, M., 1996, Intra- and interbreed genetic variations of mitochondrial DNA major non-coding regions in Japanese native dog breeds (*Canis familiaris*), *Anim. Genet.*, 27 (6), 397-405.

“Olay Yerinde Ele Geçen Biyolojik Numunelerin Alınması ve Gönderilmesi Esnasında Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar” Kriminal Polis Laboratuarları Dairesi Başkanlığı, Ankara.

Ostrander, E.A., Sprague, G.F., Rine, J., 1993, Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)ⁿ markers for genetic mapping in dog, *Genomics*. 16: 207-213.

Ostrander, E.A., Mapa, F.A., Yee, M., Rine, J., 1995, One hundred and one simple sequence repeat-based markers for the canine genome, *Mammalian Genome*, 6, 192-195.

Özcan, S., Akın, H., Bayram, H., Baş, M., Yıldız, A., Özdemiroğlu, A., 2009, Köpeklerin adli alanda kullanımı ile ilgili bir derleme, *Polis Bilimleri Dergisi*, 11(1), 149-174.

Paneto, G.G., Martins, J.A., Longo, L.V.G., Pereira, G.A., Freschi, A., Alvarenga, V.L.S., Chen, B., Oliveira, R.N., Hirata, M.H., Cicarelli, R.M.B., 2007, Heteroplasmy in hair: Differences among hair and blood from the same individuals are still a matter of debate, *Forensic Science International*, 173, 117-121.

Pereira, L., van Asch, B., Amorim, A., 2004, Standardisation of nomenclature for dog mtDNA D-loop: a prerequisite for launching a *Canis familiaris* database, *Forensic Sci Int.*, 141(2-3):99-108.

Pugnetti, G., 2005, Köpek Ansiklopedisi, Ankara, Arkadaş Yayınevi, 3. Baskı, ISBN: 975-509-038-X

Randi, E., Lucchini, V., Christensen, M.F., Mucci, N., Funk, S.M., Dolf, G., Loescheke, V., 2000, Mitochondrial DNA variability in Italian and East European wolves: detecting the consequences of small population size and hybridization, *Conserv. Biol.* 14 (2), 464-473.

Richards, M., Macaulay, V., 2001, The mitochondrial gene tree comes of age, *Am. J. Hum. Genet.*, 68, 1315-1320.

Russel, P. J., 2003, *Essential Genetics*, CA: Benjamin Cummings.

Saferstein, R., 1995, *Criminalistics*, 5th Ed., Prentice Hall.

Salas, A., Lareu, M.V., Carracedo, A., 2001, Heteroplasmy in mtDNA and the weight of evidence in forensic mtDNA analysis: A case report, *Int J Legal Med*, 114 :186-190.

Sambrook, J., Frisch, F.F., Maniatis, T., 1989, *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Savolainen, P., Rosen, B., Holmberg, A., Leitner, T., Uhlen, M., Lundeberg, J., 1997, Sequence analysis of domestic dog mitochondrial DNA for forensic use, *J. Forensic Sci.*, 42 (4), 593-600.

Savolainen, P., Lundeberg, J., 1999, Forensic evidence based on mtDNA from dog and wolf hairs, *J. Forensic Sci.*, 44 (1), 77-81.

Savolainen, P., Arvestad, L., Lundeberg, J., 2000, A novel method for forensic DNA investigations: repeat-type sequence analysis of tandemly repeated mtDNA in domestic dogs, *J. Forensic Sci.*, 45, 990-999.

Savolainen, P., Zhang, Y.P., Luo, J., Lundeberg, J., Leitner, T., 2002, Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs, *Science*, 298, 1610-1613.

Scharnhorst, G., Kanthaswamy, S., 2011, An assessment of scientific and technical aspects of closed investigations of canine forensics DNA - case series from the University of California, Davis, USA., *Croat Med J.*, 52 (3), 280-92.

Schneider, P.M., Seo, Y., Rittner, C., 1999, Forensic mtDNA hair analysis excludes a dog from having caused a traffic accident, *Int. J. Legal Med.*, 112 (5), 315-316.

Stewart, E., Fisher, C.L., Aagaard, P.J., Wilson, M.R., Isenberg, A.R., Polansky, D., Pokorak, E., Dizinno, J.A., Budowle, B., 2001, Length variation in HV2 of the human mitochondrial DNA control region, *J. Forensic Sci.*, 46, 862-870.

Strachan, T., Rean, A.P., 2004, *Human Molecular Genetics*, 3rd edition, Garland Science, New York.

Sutter, N.B, Ostrander, E.A., 2004, Dog star rising: the canine genetic system. *Nat. Rev. Genet.*, 5:900-910.

Takahasi, S., Miyahara, K., Ishikawa, H., Ishiguro, N., Suzuki, M., 2002, Lineage classification of canine inheritable disorders using mitochondrial DNA haplotypes, *J. Vet. Med. Sci.*, 64, 255-259.

Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997, The Clustal-X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools, *Nucleic Acids Research*, 25 (24): 4876–4882.

Tsuji, A., Ishiko, A., Kimura, H., Nurimoto, M., Kudo, K., Ikeda, N., 2008, Unusual death of a baby: A dog attack and confirmation using human and canine STRs, *International Journal of Legal Medicine*, 122, 59-62.

URL-1; <http://greendog.com.tr/kopek-irklari-detay48.html> (Erişim Tarihi: 14.06.2011)

URL-2; http://kopekegitimibakimi.blogspot.com/2008_03_01_archive.html (Erişim Tarihi: 14.06.2011)

URL-3; <http://evcilkutuphane.com/bolum/kopegin-kokeni> (Erişim Tarihi: 14.06.2011)

URL-4; <http://yabantv.com/haber6643> (Erişim Tarihi: 14.06.2011)

URL-5; http://math.ucr.edu/home/baez/diary/march_2010.html (Erişim Tarihi: 19.10.2011)

URL-6; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Köpek> (Erişim Tarihi: 20.11.2011)

URL-7;

http://rocklin.k12.ca.us/staff/lbrun/chemweb/Forensics/Unit_5_Trace_Evidence/Wayne%20Williams%20Case%20Study.pdf (Erişim Tarihi: 14.04.2011)

URL-8; <http://in.gov/judiciary/opinions/previous/archive/05250401.fsj.html>

(Erişim Tarihi: 24.12.2011).

URL-9; http://carolguze.com/text/442-10-nontraditional_inheritance.shtml

(Erişim Tarihi: 26.11.2011)

URL-10; http://ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_002008.4 (Erişim Tarihi: 15.05.2012)

URL-11; <http://laboratuar.kocaeli.edu.tr/tibbigenetik/index.php?c=Altyapi> (Erişim Tarihi: 12.11.2012)

URL-12; <http://merlab.metu.edu.tr/dna-dizi-analiz-cihazı> (Erişim Tarihi: 12.11.2012)

URL-13;

<http://dnasequencingcore.ucdenver.edu/pdfFiles/DNA%20Sequencing%20Troubleshooting%20Guide.pdf> (Erişim Tarihi: 12.11.2012)

Uysal, ř., 2006, İribaş deniz kaplumbağalarının (*Caretta caretta*) mikrosatellit DNA lokusları kullanımı ile identifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R., 1991, Chelex100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material, *Biotechniques*, 10, 506-513.

Wayne, R.K., O'Brien, S.J., 1987, Allozyme divergence within the Canidae, *Systematic Zoology*, 36: 339-355.

Wayne, R.K., Valkenburgh, B., O'Brien, S. J., 1991, Molecular distance and divergence time in carnivores and primates. *Molecular & Biological Evolution*, 8(3): 297-319.

Wayne, R.K., Lehman, N., Allard, M.W., Honeycutt, R.L., 1992, Mitochondrial DNA variability of the gray wolf: genetic consequences of population decline and habitat fragmentation, *Conserv. Biol.*, 6:559-569.

Webb, K.M., Allard, M.W., 2009, Identification of forensically informative SNPs in the domestic dog mitochondrial control region, *J. Forensic Sci.*, Vol 54, No. 2 289-304.

Weber, J.L., May, P.E., 1989, Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed by the polymerase chain reaction, *American Journal of Human Genetics*, 44, 388-389.

Wetton, J.H., Higgs, J.E., Spriggs, A.C., Roney, C.A., Tsang, C.S., Foster, A.P., 2003, Mitochondrial profiling of dog hairs, *Forensic Sci. Int.*, 133, 235-241.

Wilson, M.R., Polanskey, D., Butler, J., Dizinno, J.A., Replogle, J., Budowle, B., 1995, Extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial DNA from human hair shafts, *Biotechniques*, 18, 662-669.

Wurster-Hill, D.H., Centerwall, W.R., 1982, The interrelationships of chromosome banding patterns in canids, mustelids, hyena, and felids, *Cytogenet. Cell Genet.*, 34:178-192.

van Asch, B., Albarran, C., Alonso, A., Angulo, R., Alves, C., Betancor, E., et al., 2009, Forensic analysis of dog (*Canis lupus familiaris*) mitochondrial DNA sequences: an inter-laboratory study of the GEP-ISFG working group, *Forensic Sci Int Genet.* 4:49-54.

Vila, C., Savolainen, P., Maldonado, J.E, Amorim, I.R., Rice, J.E., Honeycutt, R.L., Crandall, K.A., Lundeberg, J., Wayne, R.K., 1997, Multiple and ancient origins of the domestic dog, *Science*, 276 (5319), 1687-1689.

Yang, F., O'Brien, P.C., Milne, B.S., et al., 1999, A complete comparative chromosome map for the dog, red fox, and human and its integration with canine genetic maps, *Genomics*, 62: 189-202.

Yılmaz, O., 2005, Kangal Köpeği-Tarihçesi, Tanıtımı, Yetiştirilmesi, Islahı, Öztepe Matbaası, 240 s., Ankara.

Yükseloğlu, H.E., Özcan, Ş., Ceylan, B., 2008, Olay yeri incelemesi ve Türkiye'deki uygulamalar, *Polis Bilimleri Dergisi*, 10 (1) : 61-80.

Zeuner, F. E., 1963, A history of domesticated animals, Harper and Row, NY.

EKLER**EK 1 : HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL ONAY YAZISI**

T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 204

30/12/2010

Sn. Yard.Doç.Dr Hülya YÜKSELOĞLU
İ.Ü.Adli Tıp Enstitüsü

Karar No : 204
Başvuru :01.12.2010

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, Doktora Öğrencisi İtur ERKAN'a ait "Evcil Köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) mitokondrial DNA analizinin adli amaçlı kullanımı" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Alev A. KAYMAZ
İ.Ü.HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ahmet BELCE
Üye

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Yard.Doç.Dr.Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

EK 2: ONAM FORMU ÖRNEĞİ

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Klinik		Köpek	
Tarih		ırkı	
Klinik		Yaşı	
Protokol No		Cinsiyeti	
Veteriner Hekim			
Hayvan Sahibi			
Adı Soyadı			
Adresi			
Telefon No			

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü tarafından yürütülen, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan aşağıda adı geçen araştırma projesinde kullanılmak üzere biyolojik örnek verme yoluyla katkıda bulunmanızı dileriz.

Projenin adı : Evcil köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) mitokondrial DNA analizinin adli amaçlı kullanımı.

Amacı: 150 evcil köpeğe ait kan örneğinden mitokondrial DNA'nın elde edilmesiyle, değişken bölge olarak bilinen bölgelerin incelenerek, olay yeri, mağdur ve saldırgan arasında bağlantı kurulabilerek değerlendirilmesidir. Bir olay yerinde hayvana ait materyallerin bulunması ile, kayıp bir evcil hayvan kalıntılarının belirlenmesi, bir kişi ya da hayvana yapılmış bir saldırıda saldıran hayvanın kimliğinin belirlenmesi, bir kaza olayında kazaya sebep olan hayvanın kimliğinin belirlenmesi, maddi hasardan sorumlu hayvanın kimliğinin tespiti, hayvan zulümü ve hayvan hırsızlığı gibi konularında olayı aydınlatmaya yararmaktadır.

Bu projede, İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine sağlık kontrolü ve aşılama için gelen 2 ay ile 15 yaş arası köpeklerden alınan kan örnekleri kullanılacaktır.

Sahibi olduğum köpeğimden kontrol amaçlı alınacak olan kan örneğinden, araştırma amaçlı olarak kullanılması konusunda bilgilendirildim ve hiçbir baskı altında kalmadan sahibi olduğum köpekten örnek alınmasını, elde edilen sonuçların anonim bir şekilde bilimsel yayınlarında kullanılmasını **kabul ediyorum.**

Hayvan Sahibinin

Adı Soyadı :

İmza :

EK 3: ÇALIŞMADA KULLANILAN KİMYASAL VE GEREÇLER

DNA İzolasyon Çözeltileri

Wash Buffer 1 çözeltisi: 50 ml Wash Buffer 1 + 75 ml etanol (%96) karıştırılarak oda ısısında saklandı.

Wash Buffer 2 çözeltisi: 37,5 ml Wash Buffer 2 + 87,5 ml etanol (%96) karıştırılarak oda ısısında saklandı.

Elektroforez Çözeltileri

10X TBE Tamponunun Hazırlanışı

108 g Tris-baz (0.9 M)
55 g Borik asit (0.9 M)
40 ml 0.5 M EDTA (0.9 M) pH:8.0

Tris-baz ve Borik asit 700 ml dH₂O içinde çözüldü ve üzerine EDTA eklendi. Son hacim 1 litre olacak şekilde üzerine distile su ilave edildi ve oda ısısında saklandı.

1X TBE Tamponunun hazırlanışı

10X TBE'den 100 ml alınarak 900 ml dH₂O ile karıştırıldı ve oda ısısında saklandı.

ÇALIŞMADA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Kullanılan Kimyasal	Markası
Agaroz	Sigma A9539
Taq DNA polimeraz	Platinum
Borik Asit	Sigma B6768
Yükleme tamponu	SigmaB6896
DNA marker	Novagen 69234-3
EDTA	Sigma ED25S
Etanol (EtOH) %96'lık	Delta Kimya Sanayi
Etidyum Bromür (EtBr)	Sigma E7637
Tris Baz	Sigma T8524
PureLink™ Genomic DNA İzolasyon Kiti (250)	Invitrogen (Katalog No: K1820-02)
The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit	Invitrogen (Katalog No: Q32851)
AmpliTaq Gold® PCR Master Mix kit	Applied Biosystems (Katalog No: 4318739)
ChargeSwitch®-Pro PCR Cleanup Kit	Invitrogen (Katalog No.:CS32250)
BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit	Applied Biosystems (Katalog No: 4337455)
Applied Biosystems BigDye® XTerminator™ Purification Kit	Applied Biosystems (Katolog No:4376486)

ÇALIŞMADA KULLANILAN GEREÇLER

Kullanılan Gereç	Markası
Buzdolabı	Sharp
Derin Dondurucu	Uğur
Elektronik Tartı	Scaltec SBA31
Eppendorf Santrifüj	ALC PK121
Etüv	Nüve EN500
GeneAmp PCR Systems 9700	Perkin Elmer
Genetik Analiz Cihazı ABI PRISM™ 3130	Perkin Elmer
Bio Imaging Systems	MiniBis pro
Dijital Çalkalayıcı	IKA 331900X digital shakers
Otoklav	Nüve OT4060
pH Metre	Schott CG840
Pipet	Eppendorf
Pipet ucu	Eppendorf
Vorteks	Nejat Coşkuner
1.5 ml'lik ve 0.2 ml'lik tüpler	Axygen

EK 4: KAN ÖRNEKLERİ ALINAN KÖPEKLERLE İLGİLİ BİLGİLER

Sıra	İrki	Yaşı	Cinsiyeti
1	Golden retriever	2 yaş	Dişi
2	Terrier	10 yaş	Erkek
3	Golden retriever	5 ay	Erkek
4	Terrier	4 yaş	Dişi
5	Golden retriever	10 yaş	Erkek
6	American cocker	8 yaş	Dişi
7	English setter	8 yaş	Erkek
8	Rottweiler	3 yaş	Erkek
9	Terrier	13 yaş	Erkek
10	Boxer	7 yaş	Erkek
11	Sivas kangal	9 yaş	Erkek
12	Irish setter	6 yaş	Dişi
13	Terrier	5 yaş	Erkek
14	Bulldog	2 yaş	Erkek
15	German shepherd	13 yaş	Erkek
16	Irish setter	11 yaş	Dişi
17	Bulldog	1 yaş	Dişi
18	Pointer	7 yaş	Erkek
19	Golden retriever	6 ay	Erkek
20	Pekingese	1 yaş	Dişi
21	Terrier	11 yaş	Dişi
22	American cocker	10 yaş	Dişi
23	Sivas kangal	6 yaş	Erkek
24	Boxer	3 yaş	Erkek
25	Sivas kangal	16 yaş	Erkek
26	Beagle	8 yaş	Erkek
27	Beagle	5 yaş	Dişi
28	German shepherd	8 yaş	Erkek
29	Bulldog	4 yaş	Erkek
30	German shepherd	8 ay	Erkek
31	Bulldog	2 yaş	Dişi
32	Irish setter	6 yaş	Erkek
33	Golden retriever	10 yaş	Erkek
34	English setter	7 yaş	Erkek
35	Golden retriever	1 yaş	Erkek
36	Terrier	2 yaş	Dişi
37	American cocker	1 yaş	Dişi
38	American cocker	6 yaş	Erkek
39	Boxer	1 yaş	Dişi
40	English setter	7 yaş	Erkek

Sıra	İrki	Yaşı	Cinsiyeti
41	Terrier	2 yaş	Dişi
42	Beagle	6 yaş	Erkek
43	Rottweiler	5 yaş	Erkek
44	Sivas kangal	11 yaş	Dişi
45	Golden retriever	3 yaş	Erkek
46	Boxer	11 yaş	Erkek
47	American cocker	9 yaş	Erkek
48	Doberman	5 yaş	Erkek
49	Irish setter	4 yaş	Erkek
50	Bulldog	3 yaş	Erkek
51	Rottweiler	11 ay	Dişi
52	American cocker	2 yaş	Erkek
53	Irish setter	7 yaş	Erkek
54	Golden retriever	1 yaş	Dişi
55	Irish setter	5 yaş	Dişi
56	German shepherd	6 yaş	Erkek
57	Terrier	15 yaş	Dişi
58	Beagle	3 ay	Erkek
59	Beagle	1 yaş	Dişi
60	Irish setter	6 ay	Erkek
61	Bulldog	6 yaş	Erkek
62	Boxer	8 yaş	Erkek
63	Golden retriever	10 ay	Dişi
64	Irish setter	3 yaş	Erkek
65	American cocker	6 yaş	Erkek
66	Pointer	4 yaş	Erkek
67	Bulldog	3 yaş	Erkek
68	German pinscher	10 yaş	Dişi
69	Terrier	5 yaş	Erkek
70	Siberian Husky	3 ay	Erkek
71	Bulldog	4 yaş	Erkek
72	Irish setter	6 ay	Erkek
73	German shepherd	3 ay	Erkek
74	German shepherd	7 ay	Erkek
75	English setter	1 yaş	Erkek
76	Sivas kangal	3 yaş	Erkek
77	American cocker	2 yaş	Erkek
78	American cocker	7 yaş	Erkek
79	Terrier	11 yaş	Dişi
80	German shepherd	6 ay	Erkek

81	Rottweiler	11 ay	Erkek
82	Terrier	14 yaş	Dişi
83	Terrier	11 yaş	Erkek
84	American cocker	6 yaş	Dişi
85	Sivas kangal	7 yaş	Erkek
86	Sivas kangal	6 yaş	Erkek
87	Rottweiler	8 ay	Erkek
88	Chow chow	15 yaş	Erkek
89	Sivas kangal	1 yaş	Erkek
90	Rottweiler	4 ay	Dişi
91	Cocker	8 yaş	Erkek
92	Golden retriever	2 yaş	Dişi
93	Rottweiler	6 yaş	Erkek
94	American cocker	9 yaş	Erkek
95	German shepherd	1 yaş	Erkek
96	Sivas kangal	11 ay	Erkek
97	Terrier	6 yaş	Dişi
98	Golden retriever	11 ay	Dişi
99	Golden retriever	11 yaş	Erkek
100	German shepherd	5 yaş	Dişi
101	Bulldog	1 yaş	Erkek
102	Rottweiler	7 yaş	Dişi
103	Bulldog	1 yaş	Dişi
104	Terrier	11 yaş	Dişi
105	English setter	10 yaş	Erkek
106	Terrier	12 ay	Dişi
107	Rottweiler	6 ay	Dişi
108	American cocker	2 yaş	Erkek
109	American cocker	5 yaş	Erkek
110	Golden Retriever	1 yaş	Erkek
111	Sivas kangal	11 yaş	Erkek
112	English setter	3 yaş	Erkek
113	Cocker	5 yaş	Dişi
114	German shepherd	4 ay	Dişi
115	German shepherd	7 ay	Erkek
116	German shepherd	7 yaş	Erkek
117	Sivas Kangal	7 ay	Erkek
118	German shepherd	2 ay	Dişi
119	Terrier	11 yaş	Erkek
120	Terrier	8 yaş	Erkek
121	Terrier	9 yaş	Erkek
122	Rottweiler	8 ay	Dişi
123	English setter	6 yaş	Erkek
124	Saint Bernard puppies	5 yaş	Dişi
125	Terrier	12 yaş	Dişi
126	Terrier	17 yaş	Erkek
127	Sivas kangal	11 yaş	Dişi

128	Bulldog	1 yaş	Dişi
129	Rottweiler	3 ay	Erkek
130	Beagle	5 ay	Dişi
131	English setter	7 yaş	Erkek
132	Golden retriever	1 yaş	Erkek
133	Terrier	2 yaş	Dişi
134	Cocker	15 yaş	Dişi
135	Cocker	4 yaş	Erkek
136	Golden Retriever	8 yaş	Dişi
137	Terrier	4 yaş	Erkek
138	Rottweiler	7 ay	Dişi
139	German shepherd	11 yaş	Erkek
140	Golden retriever	8 yaş	Erkek
141	American cocker	11 yaş	Erkek
142	Bulldog	1 yaş	Erkek
143	Yorkshire terrier	3 ay	Erkek
144	Golden retriever	1 yaş	Erkek
145	Pekingese	13 yaş	Dişi
146	Siberian Husky	15 yaş	Dişi
147	Terrier	5 yaş	Dişi
148	Pointer	14 yaş	Dişi
149	Golden retriever	4 yaş	Dişi
150	American cocker	12 yaş	Dişi

EK 5 : ÖRNEKLERİN DNA MİKTARI

Örnek No	Miktarı (µg/µl)	Örnek No	Miktarı (µg/µl)	Örnek No	Miktarı (µg/µl)
1. Örnek	15,6	28. Örnek	1,01	55. Örnek	5,89
2. Örnek	16,9	29. Örnek	5,02	56. Örnek	11,9
3. Örnek	10,6	30. Örnek	28,01	57. Örnek	6,74
4. Örnek	13,3	31. Örnek	9,32	58. Örnek	3,70
5. Örnek	0,89	32. Örnek	23,8	59. Örnek	6,20
6. Örnek	11,01	33. Örnek	12,4	60. Örnek	8,30
7. Örnek	6,26	34. Örnek	12,0	61. Örnek	5,49
8. Örnek	2,84	35. Örnek	9,61	62. Örnek	21,7
9. Örnek	8,51	36. Örnek	16,6	63. Örnek	15,0
10. Örnek	1,01	37. Örnek	12,2	64. Örnek	0,50
11. Örnek	5,48	38. Örnek	20,1	65. Örnek	9,27
12. Örnek	3,82	39. Örnek	1,78	66. Örnek	1,65
13. Örnek	9,90	40. Örnek	10,9	67. Örnek	9,31
14. Örnek	20,03	41. Örnek	6,04	68. Örnek	11,3
15. Örnek	7,50	42. Örnek	2,20	69. Örnek	12,9
16. Örnek	10,1	43. Örnek	0,38	70. Örnek	10,4
17. Örnek	15,2	44. Örnek	13,9	71. Örnek	9,59
18. Örnek	7,38	45. Örnek	29,2	72. Örnek	5,93
19. Örnek	9,92	46. Örnek	6,84	73. Örnek	2,34
20. Örnek	25,7	47. Örnek	9,19	74. Örnek	3,55
21. Örnek	25,4	48. Örnek	8,70	75. Örnek	1,38
22. Örnek	4,19	49. Örnek	17,4	76. Örnek	6,53
23. Örnek	8,86	50. Örnek	4,26	77. Örnek	2,52
24. Örnek	6,90	51. Örnek	11,9	78. Örnek	6,71
25. Örnek	5,06	52. Örnek	0,71	79. Örnek	2,69
26. Örnek	5,22	53. Örnek	1,82	80. Örnek	3,08
27. Örnek	9,28	54. Örnek	9,40	81. Örnek	1,07

Örnek No	Miktarı (µg/µl)	Örnek No	Miktarı (µg/µl)	Örnek No	Miktarı (µg/µl)
82. Örnek	6,10	107. Örnek	18,9	132. Örnek	2,06
83. Örnek	1,81	108. Örnek	16,2	133. Örnek	4,11
84. Örnek	3,68	109. Örnek	1,44	134. Örnek	6,18
85. Örnek	9,63	110. Örnek	2,77	135. Örnek	0,78
86. Örnek	1,23	111. Örnek	12,1	136. Örnek	16,9
87. Örnek	1,51	112. Örnek	3,51	137. Örnek	10,2
88. Örnek	3,16	113. Örnek	6,64	138. Örnek	1,34
89. Örnek	1,31	114. Örnek	21,5	139. Örnek	3,40
90. Örnek	3,08	115. Örnek	7,96	140. Örnek	7,54
91. Örnek	0,43	116. Örnek	13,0	141. Örnek	3,42
92. Örnek	5,02	117. Örnek	15,2	142. Örnek	5,23
93. Örnek	0,47	118. Örnek	8,09	143. Örnek	3,68
94. Örnek	4,35	119. Örnek	3,04	144. Örnek	4,91
95. Örnek	0,31	120. Örnek	0,70	145. Örnek	1,72
96. Örnek	0,60	121. Örnek	7,08	146. Örnek	6,25
97. Örnek	1,33	122. Örnek	5,27	147. Örnek	2,94
98. Örnek	9,62	123. Örnek	8,67	148. Örnek	1,02
99. Örnek	5,81	124. Örnek	12,1	149. Örnek	1,35
100. Örnek	12,2	125. Örnek	15,9	150. Örnek	5,91
101. Örnek	21,0	126. Örnek	14,8		
102. Örnek	4,35	127. Örnek	3,30		
103. Örnek	13,9	128. Örnek	12,3		
104. Örnek	0,93	129. Örnek	20,3		
105. Örnek	2,81	130. Örnek	5,34		
106. Örnek	0,31	131. Örnek	9,84		

EK 6: *Canis lupus familiaris*'in Mitokondri Genomu Dizisi

NCBI Reference Sequence: NC_002008

(URL-10; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_002008.4'den alınmıştır)

```

1  gttaatgtag cttaattaat aaagcaaggc actgaaaatg ccaagatgag tcgcacgact
61  ccataaacat aaaggtttgg tcctagcctt cctattagtt tttagtagac ttacacatgc
121 aagcctccac gccccagtga gaatgccctt aaaatcacca gtgatctaaa ggagcaggta
181 tcaagcacac tcttaagtag ctcataaacac cttgctaagc cacacccccca cgggatacag
241 cagtgataaa aattaagcca taaacgaaag tttgactaag ccataactaaa tagggttggt
301 aaatttcgtg ccagccaccg cggtcatacg attaaccocaa actaataggc ctacggcgta
361 aagcgtgttc aagatacttt tacactaaag ttaaaactta actaagccgt aaaaagctac
421 agttatcata aaataaacca cgaaagtgac tttataataa tctgactaca cgatagctaa
481 gacccaaact gggattagat accccactat gcttagccct aaacatagat aattttacia
541 caaaataatt cgccagagga ctactagcaa tagcttaaaa ctcaaaggac ttggcgggtg
601 tttatatccc tctagaggag cctgttctat aatcgataaa ccccgataaa cctcaccacc
661 tttcgtaaat tcagtctata taccgccatc ttcagcaaac cctcaaaagg tagaacagta
721 agcacaatca ttttacataa aaaagttagg tcaaggtgta acttatgagg tgggaagaaa
781 tgggtacat tttctacca agaacatttc acgaatgttt ttatgaaatt aaaaactgaa
841 ggaggattta gtagtaaatt aagaatagag agcttaattg aatagggcca tgaagcacgc
901 acacaccgcc cgtcaccctc ctcaagtaat aagacacaac cataaccata ttaacttaac
961 taaaacacaa gaggagacaa gtcgtaacaa ggtaagcata ccggaagggtg tgcttgatt
1021 aatcaaagtg tagcttaact aaagcgtctg gcctacacc agaagatttc attacttatg
1081 gccactttga acaaaaagta gcccaactaa ccccaaactt aagtattaca gacacataaa
1141 ataaaacatt tagttaaaca ataaaagtat aggagataga aattttaatt ggagcgatag
1201 agatagtacc gtaagggaat gatgaaagac atcttaacag tattaaacag caaagattac
1261 cccttctacc ttttgcataa tgaactagcc agaaacaact taacaaagag aacttaagct
1321 aagctccccg aaaccagacg agctaccat aaacaatcta aaaggatcaa ctcatctatg
1381 tagcaaaata gtgagaagat ttgtgggtag aggtgaaaag ctaacgagc ctggtgatag
1441 ctggttacc acagacagaa ttttagttca actttaaatt tacctaaaaa aaataaaatt
1501 ttaatgtaaa tttaaaatat agtctaagaa ggtacagctt cttagaatca ggatacaacc
1561 tttattagag agtatatact aatatcacca tagttggctt aaaagcagcc accaattgag
1621 aaagcgttcc agctcaacaa acaatataac ttaatcccaa ccatactaca tcaactocta
1681 attatacccc ctgggtcatt ctatttaagt atagaagcaa taatgctagt atgagtaaca
1741 agaaccattt tctccccgca taagcttata tcaggaacgg atagaccact gatagttaac
1801 aatctgataa tatcaaccca aaaatgaaat acttatccac ccattgtta acccaacaca
1861 ggtatgcatt caaggaaaga ttaaaaggag taaaaggaaac tcggcaaaaca caaacccccg
1921 ctgtttacca aaaacatcac ctccagcatt tctagtattg gaggcactgc ctgcccgggtg
1981 aacttgttt aacggccgag gtatcctgac cgtgcaaagg tagcataatc atttgttctc
2041 taaataggga cttgtatgaa tggccacagc aggtttaac tgtctcttac tcccaatcag

```

2101 tgaattgac cttcccgtga agaggcggga ataccacaat aagacgagaa gaccctatgg
2161 agctttaatt aactaaccca aacttatgga tactagatac ctacaaggca taacataaca
2221 ccattattat gagttagcaa tttaggttgg ggtgacctcg gaatataaaa aaactcccga
2281 gtgattaaaa tttagaccca caagtcaaaa tacaacatca cttattgatc caataatfff
2341 tgatcaacgg aacaagttac cctagggata acagcgcaat cctattcaag agtccatatac
2401 gacaataggg tttacgacct cgatgttggga tcaggacatc ctaatgggtgc agcagctatt
2461 aagggttcgt ttgttcaacg attaaagtcc tacgtgatct gagttcagac cggagtaatac
2521 caggtcgggt tctatctatt atacaacctc cccagtagc aaaggacaag ggatgtaagg
2581 cctacctcac agaggcgct taaaactaat agatgaagtc aactcaatct aaccagttta
2641 tctcctcata agcccagaaa aaggggcttt gttaggtgac agggcccggg aactgctgaa
2701 aacttaaac tttactatca gaggttcaat tcctctccct aacaaaatgt tctttatcaa
2761 cattatctct cttattatcc caatccttct tgccgtagcc ttctcacc tcggtgaaag
2821 aaaagtctta ggctatatac aacttcgaaa aggacctaat attgtaggcc cctacggcct
2881 cttcaacca atcgagacg cagtaaaact cttcacaaaa gaacctctac gaccacttac
2941 atcctctata tcaatattca tcctagcccc cattctagct ctatcactag ccctaactat
3001 gtgaattccc ctccaatac cctaccact cattaatata aactggggag tcctattcat
3061 actagcaata tcaagcctcg ccgtgtactc catcctctga tcaggatgag cctcaaacctc
3121 caaatagcc ctaatcggag cccttcgagc agtagctcaa acaatctcat atgaagtaac
3181 gctagcaatt attcttctat cagtcctcct aataaacggg tcatttacac tatccacgct
3241 aattattacc caagaacata tatgattaat ctttccggcc tgaccctag ccatgatatg
3301 attcatctct accctagcag aaactaatcg agcccccttc gacttaactg aaggagaatc
3361 cgaactagtc tctggattta acgtagagta tgcagcaggt cctttcgccc tattctttct
3421 agcagagtac gcaaatatta ttataataaa catcctcaca acaattctgt tcttcggcgc
3481 attccacaac ccattcatac cagaactcta ctctattaac ttactataa aaacctctt
3541 attaaccatc tgcttctat gaattcgagc atcatacct cgattccgct acgatcagtt
3601 aatacactta ttatgaaaa attttctacc cttacttta gccctatgca tatgacatgt
3661 tgccttacc attatcaccg caagtatccc accccaaaca taagaaatat gtctgataaa
3721 agagtactt tgatagagta aataatagag gtttaaacc tcttatttct agaataatag
3781 gcttcgaacc taatcttaag aattcaaaga tcttcgtgct accaaactta cactatattc
3841 tacagtaagg tcagctaat taagctatcg ggccatacc ccgaaaatgt tggtttatac
3901 ccttccgta ctaataaaac cccctattct cattatcacc atagcaacta tcatgacagg
3961 aaccataatc gtcatactaa gctcgcactg attactgatc tgaattggat tcgaaataaa
4021 catgctagcc atcatcccta ttctcataaa aaagtacaat ccacgagcca tagaggcctc
4081 taaaaaatat tttcttacac aagctacagc ctcaatatta ctaataatag gagtcaactat
4141 caacctcct tactccggcc aatgggtaat ctcaaaaatc tcaaaccoca tcgatccat
4201 catgataacc actgcctaa caataaaact aggcctatct ccattccact tctgagttcc
4261 cgaagtaaca caggaatta cgetcatatc aggaataatc ctactaacat gacaaaaaat
4321 cgcacctata tccatcctat atcaaatctc tccatcaatt aacactaac ttcttatact
4381 aatagccctt acatccgttc tagtaggagg ctgaggcggg ctaaatcaaa ctcaactacg
4441 aaaaatcata gcatactcct ccattgcca cataggtgta atagccgta tcaacttata
4501 taacctaca ataatagttc taaacttaac tttatatatt ctaataaac tatctacctt
4561 catactatft atattaaact catccaccac gaccctatct ttatcccaca tatgaaaca
4621 atttccccta atcacttoca taatcttaat cttaatacta tccctaggag gactaccccc
4681 attatctggc ttcatccca aatgaataat tattcaagaa ttaacgaaaa ataacataat

4741 tattattcca acactaatgg ctatcacogc tctacttaac ttatatttct acctgcgact
4801 cacatatagc accgcaactta ccatatttcc atccacaaac aacataaaaa taaaatgaca
4861 gttcgaatac acaaaaaagg caaccttatt acccccctta attattacct caactatact
4921 actcccacta acacctatat tatcagtctt ggactaggag tttaggttag accagaccaa
4981 gagccttcaa agctctaagc aagtgtaca cacttaacc ctgatcaaat cacctctaag
5041 ggctgcaaga atctatctta catcaattga atgcaaatca aacactttaa ttaagctaag
5101 ccctccctag attggtgagc ttctacctca cgaaatttta gttaacagct aaatacccta
5161 gtaactggct tcaatctacc ttctcccgcc gcgtagaaaa aaaaggcggg agaagccccg
5221 gcggtctcta ggctgcttct ttgaatttgc aattcaatat gaaaattcac cacggagctt
5281 ggcaaaaaga ggacttaaac ccctatcttt agatttacag tctaattgctt ttatcagcca
5341 ttttacctat gttcattaac cgatgactgt tctccactaa tcacaaggat attggtactt
5401 tatacttact atttggagca tgagccggtg tagtaggcac tgctttgagc ctctcatcc
5461 gagccgaact aggtcagccc ggtactttac taggtgacga tcaaatttat aatgtcatcg
5521 taaccgcca tgctttcgta ataacttct tcatagtcac gccatcata attgggggct
5581 ttggaactg actagtgcg ttaataattg gtgctccgga catggcattc cccgaataa
5641 ataacatgag cttctgactc cttcctccat ctttcttct actattagca tcttctatgg
5701 tagaagcagg tgcaggaacg ggatgaaccg tatacccccc actggctggc aatctggccc
5761 atgcaggagc atccgttgac cttacaattt tctccttaca cttagccgga gtctcttcta
5821 ttttaggggc aattaattc atcactacta ttatcaacat aaaaccctt gcaatatccc
5881 agtatcaaac tcccctgtt gtatgatcag tactaattac agcagttcta ctcttactat
5941 ccctgcctgt actggctgct ggaattacaa tacttttaac agaccggaat cttaatacaa
6001 cattttttga tcccgtgga ggaggagacc ctatcctata tcaacaccta ttctgattct
6061 tcggacatcc tgaagtttac attcttatcc tgcccggatt cggaataatt tctcacattg
6121 tcaactacta ctcaggaaa aaagagcctt tcggttataat aggaatagta tgagcaataa
6181 tatctattgg gtttttaggc tttatcgtat gagctacca tatgtttacc gtaggaatag
6241 atgtagacac acgagcgtac tttacgtccg ccaactataat tatcgtctatt ccaaccgggag
6301 taaaagtatt tagttgactg gcaacacttc atggaggcaa tattaaatga tctccagcta
6361 tgctatgagc tttagggttt attttcttat ttacagtagg cgggttaaca ggtattgtcc
6421 tagctaattc gtccttagac atcgttcttc atgatacata ttatgtttgt gctcattttc
6481 actatgtgct ttcaatagga gcagtttttg ccattatggg aggatttgcc cactgattcc
6541 ctttattctc aggttatact cttaacgata cttgagcaaa gattcacttt acaattatgt
6601 ttgtgggagt aaatataact ttcttccctc aacatttctt aggtttatct ggaataacct
6661 gtcgatactc tgactacca gatgcatata ctacctgaaa taccgtctcc tctataggat
6721 cgtttatctc gcttacagcg gtgatgctta taatttttat gatctgggaa gcctttgcat
6781 ccaaacgaga agttgtata gtagaactta ctacaactaa cattgagtga ctacatggat
6841 gtccccctcc ataccacacg ttcgaagaac ctacatatgt gatccaaaaa taagaaagga
6901 aggaatcgaa ccccataaaa ttggtttcaa gccaatgtca taaccattat gtctttctca
6961 atcaggagggt attagtaaaa cattacatga ctttgtcaaa gttaaattat aggtgaaacc
7021 cctatatatc tctatggcgt acccatttca actcggatta caggacgcaa cctcccctat
7081 tatagaggag ctacttcatt ttcatgacca tacactaata attgtattct taatcagttc
7141 tttagtctc tataatcatt cactaatatt gactacaaaa ttaaccata caagcacaat
7201 agacgcacaa gaagtggaaa cagtatgaac cattctacc gccattatcc taatccta
7261 cgctctacct tccctccgaa tcctttatat aatggacgaa attaataacc cctctttaac
7321 cgtgaaaaca atagccacc aatgatactg aagctatgaa tatactgact atgaagactt

7381 aaactttgac tcctacataa tcccaacaca agaattaaag ccaggagaac tccgactatt
7441 agaagtagac aaccgagttg tcctccaat agaaataacc atccgaatac ttatctcttc
7501 agaagacggt ttgattcat gagcgttcc atcactaggt ctaaaaactg acgctattcc
7561 aggacgacta aaccaaacca cccttatagc catacgacca ggactgtact atggccagtg
7621 ctctgaaatc tgcggatcta accacagctt tataccatt gttcttgaat tagtccccct
7681 atcttacttt gagacctgat ctgccttaat agtataacct agactagatc tactcattaa
7741 gaagctataa agcattaacc ttttaagtta aagactggga gttttaacct ctcttaatg
7801 aatgccaca gctagataca tccacctgat ttattataat cttttcaata tttctcacc
7861 tcttcatcct atttcaacta aaaatttcaa atcactacta ccagaaaaac ccgataacca
7921 aatctgctaa aattgctggt caacataatc cttgagaaaa caaatgaacg aaaatctatt
7981 cgcttctttc gctgccccct caataatagg tctccctatt gtggtactga tctgcatatt
8041 cccttccatt ttattcccaa caccagctcg cctaatcaat aatcgggtaa tctccattca
8101 gcaatgacta attcaactaa catcaaaaca aatactagca attcataacc aaaagggacg
8161 aacctgagct ctcatactta tatcactaat tctatttatt ggctcaacta atctacttgg
8221 actattacct cactcattta cgcccacaac acaactctct ataaacctcg gaatagcaat
8281 tcccctatga gcaggacag taattaccgg tttccgctat aaaaccaaag catccttagc
8341 acactttcta cccaaggca cccctctccc cctaattcca atactagtag tcatcgaaac
8401 tattagtcta tttattcaac ccatggctct agccgttcga ttaaccgca atattactgc
8461 aggacacctc ctaatccatt tgattggagg ggctacctta gctcttatca atattagcgc
8521 gaccacagct tttatcactt ttattattct aatcctactt acgatcctag aatttctgt
8581 tgccttaatt caagcctatg ttttacctt actagttagt ctatacttac atgacaacac
8641 ctaatgacct accaaactca cgcttaccac atagtcaacc caagccatg accgctgaca
8701 ggggcccttt ctgccctcct tataacatcg ggtcttatca tatgatttca ctataactca
8761 atagccctac ttacattagg attcacaacc aacctgtaa ccatatgcca gtgatgacga
8821 gatgtgatcc gagaaggcac attccaagga catcataccc ctattgtaca aaaaggacta
8881 cgatacggaa tagttctttt tatcgtatca gaagtatttt tctttgcagg cttcttctga
8941 gccttttacc actccagcct agcccctact cctgaacttg ggggttctg acctcctacc
9001 ggcatatttc ctcttaacc attagaagtg cctctactca acacctcagt cctcctagcc
9061 tccggagtat ctattacttg agccatcat agtttaatag aaggtaatcg caaacatata
9121 cttcaagcct tattcattac aatctcctta ggcgtatatt ttacgctatt acaggcctcc
9181 gaatactatg agacatcttt tacaatctcc gatggggtat acggatctac cttttttata
9241 gccactggat ttcacggatt acacgtaatt attggctcta cattcctcat cgtgtgcttc
9301 ctccgacagc tatactacca cttcacatca aaccaccact tcggatttga agccgctgca
9361 tgatattgac actttgttga tgtagtctgg ctattcttgt atgtatctat ttattgatga
9421 ggatcctatt tctttagtat aactagtaca attgacttcc aatcagttag ctccagatca
9481 acctggaaag aagtaataaa cgttatatta actttgataa ctaatgtaac ctagcatcc
9541 ttacttgtac taatcgcatt ctgacttccc cagctaaata tctatacaga caagacaagc
9601 ccctacgaat gtggttttga ccccatggga tctgctcgcc tacctttctc tataaaatth
9661 ttctagttg ccatcacatt tctgcttttc gacctagaaa ttgactcct actcccactt
9721 ccctgagcgt cacaaccaa caagctaaca acaacttata tcatagcact cctactaatc
9781 tccctcctag ctgcgagcct agcgtatgaa tggaccgaaa aggggctaga atgaaccgaa
9841 tatgataatt agtttaagcc aaaaacaaat gatttcgact cattagatta tgatttatct
9901 cataattatc atgtccatag tatatattaa tatctttctg gcattcattc tttctctaat
9961 aggtatactt gtttatcgat cacacctaat atcatcgcta ctatgcttag agggcataat

10021 attatcacta tttgtaataa tatctgtaac tattctcaac aatcacctca cattagccag
10081 catgatacca atcgtaactac tagtatttgc tgectgcgaa gcagcattag gactatctct
10141 actagttata gtatctaaca cctacgggac tgattacgta caaacctaa accttttaca
10201 atgctaaaaa ttatcatccc tactatcata ctaatcccc ttacatgaat atcaaaagcct
10261 aacataatct gaattaacac gacaacatat ggtttgctaa tcagcttaat cagcttattc
10321 tacctaaacc aaccaaaga taatacattg aactcctcct taatattttt ctctgattcc
10381 ctatcggcac cactattagc actcacaaca tgacttctgc ccctatact tatagcaagt
10441 caacaccatt tatcaaaaga acccttaact cgaaaaaac tatatatttc aatactaatt
10501 cttctccaat tgttcctaat tataactttc acagcctctg aactcatctt cttttacatc
10561 ctatttgaag caacactgat tccgaccctg atcattatta cccgatgagg aatcaaaact
10621 gaacgactaa acgcaggact ctacttctta tttataactt taataggatc cctcccactc
10681 ctagtagctc tcctttatat ccacaatttc atgggctccc taaattttct cataattcaa
10741 tactgaatcc agcctctgcc aaactcctga tctaataattt tcctatgact ggatgcata
10801 atagcattca tagtaaagat acctctatac ggctccact tgtgactacc aaaagcacac
10861 gtagaggccc ctattgccgg ctccatagta cttgccgctg tactcctaaa actagggggc
10921 tatggcatga tacgaattac aaccctacta aatcccctga ccaatttcat agcatacccc
10981 tcataaatat tgtctctatg aggcataatc ataacaagct ctatctgtct ccgtcaaaaca
11041 gatctaaaat ccctaattgc atactcctca gttagtcata tggcactggt tatcgtagcg
11101 gttcttattc aaacaccatg aagttatata ggtgcaacag ctctaataat tgccatgggt
11161 ttaacatcct caatactatt ctgcttagcc aactccaatt acgaacgaat ccatagccgt
11221 actataattc tcgcacgagg acttcaaact ctcttcccc taatagcagc ctgatgacta
11281 ttagcaagcc tcacaaatct ggctctccct ccaacaatta atcttatcgg agaactattt
11341 gtagtgatat cctcattctc atgatccaac attactatta tcctaataag aattaacatt
11401 atcatcaccg ccctatactc actttatata ttaatcaca cacaacgtgg taaatatcc
11461 caccatatca aaaatatcaa accatcattc acacgagaaa atgccctaat gacctgcac
11521 ctactgcccc tactcctcct atccctaac cctaaaatta ttctcgggtcc catctactgt
11581 aagcatagtt taacaaaaac attagattgt gagtctaaca ataaaagctc aaaccttttt
11641 gcttaccgaa aaagtactgc aagaactgct aattcatgct cccatgcata agaacatggc
11701 tttttcaact tttataggat agaagtaatc cgttggctt aggaaccaa aaattgggtg
11761 aactccagat aaaagtaata aatataattt ctcatgcat aatcacagcc ctagtattc
11821 ttactttgcc catcattata tccttacta aactttaca gaataagcta taccatact
11881 atgtaaaaac cgctacttct tacgcgttca taattagcat aattcccaca ataatttca
11941 tctactcagg acaggaaca atcatttcaa actggcattg aataacaatc caaactataa
12001 aactatccat gagtttcaa ttagactact tctcaataat ctttgtacct gtagcccttt
12061 ttgtcacgtg gtctatcata gaattctcta tatgatatat aactccgat ccttacatta
12121 accggttttt caagtacctt ctcttattcc tcatcactat aatagtccta gttaccgcaa
12181 acaacatatt ccaactattc attggttgag aaggagttgg cattatatca ttctactta
12241 ttgatgatg gtacggcoga accgatgcaa atacagcgc cctacaagcc gtctctaca
12301 accgtattgg agatgtaggc ttattataa ccatagcatg attttacta aacttaaca
12361 catgagacct tcaacaaatc ttattacga caaacgataa ttttaactg cactacttg
12421 gcctactact agcagctacc ggtaaatctg ctcaattcgg cctacatccc tgactcccct
12481 cagccataga aggccccact cctgtatcag ccctacttca ctcaagcaca atagttgtag
12541 caggagtatt tcttcttacc cgcttctac cactaataga gcataaccaa actattcaa
12601 ccctcacttt atgcttaggg gccattacta cactatttac cgcaatctgc gctcttac

12661 agaatgatat caaaaaaatt gtagcgttct ctacctcaag ccaactaggc ctaataatag
12721 taacaattgg cattaaccag ccctacttag ccttcttaca catctgcaact cacgcattht
12781 ttaaagctat actattcata tgctcagggt cagttatcca cagcctaaac gatgaacaag
12841 acattcgaaa aatgggtggc ctatttaaag tccttccctt caccacaacc tccttatta
12901 tcggaagcct cgcattaaca ggcatgcctt tccttacagg attctactcc aaagacctga
12961 tcatcgagtc cgctaacacg tcgaatacca acgcctgagc cctcttaatt aactcgttg
13021 ccacatccct aaccgctgcc tacagcacc gaattatatt ctttgcctta ctaggccagc
13081 cccgcttctc ccctataatc cttatcaacg agaataatcc tctcctaatt aactctatta
13141 aacgactcct tatcggaggt gtatttgagc ggtatattat ctcccacagc atcacacca
13201 ctaccatccc acagataact atgcctcatt atctaaaaat gacagccctt gcagtaacca
13261 ccttgggttt catcctggca ctagaactaa accttaccct acaaggactc aaatttaact
13321 atccttctaa ttactttaaa ttctccagcc tccttggcta ctatccaacc attatgcacc
13381 gcctcacacc taaaacaagt ttaaccatta gccagaaatc agcatctata cttctggact
13441 ccatctgact agaaaacatc ctaccctaat caatctcata tttccaaata aaatcttcta
13501 cccttatttc aaatcaaaaa ggtctcatca aactctattt cctatcgttc atactaacta
13561 taatcctcag tctactaatc cttaattacc acgggtaact tccatgataa ccaacacacc
13621 aattaataat gatcagcctg taacaaccac caaccaagtc ccataactgt acagagccgc
13681 aatacccata gcctcttccac taaaaaacc agagtcccc gtatcataga tcaactcaatc
13741 ccctattcca ttaaacttta atactacctc cacctcgta tccttcaaaa tatagcaagc
13801 agtcaacaat tcagacaaca aaccagtaat aaaagccgct agaacagcct tatttgaac
13861 tcacacctca ggttattgct cagtagccat agcagttgta taaccaata ctactaatat
13921 acccccctaa taaattaaaa atactatcaa ccctaaaaaa gaaccctcaa aattcagaac
13981 aatcgacaaa ccaatcccac cgctaataat tagcacaagc ccaccataaa taggagatgg
14041 tttagtggca aaaccacaaa aactcatcac aaaaacgata cttaaaataa atacaatgta
14101 tgttatcatt attcctacat ggaatttaac catgactaat gacatgaaaa atcatcgttg
14161 tatttcaact ataagaacat taatgaccaa cattcgaaaa acccaccac tagcctaaat
14221 tgtaataaac tcattcattg acctcccagc gccgtctaac atctctgctt gatggaaactt
14281 cggatcctta ctaggagtat gcttgattct acagattcta acaggtttat tcttagctat
14341 gcactataca tcggacacag ccacagcttt ttcatcagtc acccaccatct gccgagacgt
14401 taactacggc tgaattatcc gctatatgca cgcaaatggc gcttccatct tctttatctg
14461 cctattccta catgtaggac gaggctata ttacggatcc tatgtattca tagaaacatg
14521 aaacattgga attgtactat tattcgcaac catagccaca gcattcatgg gctatgtact
14581 accatgagga caaatatcat tttgaggagc aactgtaatc actaatcttc tctctgccat
14641 cccttatatc ggaactgact tagtagaatg gatctgaggc ggcttctcag tggacaaagc
14701 aaccctaaca cgattctttg cattccattt catcctccct tcatcatcg cagctctagc
14761 aatagtacac ctctatttc tacacgaaac cggatccaac aaccctcag gaatcacatc
14821 agactcagac aaaattccat ttcaccctta ctacacaatc aaggatatcc taggagcctt
14881 actcctactc ctaatcctaa tatcactagt tttattttca cctgacctat taggagacc
14941 agataactac acccctgcaa acccctaaa caccctcca catattaaac ctgagtata
15001 ttttctattc gcctatgcta tcctacgac cattcctaata aaattaggag gtgtactcgc
15061 cctagtattc tccatcctaa tcttggcatt cattccactc ctccacacat ctaagcaacg
15121 cagcataata ttccggcccc ttagccaatg cctattctga cttttagctg ccgatcttct
15181 cactttaaca tgaattggag gacaaccagt tgagaccct tcatcatta tcggacaagt
15241 cgcttcaatc ttatatttca ccatcttatt gatcctaata ccaacagtta gcgttatoga

15301 aaacaacctt ctaaaatgaa gagtctttgt agtataatca ttaccttggg cttgtaaacc
15361 aaaaatggag agtaaccgcc ctccctaaga ctcaaggaag aagctcttgc tccaccatca
15421 gcacccaaag ctgagattct tcttaaacta ttccctgaca cccctacatt catatattga
15481 atcacccta ctgtgctatg tcagtatctc caggtaaacc cttctcccct ccctatgta
15541 cgtcgtgcat taatggtttg ccccatgcat ataagcatgt acataatatt atacccttac
15601 ataggacata ttaactcaat ctcataattc actgatcttt caacagtaat cgaatgcata
15661 tcacttagtc caataagggc ttaatcacca tgccctgaga aaccatcaac ccttgcctgt
15721 aatgtccctc ttctcgtcc gggcccatac taacgtgggg gttactatca tgaaactata
15781 cctggcatct ggttcttact tcagggccat aaccttattt actccaatcc tactaattct
15841 cgcaaatggg acatctcgat ggactaatga ctaatcagcc catgatcaca cataactgtg
15901 gtgtcatgca tctggtatct tttaattttt agggggggaa tctgctatca ctcacctacg
15961 accgcaacgg cactaactct aacttatctt ctgctctcag ggaatatgcc cgtcgcggcc
16021 ctaatgcagt caaataactt gtagctggac ttattcatta tcatttatca actcacgcat
16081 aaaaatcaagg tgctattcag tcaatggttt caggacatat agttttaggg tacacgtacg
16141 tacacgtacg tacacgtacg tacacgtacg tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtgcg
16201 tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtgcg tacacgtgcg tacacgtacg tacacgtgcg
16261 tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtacg tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtacg
16321 tacacgtgcg tacacgtgcg tacacgtgcg tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtgcg
16381 tacacgtacg tacacgtacg tacacgtgcg tacacgtacg tacacgtacg cacgcgcgta
16441 agacattaag ttaacttata caaaccccc ttacccccg taaactcatg tcatctatta
16501 tacacttatt tatgtccgc caaacccaa aaacaggact aagtgcatac aatactcaca
16561 agctttattt aaattatata caaatgtatt gctactctag ttaactaac acaacagtct
16621 tacacgcatt tggctctgta gtctatctat agatagcatt ccctttttt tccctctcat
16681 atttactatg tattttattt attacgcaca ctacaatttc agtataa

EK 7: Köpeklerde mtDNA dizilerinin referans dizi ile karşılaştırılması

Savolainen ve ark., 1997 ile Wetton ve ark., 2003	Kim ve ark.,1998 ile Eichmann ve Parson, 2007	Okumura ve ark., 1996	Savolainen ve ark., 1997 ile Wetton ve ark., 2003	Kim ve ark.,1998 ile Eichmann ve Parson, 2007	Okumura ve ark., 1996
5	15435G	-	206	15636T	181
22	15452T	-	208	15638T	183
30.1	15460.1C	4	209	15639T	184
53	15483C	27	213	15643A	188
-	15490A	34	220	15650T	195
-	15491C	35	222	15652G	197
-	15496C	40	223	15653A	-
78	15508C	52	-	15665T	210
-	15518A	62	-	15710C	255
-	15523T	67	-	15781C	326
-	15524C	68	-	15800T	345
-	15525T	69	-	15807C	352
96	15526C	70	-	15811A	356
-	15527C	71	-	15814C	359
-	15528C	72	-	15815T	360
-	15529C	73	-	15879C	424
-	15530T	74	-	15912C	457
103	15533C	-	-	15932G	477
123	15553A	98	-	15955C	500
155	15585A	-	-	15990T	535
162	15592T	-	-	16003A	548
165	15595C	140	-	16025T	570
181	15611T	156	-	16038C	583
182	15612T	157	-	16083A	628
190	15620T	165	-	16128G	673
-	15621C	166	-	16431C	676
195	15625T	170	-	16439T	684
197	15627A	172	-	16440A	685
-	15628T	173	-	16576A	821
202	15632C	177	-	16601T	846
204	15634G	-	-	16671T	918
-	15635A	180	-	16672C	919
			-	16705C	952

EK 8: Köpeklerde mtDNA'nın VNTR bölge dizinlemesi *

a _{I, II, IV, VI} GTACACGTRC		b _{I, II, III, VII} GTACACRTRC		c _{I, II} GTACACGTRY	
I	GTACACGTAC	I	GTACACGTAC	I	GTACACGTAC
II	GTACACGTGC	II	GTACACGTGC	II	GTACACGTGC
IV	GTACACATAC	III	GTACACGTGT		
VI	GTACACATGC	VII	GTACACGTAT		
d _{I, II, V, VIII} GTACACGYRC		e _{I, VIII} GTACACGYAC		f _{II, V} GTACACGYGC	
I	GTACACGTAC	I	GTACACGTAC	II	GTACACGTGC
II	GTACACGTGC	VIII	GTACACGCAC	V	GTACACGCGC
V	GTACACGCGC				
VIII	GTACACGCAC				
g _{II, III} GTACACGTGY					
II	GTACACGTGC				
III	GTACACGTGT				

*Eichmann ve Parson 2007 yılında yaptıkları çalışmaya göre, köpeklerde VNTR bölgesinin 10 nükleotidlik tekrar kısmının son 4 tekrarın oluşumu 8 farklı tipte olmaktadır.

ÖZGEÇMİŞ



1. **Adı Soyadı:** Itr ERKAN
2. **Doğum Tarihi:** 20.11.1982
3. **Unvanı:** Araştırma Görevlisi
4. **Öğrenim Durumu:** Doktora (Devam ediyor)

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi	2000-2004
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik	İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2005-2008
Doktora	Adli Bilimler	İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri ABD	2008-...
2.Üniversite	Sağlık Kurumları İşletmeciliği	Anadolu Üniversitesi	2010-...

5. Akademik Unvanlar :

Araştırma Görevlisi, Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi (2010 - halen)

6. Yönetilen Yüksek Lisans ve Doktora Tezleri

6.1. Yüksek Lisans Tezleri

6.2. Doktora Tezleri

7. Yayınlar

7.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

7.2. Uluslararası diğer hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

7.3. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. **İtir Erkan**, E. Hülya Yükseloğlu, Sequence Analysis of Domestic Dog mtDNA For Forensic Identification in Turkey, 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, 23-24 Kasım 2012, Boğaziçi University, İstanbul.
2. **İtir Erkan**, Eylem Gül, Gülten Rayimoğlu, E. Hülya Yükseloğlu, Mitochondrial DNA Analysis of Domestic Canine Blood Samples For Forensic Identification, European Academy of Forensic Science 2012 (EAFS), 20-24 Ağustos 2012, Hollanda.
3. Eylem Gül, **İtir Erkan**, Gülten Rayimoğlu, E. Hülya Yükseloğlu, Forensic Sciences Pets Dog (*Canis lupus familiaris*) with the Identification of STR Analysis, European Academy of Forensic Science 2012 (EAFS), 20-24 Ağustos 2012, Hollanda.
4. İtir Tarı Cömert, Eylem Gül, Beyhan Ceylan, Onur Gül, **İtir Erkan**, Emel Hülya Yükseloğlu, Evaluation of Sexual Violence at Movies, International Academy of Legal Medicine 2012 (IALM), 5-8 Temmuz 2012, Haliç Congress Center, İstanbul.
5. Tolga Zorlu, Ali Volaka, Eylem Gül, **İtir Erkan**, Emel Hülya Yükseloğlu, The Prominence Of Disaster Victim Identification On Natural Disasters In Turkey, International Academy of Legal Medicine 2012 (IALM), 5-8 Temmuz 2012, Haliç Congress Center, İstanbul.
6. **İtir Erkan**, Rakel Rozant, E. Hülya Yükseloğlu, S. Sebnem Ozcan, Gavril Petridis, Ersi Abaci- Kalfolou, Honor Killings in Turkey: Facts and Figures, 64th AAFS Annual Scientific Meeting, 20-25 Şubat 2012, Atlanta - Georgia, Amerika.
7. Yasemin Orhanel, Hülya Yükseloğlu, **İtir Erkan**, Eylem Gül, Eylem Yediay, Coşkun Yorulmaz, Şebnem Özcan, Ersi Kalsoğlu, Personal Identification from Contaminated Fecal and Urine Materials: A Crime Scene Modelling, 19th IAFS World Meeting, 9th WPMO Triennial Meeting, 5th MAFS Meeting, 12-17 Eylül 2011, Portekiz.
8. Ayşegül Öztunç, Hülya Yükseloğlu, Eylem Gül, **İtir Erkan**, Eylem Yediay, Coşkun Yorulmaz, Şebnem Özcan, Ersi Kalsoğlu, The Secondary DNA Transfer: Low Copy Number (LCN) DNA Profiling, 19th IAFS World Meeting, 9th WPMO Triennial Meeting, 5th MAFS Meeting, 12-17 Eylül 2011, Portekiz.
9. Neslihan Beyazıt, **İtir Erkan**, Keriman Günaydın, Studies on Chemical Composition and Biological Activities of *Ammi visnaga* (Lam.) Lamarck Growing in Turkey, New Challenges in Natural Products Chemistry, 12-13 Eylül 2011, İstanbul.

7.4. Yazılan uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler

7.5. Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

1. Demircan, A., Yükseloğlu, E.H., **Erkan, I.**, Gül, E., Altan, T., Elmas, İ., Göz Hekimlerinin Kornea Nakli Sürecinde Karşılaştıkları Tıbbi, Hukuki ve Etik Sorunlara Yaklaşımlarının Değerlendirilmesi, *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.(SCI Expanded)*, 2012; 32(2):382-8.

7.6. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. **İtir Erkan**, E. Hülya Yükseloğlu, “Adli Bilimlerde Evcil Köpeklerin Genetik Analizleri: Bir Derleme Çalışması”, 22-24 Kasım 2012, X. Adli Bilimler Kongresi, İstanbul.
2. Mine Barut, Ümmühan Balota, Keremcan Algan, Yasin Algantekin, Umur Alpay, **İtir Erkan**, “GDO’lu Yem ve Mamaların Çevreye Etkisi”, 4-6 Mayıs 2012, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri 2, İstanbul.
3. Abdullah Aydemir, İsmail Sarıcan, Özlem Harmancı, Özben Yurtlu, Umur Alpay, **İtir Erkan**, “GDO Analizlerinde Laboratuvar Kaynaklı Sorunlar”, 4-6 Mayıs 2012, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri 2, İstanbul.
4. Eda Aktaş, Keremcan Algan, Yasin Algantekin, Esra Atabay, Abdullah Aydemir, Merve Aydın, Ümmühan Balota, Mine Barut, Özlem Harmancı, Merve İnan, İsmail Sarıcan, **İtir Erkan**, “Akreditasyonda Önemli Bir Süreç: 17025 Kalite El Kitabı”, 4-6 Mayıs 2012, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri 2, İstanbul.
5. Eda Aktaş, Esra Atabay, Merve Aydın, Merve İnan, Özben Yurtlu, **İtir Erkan**, “Medyada GDO”, 4-6 Mayıs 2012, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri 2, İstanbul.
6. **İtir Erkan**, ‘Töre Cinayetleri’, 5-6 Mayıs 2011, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Bilim Günleri, İstanbul.

7.7. Diğer yayınlar, Katıldığı Ulusal / Uluslararası Sempozyum/ Seminer/Konferans

1. 1st International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, 23-24 Kasım 2012, Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul.
2. X. Adli Bilimler Kongresi, 22-24 Kasım 2012, İstanbul.
3. Bilim Günleri 2, 4-6 Mayıs 2012, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, İstanbul.

4. I. Uluslar arası Olay Yeri İnceleme Konferansı, Euroforensics 2012, 29-31 Mart 2012, İstanbul Harbiye Askeri Müzesi ve Kültür Sitesi, İstanbul.
5. 64th Annual Scientific Meeting of the American Academy of Forensic Sciences, 20-25 Şubat 2012, Atlanta- Georgia, USA.
6. New Challenges in Natural Products Chemistry, 12-13 September 2011, İstanbul, Türkiye.
7. 2nd International Congress, Biomedical Sciences in Archaeology, 15-18 Eylül 2011, Kuşadası, İzmir.
8. Türkiye Hayvan Deneylerinde Etik Sempozyumu, 16 Haziran 2011, İstanbul Harbiye Askeri Müze, İstanbul.
9. Bilim Günleri, 5-6 Mayıs 2011, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, İstanbul.
10. 9. Adli Bilimler Sempozyumu, Adli Bilimlerde Bilirkişilik, 28-30 Nisan 2011, Trabzon.
11. Cinsel Suç Kavramı ve Delil Sempozyumu, 29-30 Nisan 2010, Yeni Yüzyıl Üniversitesi Çamlıca, İstanbul.
12. “Food Microbiology Workshop”, 2-3 Aralık 2009, Biomerieux, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
13. IVth Mediterranean Academy of Forensic Sciences Meeting, 14-18 Ekim 2009, Antalya.
14. 6th Meeting of Balkan Academy of Forensic Sciences, 18-21 Haziran 2009, Kavala, Yunanistan.

8. Projeler

Proje Yürütücüsü, “*Ammi visnaga* ve *Ammi majus* (Umbelliferae)’un Biyokimyasal Analizi ve RAPD-PCR Yöntemi ile Polimorfizm ve Filogenetik ilişkisi”, Yüksek Lisans Tez Projesi, İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği, Proje Numarası: T-97/15122006, (2008).

Proje Yürütücüsü, “Evcil Köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) mitokondrial DNA analizinin adli amaçlı kullanımı” Doktora Tez Projesi, İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği, Proje Numarası: 15716 (2010- devam ediyor).

9. İdari Görevler

Bilim Günleri 2, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, 2011-2012 (Kongre Sekreteri).

Bilim Günleri, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, 2010-2011 (Kongre Sekreteri).

Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Cinsel Suçlar Birimi, Üye, 2010- devam ediyor.

10. Diğer Görevler

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Biyogenetik Bölüm Sorumlusu	Bilim Laboratuvarları, İstanbul	2009-2010
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Öğrenci Asistanı	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik, İstanbul	2007-2008
Proje Koordinatörü	Burç Moleküler Genetik Tanı ve Araştırma Laboratuvarı, İstanbul	2005-2006

11. Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

Moleküler Biyoloji Derneği

12. Başarı Belgeleri

2010 Eğitim Başarı Belgesi, Real-Time PCR ve Flurion Detection System, İontek.

2003-2004 Başarı Belgesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü.

2002-2003 Üstün Başarı Belgesi, Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü.