

T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Gönül Filoğlu

**YENİ 10 STR LOKUSUNUN (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474,
D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) TÜRKİYE'DEKİ GEN
SIKLIĞININ BELİRLENMESİ**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MOLEKÜLER BİYOLOG TUĞBA SOHTORİK ÖZTÜRK

İSTANBUL, 2019



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

Proje No: 18427

Teşekkür

Tezimin gerçekleşmesinde katkısı bulunan Adli Tıp Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Faruk AŞICIOĞLU'na,

Tezimin gerçekleşmesinde katkısı bulunan Adli Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Münevver AÇIKKOL'a,

Bilgi ve yorumları ile yol göstermesinin yanı sıra bana her konuda her zaman destek olan; hoşgörüsünü, güler yüzünü ve tatlı dilini eksik etmeyen; benim için her zaman bir danışmandan çok daha fazlası olan sevgili hocam Dr. Öğretim Üyesi Gönül FİLOĞLU'na,

Tez çalışmamda büyük desteği olan, ilgisi ve bilgi birikimini paylaşmaktan çekinmeyen Dr. Öğretim Üyesi Özlem BÜLBÜL ERCAN'a;

Laboratuvar kullanımına destek veren ve yardımcı olan Gülten RAYİMOĞLU'na;

Yardıma her ihtiyacım olduğunda beni yalnız bırakmayan ve sorunları çözmeme yardımcı olan sevgili Sema SARIOĞLU ÜNAL'a;

Bana verdiği moral ve destek için canım arkadaşım Esra BAYHAN'a;

Kendisini şahsen hiç tanımasam da her ihtiyacım olduğunda samimiyetini ve yardımlarını esirgemeyen sevgili Arzu DÜVENCİ'ye

Bu çalışmanın gerçekleşmesini sağlayan tüm gönüllülere;

Varlığı ile bana neşe veren, her anlamda destek olan, can simidim, ablam Reyhan Özlem ÖZTÜRK'e;

Her vazgeçişimde 'hadi' diyen, sonsuz sevgi ve desteğini hep hissettiğim sevgili eşim Doç. Dr. C. Atilla ÖZTÜRK'e, ve beni her anlamda hayata bağlayan güzel kızım DEFNEM'e;

Teşekkür ederim...

Tuğba SOHTORİK ÖZTÜRK

İçindekiler

Teşekkür	iii
İçindekiler	iv
Tablolar Listesi	vii
Şekiller Listesi	ix
Kısaltmalar	xi
1. Özet	1
2. İngilizce Özet	3
3. Giriş ve Amaç	5
4. Genel Bilgiler	8
4.1. DNA ve Adli Bilimlerdeki Önemi	8
4.2. Genetik İşaretler ve DNA Tiplendirme Metodları	8
4.2.1. DNA analizi öncesi (1900-1985)	9
4.2.2. DNA analizinin ilk yılları- VNTR (RFLP) dönemi (1985-1995)	10
4.2.3. PCR temelli teknikler	11
4.3. Kısa Tekrarlı DNA Dizileri (STR'ler)	12
4.3.1. STR lokus tipleri	14
4.3.2. STR alellerinin adlandırılması	15
4.3.3. STR lokusları seçilirken nelere dikkat edilmelidir?	16
4.3.4. STR'lerin adli DNA tiplendirmesindeki kullanımı	16
4.3.4.1. Adli alanda kullanılan yaygın STR belirteçleri ve ticari kitler	17
4.3.4.1.1. CODIS (Combined DNA Index System)	20
4.3.5. STR analizi	22
4.3.5.1. Elektroforez	23
4.3.5.1.1. Jel elektroforezi	23
4.3.5.1.2. Kapiller elektroforez	24
4.3.5.2. Sonuçların değerlendirilmesi ve genotiplendirme	26

4.3.5.2.1. <i>Genotiplendirmeyi etkileyen faktörler</i>	27
4.4. Adli DNA Analizindeki Yeni Gelişmeler	30
4.4.1. Yeni genetik işaretlerin keşfi	31
4.4.2. Mini STR'ler	32
4.4.3. SNP'ler	32
4.4.4. Yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing)	32
4.5. Investigator HD-Plex Kit	34
5. Gereç ve Yöntem	36
5.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve malzemeler	36
5.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar	36
5.1.2. Çalışmada kullanılan kitler ve sarf malzemeleri	37
5.2. Çalışma Planı	38
5.2.1. DNA örneklerinin kaynağı	38
5.2.2. Kan örneklerinden DNA izolasyonu	38
5.2.3. DNA miktarlarının belirlenmesi	40
5.2.4. PCR aşaması (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	41
5.2.4.1. <i>PCR bileşenlerinin hazırlanması ve amplifikasyon</i>	41
5.2.5. PCR ürünlerinin elektroforezi	42
5.2.5.1. <i>PCR ürünlerinin elektroforeze hazırlanması</i>	43
5.2.5.2. <i>Elektroforetik analiz</i>	43
5.2.5.3. <i>Elektroforegramların değerlendirilmesi</i>	44
5.2.6. İstatistiksel analiz	46
6. Bulgular	47
6.1. Genotiplerin Belirlenmesi	47
6.2. İstatistiksel Bulgular	48
6.2.1. Alel frekansları ve adli istatistik analiz parametrelerinin belirlenmesi	48

6.2.1.1. <i>D7S1517 lokusuna ait bulgular</i>	49
6.2.1.2. <i>D3S1744 lokusuna ait bulgular</i>	49
6.2.1.3. <i>D12S391 lokusuna ait bulgular</i>	50
6.2.1.4. <i>D2S1360 lokusuna ait bulgular</i>	50
6.2.1.5. <i>D6S474 lokusuna ait bulgular</i>	51
6.2.1.6. <i>D4S2366 lokusuna ait bulgular</i>	51
6.2.1.7. <i>D8S1132 lokusuna ait bulgular</i>	52
6.2.1.8. <i>D5S2500 lokusuna ait bulgular</i>	52
6.2.1.9. <i>D18S51 lokusuna ait bulgular</i>	53
6.2.1.10. <i>D21S2055 lokusuna ait bulgular</i>	53
6.2.1.11. <i>D10S2325 lokusuna ait bulgular</i>	54
6.2.1.12. <i>SE33 lokusuna ait bulgular</i>	55
6.2.2. Populasyonlar arası alel frekanslarının karşılaştırılması	56
6.2.3. Hardy-Weinberg dengesi	66
6.2.4. Popülasyonlar arası lokus bazındaki farklılıklar ve genetik uzaklık (F_{st})	66
7. Tartışma ve Sonuç	68
9. Ekler	82
Ek 1. Bilgilendirilmiş Onam Formu	82
Ek 2. Etik Kurul Onayı	84
Ek 3. Genotip Bilgileri	85
10. ÖZGEÇMİŞ	89

Tablolar Listesi

Tablo I. Yaygın DNA tiplendirme metodları (16).	12
Tablo II: Adli alanda kullanılan yaygın str lokusları (CODIS lokusları koyu olarak verilmiştir).....	18
Tablo III: Ticari Otozomal STR Multipleksler (Tampon çözeltileri de kapsayan kitler koyu olarak gösterilmiştir).....	19
Tablo IV. Adli DNA analizinin tarihsel gelişimi (49).....	30
Tablo V. Investigator HDplex Kit (Qiagen) araştırılan STR lokuslarına özgü bilgiler (72).....	35
Tablo VI. PCR bileşenleri ve miktarları.....	42
Tablo VII. PCR döngü parametreleri.	42
Tablo VIII. Elektroforez parametreleri.	44
Tablo IX. D7S1517 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	49
Tablo X. D3S1744 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	49
Tablo XI. D12S391 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	50
Tablo XII. D2S1360 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	50
Tablo XIII. D6S474 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	51
Tablo XIV. D4S2366 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	51
Tablo XV. D8S1132 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	52
Tablo XVI. D5S2500 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	52
Tablo XVII. D18S51 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	53
Tablo XVIII. D21S2055 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	54
Tablo XIX. D10S2325 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	54

Tablo XX. SE33 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.....	55
Tablo XXI. 12 STR lokusunun farklı popülasyonlardaki alel frekansları.	62
Tablo XXII. Hardy-Weinberg denge tablosu.....	66
Tablo XXIII. Popülasyonlar arası lokus bazında farklılıklar (Fisher's Exact Test).....	67



Şekiller Listesi

Şekil 1: DNA tiplendirme teknikleri (16)	9
Şekil 2: STR amplifikasyonu (27)	14
Şekil 3: STR alel adlandırma: basit, bileşik ve kompleks STR adlandırılmasının örnek lokuslarla şematik gösterimi (13).....	15
Şekil 4: Jel elektroforez sisteminin şematik gösterimi (16).....	23
Şekil 5: Kapiller elektroforez sisteminin şematik gösterimi (27)	25
Şekil 6: 16 kapiller sistemli ABI 3130xl genetik analizör (27)	25
Şekil 7: STR profilinin belirlenmesinde genotiplendirme basamakları (16).....	26
Şekil 8: Karışım örnek profil örneği (52)	27
Şekil 9: DNA degradasyonu gösteren profil örneği (52).....	27
Şekil 10: Stutter pik gösteren profil örneği (52).....	28
Şekil 11: Dengesiz pik yüksekliği örneği (52).....	28
Şekil 12: Leke (blob) ve gürültü (noise) gösteren profil örneği (52).....	28
Şekil 13: Off-ladder alel gösteren profil örneği (52)	29
Şekil 14: Pull-up gösteren profil örneği (52)	29
Şekil 15: Spike (voltaj kaynaklı pikler) örneği (52)	29
Şekil 16: Uygun ham data gösteren profil örneği (52)	30
Şekil 17: Ham data problemi gösteren profil örneği (52).....	30
Şekil 18: Yeni nesil dizileme (NGS) şematik gösterimi (70)	34
Şekil 19: Investigator® HDplex (Qiagen) DNA size standard 550 (BTO)'a ait elektroforegram	45
Şekil 20: Investigator® HDplex (Qiagen) alelik ladder'a ait elektroforegram	45
Şekil 21: Investigator® HDplex (Qiagen) 0.5 ng kontrol DNA XY5'e ait elektroforegram	46
Şekil 22: Investigator® HDplex (Qiagen) 0.5 ng DNA örneği için elde edilmiş olan elektroforegram görüntüsü	48
Şekil 23: D7S1517 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	56
Şekil 24: D3S1744 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	56
Şekil 25: D12S391 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	57
Şekil 26: D2S1360 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	57
Şekil 27: D6S474 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	58
Şekil 28: D4S2366 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	58
Şekil 29: D8S1132 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	59

Şekil 30: D5S2500 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	59
Şekil 31: D18S51 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	60
Şekil 32: D21S2055 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	60
Şekil 33: D10S2325 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması.....	61
Şekil 34: SE33 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması	61



Kısaltmalar

A	Adenin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABI	Applied Biosystems, Inc
bç	Baz çifti
BSA	Bovine Serum Albumin (Sığır serum albümin)
C	Cytosine (Sitozin)
CODIS	Combined DNA Index System (Birleşik DNA İndeks Sistem)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (Ethylenediamine tetra-acetic acid)
ENFSI	European Network of Forensic Science Institutes (Avrupa Kriminal Laboratuvarlar Organizasyonu)
FBI	Federal Bureau of Investigation (Federal Soruşturma Bürosu)
FSS	Forensic Science Service (Adli Bilimler Servisi)
Fst	Fixation Index (Popülasyonlar arası genetik uzaklık)
G	Guanin
H⁺	Hidrojen
He	Expected Heterocosity (Beklenen heterozigotluk)
Het	Heterozigotluk
HLA	Human Leukocyte Antigens (İnsan lökosit antijeni)
Ho	Observed Heterocosity (Gözlenen heterozigotluk)
HWD	Hardy-Weinberg Disequilibrium (Hardy-Weinberg Dengesi)
ISFG	The International Society of Forensic Genetics (Uluslararası Adli Genetik Topluluğu)
LDIS	Local DNA Index Systems (Lokal DNA İndeks Sistemi)

MgCl₂	Magnezyum Klorür
ml	Mililitre
mtDNA	Mitokondriyal DNA
µl	Microliter (Mikrolitre)
µm	Micrometer (Mikrometre)
NDIS	National DNA Index Systems (Ulusal DNA İndeks Sistemi)
NGS	Next-Generation Sequencing (Yeni nesil dizileme)
ng	Nanogram
OL	Off-ladder
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PD	Power of Discrimination (Ayrım Gücü)
PE	Power of Exclusion (Dışlama Gücü)
Pg	Picogram (Pikogram)
PIC	Polymorphism Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
PM	Probability of Match (Eşleşme Olasılığı)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlayıcı parka uzunluğu polimorfizmi)
Rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
SDIS	State DNA Index Systems (Eyalet DNA İndeks Sistemi)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)
STR	Short Tandem Repeats (Kısa Tekrar Dizileri)
T	Timin
TPI	Typical Paternity Index (Tipik Babalık İndeksi)
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats (Değişken sayıda ardışık tekrarlar)

1. Özet

Otozomal STR lokusları kitlesel felaketlerde, adli vakalarda, kayıp kişilerin identifikasyonunda, DNA (Deoksiribonükleik Asit) veri tabanı oluşturulmasında ve birçok alanda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Yeni STR lokuslarının araştırılması ve dizayn edilmesi geleneksel STR (Short Tandem Repeats, Kısa Ardışık Tekrar Dizileri) analizlerini tamamlayıcı olduğu gibi kardeşlik ve akrabalık ilişkilerinin söz konusu olduğu vakalarda avantaj sağlayacağı gibi kişi identifikasyonunda zorlukların yaşanabildiği bazı durumlarda sonuçların alternatif yollarla teyit edilmesini de mümkün kılacaktır. Araştırılan lokus sayısının artırılması veritabanı uygulaması olan ülkelerde yanlış eşleşme riskini de azaltmaktadır.

Bu çalışmada CODIS'te (Combined DNA Index System, Birleşik DNA İndeks Sistemi) yer almayan, yaygın olarak kullanılan STR lokuslarından farklı, ayırım gücü ve güvenilirliği yüksek, 10 yeni STR (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) lokusu ve iki bilinen lokus (D18S51, SE33)'un Türkiye'deki gen sıklığı incelendi. DNA analizi için Türkiye'nin tüm bölgelerini yansıtacak şekilde, aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 100 gönüllüden kan örneği alındı. DNA izolasyonu QIAmp DNA Mini Kit (Qiagen) kit protokolüne göre gerçekleştirildi. 12 STR lokusu Investigator® Hdplex Kit (Qiagen) prosedürüne uygun olarak çoğaltıldı. PCR (Polymerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ürünleri, ABI 3130 Genetik Analizörde yürütüldü ve GeneMapper IDX ile analiz edildi. Araştırılan lokusların popülasyon ve adli istatistik parametreleri Powerstats kullanılarak hesaplandı. Alel frekansları, Hardy-Weinberg dengesi ve popülasyonlar arası (Türkiye ile Avrupa, Afrika, Doğu Asya ve Amerika popülasyonları arasında) lokus bazındaki farklılıklar Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak hesaplandı. Türkiye ile Afrika popülasyonu arasında 3 lokusta, Doğu Asya popülasyonu

arasında 4 lokusta ve Amerika popülasyonu arasında 3 lokusta istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu. Avrupa popülasyonu ile istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Bu çalışma bulgularına göre söz konusu kitin adli laboratuvarlarda mevcut STR lokuslarını desteklemek amacıyla güvenilirlikle kullanılabilceği ve Türkiye toplumunun Avrupa toplumuna genetik olarak daha yakın olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Adli bilimler, DNA analizi, kısa tekrar dizileri, yeni STR lokusları, Investigator® Hdplex Kit (Qiagen)



2. İngilizce Özet

Autosomal STR loci are applied successfully in many areas such as; identification, missing people, forensic cases, mass disasters, DNA database applications and a wide variety of routine laboratory studies. Evaluations and design of new STR markers are useful tools to obtain additional information and to complete conventional STR analysis. Some advantages for the cases with brotherhood and kinship relations are also determined. Besides of these it will be an alternative way to confirm the results at the problematic cases. To increase the number of data loci will result in reducing the risk of adventitious matches in the countries that have national DNA database.

In this study, gene frequency in Turkey for 10 new, non-CODIS STR loci (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) and 2 previously known loci (D18S51, SE33) were investigated. To reflect all regions of Turkey's DNA analysis, 100 blood samples from non-relative volunteers were taken. DNA was extracted using QIAmp DNA Mini Kit following manufacturer's recommendations. 12 STR loci and amelogenin were amplified according to Investigator® HD kit manual. The PCR products were separated with ABI 3130 Genetic Analyzer and analyzed with GeneMapper IDX software. Forensic and population parameters of the 12 loci were estimated with Promega PowerStats excelsheet. Allel frequencies, p-values for Hardy–Weinberg equilibrium, population differentiation based on the loci (Turkey between Europe, Africa, East Asia and USA populations) and F_{st} were calculated with Arlequin ver. 3.5. After Bonferonni correction the genotype distributions showed no significant deviation from Hardy–Weinberg rule expectations. Results indicated that statistically significant differences were found between Turkish population and African population at 3 loci, E.Asian population at 4 loci and American population at 3 loci. There is no statistically significant observed between Turkish and European populations.

According to the findings of this study, Turkish society is genetically closer to the European community and the investigated kit can be reliably used to support the existing STR loci in forensic laboratory.

Keywords: Forensic science, DNA analysis, short tandem repeats, new STR loci, Investigator® Hdplex Kit (Qiagen)



3. Giriş ve Amaç

Adli bilimler; çeşitli olayların incelenmesinde, suçun ve suçlunun ortaya çıkarılması, suç araçlarının araştırılması, suçlunun kimliğinin belirlenmesi, şüpheli ile olay yerinden gelen DNA örneklerinin aynı kaynaktan gelip gelmediğinin tespiti, miras-babalık davaları ve akrabalık ilişkilerinin araştırılması gibi toplumsal olaylara hizmet etmektedir. Bu amaçlarla olay yerinden veya bireylerden alınmış olan kan, semen, tükürük, kıl ve leke gibi farklı biyolojik materyallerden DNA analizi yapmak mümkündür (1,2).

Geçmişte kimliklendirmede kullanılan eritrosit antijenleri, protein ve enzimlere dayalı çeşitli yöntemlerle yüksek güvenilirlikte sonuçlara ulaşmak mümkün değilken 1985 yılında Alec Jeffreys'in DNA molekülündeki minisatellit olarak adlandırılan polimorfizmi keşfetmesinden sonra adli bilimlerde daha güvenilir, ayırım gücü yüksek ve hassas DNA sistemlerinin kullanımına geçilmiştir (3). DNA'nın polimorfik özelliğinin keşfini takiben çeşitli sayıda tekrarlardan oluşan ve mendel kalıtımına uygun olarak aktarılan VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) denilen diziler adli çalışmalarda öncelikli olarak kullanılmaya başlanmıştır. Zamanla VNTR'ler yerini daha kısa tekrar dizilerinden oluşan ayırım gücü daha yüksek STR (Short Tandem Repeats)'lere bırakmıştır (4). 1994 yılında ilk STR kitinin üretilmesinden sonra 1997'de 13 STR bölgesi tanımlanmış, 1999'da ise çeşitli laboratuvarlarda multipleks STR kitlerinin validasyonları yapılmaya başlanmıştır. 2000 yılında FBI ve diğer laboratuvarlar RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğinden tamamen vazgeçmiş ve ticari STR kitlerini kullanmaya başlamıştır (1).

Günümüzde, mevcut ilerlemeler ile birlikte yeni genetik işaretler tespit edilmiş olmasına rağmen rutin olarak daha ucuz, daha kolay uygulanabilen ve doğruluğu kanıtlanmış STR sistemlerinden yararlanılarak kişi identifikasyonu yapılmaktadır. STR lokuslarının küçük olmasından dolayı, eski ve bozunmuş örneklerde bile tiplendirme yapmak mümkündür. Ayırım gücünün yüksek, analiz süresinin kısa olması, standardizasyonu sağlanmış ticari kitlerin varlığı,

otomatize edilmiş ve hata payı minimuma indirgenmiş sistemlerin geliştirilmiş olması ve çoklu analize izin vermesi STR'leri ideal genetik işaretler haline getirmiştir (1,4,6). Tiplendirmesi basit ve standardizasyonu tamamlanmış olan STR'lerin gen sıklıkları dengeli olduğundan alel standartlarını oluşturmak kolaydır. Yapılan standardizasyon çalışmaları ile hata oranı en aza indirgenmiştir (6). Genomdaki STR lokusları çok çeşitlidir. Olası lokus sayısının fazla olması özellikle kardeşlik veya akrabalık ilişkileri söz konusu olduğunda avantaj sağlamaktadır (1,7).

Son dönemlerde STR teknolojilerinden farklı olarak SNP (Single Nucleotide Polymorphism), mitokondrial DNA, X ve Y kromozom polimorfizimleri gibi diğer bazı teknikler de başarılı olmakla birlikte geliştirilen bu yeni metotlar daha maliyetli olduğundan ve standardizasyonu henüz tamamlanmadığından dolayı rutin kullanımlar için yetersiz kalmakta ve adli genetik laboratuvarlarında hala güvenilirliği kanıtlanmış STR sistemleri çalışmaya devam etmektedir (4). Rutin çalışmalarda FBI tarafından belirlenmiş olan STR lokusları çalışılmakla birlikte tüm dünyada CODIS (Combined DNA Index System)'te yer almayan yeni STR lokuslarının tespit edilmesine yönelik araştırmalara devam edilmektedir (8,9). Multipleks PCR ile güvenilir sonuç veren yeni STR işaretlerinin tanımlanması klasik STR analizleri için tamamlayıcı ekstra bilgiler sağlayacağı gibi özellikle kardeşlik ve akrabalık ilişkilerinin söz konusu olduğu vakalarda STR lokus sayısının artırılması çalışmanın güvenilirliğini de yükseltmektedir. Bu nedenle CODIS'de yer almayan polimorfik işaretlere olan ilgi gün geçtikçe artmakta, yeni lokusların rutin uygulamasına yönelik bilimsel çalışmalara ve veritabanı uygulamalarına devam edilmektedir (8,10). Daha fazla lokusun çalışılması ulusal veri tabanındaki beklenmedik eşleşmelerin önlenmesine de yardımcı olacaktır (11).

Bu tez çalışmasının amacı, Türkiye'nin tüm bölgelerini kapsayacak şekilde, onayları alınarak, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 100 kişiye ait kan örneğinden, CODIS'te yer almayan ve adli araştırmalarda yaygın olarak kullanılan STR lokuslarından farklı olan 10 yeni STR lokusu (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132,

D5S2500, D21S2055, D10S2325) ve iki bilinen STR lokusunun (D18S51, SE33) Qiagen® Investigator HDplex ticari kiti ile çalışarak Türkiye populasyonundaki gen sıklıklarını belirlemektir. Böylece Türkiye de yakın akrabalıkların olduğu veya mutasyon olasılığı düşünülen ve karar verilemeyen olgularda klasik STR lokuslarına alternatif olarak çalışılabilecek yeni lokusların kullanılması söz konusu olabilecektir.



4. Genel Bilgiler

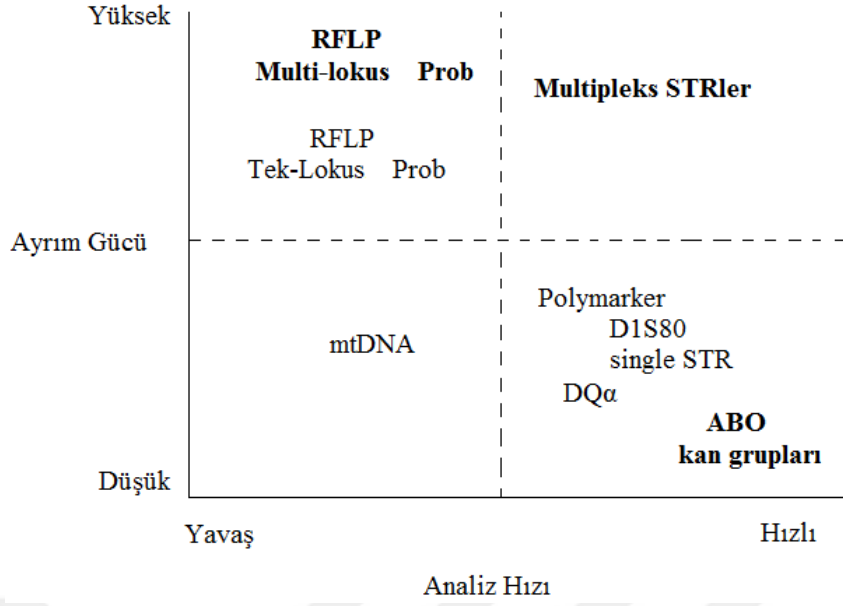
4.1. DNA ve Adli Bilimlerdeki Önemi

DNA ya da deoksiribonükleik asit, bilinen tüm canlı organizmaların gelişimi ve üremesi için gerekli bilgiyi barındıran bir moleküldür. İnsan vücudu milyarlarca hücreden oluşur ve DNA her bir hücrenin kontrol merkezidir. Canlıların genetik bilgisi DNA molekülü içerisinde saklıdır ve tek yumurta ikizleri hariç tüm bireyler için kişiye özgüdür (12). Moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmelerle birlikte genomu oluşturan 3.2 milyar baz içindeki herhangi bir bölgenin analizinin yapılması mümkündür. Analiz için özel polimorfik DNA bölgelerinin seçimi vakaya ve mevcut teknolojiye bağlı olarak değişiklik gösterebilir (12,13). Adli vakalarda genetik analizlerin kullanılmasının asıl amacı ayırım gücü yüksek olan DNA profilinin elde edilmesidir. Böylelikle suç mahalinden elde edilmiş olan biyolojik materyalin şüpheliye ait veriler ile karşılaştırılması mümkün olabildiği gibi, bireylerin genetik olarak ırk ve coğrafi gruplar içinde sınıflandırmasına olanak tanıyarak popülasyon genetiği çalışmaları da yapılabilmektedir. Coğrafi bölgelere göre oluşan farklılıklar alel frekanslarındaki kademeli değişikliklerden kaynaklanmaktadır (14).

DNA analizi tıp, hukuk ya da sosyal alanlar gibi birçok farklı disiplin için çok değerli bir bilgi teşkil etmektedir. Her bireyin DNA'sı kişiye özgü olduğu; ancak o bireye ait tüm dokularda aynı DNA bilgisi mevcut olduğundan DNA, birey için bir barkod gibi düşünülebilir (15). DNA analizinin kişinin kimliklendirilmesi amacıyla kullanımı adli bilimler açısından bugüne kadar yapılmış olan en önemli gelişmelerden biri olarak kabul edilmektedir. Adli genetikte kullanılacak olan DNA lokusu oldukça polimorfik olmalı, yorumlanması basit olmalı, diğer laboratuvarlarla karşılaştırması kolay olmalı ve düşük mutasyon oranlarına sahip olmalıdır (1, 13).

4.2. Genetik İşaretler ve DNA Tiplendirme Metodları

Adli DNA analizinde kullanılan teknikler iki bireyi birbirinden ayırt edebilme yeteneği, hızı, kolaylığı ve elde edilen verilerin güvenilirliği açısından farklılıklar göstermektedir. Yıllar içinde adli DNA analizi teknikleri hızlı bir şekilde gelişme göstermiştir. DNA testi, geçmiş yıllarda 6-8 haftada yapılabilirken bugün saatler içinde tamamlanabilmektedir. Yeni yöntemler ile olay yerinden elde edilen çok az miktardaki örneklerden de verimli DNA profili elde etmek artık mümkündür (16). Şekil 1'de geçmişten günümüze kullanılmış olan DNA tiplendirme teknikleri karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1: DNA tiplendirme teknikleri (16)

4.2.1. DNA analizi öncesi (1900-1985)

DNA'nın kişilerin kimliklendirilmesi amacıyla kullanımı 1980'lerin başında Alec Jeffreys'in çalışmaları ile başlamıştır. Ancak, DNA'dan önce de adli laboratuvarlar diğer genetik işaretlerden yararlanmışlardır. Bu belirteçler günümüz standartlarına kıyasla çok yetersiz olmasına rağmen geçmişte kimliklendirmede en iyi yöntemler olduğundan önem arz etmektedirler.

1900 yılında Karl Landsteiner ABO kan grubu sistemini açıklamış ve bireylerin kan gruplarına bağlı olarak farklı gruplara ayrılabilceğini gözlemlemiştir. Bu keşif adli hemogenetik alanındaki gelişmelerin ilk adımını oluşturmuştur (17). 1915 yılında Leone Lattes bir babalık vakasının çözülmesinde ABO tiplendirmesinin kullanımını açıklayan bir kitap yayımlamış ve 1931 yılında ise adli laboratuvarlarda standart haline gelen absorpsiyon - inhibisyon ABO tiplendirme tekniği geliştirilmiştir. Daha sonraki yıllarda çeşitli kan grupları ve kan serum protein belirteçleri karakterize edilerek ayırım gücü yüksek profiller elde edilmiştir. Serolojik teknikler yüksek ayırım gücüne sahip olmalarına rağmen biyolojik materyal miktarı nedeniyle birçok adli vaka da kullanımı sınırlı kalmıştır. Ayrıca proteinler dış etkenlere maruz kaldığında degrade olma eğilimindedirler (13). ABO kan grupları tayini bireyleri ayırt etmek için kullanılan ilk genetik araçlar olmasına ve birkaç dakika gibi kısa bir sürede sonuç alınabilmesine rağmen çok fazla bilgilendirici değildir. A,B, AB ve O olmak üzere yalnızca 4 olası kan grubu vardır ve popülasyonun %80'den fazlası O ve A tipi kan grubuna sahiptir. Bu

nedenle, ABO kan grupları yalnızca bireylerin dışlanmasında kullanışlı olabilir (4,16). 1960 yılında belirlenmiş toplam 17 sistem olmasına rağmen hiçbirisi identifikasyon açısından kullanışlı değildi. 1960'lara kadar serum proteinleri, eritrosit enzimleri ve ayrıca insan lökosit antijen sistemi HLA (Human Leukocyte Antigen System) kullanılmıştır. Bu sistemler bir arada kullanıldıklarında yüksek dışlama gücüne sahip olmalarına rağmen olay yerinden elde edilen kan lekeleri ya da vücut sıvılarından güvenilir sonuçlar elde etmek oldukça zordur (15). 1960 ve 70'lerde moleküler biyolojide meydana gelen restriksiyon enzimlerinin keşfi (18), Sanger dizi analizi (19) ve Southern blotlama gibi (20) gelişmeler DNA dizisinin incelenmesini mümkün kılmıştır. 1978 yılında DNA polimorfizmi Southern blotlama tekniği ile tespit edilebilmiş ve 1980'lerde ise ilk defa son derece polimorfik bir lokusun analizi rapor edilmiştir (13).

4.2.2. DNA analizinin ilk yılları- VNTR (RFLP) dönemi (1985-1995)

Alec Jeffreys'in 1985 yılında Nature dergisinde yayınlanan üç ayrı yayını, bireylerdeki tekrar eden DNA dizilerinin insanlar arasındaki çeşitliliğin ve genetik kalıtımın izlenebilirliği için kullanılabileceğini göstermiş ve adli kimliklendirmenin tarihi birden bire değişmiştir. Jeffreys'in VNTR keşfi ve rutin RFLP çalışmaları DNA analizinin başlangıcı olmuştur. (16, 21). Tekrar eden DNA dizileri 8 ile 80 baz çifti (genellikle 15-35) uzunluğunda olup bireyler arasında çeşitlilik göstermektedir (4).

1984 yılında Alec Jeffreys değişken sayıda tekrarlardan oluşan VNTR lokuslarının adli uygulamalar açısından sahip olduğu potansiyeli farketmiş ve özetle; DNA ekstraksiyonu, restriksiyon enzimleri ile DNA molekülünün küçük parçalara ayrılması, DNA parçacıklarının agaroz jel elektroforezi ile yürütülmesi, Southern blotlama ile prob hibridizasyonu ve polimorfik lokusun tespit edilmesi ve son olarak da elde edilen sonuçların bir X-ray filminde siyah bantlar olarak görülmesi aşamalarından oluşan bir teknik geliştirmiştir (3). Jeffreys'in çoklu lokus problemleri barkodlara benzediğinden bu yöntem DNA parmakizi (DNA fingerprints) olarak adlandırılmıştır. 1985 yılında Nature dergisinde yayınlamış olduğu makalesinde iki bireyin aynı DNA profiline sahip olma olasılığının 33 milyarda 1'den daha az olduğunu belirtmiştir (3×10^{-11} - 5×10^{-19}) (3, 13). Jeffreys'in bu keşfi minisatelit olarak adlandırılan tekrar dizilerinin oldukça değişken olduğunu ileri sürmüştü ve bilgi veren genetik belirteçler olarak tanımlamıştır (15).

DNA teknikleri daha önceki sistemlere kıyasla çeşitli avantajlar sağlamıştır. En önemli avantajlarından biri de bu testlerin DNA'nın kendisi ile çalışılabilmesidir. Serolojik testler bir

gen ürünü olduğundan DNA içeriğini dolaylı olarak yansıtmaktadır. Ancak DNA teknikleri dominant ve resesiflikten kaynaklanan komplikasyonları ortadan kaldırmaktadır. Örneğin, AA ve Aa genotipleri fenotip olarak ayırt edilemezken DNA ile ayırt edilebilmektedir. Bunlara ek olarak; DNA markırları, proteinlere kıyasla, çevresel etkenlere karşı daha kararlıdır. Mısır'da bulunan mumyalardan ve hatta soyu tükenmiş olan canlıların kalıntılarında bile DNA bilgisine ulaşmak mümkündür. Genetik işaret olarak kullanılan lokus ve her bir lokustaki çok sayıda alel yüksek bir ayırım gücü sağlamaktadır. Çok sayıda alel karışım DNA örneklerinin analiz edilebilmesini mümkün kılmaktadır (4). Jeffreys'in VNTR analizi ayırt edici gücü yüksek olmakla birlikte büyük miktarda ve iyi kalitede DNA (>50 ng) ihtiyaç duyduğundan dolayı degrade DNA ile çalışmaya uygun olmaması, laboratuvarlar arasında karşılaştırma yapmanın zorluğu ve oldukça uzun süren bir analiz gerektirmesi gibi bazı kısıtlamaları bulunduğundan adli analizlerde uzun süre kullanılmamıştır (1, 13). Olay yerinden elde edilen örnekler genellikle kısıtlı miktarda veya bozunmuş olduğunda RFLP yöntemi tercih edilmemektedir. Ayrıca farklı restriksiyon enzimlerinin kullanılması da laboratuvarlar arasında teknik farklılıklar doğurmuştur (16, 22). Ayrıca, VNTR'ler boyutları büyük olduğundan dolayı PCR ile güvenilir ve tutarlı şekilde çoğaltılamamaktadır. Bu nedenlerden dolayı kısa sürede yerini daha kısa olan tekrar dizilerinin analizine bırakmıştır.

4.2.3. PCR temelli teknikler

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile spesifik bir DNA dizisi (ya da çoklu dizileri) kopyalayanarak çok küçük miktardaki DNA'dan arzu edilen kopyaların elde edilmesi mümkündür (23). PCR temelli tekniklerin adli uygulamalardaki ilk kullanımı 1986 yılında 6. kromozomda bulunan HLA-DQA1 (Human Leukocyte Antigen) lokusunda olmuştur. Bu teknikte denatüre edilmiş PCR ürünleri membrana sabitlenmiş bir oligonükleotid prob tarafından yakalandıktan sonra hibridize olan DNA'lar radyoaktif olmayan mavi boya ile kolorimetrik olarak tespit edilmektedir (4, 16). 1993 yılında, HLA-DQA1 lokusuna ek olarak beş farklı genetik belirteç daha ilave edilerek yöntemin ayırım gücü artırılmış ve bu altı lokuslu sistem (Polymarker + DQA1) adli laboratuvarlarda kullanılmıştır. PCR metodu ile çalıştığından küçük ya da degrade olmuş örneklerin analizi de mümkündür. Ancak alel ve lokus sayısı az olduğundan dolayı VNTR ve STR sistemlerine kıyasla ayırım gücü düşüktür (4, 24).

1980'lerin sonlarında kısa tekrar dizileri olarak bilinen STR (Short Tandem Repeats) mikrosatellitler keşfedilmiştir. STR'ler VNTR'lere benzerlik göstermekle birlikte daha kısa tekrar dizilerinden (2-7 bp) oluşmaktadır. VNTR'ler yerine kısa sürede ayırım gücü yüksek olan,

hızlı ve çoklu analize imkan veren kısa tekrar dizileri (STR) kullanılmaya başlanmıştır. STR'ler kısa diziler olup, degrade DNA molekülü içeren biyolojik materyaller ya da karışım örneklerinin analizinde kullanılabilirdiğinden dolayı oldukça değerlidir. Analiz; amplifikasyon, elektroforez ve sonuçların değerlendirilmesi olmak üzere üç temel aşamadan oluşmaktadır (16, 25). Tablo I'de yaygın DNA tiplendirme metodları, avantaj ve kısıtlamaları ile karşılaştırmalı olarak özetlenmiştir.

4.3. Kısa Tekrarlı DNA Dizileri (STR'ler)

İnsan genomunun %99.7'sinden fazlası tüm insanlarda aynıdır ve geriye kalan % 0.3'lük kısım ile bireyleri genetik düzeyde birbirlerinden ayırt etmek mümkündür. Ökaryotik genomlar çok sayıda tekrarlı DNA dizilerinden oluşmuştur ve genom boyunca da dağılmış birçok tekrarlı DNA dizisi mevcuttur. Bu tekrarlı DNA dizileri her boyutta olabilir ve çekirdek tekrar ünitesinin uzunluğu, sürekli tekrar eden birimlerin sayısı ya da tekrar bölgesinin genel uzunluğu ile tanımlanmaktadır. Uzun tekrar birimleri çekirdek tekrarı olarak birkaç yüz ile binlerce baz içerebilir (26, 27). Bu bölgeler kromozomal sentromer tarafından çevrelenmiş olduğundan genellikle *satellit* DNA olarak adlandırılmaktadır. 2 ile 7 bp uzunluğundaki tekrar ünitelerinden oluşmuş olan DNA bölgeleri ise *mikrosatellit* ya da çoğunlukla STR'ler olarak adlandırılmaktadır (21, 28).

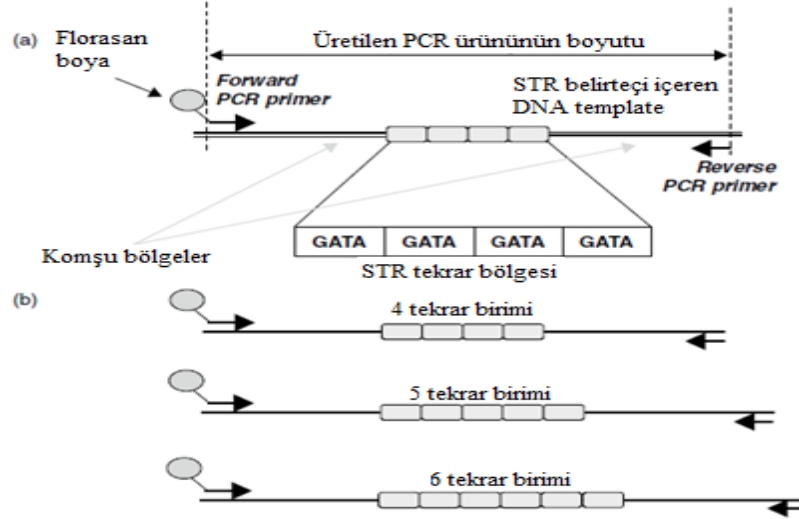
Tablo I. Yaygın DNA tiplendirme metodları (16).

Avantajlar	Kısıtlamalar
Kan Grubu Tiplendirme	
- Hızlı ve basit. - Uzun yıllar boyunca alternatifi yok.	- Alel sayısı çok az. - Ayrım gücü çok düşük (~ 1/10).
Protein Tiplendirme	
- Kan grubu tiplendirme çalışmalarına kıyasla ayırım gücü daha yüksek.	- Ayrım gücü düşük (~ 1/100). - Duyarlılığı zayıf. - Proteinler her zaman stabil değil.
Tek Lokuslu VNTR Problemleri ile RFLP	
- Ayrım gücü yüksek (~1/1.000.000). - Her bir lokustaki alel sayısı fazla olduğundan karışım örneklerinin analizinde avantaj sağlar.	- Kısıtlı duyarlılık (>50-500 ng gerekli). - Otomatize olmayan zaman alıcı bir proses (Günler ya da haftalar sürebilir). - Yüksek moleküler ağırlık gerektirdiği için degrade DNA örneklerine uygun değil. - Birbirini takip eden alel boyutlarının gruplandırılması gerekir ve sonuçların değerlendirilmesinde karmaşa yaratabilir. - Validasyonu yapılmış lokus sayısı kısıtlı.
DQA1+PM	

Avantajlar	Kısıtlamalar
<ul style="list-style-type: none"> - RFLP'e kıyasla daha hızlı ve basit. - PCR teknoloji ile küçük yada degrade örneklerin analizi mümkün. - PCR sonrası cihaz ihtiyacı yok. 	<ul style="list-style-type: none"> - Her biri birkaç allel içeren yalnızca 6 lokus. - Ayrım gücü düşük (~ 1/1000). - Kısıtlı sayıda alel ile karışım örneklerinin ayırt edilmesi zor.
Gümüş Boyalı STRler	
<ul style="list-style-type: none"> - PCR teknoloji ile oldukça duyarlı. - Nispeten daha hızlı (1-2 gün). - Daha kısa DNA fragmanlarının analizine izin verdiği için degrade örneklerle çalışılabilir. - Floresan işaretli STR'lere kıyasla daha düşük maliyetli. 	<ul style="list-style-type: none"> - Yalnızca tek bir renk mevcut olduğundan multipleks amplifikasyon 3-4 lokus ile sınırlı. - Sonuçların değerlendirilmesi daha karmaşık (DNA'nın her iki zincirinin tespiti bazı lokuslarda çift bantlar olarak gözlenerek karmaşa yaratabilir).
Floresan İşaretli STRler	
<ul style="list-style-type: none"> - PCR teknolojisi ile oldukça duyarlı. - Nispeten daha hızlı (Birkaç saat ya da 1-2 gün). - Daha kısa DNA fragmanlarının analizine izin verdiği için degrade örneklerle çalışılabilir. - Multipleks PCR amplifikasyonu ve çoklu floresan işaretleme ile 15 ya da daha fazla lokus simultane olarak çalışılabilir. - Ayrım gücü çok yüksek (~ 1/1.000.000.000). - Ticari STR kitleri ile standardize edilmiş lokuslar. - Otomatize sistem. - Potansiyel lokus sayısı çok fazla. 	<ul style="list-style-type: none"> - VNTR'e kıyasla her bir lokus için ayırım gücü düşük. - PCR amplifikasyon prosesi nedeniyle DNA kontaminasyon riski. - Pahalı ekipman. - Stutter ve dengesiz pik olasılığı karışım örneklerinin analizinde karmaşa yaratabilir. - Blob, spike gibi artefaktların değerlendirilmesi uzmanlık gerektirir.

(John M. Butler (2010), "Fundamentals of Forensic DNA Typing" kitabından alınmıştır).

İnsan DNA'sında karakterize edilmiş binlerce polimorfik mikrosatellit ve belki de bir milyondan fazla mikrosatellit lokusu bulunmaktadır. Mikrosatellitler toplam insan genomunun yaklaşık %3 ünü oluşturmaktadır. STR'ler genom boyunca dağılmış olup, her 10.000 nükleotidde bir görülmektedir (26). STR belirteçlerinin analiz edilebilmesi için öncelikle değişkenlik göstermeyen komşu bölgelerin belirlenerek PCR primerleri dizayn edilebilir ve istenilen tekrar bölgeleri çoğaltılabilir (Şekil 2) (27, 29).



Şekil 2: STR amplifikasyonu (27)

- a) PCR primerleri değişken STR tekrar bölgesini çevreleyen komşu bölgelerdeki değişkenlik göstermeyen dizilere bağlanır. (b) STR alellerinin toplam boyutu eklenen tekrar biriminin boyutuna göre farklılık gösterir.

4.3.1. STR lokus tipleri

STR tekrar dizileri tekrar ünitesinin uzunluğu ile adlandırılmaktadır. Örneğin, dinükleotid tekrarlar sürekli birbirini tekrar eden iki nükleotid tekrarından oluşurken, trinükleotidler üç nükleotid, tetranükleotidler ise dört nükleotid tekrarından oluşmaktadır(28).

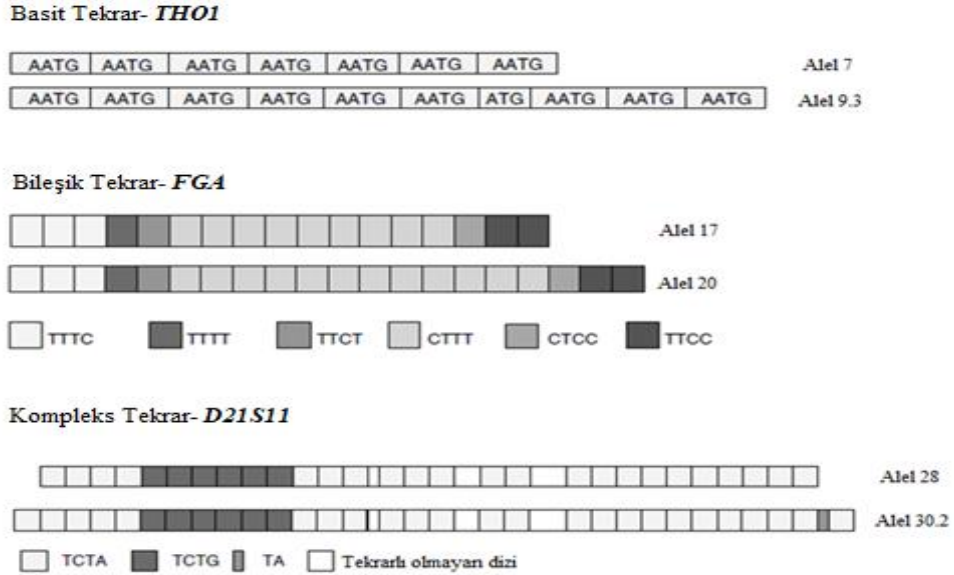
STR dizileri yalnızca tekrar birimlerinin uzunluğu ve tekrar sayısına göre değil aynı zamanda artımlı tekrar ünitesine göre de sınıflandırılmaktadırlar. STR'ler tekrar modeline bağlı olarak çeşitli kategorilere ayrılmaktadır. *Basit tekrarlar* uzunluk ve dizi olarak birbirinin tamamen aynısı olan birimler içerirken, *bileşik tekrarlar* iki veya daha fazla komşu basit tekrardan oluşmaktadır. *Kompleks (karmaşık) tekrarlar* araya giren değişken dizilerin yanı sıra çeşitli uzunlukta farklı tekrar blokları içerebilirken, *kompleks çok değişkenli tekrarlar* da ise hem boyut hem de dizi açısından farklılıklar gösteren, üzerinde fikir birliği sağlanamamış çeşitli alellerin varlığı söz konusudur. Günümüzde kompleks çok değişkenli STR lokusu SE33'ü içeren iki ticari kit olmasına rağmen, son kategori alel adlandırması ve laboratuvarlar arasındaki çeşitliliğin değerlendirilebilmesi açısından zorluklar taşıdığından DNA tiplendirmesinde pek fazla tercih edilmemektedir. Bazan basit tekrarlar fikir birliğine varılmamış aleller içerebilir ya da STR lokusundaki aleller tamamlanmamış tekrar birimleri içerebilir. Tamamlanmamış bu tekrar üniteleri ise *mikrovaryant* olarak adlandırılmaktadırlar. Mikrovaryanta verilebilecek en yaygın örnek THO1 lokusundaki 9.3 alelidir. Bu alel dokuz tetranükleotid tekrarı ve bir tane de

tamamlanmamış üçlü nükleotid tekrarından oluşmaktadır. Yedinci tekrarda AATG motifinden bir Adenin eksiktir (30, 31).

4.3.2. STR alellerinin adlandırılması

Verilerin karşılaştırılması ve tekrarlanabilirliği için ortak bir adlandırma sistemi benimsenmiştir. STR alellerinin adlandırılmasında uluslararası kabul edilmiş bir adlandırma sisteminin uygulanıyor olması farklı laboratuvarların katkıda bulunduğu veritabanı sistemlerinin oluşturulabilmesi açısından da önemlidir (27).

STR lokus alelleri içerdikleri tekrar sayısına göre adlandırılmaktadırlar. Örneğin bir alel ardarda tekrarlanan yedi tekrar birimi içeriyorsa “alel 7” olarak adlandırılmaktadır. Bir ünitesindeki baz çifti sayısı standart tekrar ünitesinden eksik olan alellerde adlandırma yapılırken tam olarak tekrarlanan birimin sayısı ve eksik baz içeren birimdeki baz sayısı yazılır. Örneğin, THO1 STR lokusu dört çiftlik tekrar üniteleri içermektedir ancak alel 10 da yedinci tekrar ünitesinde bir adenin kaybı olduğundan dola yı 1 baz çifti daha kısadır ve 9.3 olarak adlandırılmıştır (32). Şekil 3’de basit, bileşik ve kompleks STR’ler için örnekler verilmiştir.



Şekil 3: STR alellerinin adlandırılması: basit, bileşik ve kompleks STR adlandırılmasının örnek lokuslarla şematik gösterimi (13).

4.3.3. STR lokusları seçilirken nelere dikkat edilmelidir?

1968 yılında kurulmuş olan Uluslararası Adli Genetik Topluluğunun (ISFG- The International Society of Forensic Genetics) DNA komisyonu genetik işaretlerle ilgili çalışmalar yapmaktadır. STR alellerinin adlandırılması ve dizaynı ile ilgili mevcut yayınlara <http://www.isfg.org/Publications/DNA+Commission> adresinden ulaşmak mümkündür (27).

İnsan genomunda haritalanmış yüzlerce STR lokusu vardır. Bunların birçoğu kimliklendirme açısından araştırılmış ve genomdaki neredeyse her kromozomda bu lokuslar tespit edilmiştir. STR'ler seçilirken dikkat edilmesi gereken önemli özellikler; seçilecek bölgelerin oldukça polimorfik olması, lokusun ayırım gücü, kromozomal lokalizasyonu ve yapısı, heterozigotluk oranının yüksek olması (%70), düzenli tekrar birimlerinden oluşması, amplifikasyonun kolaylıkla çoğaltılabilmesi, PCR ürünlerinin analizinin kolay olması, güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilebilmesi, düşük artefakt karakteristiği, düşük mutasyon oranları sahip olması ve ayırım gücünün yüksek olmasıdır. (9, 16, 33).

4.3.4. STR'lerin adli DNA tiplendirmedeki kullanımı

Moleküler biyoloji tekniklerindeki ilerlemelerle birlikte insan genomunu oluşturan 3.2 milyar baz içinden seçilen herhangi bir bölgenin analiz edilmesi mümkün hale gelmiştir. Günümüzde STR lokusları, klinik ve temel bilimlerde doku kültüründe, tür identifikasyonlarında, kemik iliği transplantasyonuna yönelik analizlerde, kromozom haritalamasında, çeşitli hastalıklardan sorumlu genlerin incelenmesinde ve popülasyon genetiği çalışmalarında kullanılmaktadır. Adli alanda ise spesifik STR bölgelerinin analiz edilmesi ile babalık tayini /akrabalık tayini ve biyolojik materyallerin kimliklendirilmesi yapılabilmektedir (32, 34). Son 20-25 senedir adli genetik alanında en yaygın kullanılan genetik markırlardır. Ayırım gücü oldukça yüksektir, bir çok lokus tek bir PCR ile çoğaltılabilir, hassastır, başarılı bir analiz için yalnızca birkaç hücre yeterlidir, diğer yöntemlerle kıyaslandığında STR profilinin elde edilmesi ucuz ve kolaydır ayrıca genoma yayılmış çalışılabilecek çok sayıda STR mevcuttur (1).

Yapılan çalışmalar sonucu 50-100 pg DNA örneği ile STR analizinin yapılabileceği ve olay yerinden elde edilmiş DNA örneklerinin oldukça az miktarda ya da degrade olduğunda veya karışım örnekleri gibi zorlu örnekler, STR sistemleri ile çalışılabilmektedir ve güvenilir sonuçlar elde edilebilmektedir (35). Adli DNA analizinde kullanılan STR belirteçleri farklı kromozomlardan ya da aynı kromozom üzerindeki ancak bölgelerden seçilmektedir ve genellikle 4 baz tekrarından oluşan tetranükleotidler kullanılmaktadır.

STR veritabanında kullanılan lokuslar temel olarak benzerdir. Örneğin, Kuzey Amerika'da neredeyse evrensel hale gelmiş olan 13 temel STR lokusundan oluşan CODIS sistemi kullanılırken, Birleşik Krallıkta Ulusal DNA Veritabanı ile uyumlu 17 lokustan oluşan bir sistem kullanılmaktadır. Hangi sistem olursa olsun kullanılan STR bölgelerinin çoğu aynıdır. 1 Ocak 2017 itibariyle CODIS Temel Lokus Çalışma Grubu yedi ilave STR lokusunun seçildiği duyurulmuştur (16).

STR lokuslarının adli amaçlı kullanımlarını geliştirmeye yönelik çalışmalar halen devam etmektedir. Rutinde kullanılan STR lokuslarından farklı olarak yeni STR lokuslarının adli amaçlı kullanılabilirliği araştırılmakta ve populasyon genetiği çalışmaları yapılmaktadır. Bu tez çalışması da CODIS'de yer almayan 10 yeni STR bölgesinin Türkiye'deki gen sıklığının araştırılmasına yönelik bir ön çalışmayı kapsamaktadır.

4.3.4.1. Adli alanda kullanılan yaygın STR belirteçleri ve ticari kitleler

DNA tiplendirmede kullanılan belirteçlerin yargı alanında etkili olabilmesi için standardizasyonu yapılmış ortak bir dile sahip olması gerekmektedir. Günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olan STR lokusları Baylor Tıp Fakültesi Thomas Caskey laboratuvarı ya da İngiltere'deki Adli Bilimler Servisinde (FSS- Forensic Science Service) karakterize edilmiş ve geliştirilmiştir (28, 37, 38). Başlangıçta; Promega Corporation (Madison, Wisconsin) Caskey belirteçlerinin birçoğunu ticarileştirirken, Applied Biosystems (Foster City, California) FSS STR lokuslarını ticarileştirmiş ayrıca bazı yeni markırlar da geliştirmiştir. Günümüzde ise ortak bir STR lokus setini kapsayan farklı kitleler mevcuttur. STR belirtecinin multipleks amplifikasyonuna izin veren mevcut STR kitleleri adli kimliklendirme açısından yeni bir çığır açmıştır.

Multipleks amplifikasyon özelliği olan ilk ticari STR kiti 1994 yılında Promega Corporation tarafından geliştirilmiş olan ve CSF1PO, TPOX ve TH01 STR lokuslarını kapsayan "CTT" tripleks kitidir. Bu kit için eşleşme olasılığı yalnızca 500'de 1 olmasına rağmen, ilk STR multipleks kiti olmasından ve düşük maliyetinden dolayı, 1990'ların ortalarına kadar Amerika Birleşik Devletlerinde yaygın olarak kullanılmıştır (16, 27). 1996 yılının Nisan ayında başlayıp, 1997 yılının Kasım ayında tamamlanan STR Projesi çalışmaları kapsamında 22 DNA tiplendirme laboratuvarı 17 aday STR lokusunu değerlendirmiş ve sonuç olarak 13 STR lokusu esas olarak kabul edilerek CODIS ulusal veri tabanının temelleri atılmıştır. Seçilen temel 13 STR lokusu CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820,

D8S1179, D13S317, D16S359, D18S51, ve D21S11 lokuslarıdır. CODIS ayrı bir başlık altında detaylı olarak anlatılmıştır. Tablo II’de yaygın olarak kullanılan STR lokusları gösterilmiştir.

Tablo II: Adli alanda kullanılan yaygın STR lokusları (CODIS lokusları koyu olarak verilmiştir).

Lokus	Kromozom Lokasyonu	Fiziksel Pozisyonu	GenBank (alel tekrarı #)	Tekrar Motifi ve Kategorisi	Alel Aralığı
D1S1656	1q42	Chr 1 230.905 Mb	G07820 (15.3)	Bileşik TAGA	8-20.3
TPOX	2p25.3	Chr 2 1.493 Mb	M68651 (11)	Basit AATG	4-16
D2S441	2p14	Chr 2 68.239 Mb	AC079112 (12)	Bileşik TCTA/TCAA	8-17
D2S1338	2q35	Chr 2 218.879 Mb	AC010136 (23)	Bileşik TGCC/TTCC	10-31
D3S1358	3p21.31	Chr 3 45.582 Mb	AC099539 (16)	Bileşik TCTA/TCTG	6-26
FGA	4q31.3	Chr 4 155.509 Mb	M64982 (21)	Bileşik CTTT/TTCC	12.2-51.2
D5S818	5q23.2	Chr 5 123.111 Mb	AC008512 (11)	Basit AGAT	4-29
CSF1PO	5q33.1	Chr 5 149.455 Mb	X14720 (12)	Basit AGAT	5-17
SE33	6q14	Chr 6 88.987 Mb	V00481 (26.2)	Kompleks AAAG	3-49
D7S820	7q21.11	Chr 7 83.789 Mb	AC004848 (13)	Basit GATA	5-16
D8S1179	8q24.13	Chr 8 125.907 Mb	AF216671 (13)	Bileşik TCTA/TCTG	6-20
D10S1248	10q26.3	Chr 10 131.093 Mb	AL391869 (13)	Basit GGAA	7-19
TH01	11p15.5	Chr 11 2.192 Mb	D00269 (9)	Basit TCAT	3-14
vWA	12p13.31	Chr 12 6.093 Mb	M25858 (18)	Bileşik TCTA/TCTG	10-25
D12S391	12p13.2	Chr 12 12.450 Mb	G08921 (20)	Bileşik AGAT/AGAC	13-27.2
D13S317	13q31.1	Chr 13 82.692 Mb	AL353628 (11)	Basit TATC	5-17
Penta E	15q26.2	Chr 15 97.374 Mb	AC027004 (5)	Basit AAAGA	5-32
D16S539	16q24.1	Chr 16 86.386 Mb	AC024591 (11)	Basit GATA	4-17
D18S51	18q21.33	Chr 18 60.949 Mb	AP001534 (18)	Basit AGAA	5.3-40
D19S433	19q12	Chr 19 30.416 Mb	AC008507 (14)	Bileşik AAGG/TAGG	5.2-20
D21S11	21q21.1	Chr 21 20.554 Mb	AP000433 (29.1)	Kompleks TCTA/TCTG	13-43.2
Penta D	21q22.3	Chr 21 45.056 Mb	AP001752 (13)	Basit AAAGA	1.1-19
D22S1045	22q12.3	Chr 22 37.536 Mb	AL022314 (17)	Basit ATT	7-20

(J.M.Butler (2012) Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology kitabından alınmıştır.)

STR tiplendirme kiti; STR lokusunu amplifiye etmek üzere tasarlanmış oligonükleotidlerden oluşan PCR primer karışımı (primerlerin her biri floresan boya ile işaretlenmiş), deoksinükleotid trifosfat, MgCl₂ ve PCR için gerekli diğer ajanları içeren bir PCR tampon çözeltisi, DNA polimeraz enzimi (bazı kitlerde tampon çözeltisine karıştırılmış şekilde olabilir), STR lokusundaki ortak allelleri gösteren bir alelik ladder ve son olarak da kitin doğru çalışıp çalışmadığını gösteren pozitif DNA kontrol örneği içermektedir. DNA tiplendirmesinde kullanılmak üzere dizayn edilmiş tekli ya da multipleks çok sayıda kit mevcuttur. Günümüzde adli DNA topluluğu tarafından kullanılmakta olan STR kitleri Promega Corporation (Madison, Wisconsin) ve Applied Biosystems (Foster City, CA) olmak üzere iki temel firmadan sağlanmaktadır. Yakın zamanda Avrupa’da da Serac (Bad Homburg, Almanya) ve Biotype-QIAGEN (Dresden, Almanya) gibi firmalar ticari STR kitleri üretmeye

başlamışlardır. Ticari STR kit üreticileri her bir kit de hangi belirteçlerin yer alacağı, primer çiftlerinin uyumlu olup olmadığı ve multipleks PCR koşulları altında birbiri ile uyumlu çalışıp çalışmadığını anlamak üzere çok büyük çaba harcayarak bu kitleri oluşturmuştur. Farklı laboratuvarlar arasında belirli bir standardizasyonun sağlanabilmesi, verilerin birbiri ile karşılaştırılabilir olması ve güvenilir olmasından dolayı DNA tiplendirme çalışmalarında yaygın olarak ticari kitler kullanılmaktadır. Tablo III'de mevcut ticari multipleks STR kitleri listelenmiştir (13, 27).

Tablo III: Ticari Otozomal STR Multipleksler

İsim	Firma	Piyasaya Sürülüş Tarihi
AmpFISTR Blue (artık mevcut değil)	Applied Biosystems	Ekim 1996
AmpFISTR Green I (artık mevcut değil)	Applied Biosystems	Ocak 1997
CTTv	Promega	Ocak 1997
FFFL	Promega	Ocak 1997
GammaSTR	Promega	Ocak 1997
PowerPlex 1.1, PowerPlex 1.2	Promega	Ocak 1997, Eylül 1998
AmpFISTR Profiler	Applied Biosystems	Mayıs 1997
AmpFISTR Profiler Plus	Applied Biosystems	Aralık 1997
AmpFISTR COfiler	Applied Biosystems	Mayıs 1998
AmpFISTR SGM Plus	Applied Biosystems	Şubat 1999
PowerPlex 2.1 (Hitachi FMBIO kullanıcıları için)	Promega	Haziran 1999
PowerPlex 16	Promega	Mayıs 2000
PowerPlex 16 BIO (Hitachi FMBIO kullanıcıları için)	Promega	Mayıs 2001
AmpFISTR İdentifiler	Applied Biosystems	Temmuz 2001
AmpFISTR Profiler Plus ID (ilave işaretlenmemiş D8-R primeri)	Applied Biosystems	Eylül 2001
PowerPlex ES	Promega	Mart 2002
AmpFISTR SEfiler (artık mevcut değil)	Applied Biosystems	Eylül 2002
AmpFISTR MiniFiler	Applied Biosystems	Mart 2007
AmpFISTR SEfiler Plus (iyileştirilmiş tampon)	Applied Biosystems	Kasım 2007
AmpFISTR Sinofiler	Applied Biosystems	Mart 2008
PowerPlex 16 HS (primerler aynı, iyileştirilmiş ajanlar)	Promega	Mart 2009
PowerPlex ESX 16 & ESX 17	Promega	Eylül 2009
PowerPlex ESI 16 & ESI 17	Promega	Eylül 2009
AmpFISTR İdentifiler Direct (primerler aynı, iyileştirilmiş ajanlar)	Applied Biosystems	Kasım 2009
AmpFISTR İdentifiler Plus (primerler aynı, iyileştirilmiş ajanlar)	Applied Biosystems	Ocak 2010
AmpFISTR NGM	Applied Biosystems	Ocak 2010
Investigator ESSplex	QIAGEN	Nisan 2010
Investigator Decaplex SE	QIAGEN	Nisan 2010
Investigator Triplex AFS QS	QIAGEN	Nisan 2010
Investigator Triplex dsf	QIAGEN	Nisan 2010
Investigator IDplex	QIAGEN	Ağustos 2010
Investigator HDplex	QIAGEN	Eylül 2010

Investigator Hexaplex ESS	QIAGEN	Eylül 2010
Investigator Nonaplex ESS	QIAGEN	Eylül 2010
Investigator ESSplex SE	QIAGEN	Ekim 2010
AmpFISTR NGM SSelect	Applied Biosystems	Aralık 2010
PowerPlex 18D	Promega	Şubat 2011

(J.M.Butler (2012) Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology kitabından alınmıştır.)

Günümüzde uluslararası standartlarda kabul görmüş yaygın olarak kullanılan STR lokuslarına ek olarak yeni lokusların tespit edilmesine yönelik araştırma ve çalışmalar devam etmekte ve sürekli yeni lokuslar keşfedilmektedir. STR lokuslarının adli amaçlı kullanımını geliştirmek amacıyla rutinde kullanılan lokusların dışında diğer bazı lokusların adli amaçlı kullanılabilirlikleri araştırılmakta ve bunlara ait popülasyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu tez çalışmasında QIAGEN firmasının Eylül 2010'da piyasaya sürmüş olduğu Investigator HDplex kiti kullanılarak Türk popülasyonuna özgü gen sıklıklarının belirlenmesine yönelik bir ön çalışma yapılmıştır.

4.3.4.1.1. CODIS (Combined DNA Index System)

DNA tiplendirme teknolojisinin gerçek anlamda kullanımı FBI tarafından geliştirilen ve CODIS olarak adlandırılan ulusal bir DNA veri bankasının oluşturulması ile hayata geçirilmiştir. CODIS'in iki temel amacı vardır: (1) Şiddet suçu içeren şüphelilerinin identifikasyonunda soruşturmaya yardımcı olmak (2) DNA çalışmalarına yol gösterici bir yazılım geliştirerek adli laboratuvarların etkinliğini arttırmaktır (39).

CODIS hiyerarşik bir DNA veri tabanıdır. CODIS'te yer alan kayıtlar profil araştırmaya yönelik sınırlandırılmış bilgi içermektedir. DNA kayıtları genellikle laboratuvar kimliği, numune kimliği, DNA karakteri gibi sınıflandırmaya yönelik bilgi içermektedir. DNA profillerinin karşılaştırılabilmesi için CODIS'in yerel, eyalet ve federal suç laboratuvarlarının tamamına entegre olan bir ağ oluşturulmuştur. CODIS, seri suçlar arasında bağlantı kurmak ve potansiyel suçluların tespit edilmesini sağlamak amacıyla suç laboratuvarlarının DNA profillerinin karşılaştırılmasına ve bilgi paylaşımına izin vermektedir (27, 40).

CODIS'te kanunlarca suçlu bulunmuş hüküm giymiş kişiler, suça maruz kalan hayatta olan ya da olmayan mağdurlar, kayıp kişiler ve bu kişilerin yakın akrabalarına ait DNA kayıtları depolanır ve karşılaştırılır. Farklı kaynaklardan elde edilmiş olan DNA verileri; hüküm giymiş suçlular indeksi (kesin bir suçtan hüküm giymiş kişilerin DNA bilgileri), mağdurlar indeksi (suça maruz kalan hayatta olan ya da olmayan kişilere ait DNA bilgileri), adli indeks (adli inceleme sırasında toplanmış ve bilinmeyen kişilere ait DNA bilgileri), tanımlanamamış kişiler

indeksi (kim olduğu kesin olarak bilinmeyen ama suç mahalinden toplanmış örneklere ait DNA bilgileri), kayıp kişiler indeksi, yakın biyolojik akrabalar indeksi, popülasyon dosyaları (ABD’de bulunan major popülasyon gruplarını temsil eden anonim kişilerden elde edilmiş DNA bilgileri ve alel frekansları) gibi farklı indeksler altında kayıt altında tutulmaktadır (27, 39, 40).

CODIS yerel, eyalet ve ulusal olmak üzere üç kademeli bir veri tabanı olarak uygulanmaktadır ve her biri adli ve hükümlü suçlular indeksi ile popülasyon veri tabanı dosyalarını içermektedir. Lokal DNA İndeks Sistemi (LDIS- Local DNA Index Systems) polis departmanı, şerif ofisleri ya da kamu daireleri tarafından çalıştırılan laboratuvarlar tarafından kurulmuştur. Tüm adli DNA kayıtları yerel kademede başlar ve daha sonra eyalet ya da ulusal kademeye transfer edilir. CODIS’e dahil olan her bir eyalet tek bir Eyalet DNA İndeks Sistemine (SDIS- State DNA Index Systems) sahiptir ve eyaletler arasında DNA karşılaştırılması ve veri paylaşımına izin vermektedir. Ulusal DNA İndeks Sistemi (NDIS- National DNA Index Systems) ise katılan tüm eyaletler tarafından oluşturulmuş merkezi DNA havuzudur ve FBI tarafından idare edilmektedir (13).

FBI Laboratuvarı ulusal DNA indeksi için temel STR lokuslarının kurulması konusunda 9 Nisan 1996 yılında biyolojik kanıtların DNA tiplendirilmesinde STR lokuslarının sayısı ve adli uygulamaların validasyonu konusunda bir araştırma projesi oluşturmak üzere bir toplantı düzenlemiştir. Toplantıda; aday STR lokuslarını kapsayan ticari STR kitleri için PCR ve tiplendirme koşullarının test edilmesi, değerlendirilmesi, optimizasyonu, ortak protokollerin sağlanması, ilgili popülasyon veri tabanlarının oluşturulması ve değerlendirme çalışmaları ele alınmıştır. Değerlendirilen STR lokusları CSF1PO, F13AO1, F13B, FES/FPS, FGA, TH01, LPL, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S359, D18S51, ve D21S11 lokuslarıdır. 13-14 Kasım 1997’de gerçekleştirilen STR Proje Toplantısında CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S359, D18S51, ve D21S11 olmak üzere 13 STR lokusu ulusal sistemde esas lokuslar olarak kabul edilmiştir. Değerlendirilen 13 lokusun akrabalık ilişkisi olmayan kişiler arasındaki rastgele eşleşme olasılığı 1 trilyonda 1’den daha azdır ve 1 ng dan daha az miktardaki DNA için bile genotip elde edilebilmektedir (13, 27, 40). CODIS’de yer alan bu 13 STR lokusuna ait kromozomal lokasyon, tekrar ünitesi, alel aralığı gibi bilgiler Tablo II’de verilmiştir.

FBI laboratuvarı 1997 yılından beri kullanılmakta olan Ulusal DNA İndeks Sistemindeki 13 temel STR lokusuna 1 Ocak 2017 itibarıyla CODIS Temel Lokus Çalışma Grubu tarafından yedi STR lokusu eklendiğini duyurmuştur. Bu lokuslar kişi identifikasyonu, kayıp kişilerin soruşturulmasında ve akrabalık analizlerinde daha güçlü bir ayırım gücü

sağlamaktadır. CODIS'e ait 20 STR lokusu (orijinal set: D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, CSF1PO, FGA, TH01, TPOX ve vWA; ve ilave set: D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433 ve D22S1045) AmpFlSTR® GlobalFiler® (GlobalFiler, Life Technologies, Inc., Carlsbad, CA) ya da PowerPlex® Fusion™ (Fusion, Promega Corporation, Madison, WI) multipleks amplifikasyon kitlerinde bulunmaktadır. Bu kitler ayrıca Amelogenin ile SE33 ve Y indel lokus (Global Filer), Penta D ve Penta E (Fusion) ve DYS391 (GlobalFiler ve Fusion) lokuslarını da kapsamaktadır (13, 41).

4.3.5. STR analizi

Adli amaçlı DNA tiplendirme medikal tanı ve gen haritalama gibi rutin olarak uygulanan diğer yöntemlerle aynı temel prensiplere dayanmaktadır. En basit haliyle;STR analizi; örneklerin toplanması ve DNA ekstraksiyonunu takip eden amplifikasyon, elektroforez ve sonuçların değerlendirilmesi olmak üzere üç temel aşamadan oluşmaktadır. (13, 27).

Çeşitli DNA ekstraksiyon metodları olmakla birlikte temel prensip hücre zarının parçalanarak DNA molekülünün açığa çıkarılması, protein denatürasyonu ve son olarak da DNA'nın denatüre edilen protein ve diğer hücresel bileşenlerden ayrılmasıdır. DNA ekstraksiyonunu takiben elde edilen DNA'nın miktar tayini yapılır. Günümüzde hem araştırma hem de adli laboratuvarlarda çoğunlukla kullanıma hazır DNA ekstraksiyon kitleri kullanılmaktadır (42, 43).

Amplifikasyon DNA içerisinde ye alan, dizisi bilinen iki segment arasındaki bir veya birden fazla bölgenin kimyasal olarak sentezlenmiş oligonükleotid primerler ve enzim kullanılarak otomatize bir sistem yardımıyla in vitro şartlar altında çoğaltılması metodudur. PCR döngüsü temel olarak denatürasyon (94°C-97°C), annealing (bağlanma) (50°C-65°C) ve ekstensiyon (uzama) (72°C) aşamalarından oluşmaktadır. Ard arda tekrarlanan döngüler ile DNA fragmanları eksponensiyel olarak artmaktadır.

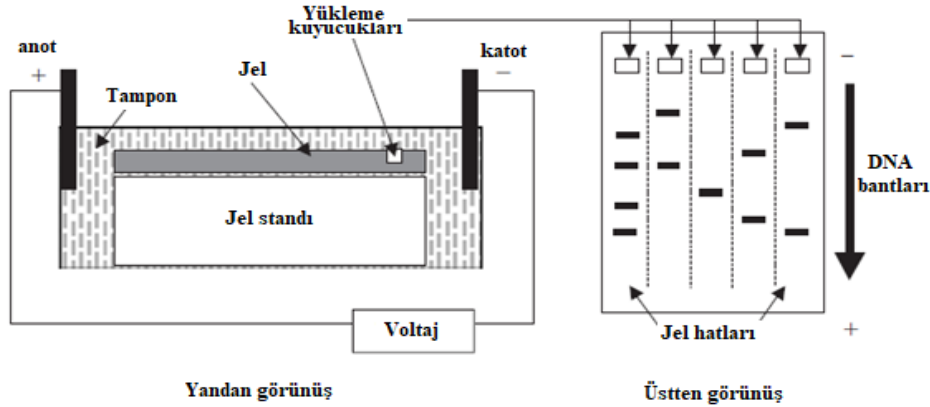
PCR ile çoğaltılan STR alelleri elektroforez ile birbirinden ayrıldıktan sonra alel uzunluklarının ölçümü ve değerlendirme işlemi yapılarak STR analizi tamamlanır. Elektroforez ve sonuçların değerlendirilmesi ayrı bir başlık altında detaylı olarak incelenmiştir.

4.3.5.1. Elektroforez

Multipleks PCR sonucu her biri farklı bir alele ait olan çok sayıda DNA fragmanı elde edilmektedir. Bu fragmanlar jel yada kapiller elektroforezle birbirinden ayrılır. DNA yapısındaki fosfat grupları H^+ iyonunu kolaylıkla verebildiğinden tampon içinde kolaylıkla negatif yüklenir ve elektrik alan altında anota doğru hareket ederek boyutlarına göre ayırım işlemi gerçekleştirilebilir. Ayırma metodu ve elde edilen sonuçların diğer laboratuvarlarla karşılaştırılabilmesi açısından tekrarlanabilir olması gerekmektedir.

4.3.5.1.1. Jel Elektroforezi

DNA moleküllerinin içinden geçeceği mikro gözenekli bir matris sistemi, elektroforez tankı ve güç kaynağından oluşan jel elektroforez sistemi Şekil 4’de şematik olarak gösterilmiştir. Jel, elektroforez tamponu ile dolu tank içerisine yerleştirilir ve DNA örnekleri jelin üst kısmındaki kuyucuklara yüklenir. Voltaj altında DNA molekülleri anota doğru hareket ederek boyutlarına göre ayrılırlar. Küçük boyutlu DNA molekülleri matris gözenekleri içinde daha hızlı ve kolay hareket edebildiğinden dolayı anota daha yakın olarak görüntülenir. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jel görüntüsü fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarılır ve sonuçlar değerlendirilir (13, 27).



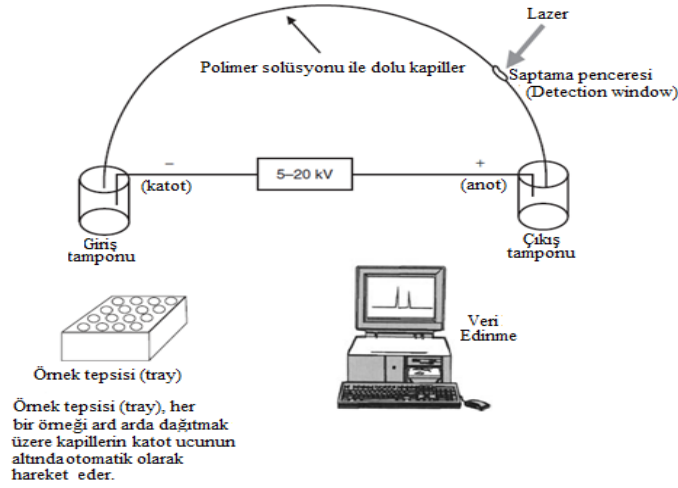
Şekil 4: Jel elektroforez sisteminin şematik gösterimi (16)

Moleküler biyoloji ve adli DNA laboratuvarlarında poliakrilamid ve agaroz olmak üzere iki tip jel matrisi yaygın olarak kullanılmaktadır. Poliakrilamid jel 500-1000 bp altındaki küçük boyutlu DNA moleküllerinin daha yüksek çözünürlükte ayrılabilmesini mümkün kılarken agaroz jel daha geniş gözenekli bir matrise sahip olup daha büyük DNA moleküllerinin ayrılmasında kullanılmaktadır. Geçmişte DNA tiplendirme amacıyla her iki jel sistemi de kullanılmıştır (13, 27).

Jel elektroforezi basit bir sistem olmakla birlikte hazırlama işlemi oldukça oyalayıcıdır. Ayrıca akrilamid jel materyali nörotoksin olarak bilindiğinden çok dikkatli bir şekilde çalışılması gerekmektedir. Hazır jellerin üretilmesi bu sorunun üstesinden gelmeyi sağlamışsa da yine de DNA örneklerinin çok dikkatli şekilde yüklenmesi ve kontaminasyondan kaçınılması gerekmektedir. Günümüzde elle müdahalenin minimuma indirildiği otomatize sistemler tercih edildiğinden STR analizleri için yaygın olarak kapiller elektroforez sistemleri tercih edilmektedir (13, 27).

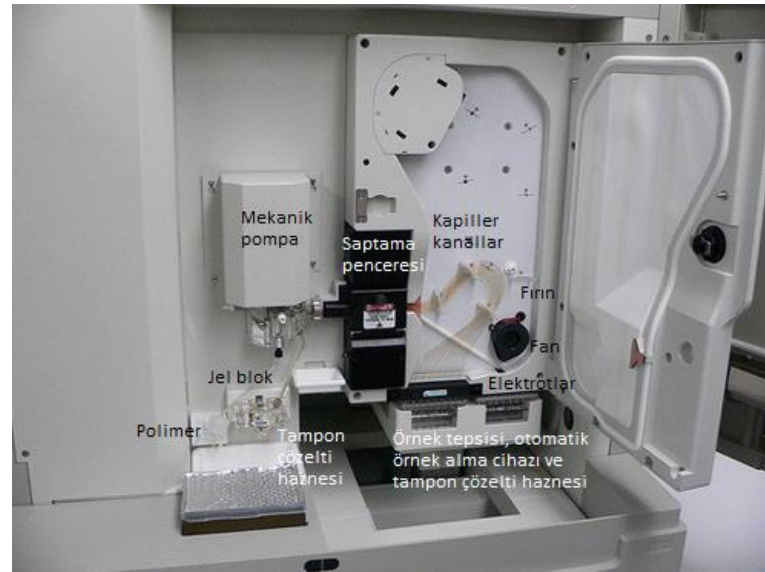
4.3.5.1.2. Kapiller elektroforez

Kapiller elektroforez ilk defa 1980'lerin sonlarında uygulanmış olmasına rağmen teknik hızla popülarite kazanmış ve 1990'lı yılların ortalarında ise rutin adli analizlerde kullanılmaya başlanmıştır. Kapiller elektroforez sistemi ince bir kapiller tüp, ikili tampon sistemi, iki elektrot, yüksek voltajlı bir güç kaynağı, lazer kaynağı, floresan detektörü, otomatik örnek enjeksiyonu ve deteksiyonunun kontrol edileceği bir bilgisayardan oluşmaktadır. Kapiller elektroforezde ayırıcı ortam olarak viskoz polimer çözelti kullanılır ve jel elektroforezinde olduğu gibi negatif yüklü DNA molekülleri pozitif elektroda doğru hareket ederler. Daha büyük DNA molekülleri daha yavaş hareket ederken küçük boyutlu DNA fragmanları ise hızlı hareket ederler ve sonuç olarak boyut farklılıklarına dayalı bir ayırım gerçekleştirilir. Yaklaşık 50 cm uzunluk ve 50 µm çapındaki ince cam bir tüp DNA molekülleri için bir eleme matrisi oluşturacak olan viskoz polimer çözeltisi ile doldurulur. Örnekler numune tepsisine (tray) yerleştirildikten sonra her bir örnek sırasıyla kapillere enjekte edilir ve yüksek voltaj altında (15.000 volt) DNA fragmanları birbirinden ayrılır. Günümüzde STR analizi için dizayn edilmiş ticari kitlerin tamamı floresan boyalarla işaretlenmiş PCR primerleri kullanılmaktadır. Elde edilen PCR ürünleri bir lazer ışını ile uyarılarak bilgisayarlı veri toplama sayesinde hızlı şekilde analiz edilir ve dijital ortamda depolanan sonuçlar daha sonra belirli yazılımlar kullanılarak değerlendirilir (27, 44). Kapiller system Şekil 5'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 5: Kapiller elektroforez sisteminin şematik gösterimi (27)

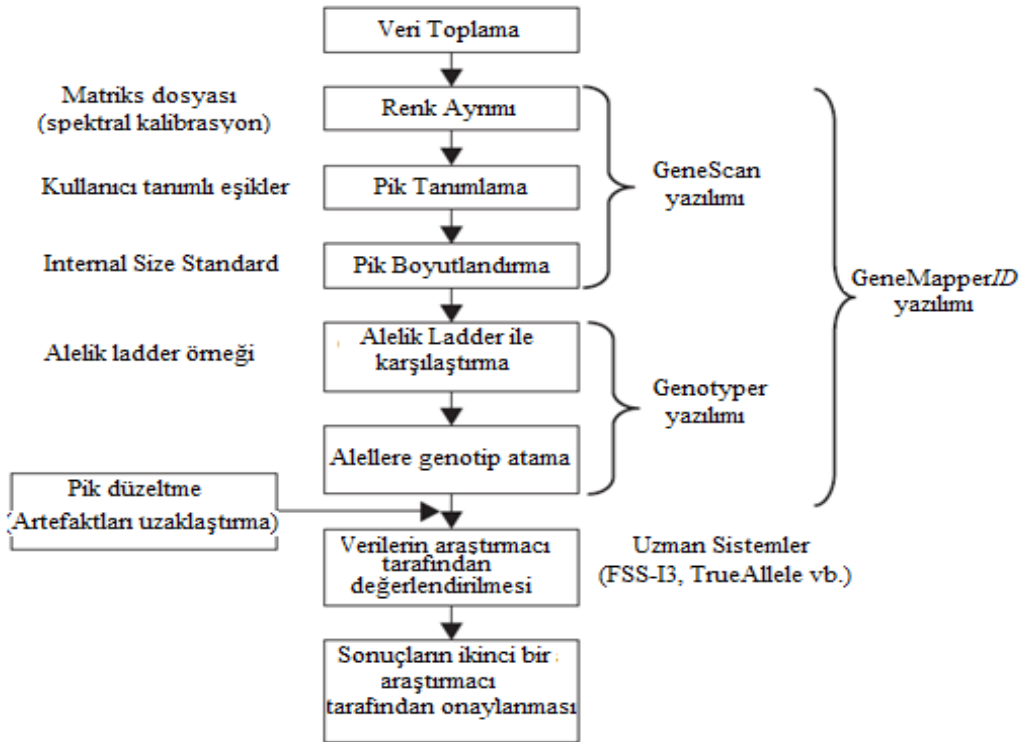
Kapiller elektroforez, jel elektroforez sistemleri ile kıyaslandığında bir takım avantaj ve dezavantajlara sahiptir. İlk ve en önemli avantajı enjeksiyon, ayırma ve tespit etme olmak üzere STR analizinin tüm adımlarının tamamen otomatize bir sistem içinde gerçekleştirilmesiyle çoklu örneklerin kolaylıkla çalışılabilmesini mümkün kılmıştır. Çok az miktarda örnek yeterli olduğundan dolayı örneklerin tekrar çalışılması gerektiği durumlarda avantaj sağlar. Kapiller elektroforezde uygulanan elektrik alan, jel elektroforezine kıyasla 10-100 kat daha güçlü olduğundan dolayı sonuçlar daha kısa sürede elde edilir ve ayırım dakikaları içinde gerçekleştirilebilir. Diğer bir önemli avantajı ise verinin elektronik formatta arşivlenecek şekilde dizayn edilmiş olmasıdır. Örnek kapillerin içinde olduğundan bitişik kuyudan çapraz kontaminasyon riski de yoktur (44, 45). Şekil 6'da 16 kapiller sistemli ABI 3130xl Genetik Analizörün görüntüsü verilmiştir.



Şekil 6: 16 kapiller sistemli ABI 3130xl genetik analizör (27)

4.3.5.2. Sonuçların değerlendirilmesi ve genotiplendirme

STR genotipi belirli bir lokus için var olan alel olarak tanımlanır ve genellikle alel içerisinde bulunan tekrarların sayısı olarak ifade edilir. STR profili ise bütün lokuslar için elde edilen tek bir sayı dizisine dönüştürülmüş genotiplerin kombinasyonu ile elde edilmektedir. Aynı örnekten elde edilen ancak farklı primer setleri ile amplifiye edilen STR alellerinin boyutları farklılık göstermektedir ancak aynı PCR primer seti ile hazırlanmış lokusa özel alelik ladder kullanıldığında alellerin pik büyüklükleri doğru bir şekilde genotiplendirilebilir (16, 67). Sonuçların değerlendirilmesinde, DNA molekülüne bağlı olan floresan boyalardan elde edilen sinyalin elektroforezde birbirlerinden ayrılan DNA moleküllerinin nispi miktarlarını ölçülerek yapılmaktadır (48, 49). STR genotiplendirme işleminin adımları Şekil 7’de kısaca gösterilmektedir.



Şekil 7: STR profilinin belirlenmesinde genotiplendirme basamakları (16)

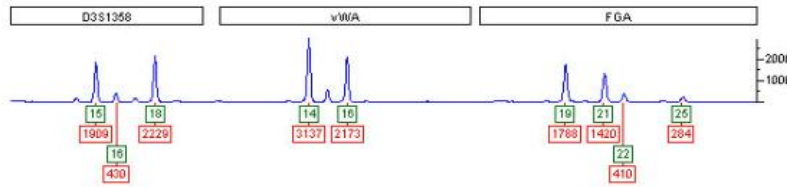
Elektroforegramdan farklı alellere ait boyut, pik yüksekliği ve pik alanı bilgileri elde edilebilmektedir. Analiz sırasında farklı boya renkleri birbirinden ayrılır, DNA parçalarını temsil eden pikler uygun renk ile ilişkilendirildikten sonra internal size standard ile karşılaştırılarak boyutlandırılır. Son olarak araştırılan örneğe ait PCR ürünlerinin boyutları alelik ladder ile karşılaştırılarak pikler numaralandırılır. Alelik ladder tekrar sayısı bilinen alellerden oluşmaktadır ve belirli bir STR lokusundaki tekrar ünitelerinin sayısı belirlenirken

bir ölçüm cetveli gibi kullanılarak bilinmeyen örneğin alellerinin ve genotipin belirlenmesinde kullanılmaktadır (13, 50, 51).

4.3.5.2.1. Genotiplendirmeyi Etkileyen Faktörler

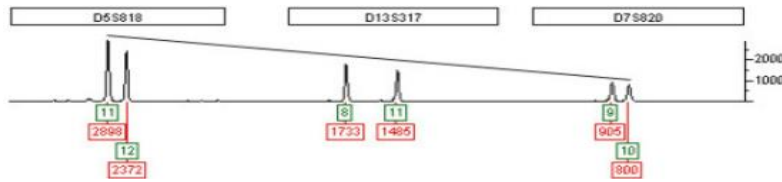
Doğru bir genotiplendirmenin elde edilmesinde önemli olan biyoloji ya da teknikle ilgili çeşitli faktörler vardır. Aşağıda genotiplendirmeyi etkileyen faktörlerden kısaca bahsedilmiştir.

- *Karışım örnekler:* Genotiplendirme sırasında karşılaşılan en yaygın problemlerden biridir. Özellikle cinsel suçlardan elde edilen biyolojik materyallerin çalışılması sırasında araştırılan lokuslardan en az birinde üç veya daha fazla alel gözlenmesi durumudur (52, 53).



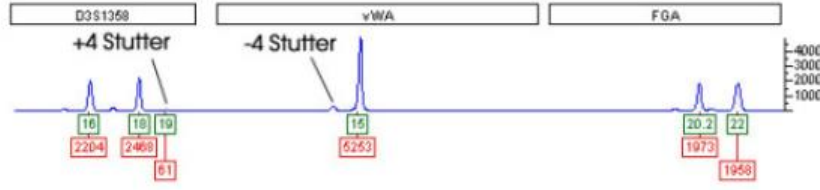
Şekil 8: Karışım örnek profil örneği (52)

- *DNA Degradasyonu:* Çalışılacak örnek eski olduğunda ya da kimyasallar gibi çeşitli koşullara maruz kaldığında DNA'nın yapısında bir takım bozulmalar olabilir. Degradasyon; amplicon boyutu arttıkça giderek düşen pik yüksekliklerinin gözlenmesi ile karakterize edilir. Mini STR'ler degrade DNA örneklerinden doğru profilin elde edilmesi açısından önemli bir keşif olmuştur (54, 55).



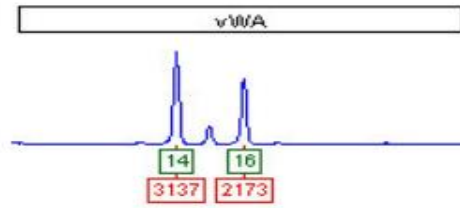
Şekil 9: DNA degradasyonu gösteren profil örneği (52)

- *Stutter Pikler:* Stutter pikler hemen hemen tüm elektroforegramlarda karşılaşılan bir durumdur. PCR amplifikasyonu sırasında; DNA'nın bir zinciri kopyalanırken polimeraz yerini kaybedebilir ve genellikle ileri yada geriye doğru dört baz çifti kayar. Stutter pikler genotiplendirmede gerçek pikden hemen önce ya da hemen sonra meydana gelen küçük pikler olarak karakterize edilirler (55, 56).



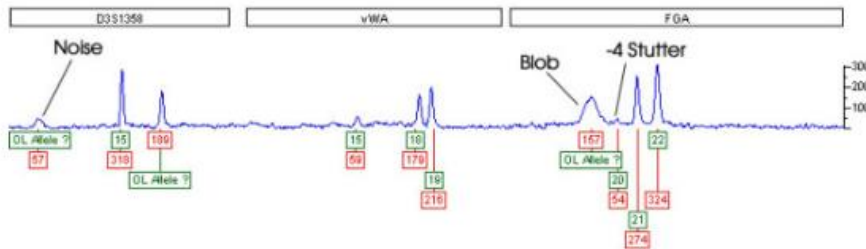
Şekil 10: Stutter pik gösteren profil örneği (52)

- *Pik Yüksekliğinde Dengesizlikler:* Pik yüksekliği dengesizliği iki alel içeren heterozigot lokuslarda gözlemlenmektedir. Aynı kişiden alınan örneğe ait elektroforegramdaki aleller yükseklik açısından genele olarak eşdeğer olmalıdır. Bu nedenle genotiplendirme sırasında dengesizlik gözlemlenmesi durumunda örneğin karışım olup olmadığı açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. İki tepe noktası arasında %30'dan daha fazla bir fark olduğunda bu durum pik yüksekliğinde dengesizlik olarak değerlendirilir (55-57).



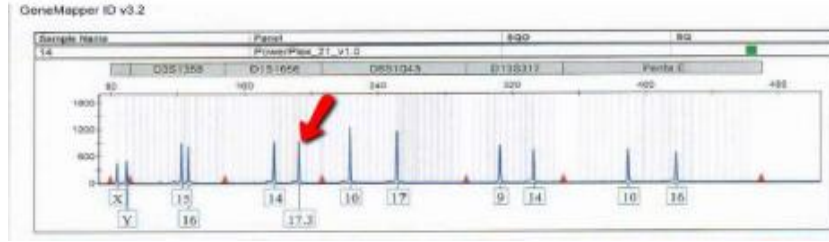
Şekil 11: Dengesiz pik yüksekliği örneği (52)

- *Leke (blob) ve Gürültüler (noise):* Analiz sırasında fazla boyalar biraraya toplanarak elektroforegramda bir boya lekesi oluşturabilir. Boya lekeleri elektroforegramda farklı yüksekliklerde gözlemlense de birçoğu geniş bir şekil gösterme eğilimindedir. Genotiplendirmede doğru aleli maskeleyebileceği için önemlidir. Gürültü ise tüm çalışmalarda gözlemlenir ve taban çizgisi boyunca küçük pikler olarak karakterize edilir. Gürültünün çok fazla olması sonuçların değerlendirilmesinde sorun yaratabilir. Hava kabarcıkları, kristaller ve örnek kontaminasyonu elektroforegramda gürültü olarak ortaya çıkabilir (16, 55).



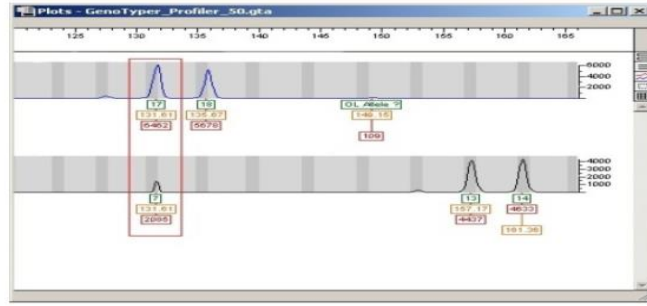
Şekil 12: Leke (blob) ve gürültü (noise) gösteren profil örneği (52)

- *Off-ladder Aleller:* İncelenen lokus için alelik ladder alanı dışındaki bir bölgede gözlemlenen alellerdir. Off-ladder aleller örneklerin tekrar çalışılması, ya da örneğin tek lokuslu primerler ile tekrar amplifiye edilmesi ile doğrulanabilmektedirler (55, 58).



Şekil 13: Off-ladder alel gösteren profil örneği (52)

- *Pull-up:* Elektroforez sonuçları oluşturulurken kullanılan yazılım, farklı boya renklerinin birbirinden ayıramamasından dolayı bir renkte gözlenen bir pik bir diğer renk için sensör tarafından kaydedilerek ve ikinci bir pik oluşmasına neden olur (16, 52).



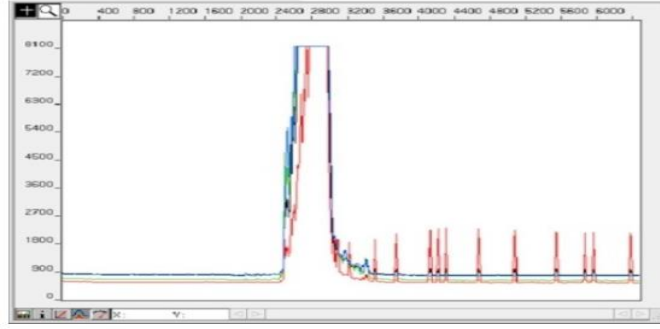
Şekil 14: Pull-up gösteren profil örneği (52)

- *Spike (Voltaj kaynaklı pikler):* Spike analiz sırasında ani voltaj yükselmesinden kaynaklanan teknik artefaktlardır. Genellikle ince pikler olarak karakterize edilirler (52, 56).

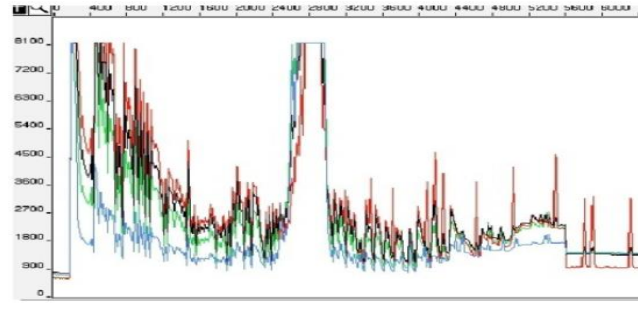


Şekil 15: Spike (voltaj kaynaklı pikler) örneği (52)

- *Ham Data Problemleri:* Eğer analiz başarısız ise analizörden alınan ham verilere bakmak gerekmektedir. Ham verinin GenoTyper çıktı grafiğine benzeyen yapıda pikler tarafından takip edilen geniş bir bant içermesi gerekmektedir (52, 56). Kötü ham veri ise pürüzlü bir taban çizgisi ve düzensizlikle karakterize edilir.



Şekil 16: Uygun ham data gösteren profil örneği (52)



Şekil 17: Ham data problemi gösteren profil örneği (52)

4.4. Adli DNA Analizindeki Yeni Gelişmeler

Biyoteknoloji ve adli DNA alanındaki gelişmeler son yüzyılda hızla ilerlemekte olup hem yeni tekniklerin geliştirilmesi hem de otomasyon açısından her adımda devam etmektedir. Tablo IV’de adli DNA analizinin tarihsel gelişimi kısaca verilmiştir. Adli DNA analizindeki yeni nesil ilerlemelerin bir kısmı bu bölümde kısaca özetlenmiştir.

Tablo IV. Geçmişten günümüze Adli DNA analizinin gelişimi (49).

Aşama	Zaman Dilimi	Gerçekleştirilen Çalışma
Keşif	1985-1995	<ul style="list-style-type: none"> İlk çalışma ve ilk yayınlar; Tekli ve çoklu lokus VNTR’lerin RFLP ile çalışılması; DQA1 ve tek lokuslu STR’ler ile ilk PCR çalışmaları.
Stabilizasyon ve standardizasyon	1995-2005	<ul style="list-style-type: none"> İngiltere (1995), ABD (1998) ve birçok Avrupa ülkesinde ulusal veritabanı çalışmaları; Multipleks STR sistemleri ve kapiller elektroforez için standardizasyon çalışmaları; Otozomal STR ve Y-STR kitlerinin piyasaya sürülüşü; ABD ve Avrupa için çekirdek ana lokusların seçilmesi;

Aşama	Zaman Dilimi	Gerçekleştirilen Çalışma
		<ul style="list-style-type: none"> • FBI Kalite Güvence Standartlarının ABD’de uygulanması; • Avrupada standardizasyon ve kalite güvence amacıyla ENFSI (European Network of Forensic Science Institutes-Avrupa Kriminal Laboratuvarlar Organizasyonu) oluşumu.
Teknik ilerleme	2005-2015	<ul style="list-style-type: none"> • DNA veritabanının genişletilmesi; • Avrupa ve ABD’de genişletilmiş çekirdek ana lokusları kapsayan yeni STR kit çalışmaları; • Y-STR kullanımında artış; • Yeni genetik işaretlerin keşfi; yeni nesil çalışmalar ve cihazların geliştirilmesi, • Aile araştırmaları, STR alel varyasyonları araştırmaları.
Sofistike çalışmalar	2015-2025	<ul style="list-style-type: none"> • Hızlı DNA testi için laboratuvar dışında çalışma olanakları; • Alel diziliminden daha fazla bilgi edinme; • Daha hassas metodolojiler ile vaka değerlendirmesi; • Karışım örnek analizi için olasılık analizi ve yazılım çalışmaları; • Elde edilen genomik bilginin artmasıyla birlikte karşı karşıya kalınacak etige ilişkin çalışmalar.

(Butler JM. The future of forensic DNA analysis. *Phil. Trans. R. Soc.* (2015) B 370: doi: 20140252. yayımından alınmıştır.)

4.4.1. Yeni genetik işaretlerin keşfi

Kısa tekrar dizileri ve kapiller elektroforezin keşfi adli DNA genotiplendirmede tercih edilen bir araç haline gelmiş olsa da gelişen teknolojiler ile birlikte yeni arayışlar da devam etmektedir. Lokus sayısının arttırılmasının nedenleri ulusal veritabanındaki tesadüfi eşleşme olasılığını minimize etmek ve kayıp şahısların kimliklendirme vakalarında ayırım gücünü arttırmak olarak sıralanabilir (59). Günümüzde kullanılmakta olan ticari kitler 15-22 otozomal STR lokusunun amplifikasyonunu sağlamakta ancak yeni lokuslara yönelik çalışmalara devam edilmektedir (49). 2011 yılında CODIS çekirdek lokus çalışma grubu mevcut lokus sayılarının arttırılmasına yönelik çalışmalar yapılacağını duyurmuş ve bunun üzerine üretici firmalar hem Avrupa hem ABD’de kullanılan lokusları çoğaltmaya yönelik çalışmalara başlayarak yeni multipleks kitler piyasaya sürmüştür (60). Bu tez çalışmasında da Qiagen firması tarafından 2010 yılında piyasaya sürülmüş olan ve CODIS’te yer almayan lokusları araştırmaya yönelik dizayn edilmiş Investigator HDplex kiti kullanılmıştır.

4.4.2. Mini STR'ler

Çevresel faktörler, nem ya da ısıya maruz kalma DNA molekülünün küçük parçalara ayrılmasına ve bozunmasına neden olur (61). PCR amplifikasyonunun gerçekleşebilmesi için kalıp DNA'nın sadece iki primerin bağlandığı yerde değil aynı zamanda primerler arasındaki alanda da eksiklik olmaması gerekir. Degrede DNA örneklerinin genotiplendirilmesi ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılarak primerlerin STR tekrar bölgelerine mümkün olduğunca yakın şekilde dizayn edilmesi sonucunda mini STR lokusları oluşturulmuştur (62). Daha küçük PCR ürünlerinin elde edilmesini mümkün kılan bu primer değişiklikleri 'mini STR' olarak adlandırılmaktadır. 2007 yılında ilk ticari mini STR kiti olan AmpF ℓ STR MiniFiler PCR Amplification Kit (Life Technologies) piyasaya sürülmüştür (63).

4.4.3. SNP'ler

SNP'ler genomdaki tek bir bazdaki değişim ile meydana gelen ve popülasyondaki frekansı %1'in üzerinde olan nokta mutasyonlarıdır (64). Yüksek sıcaklık, nem ve olumsuz çevre koşulları gibi çeşitli faktörlerden dolayı zor vakalardan elde edilen biyolojik materyallerden 150 bp'den daha küçük DNA elde edilebilmektedir. SNP'ler tek bir pozisyonda bulduklarından dolayı bu tip problemlerden etkilenmez ve bu özelliğinden dolayı degrede örneklerde tercih edilen başarılı bir yöntem haline gelmiştir. Ancak yüksek ayırım gücü sağlamak için 50-100 arasında SNP lokusunun incelenmesi gerekmektedir (65). SNP'ler genomda hem intron hem de ekson bölgelerinde bulunmaktadır. Genomun kodlama yapmayan bölgelerinde bulunan SNP'ler popülasyon genetiği, evrimsel araştırmalar ve adli analizlerde kullanılırken; kodlama yapan bölgelerde bulunan SNP'ler fenotipik özelliklerle ilişkilendirilebilirler. Özellikle adli vakalarda olay yerinden elde edilen biyolojik materyalden kişinin fenotipine ait bilginin elde edilebilmesi bu alandaki önemli gelişmelerden biri olmuştur (66).

4.4.4. Yeni nesil dizileme (Next-Generation Sequencing)

Yeni nesil dizileme (NGS); günümüzde kullanılmakta olan STR, mitokondrial DNA ve Y-kromozom haplotipleri gibi önemli belirteçlerin araştırılmasını mümkün kıldığından kişi identifikasyonunda nihai genotiplendirme olma potansiyeline sahiptir. STR analizinin yeterli olmadığı, örnek miktarının az ya da degrede olduğu veya DNA veritabanında STR eşleşmesi olmadığı durumlarda alternatif belirteçlerin kullanılması gündeme gelmektedir (67). Yeni nesil

dizileme ile tek bir örnek için multipleks çalışılarak farklı markır sistemlerin bir arada çalışılması mümkündür. NGS teknolojisi yüksek verim kapasitesi ile sadece adli bilimlerde değil hastalıkların tanı çalışmaları, agrigenomik ve antik DNA analizleri gibi çok farklı alanlarda da kullanılmaktadır. Diğer alanlarla kıyaslandığında adli DNA analizi oldukça degrede ya da kontamine olmuş ürünlerle çalışmak gerektirdiğinden bu anlamda NGS teknolojisi birçok avantaj sağlamaktadır.

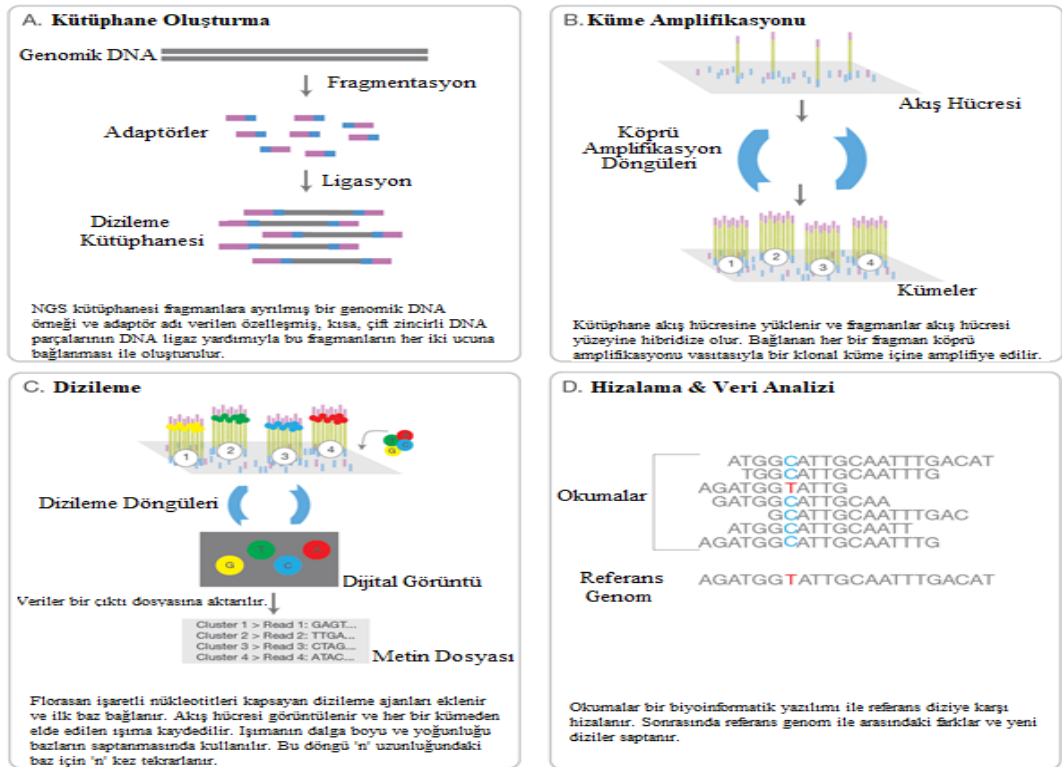
Günümüzde adli DNA analizlerinin büyük çoğunluğu PCR ve kapiller elektroforeze dayalı fragman analizi teknolojisi ile gerçekleştirilmektedir. Otomatize jel elektroforezi sistemi büyük avantajlar sağlamasına rağmen, birden çok polimorfik sistemi tek bir reaksiyonda analiz etme yeteneği, mevcut markırların daha düşük çözünürlüğe sahip olması, degrede DNA örneklerinin analizinde karşılaşılan sorunları gibi bazı dezavantajlar NGS teknolojisi ile aşılabilmektedir. Adli DNA bankalarındaki rastgele eşleşme olasılığı minimize etmek amacıyla rutinde araştırılan STR markırının haricinde yeni STR lokuslarının da çalışılması tavsiye edilmektedir. Ancak mevcut sistemlerle daha fazla STR belirtecinin analizi zordur. Klasik sistemde DNA fragmanlarının boyutlarına göre ayırım yapıldığından dolayı birbirinin aynı ya da benzer uzunluktaki aleller birbirlerinden ayırt edilememektedir. Adli DNA analizlerinde bir diğer sorun ise birden fazla kişinin DNA'sının olduğu karışım örneklerinde karşılaşılan düşük deteksiyon oranlarıdır (59, 68).

Okuma uzunluğu genellikle çok kısa olduğundan dolayı NGS teknolojisi başlangıçta STR analizi için uygun değildi. Ancak teknolojik ilerlemelerle birlikte ortalama okuma uzunluğu iyileştirildi. Günümüzde NGS ile benzer boyuttaki aleller bile kolaylıkla birbirinden ayrılabilen, dijital okuma sayısı karışım örneklerinin ve karmaşık vakaların aydınlatılması mümkün olmaktadır. NGS teknolojisindeki ilerlemeler yakın gelecekte maliyetlerin düşmesini ve adli bilimlerde daha çok tercih edilen bir yöntem olmasını sağlayacaktır (69, 70).

Yeni nesil dizilemenin temel prensibi kapiller elektroforeze dayanan Sanger dizileme yöntemine benzerdir. Array temelli NGS yönteminin keşfedilmesi ile birlikte mevcut teknikler birleştirilerek çok yüksek çözünürlüklü, hızlı ve verimli sonuçlar elde etmek mümkün olmuştur. Yeni nesil DNA dizileme kütüphane hazırlama, amplifikasyon, dizileme ve veri analizi olmak üzere dört temel adımdan oluşmaktadır. Öncelikle DNA enzimatik olarak ya da sonikasyon yöntemi ile daha küçük parçalara ayrılarak rastgele DNA fragmanlarından bir kütüphane oluşturulur. Daha sonra adaptör olarak adlandırılan kısa, çift zincirli sentetik DNA parçaları DNA ligaz yardımıyla bu fragmanlara bağlanır. İkinci aşamada kütüphane akış hücresine yüklenir ve fragmanlar kütüphanedeki adaptörleri tamamlayıcı yüzeye bağlı oligolar tarafından yakalanır ve her bir fragmanın amplifikasyonu gerçekleşir. Üçüncü aşamada florasan olarak

işaretlenmiş nükleotitleri içeren dizileme reaktiflerinin eklenmesi ile bazlar eşleşir. Adaptörler tek zincirli DNA parçalarına işaretli bazların eklenmesi ile diğer zincirin sentezini sağlar. Her yeni bazın eklenmesi pH yada iyon dengesinde değişikliğe neden olarak bir ışığa yaratır. Hücre görüntülenir ve her bir kümeden yayılan ışığa kimyasal ve foto sensörler sayesinde belirlenerek kaydedilir. Reaksiyon tamamlandığında okumalar biyoinformatik yazılım sayesinde referans diziyeye karşı sıralanır ve referans genom ile yeni dizi arasındaki farklılıkların tespit edilmesi ile analiz gerçekleştirilir (68, 70, 71).

Şekil 18 yeni nesil dizileme (NGS) yöntemini şematik olarak göstermektedir.



Şekil 18: Yeni nesil dizileme (NGS) şematik gösterimi (70)

4.5. Investigator HD-Plex Kiti

Bu tez çalışmasında Qiagen firması tarafından piyasaya sürülmüş ve spesifik adli vakalar ile babalık testi çalışmalarında kullanılmak üzere dizayn edilmiş multipleks Investigator HDplex kiti kullanılmıştır. Akrabalık ilişkileri için de yüksek ayırım gücü sağlayabilen bu ürün inhibitörlere karşı dayanıklı ve duyarlıdır. Yakın akrabaların dahil olduğu zorlu adli vakalarda araştırılan bölge sayısı artırılarak daha güvenilir sonuçlar alınabilmektedir. Adli alanda yaygın olarak kullanılan STR lokuslarından farklı olarak, ayırım gücü yüksek ve oldukça polimorfik yeni 10 STR lokusu, daha önce ticari kitlerde kullanılan D18S51 ve SE33 STR lokusları ve ayrıca amolegenin bölgelerinden oluşmaktadır. Standart koşullar altında kitin kullandığı

optimal DNA miktarı 0.2-1.0 ng'dır ancak yapılan çalışmalarda 0.1 ng altındaki DNA miktarları ile de güvenilir sonuçlar elde edilmiştir. Amelogenin, D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366 bölgeleri 6-FAM™; D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055 bölgeleri BTG; D10S2325, SE33 bölgeleri ise BTY floresan boya ile işaretlenmiş primerler kullanılarak tek bir PCR reaksiyonunda amplifiye edilmektedir. Tablo V'de Investigator Hdplex Kiti'nin kromozom bölgeleri, STR tekrar dizileri ve alelleri verilmiştir (72).

Tablo V. Investigator HDplex Kit (Qiagen) araştırılan STR lokuslarına özgü bilgiler (72).

Lokus	GenBank Erişim No	Kromozom Bölgesi	Referans Alel Tekrar Dizisi	Floresan Boya	Referans Alel	Alel Aralığı
Amelogenin X	M55418	Xp22.1-22.3		6-FAM		
Amelogenin Y	M55419	Yp11.2		6-FAM		
D2S1360	G08130	2p24-p22	[TATC] ₉ [TGTC] ₉ [TATC] ₅	6-FAM	23	19-32
D3S1744	G08246	3p24	[TCTA] ₂ TA[TCTA] ₁₂ TCA [TCTA] ₂	6-FAM	16	13-22
D4S2366	G08339	4p16-15.2	[ATAG] ₉ ATTG [ATAG] ₂	6-FAM	12	9-15
D5S2500	G08468	5q11.2	[ATAG] ₁₂	BTG	12	9-18
D6S474	G08540	6q21-22	[TAGA] ₅ TGA [TAGA] ₁₂	6-FAM	17	11-20
D7S1517	G18365	7q31.33	[GAAA] ₁₁ CAAA [GAAA] ₂ CAAA [GAAA] ₂	6-FAM	17	14-31
D8S1132	G08685	8q23.1	[TCTA] ₉ TCA [TCTA] ₉ TCTGTCTA	BTG	20	12.1-27
D10S2325	G08790	10p12	[TCTTA] ₁₂	BTY	12	6-23
D12S391	G08921	12p13.2	[AGAT] ₅ GAT [AGAT] ₇ [AGAC] ₆ AGAT	6-FAM	19.3	13-28
D18S51	L18333	18q21.3	[AGAA] ₁₃	BTG	13	5.3-42
D21S2055	G27274	21q22	[CTAT] ₂ CTAA [CTAT] ₉ CTA [CTAT] ₃ TAT [CTAT] ₃ TAT [CTAT] ₄ CAT[CTAT] ₂	BTG	24	16.1-39
SE33	NG000840	6q14.2	[AAAG] ₉ AA [AAAG] ₁₆	BTY	25.2	3-50

(Investigator HDplex Handbook, <https://www.qiagen.com/at/resources/resourcedetail?id=7d1661bd-a47b-4b19-a882-357a61b48c64&lang=en> (Mayıs 2018) websitesinden alınmıştır).

5. Gereç ve Yöntem

Bu tez çalışmasında Türkiye'nin tüm bölgelerini yansıtacak şekilde çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllü kişilere ait kan örnekleri kullanılmıştır. Aralık 2011 ve Kasım 2012 tarihleri arasında toplanan 100 adet örnekten DNA izolasyonu ve DNA miktar tayini yapıldıktan sonra Investigator HDplex kiti kullanılarak D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325, D18S51 ve SE33 lokuslarının PCR'de amplifikasyonu yapıldı ve kapiller elektroforezde yürütüldü. Elektroforez sonucu kişilere ait elde edilen genotipler kullanılarak söz konusu STR lokuslarının Türkiye'deki gen sıklıkları belirlendi.

5.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve malzemeler

Çalışmanın deneysel aşamaları İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Adli Moleküler Genetik Laboratuvarı ve öğrenci laboratuvarında bulunan demirbaş cihazlar ve laboratuvar ekipmanları ile gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması sırasında kullanılan cihaz, malzeme ve kitlerin listesi aşağıda detaylı bir şekilde verilmiştir.

5.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

- Isı Döngü Cihazı-PCR (ABI GeneAmp PCR System 9700)
- Bilgisayar kontrollü Genetik Analizör (ABI PRISM 3130)
- Otoklav (Nüve)
- Qubit Florometre (Invitrogen™)
- Isıtıcı blok (Eppendorf)
- Mikrosantrifüj (Heraeus)
- Vorteks (Nüve)
- Derin dondurucu (Arçelik)

- Buzdolabı (Sharp)
- Otomatik Pipet Seti (Eppendorf) (0.1µl-2.5 µl, 2.5 µl-20 µl, 10 µl-100µl, 100 µl-1000µl)

5.1.2. Çalışmada kullanılan kitler ve sarf malzemeleri

- DNA izolasyon kiti (Qiagen Mini QIAamp®)
- Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen™)
- Investigator HDplex Kit (Qiagen)
- Matriks Standart BT5 (Qiagen)
- Hi-Di Formamid (Thermo Fisher Scientific)
- Etanol (%96-100)
- 36 cm Capiller (Thermo Fisher Scientific)
- Genetik analizör tampon çözeltisi (10X Buffer with EDTA- Thermo Fisher Scientific)
- POP-4 Polimer (Thermo Fisher Scientific)
- 96-well optik reaksiyon plate (MicroAmp- Thermo Fisher Scientific)
- 96- well plate septa (Thermo Fisher Scientific)
- 1.5 ml'lik Ependorf tüp (Axygen)
- 0.2 ml'lik PCR tüpü (Axygen)
- 0.1-10 µl'lik filtreli pipet ucu
- 1-20 µl'lik filtreli pipet ucu
- 200 µl'lik filtreli pipet ucu
- 1000 µl'lik filtreli pipet ucu
- Tek kullanımlık “Pudrasız” muayene eldiveni

5.2. Çalışma Planı

Deneyle aşağıda belirtilen plana göre gerçekleştirilmiştir.

- DNA örneklerinin toplanması
- Toplanan örneklerden DNA izolasyonu
- İzole edilen DNA'ların miktar tayini
- PCR ile lokusların çoğaltılması
- PCR ürünlerinin kapiller elektroforezde yürütülmesi
- Elde edilen verilerin analizi ve istatistiksel değerlendirmeleri

5.2.1. DNA örneklerinin kaynağı

Çalışma İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulunca 31.10.2011 tarih, 40222 sayılı Etik kurul kararı ile uygun görülerek (Ek 2) toplanan kan örnekleri Türkiye'nin tüm bölgelerini temsil edecek şekilde çalışmaya katılmayı kabul eden Adli Tıp Enstitü öğrencilerinden ve gönüllü kişilerden temin edilmiştir. Aralık 2011 ve Kasım 2012 tarihleri arasında, toplam olarak 100 kişiden yaklaşık 2-3 ml kan örneği mor kapaklı EDTA'lı tüplere alındıktan sonra izolasyon yapılana kadar önce +4°C'de, uzun süreli saklama için ise -18°C'de muhafaza edilmiştir.

5.2.2. Kan örneklerinden DNA izolasyonu

Toplanan kan örneklerinden DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) ile yapılmıştır. Bütün santrifüj aşamaları oda sıcaklığında (15-25°C) gerçekleştirilmiştir. İzolasyon prosedürü aşağıda verilmiştir.

- Her bir periferik kan örneğinden 300 µl alınarak 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
- 20 µl Proteinaz K ve 200 µl Buffer AL eklenerek 15 saniye vortekslendi.
- 56°C'de 10 dakika inkübe edildi.

- Tüpün duvarındaki damlaların aşağı inmesi için, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 200 µl etanol (%96-100 oranında) eklendi ve 15 saniye vortekslendi.
- Vorteksdan sonra tekrar 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Elde edilen karışım 2 ml'lik toplama tüpünün içinde bulunan, QIAamp® mini kolona aktarıldı ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Alttaki 2 ml'lik toplama tüpü atıldıktan sonra, QIAamp® mini kolon, 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- 500 µl AW1 tamponu eklenerek, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Alttaki 2 ml'lik toplama tüpü atıldı ve QIAamp® mini kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- 500 µl AW2 tamponu eklenerek, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- QIAamp® mini kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirilerek 14000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi ve membranın kuruması sağlandı.
- QIAamp® mini kolon, 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüpüne yerleştirilerek, 200 µl AE tamponu eklendi.
- Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildikten sonra, 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
- QIAamp® mini kolonu atıldı ve 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüpünün kapağı kapatıldı.
- Elde edilen izolatlar uzun süreli saklama için -20°C'de muhafaza edildi.

5.2.3. DNA miktarlarının belirlenmesi

İzolasyonu takiben yapılan DNA miktar tayini, söz konusu çalışmanın optimizasyonu açısından önemlidir. Bu tez çalışmasında; elde edilen DNA izolatlarının miktar tayini florometrik yöntem ile Quant-iT™ dsDNA HS Assay kiti (Invitrogen™) ve Qubit® fluorometer kullanılarak saptanmıştır. Miktar tayini prosedürü aşağıda verilmiştir.

- Miktar tayini yapılacak örnek sayısı ve cihazın kalibrasyonu için gerekli 2 adet standartla birlikte toplam sayı belirlenerek 0.5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüpleri hazırlandı.
- Her bir örnek için 199 µl Quant-iT™ dsDNA HS Buffer ve 1 µl Quant-iT™ dsDNA HS Reagent karışımı içeren 200 µl' lik karışımlar hazırlandı.
- Cihaz kalibrasyonu için her ölçümde Standart 1 ve Standart 2 kontrolleri kullanıldı ve her bir standart için cihaza özgü tüpe alınan 190 µl buffer-reagent karışımına 10 µl standart eklendi.
- Örnekler için ise cihaza özgü tüpe alınan 190 µl buffer-reagent karışımına 1 µl standart eklenerek birkaç saniye vortekslendi.
- Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
- Standart 1 ve Standart 2 sırası ile Qubit™ fluorometer cihazında okutularak DNA konsantrasyonları belirlendi ve cihazın kalibrasyonu yapıldı.
- Kalibrasyonun ardından inkübe edilen örnekler cihaza yerleştirilerek otomatik olarak ölçüm gerçekleştirildi ve miktarlar not edildi.

Miktar tayini yapılan örnekler, PCR öncesinde, steril distile su ile konsantrasyonları 0.1-1 ng/µl DNA aralığında olacak şekilde sulandırıldı.

5.2.4. PCR aşaması (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325, D18S51 ve SE33 STR lokuslarının multipleks PCR çalışması, Investigator HDplex kiti kullanılarak ve firmanın tavsiye ettiği prosedür takip edilerek gerçekleştirildi (72).

5.2.4.1. PCR bileşenlerinin hazırlanması ve amplifikasyon

Qiagen Investigator HDplex kiti içeriğinde bulunan ve PCR sırasında kullanılacak olan kullanıma hazır ürünler Reaksiyon Mix A, Primer Mix Hdplex, Multi Taq2 DNA Polymerase, Nuclease-Free water ve Control DNA XY5'dir. PCR prosedürü aşağıda verilmiştir.

- Kit çalışma öncesinde -20°C 'den çıkarılarak primer solüsyonları ve template nükleik asitler çözdürüldü ve vortekslendi.
- Pozitif ve negatif kontrol de dahil edilerek her bir örnek için Tablo VI'da belirtilmiş olan reaksiyon karışımı hazırlandı.
- Nuclease-free su ve template DNA (örnek) hariç PCR için gerekli olan tüm bileşenleri içeren reaksiyon karışımı vortekslendikten sonra 0.5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüplerine uygun volümde (8 μl) dağıtıldı.
- DNA örnekleri konsantrasyonları 0.1-1 ng aralığında olacak şekilde sulandırıldı ve toplam hacim 25 μl olacak şekilde (17 μl) PCR karışımına eklendi.
- Kontaminasyon kontrolü ve sistemin verimli çalışıp çalışmadığını belirlemek için her bir döngü için negatif ve pozitif kontrol kullanıldı.

- PCR işlemi firma tarafından belirtilmiş olan ve Tablo VII'de belirtilmiş olan parametrelere uygun olarak Gene Amp 9700 (Thermo Fisher Scientific) cihazı ile gerçekleştirildi.
- PCR ürünleri ağızları parafilmle sıkıca kapatıldıktan sonra alüminyum folyo ile sarılarak +4 °C'e kaldırıldı.

Tablo VI. PCR bileşenleri ve miktarları.

PCR Bileşenleri	Hacim (µl)
Reaksiyon Mix A*	5.0 µl
Primer Mix	2.5 µl
Multi Taq2 DNA Polymerase	0.5 µl
Dilüe edilmiş template DNA	17.0 µl
Toplam Hacim	25 µl

* dNTP karışımı, MgCl₂ ve bovine serum albumin (BSA) içermektedir.

Tablo VII. PCR döngü parametreleri.

Sıcaklık	Bekleme Süresi	Döngü Sayısı	İşlem
94 °C	4 dk.	1	Başlangıç denatürasyonu
94 °C	30 sn.	30	Denatürasyon
60 °C	120 sn.		Primer Bağlanması
72 °C	75 sn.		Zincir Uzaması
68 °C	60 dk.	1	Son Uzama
10 °C	∞	—	Bekletme

5.2.5. PCR ürünlerinin elektroforezi

Elektroforez işlemi ABI PRISM® 3130 Genetik Analizör (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak gerçekleştirildi. Analize başlamadan önce 6-FAM, BTG, BTY, BTR ve BTO floresan belirteçleri ile spektral kalibrasyon yapılması gerekmektedir. Kalibrasyon prosedürü boyaların floresan emisyon spektrumlarının çakışmasını düzeltmek için kullanılan bir matriks

yaratır. Bu tez çalışması sırasında template dosyalarının kurulumu, spektral kalibrasyon ve matriks oluşturma destekleyici firma tarafından yapıldı. Analiz edilmek üzere hazırlanan PCR ürünleri kit prosedürüne uygun olarak, BT5 Matrix Standart, 36 cm kapiller, POP-4 polimeri ve DNA Size Standart 550 (BTO) kullanılarak kapiller elektroforezde yürütüldü. Çalışma sırasında 6-FAM, BTG, BTY, BTR ve BTO floresan işaretlerinin bir kombinasyonu olan ve ayrıca BT5 matriks standardı olarak da bilinen G5 filtre sistemi kullanıldı. PCR ürünlerinin elektroforeze hazırlanması, analizi ve elektroforegramların değerlendirilmesi ise ayrı başlıklar altında verilmiştir.

5.2.5.1. PCR ürünlerinin elektroforeze hazırlanması

- Öncelikle 12 µl Hi-Di Formamid ve 0.5 µl DNA Size Standard 550 (BTO) karışımı pozitif, negatif kontrol ve alelik ladder da göz önünde bulundurulacak şekilde her bir örnek için hazırlanarak kısa bir süre vortekslendi.
- Hazırlanan karışım her bir plate kuyucuğuna 12 µl olacak şekilde dağıtıldıktan sonra üzerine 1 µl PCR ürünü eklenerek 95⁰C’de 3 dk denatüre edildi. Benzer şekilde alelik ladder ve kontroller için de 1 µl yükleme yapıldı. Bu aşamada kuyucuklarda hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi.
- Denatürasyonu tamamlanan örnekler 3 dk buzda bekletilerek cihaza yüklendi.

5.2.5.2. Elektroforetik analiz

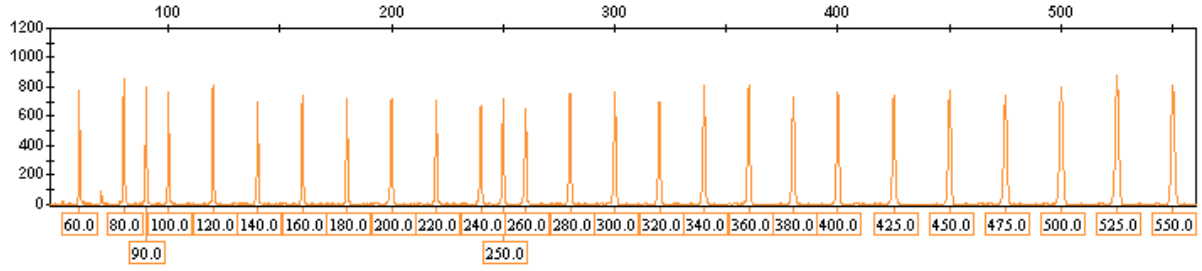
ABI PRISM® 3130 için elektroforez yükleme parametreleri Qiagen Investigator® Hplex kit protokolü takip edilerek Tablo VIII’de belirtilen şekilde ayarlandı. Enjeksiyon süresi, yürütme voltajı ve süresi kontrol edilerek 36 cm kapiller, POP4 polimeri ve DNA Size Standard 550 (BTO) kullanılarak kit protokolünde belirtilen koşullar altında elektroforez işlemi gerçekleştirildi.

Tablo VIII. Elektroforez parametreleri.

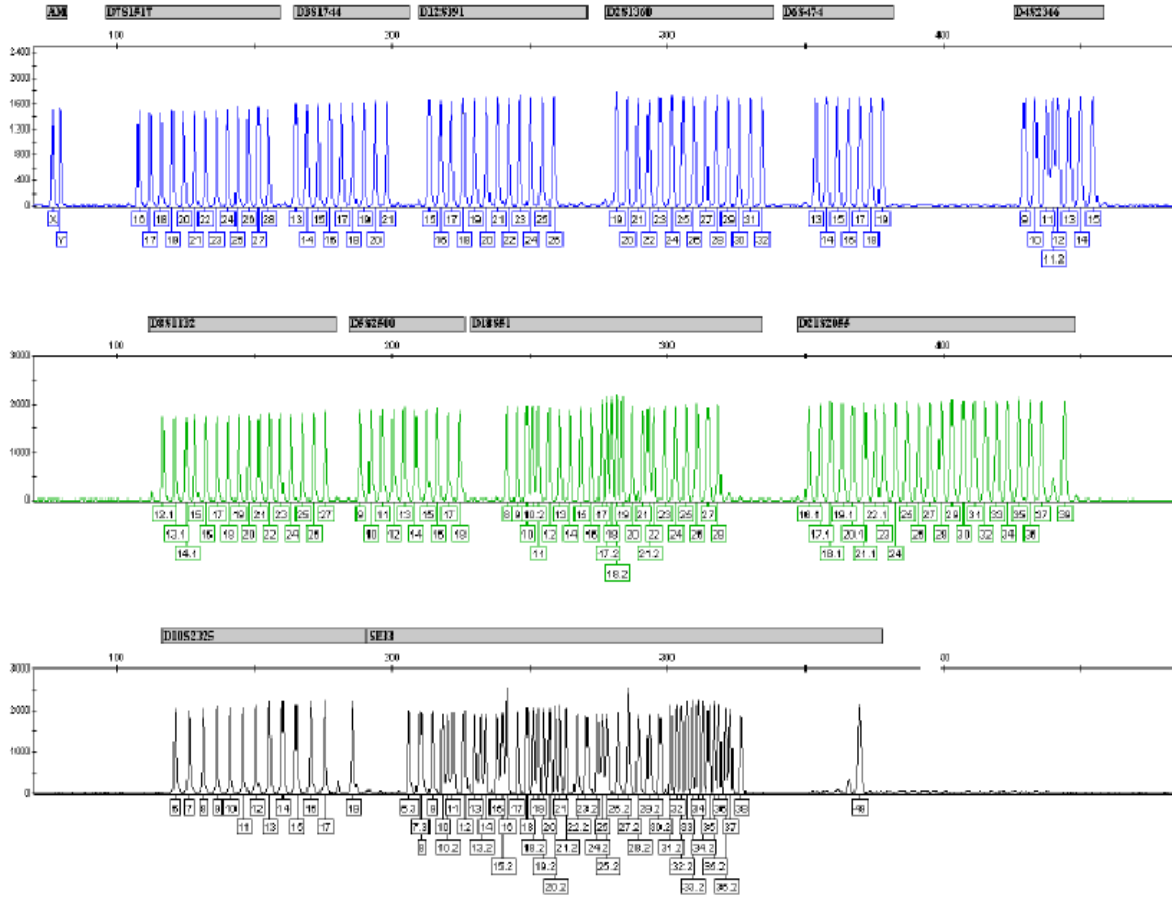
Parametreler	Değerler
Matriks	BT5
Filtre	G5
Enjeksiyon süresi	10 sn
Enjeksiyon voltajı	3 Kv
Yürütme süresi	1560 sn

5.2.5.3. Elektroforegramların değerlendirilmesi

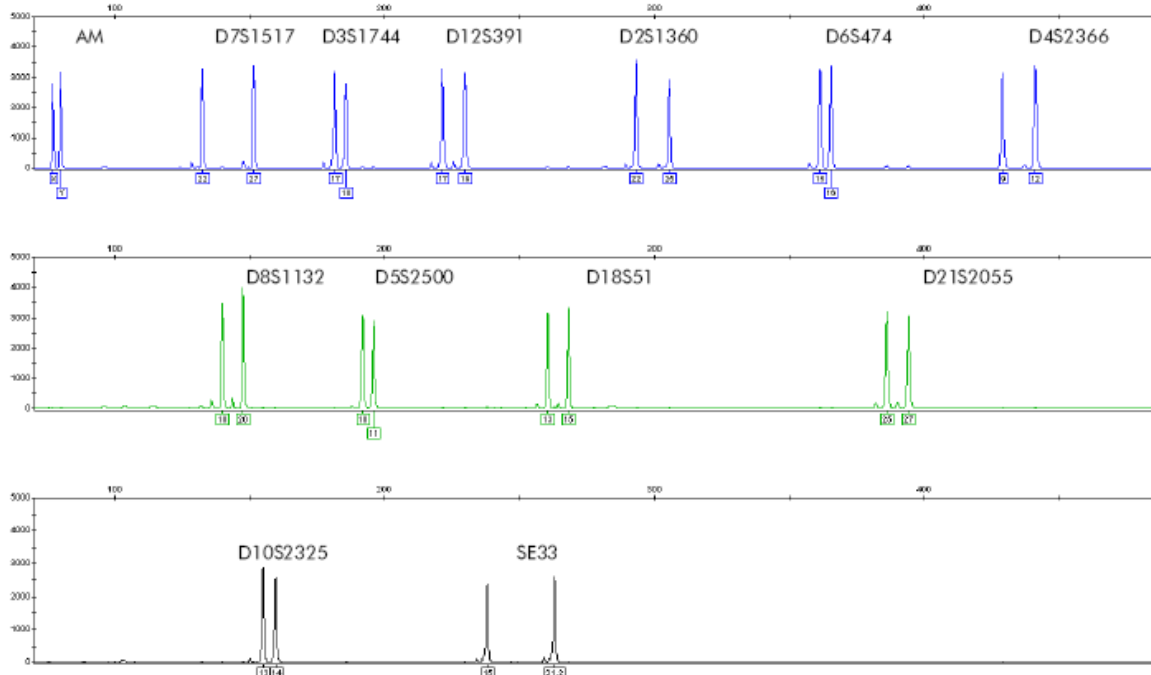
Elektroforez sonuçları elde edilen ham veriler Genemapper® IDX (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak analiz edildi. 6-FAM™ ile işaretlenen D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366 bölgeleri mavi renk; BTG ile işaretlenen D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055 bölgeleri yeşil renk; BTY ile işaretlenen D10S2325, SE33 bölgeleri sarı renk; BTO ile işaretlenmiş olan DNA size standard 550/BTO ise elektroforegramda turuncu renk ile gözlenmektedir. Çoğaltılan PCR ürünlerinin tam uzunluklarının tespiti; cihaz tipi, elektroforez koşulları ve kullanılan DNA Size Standartına bağlıdır. Bu çalışmada kullanılan DNA Size Standard 550 (BTO) için fragman uzunlukları 60, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 250, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 425, 450, 475, 500, 525, and 550 bp'dir. Her örnek için bu standart kontrol edildikten sonra, kapiller elektroforezde yürütülen PCR ürünlerine ait veriler alelik ladder ile karşılaştırılarak elektroforegramdaki pikler değerlendirilmi ve alel boyutları belirlenmiştir. Ayrıca her bir yürütme için pozitif ve negatif kontrol yüklenerek kontaminasyon kontrolü de yapılmıştır. Şekil 19, 20 ve 21'de sırasıyla DNA size standart 550 (BTO), alelik ladder ve kontrol DNA (DNA XY5) ya ait elektroforegramlar gösterilmektedir.



Şekil 19: Investigator® HDplex (Qiagen) DNA size standard 550 (BTO)'a ait elektroforegram



Şekil 20: Investigator® HDplex (Qiagen) alelik ladder'a ait elektroforegram



Şekil 21: Investigator® HDplex (Qiagen) 0.5 ng kontrol DNA XY5'e ait elektroforegram

5.2.6. İstatistiksel analiz

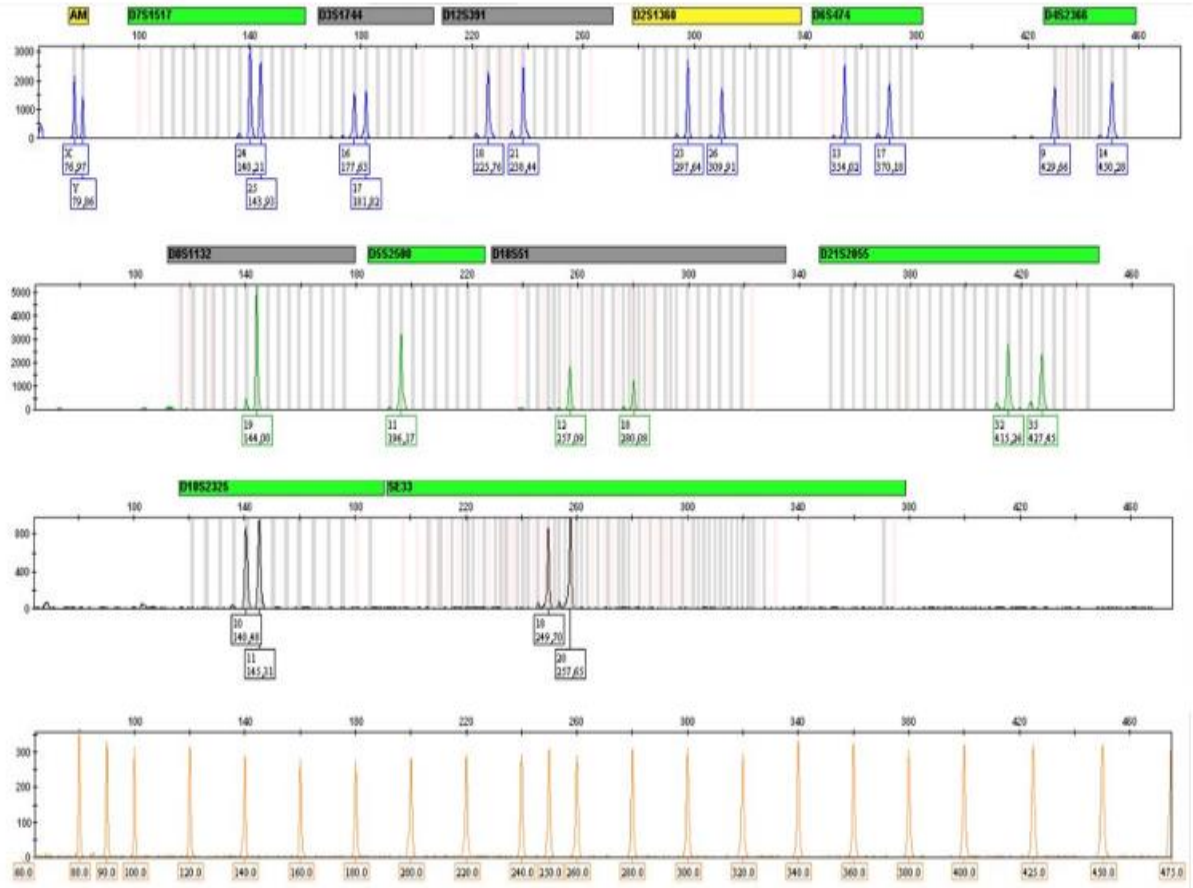
Elektroforez sonrası genotip tiplendirmesi yapılan örneklerin istatistiksel değerlendirmesi PowerStats v.1.2 (Promega Cooperation) ve Arlequin v.3.5.1.2 yazılımları kullanılarak gerçekleştirildi. PowerStats (Promega) kullanılarak; heterozigotluk oranı (Het), polimorfik bilgi içeriği (PIC), eşleşme olasılığı (PM), ayırım gücü (PD), dışlama gücü (PE) ve babalık indeksi (TPI)' hesaplandı. Arlequin v.3.5.1.2 yazılımı kullanılarak alel sıklıkları, Hardy-Weinberg dengesi ve veri tabanından elde edilen çeşitli popülasyonlara ait alel frekansları ile karşılaştırma yapılarak popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın göstergesi olan F_{st} değerleri hesaplandı.

6. Bulgular

Bu tez çalışmasında, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, araştırmaya katılmaya rıza gösteren Adli Tıp Enstitü öğrencilerinden ve gönüllülerden oluşan toplam 100 kişiye ait kan örnekleri etik kurul onayı ile toplandı. Qiagen® Investigator Hdplex Kit kullanılarak 10 yeni STR lokusu (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) ve daha önceden bilinen 2 lokusun (D18S51 ve SE33) tiplendirmesi yapıldı. Daha sonra elde edilen genotipler için PowerStats v.1.2 ve Arlequin 3.5.1.2 yazılımları kullanılarak Türkiye popülasyonu için sözü edilen lokusların gen sıklıkları ve adli istatistiki parametreleri belirlendi.

6.1. Genotiplerin Belirlenmesi

Toplanan kan örneklerinden DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) ile yapıldı. İzolasyonu yapılan örneklerin DNA miktar tayini, florometrik yöntem ile Quant-iT™ dsDNA HS Assay kiti (Invitrogen™) ve Qubit® fluorometer kullanılarak yapıldı. PCR öncesinde, steril distile su ile DNA konsantrasyonları 0.1-1 ng/μl aralığında olacak şekilde sulandırıldı. Investigator HDplex kiti kullanılarak 12 STR lokusunun amplifikasyonu yapıldı. Elektroforez; ABI PRISM® 3130 Genetik Analizör (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak gerçekleştirildi. Toplam 100 örneğe ait ham veriler Genemapper® IDX (Thermo Fisher Scientific) analiz programı kullanılarak genotiplendirildi. Şekil 22'de 0.5 ng DNA örneği için Investigator HDplex kit kullanılarak elde edilmiş olan elektroforegram gösterilmektedir.



Şekil 22: Investigator® HDplex (Qiagen) 0.5 ng DNA örneği için elde edilmiş olan elektroforegram görüntüsü

6.2. İstatistiksel Bulgular

6.2.1. Alel frekansları ve adli istatistik analiz parametrelerinin belirlenmesi

D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D18S51, D21S2055, D10S2325, SE33 lokuslarının Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve eşleşme olasılığı (PM), ayırım gücü (PD), babalık indeksi (PIC), dışlama gücü (PE) ve heterozigotluk (Het) gibi adli istatistik analiz parametreleri PowerStats V.1.2 kullanılarak araştırılan 100 örnek için belirlendi. Her bir lokusa ait bilgiler ilgili tablolarda (IX-XX) gösterilmiştir.

6.2.1.1. D7S1517 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D7S1517 lokusu için toplam 13 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 25. aleldir.

Tablo IX. D7S1517 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D7S1517 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
16	0.005		
17	0.005	PM	0.041
18	0.045		
19	0.130	PD	0.959
20	0.105		
21	0.105	PIC	0.860
22	0.105		
23	0.120	PE	0.428
24	0.130		
25	0.210	TPI	1.670
26	0.025		
27	0.010	Het	0.700
28	0.005		

6.2.1.2. D3S1744 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D3S1744 lokusu için toplam 9 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 17. aleldir.

Tablo X. D3S1744 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D3S1744 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
		PM	0.061
13	0.005		
14	0.009	PD	0.939
15	0.075		
16	0.145	PIC	0.79
17	0.320		
18	0.185	PE	0.476
19	0.115		
20	0.045	TPI	1.850
21	0.020		
		Het	0.730

*Eşleşme olasılığı (PM), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), heterozigotluk (Het)

6.2.1.3. D12S391 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D12S391 lokusu için toplam 11 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 18. aleldir.

Tablo XI. D12S391 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D12S391 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
15	0.003	PM	0.036
16	0.015		
17	0.115	PD	0.964
18	0.195		
19	0.140	PIC	0.860
20	0.130		
21	0.125	PE	0.460
22	0.105		
23	0.095	TPI	1.790
24	0.040		
25	0.010	Het	0.720

6.2.1.4. D2S1360 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D2S1360 lokusu için toplam 11 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 22. aleldir.

Tablo XII. D2S1360 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D2S1360 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
19	0.010	PM	0.048
20	0.110		
21	0.075	PD	0.952
22	0.295		
23	0.155	PIC	0.830
24	0.095		
25	0.085	PE	0.581
26	0.090		
27	0.040	TPI	2.380
28	0.035		
29	0.010	Het	0.790

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.5. D6S474 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D6S474 lokusu için toplam 6 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 16. aleldir.

Tablo XIII. D6S474 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D6S474 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
12	0.000	PM	0.082
13	0.255		
14	0.230	PD	0.918
15	0.130		
16	0.280	PIC	0.740
17	0.090		
18	0.015	PE	0.328
		TPI	1.350
		Het	0.630

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.6. D4S2366 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D4S2366 lokusu için toplam 7 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 9. aleldir.

Tablo XIV. D4S2366 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D4S2366 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
8	0.000	PM	0.075
9	0.300		
10	0.145	PD	0.925
11	0.085		
11.2	0.000	PIC	0.780
12	0.175		
12.2	0.000	PE	0.383
13	0.165		
14	0.120	TPI	1.520
15	0.010		
		Het	0.670

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.7. D8S1132 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D8S1132 lokusu için toplam 11 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 18. aleldir.

Tablo XV. D8S1132 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D8S1132 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
16	0.015	PM	0.041
17	0.08		
18	0.215	PD	0.959
19	0.155		
20	0.13	PIC	0.85
21	0.125		
22	0.13	PE	0.369
23	0.095		
24	0.045	TPI	1.47
25	0.005		
26	0.005	Het	0.66

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.8. D5S2500 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D5S2500 lokusu için toplam 9 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 11. aleldir.

Tablo XVI. D5S2500 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D5S2500 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
		PM	0.064
10	0.075		
11	0.270	PD	0.936
12	0.165		
13	0.060	PIC	0.790
14	0.050		
15	0.245	PE	0.545
16	0.105		
17	0.025	TPI	2.170
18	0.005		
		Het	0.770

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.9. D18S51 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D18S51 lokusu için toplam 12 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 16. aleldir.

Tablo XVII. D18S51 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D18S51 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreler*	
Alel	Frekans		
10	0.005		
12	0.090	PM	0.035
13	0.160		
14	0.160	PD	0.965
15	0.125		
16	0.165	PIC	0.860
17	0.105		
18	0.080	PE	0.545
19	0.050		
20	0.045	TPI	2.170
21	0.005		
23	0.010	Het	0.770

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), Heterozigotluk (Het)

6.2.1.10. D21S2055 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D21S2055 lokusu için toplam 20 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 19.1. aleldir.

Tablo XVIII. D21S2055 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D21S2055 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreleri*	
Alel	Frekans		
16.1	0.070		
17.1	0.020	PM	0.032
18.1	0.010		
19.1	0.250	PD	0.968
20.1	0.055		
21.1	0.015	PIC	0.880
22.1	0.005		
23	0.005	PE	0.428
25	0.110		
26	0.115	TPI	1.670
27	0.020		
28	0.010	Het	0.700
29	0.035		
30	0.030		
31	0.030		
32	0.020		
33	0.065		
34	0.080		
35	0.050		
36	0.005		

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI)

6.2.1.11. D10S2325 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda D10S2325 lokusu için toplam 10 alel gözlenmiştir. En sık görülen alel 12. aleldir.

Tablo XIX. D10S2325 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

D10S2325 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreler*	
Alel	Frekans		
7	0.130	PM	0.045
8	0.055		
9	0.080	PD	0.955
10	0.135		
11	0.160	PIC	0.850
12	0.190		
13	0.135	PE	0.493
14	0.070		
15	0.040	TPI	1.920
16	0.005		
		Het	0.740

* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI)

6.2.1.12. SE33 lokusuna ait bulgular

Genel Türkiye popülasyonunda SE33 lokusu için toplam 27 alel gözlenmiştir.

En sık görülen alel 18. aleldir.

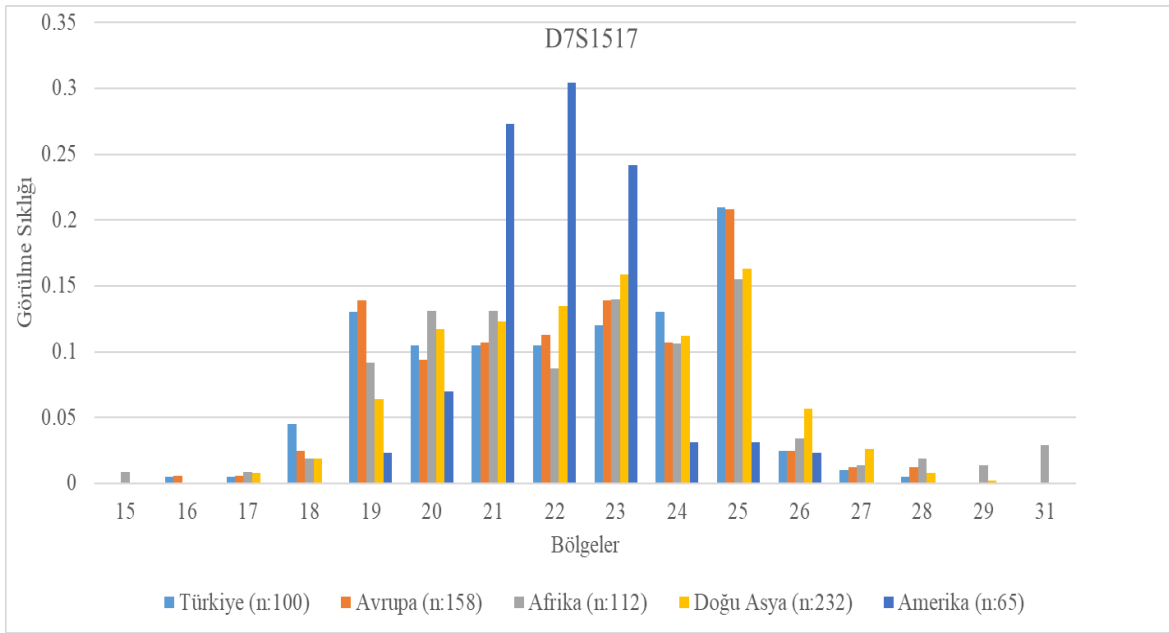
Tablo XX. SE33 lokusunun genel Türkiye toplumuna ait alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri.

SE33 Lokusu (n=100)		Adli İstatistik Parametreler*	
Alel	Frekans		
13	0.020		
14	0.030	PM	0.017
14.2	0.010		
15	0.025	PD	0.983
16	0.055		
16.2	0.005	PIC	0.930
17	0.070		
18	0.125	PE	0.510
19	0.085		
19.2	0.005	TPI	2.000
20	0.045		
20.2	0.005	Het	0.750
21	0.030		
21.2	0.005		
22.2	0.025		
23	0.015		
24.2	0.035		
25.2	0.035		
26.2	0.050		
27.2	0.075		
28.2	0.080		
29.2	0.065		
30.2	0.075		
31.2	0.015		
32.2	0.005		
33	0.005		
34	0.005		

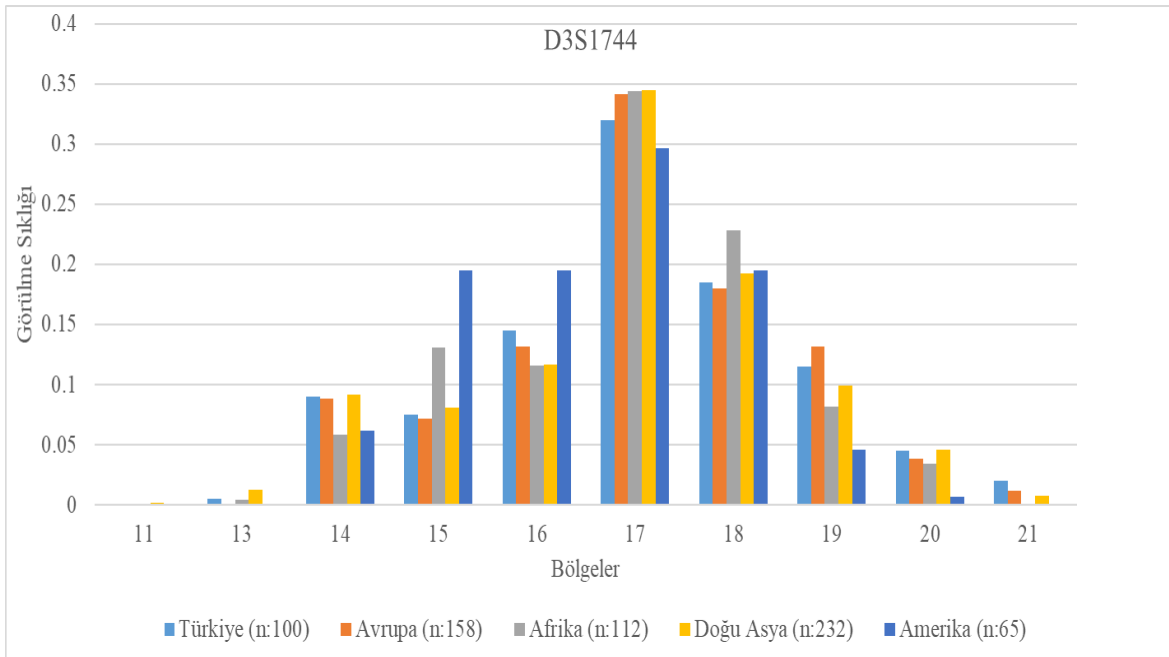
* Eşleşme olasılığı (Pm), ayırım gücü (PD), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (TPI), heterozigotluk (Het)

6.2.2. Populasyonlar arası alel frekanslarının karşılaştırılması

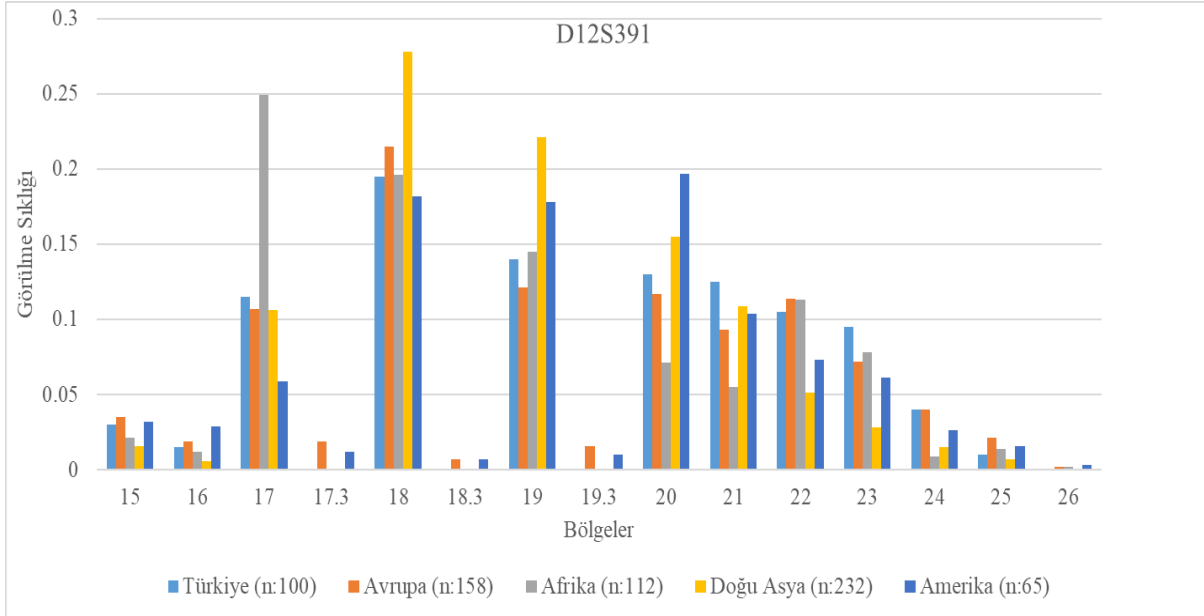
Tez çalışmasından elde edilen Türkiye popülasyonuna ait alel frekansları literatürde bulunan diğer popülasyonlarla (Avrupa (n=158), Afrika (n=112), Doğu Asya (n=232) ve Amerika (n=65)) ait veriler ile karşılaştırıldı (73). Araştırılan her bir lokus için ülkeler arası karşılaştırmanın yapıldığı grafikler (Şekil 23-34) aşağıda verilmiştir. Karşılaştırılan popülasyonların alel frekans verileri ise Tablo XXI'de toplu olarak gösterilmektedir.



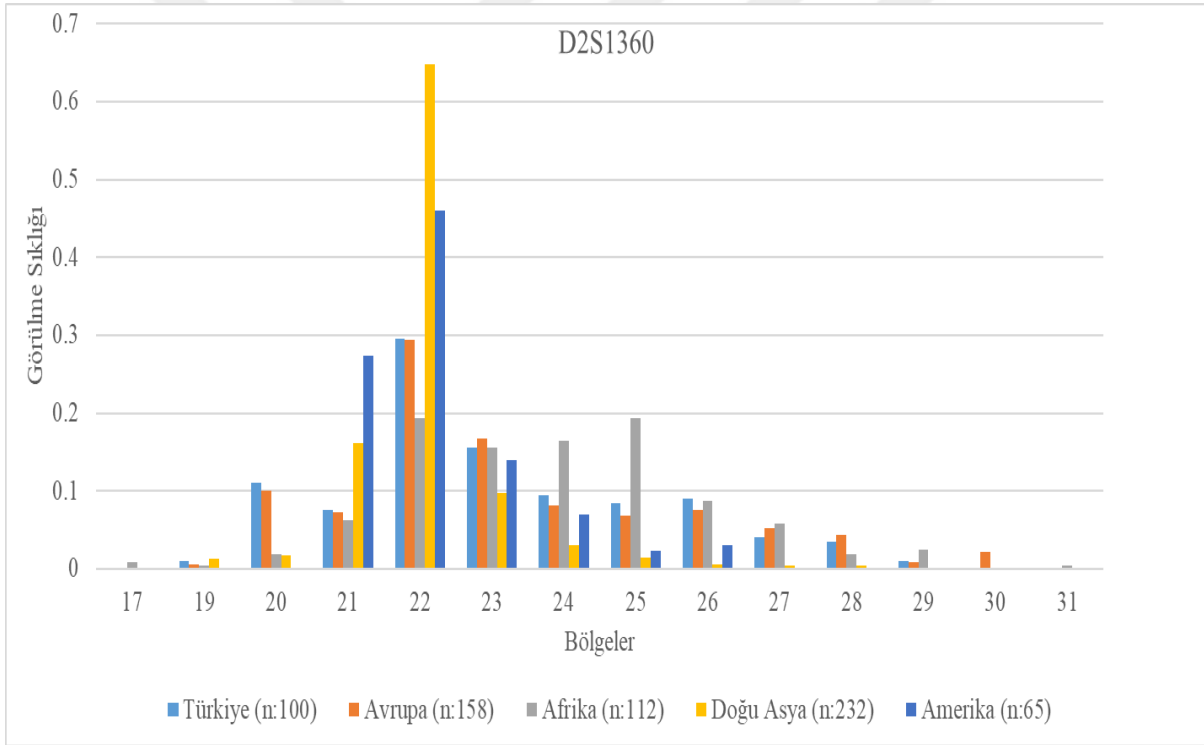
Şekil 23: D7S1517 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



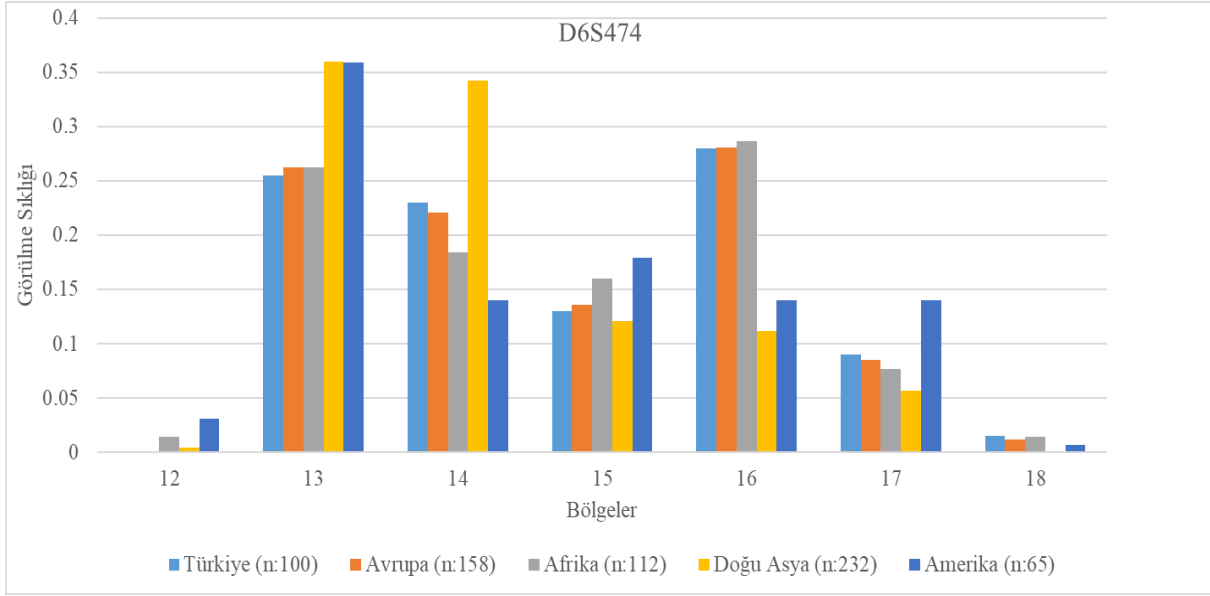
Şekil 24: D3S1744 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



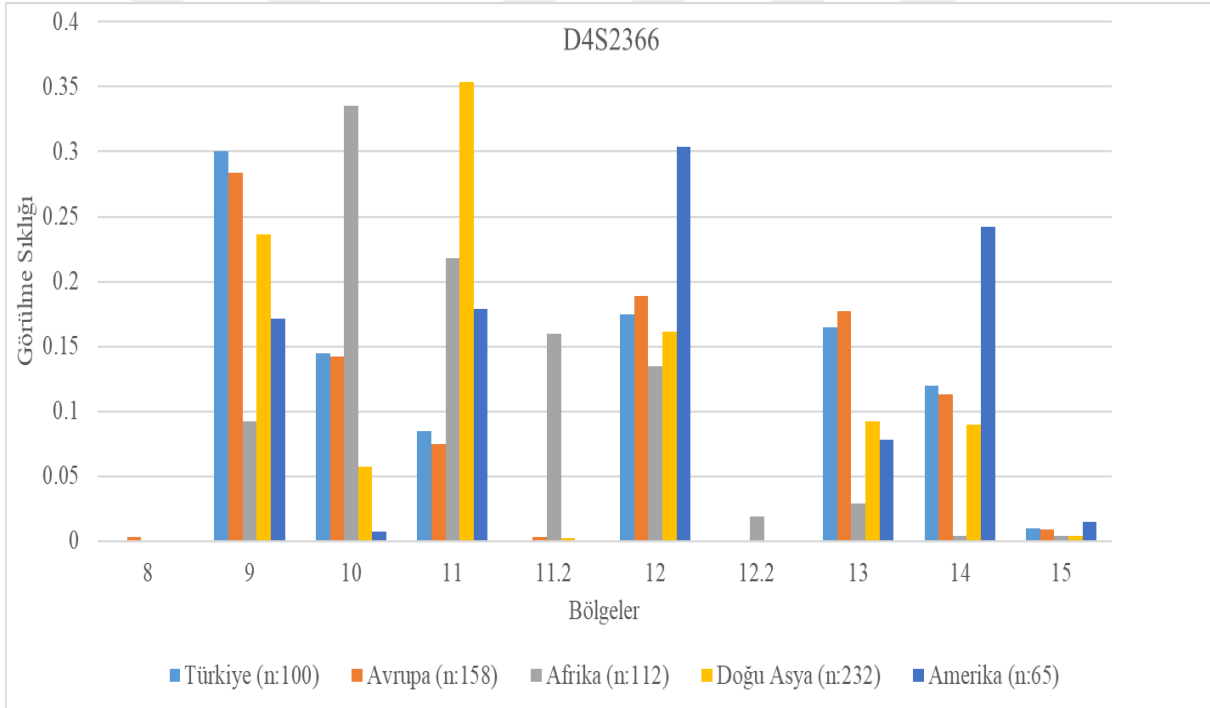
Şekil 25: D12S391 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



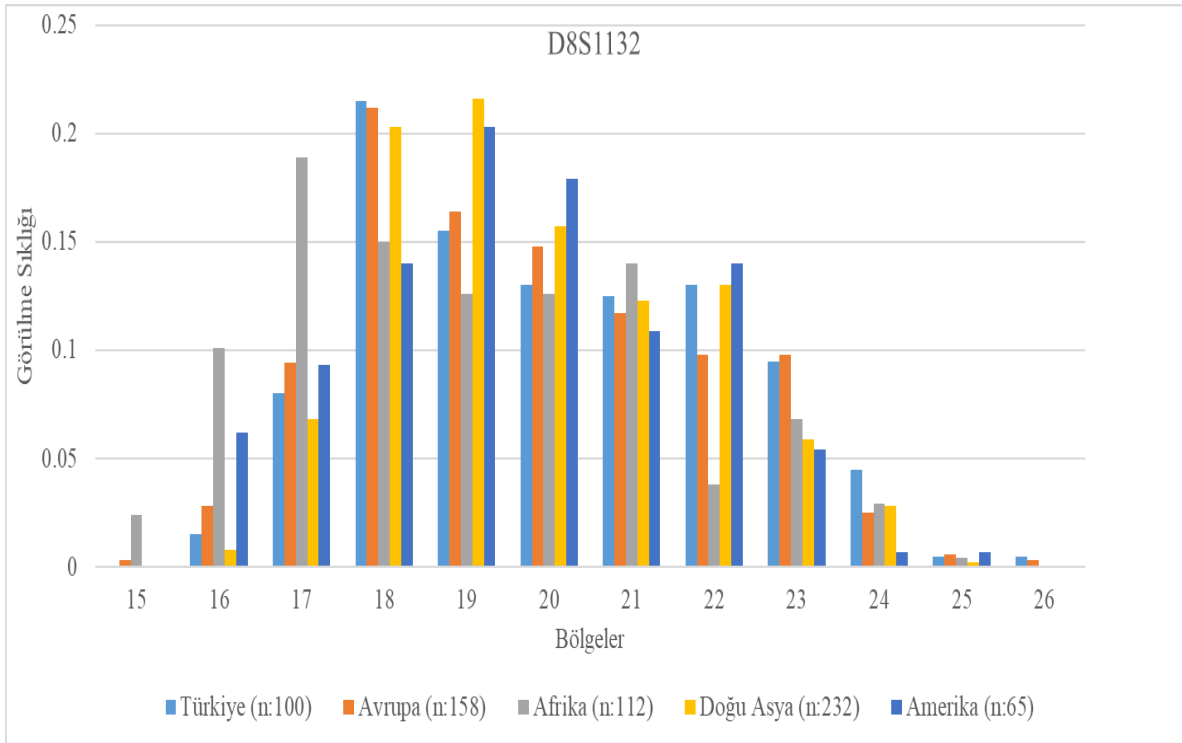
Şekil 26: D2S1360 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



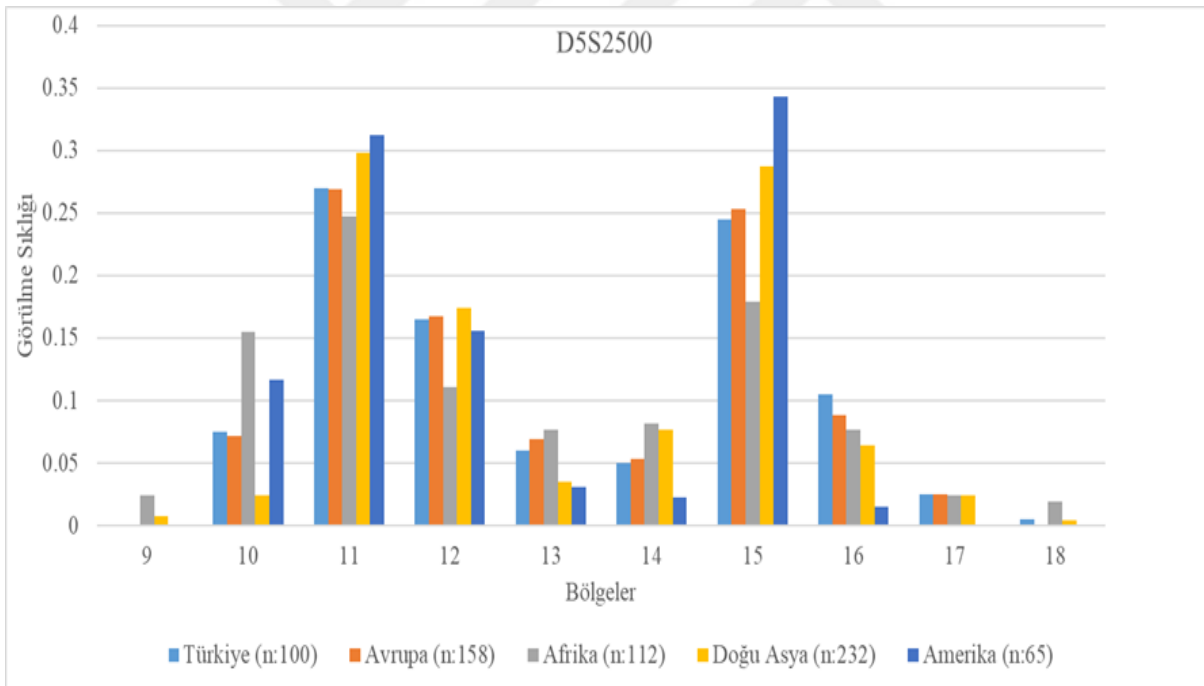
Şekil 27: D6S474 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



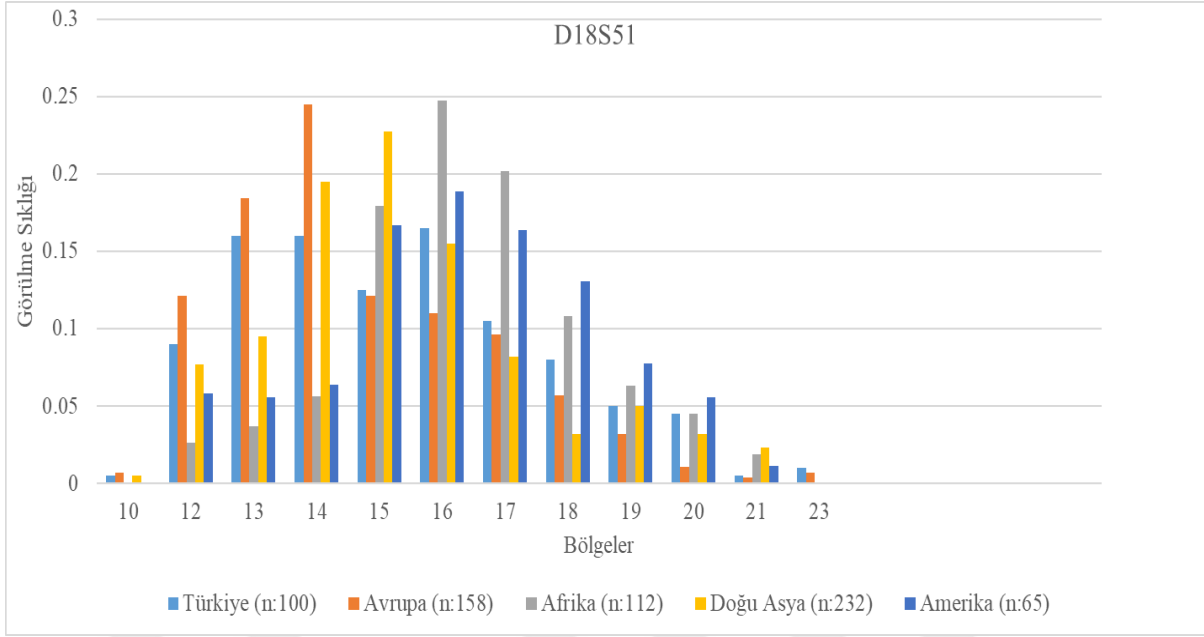
Şekil 28: D4S2366 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



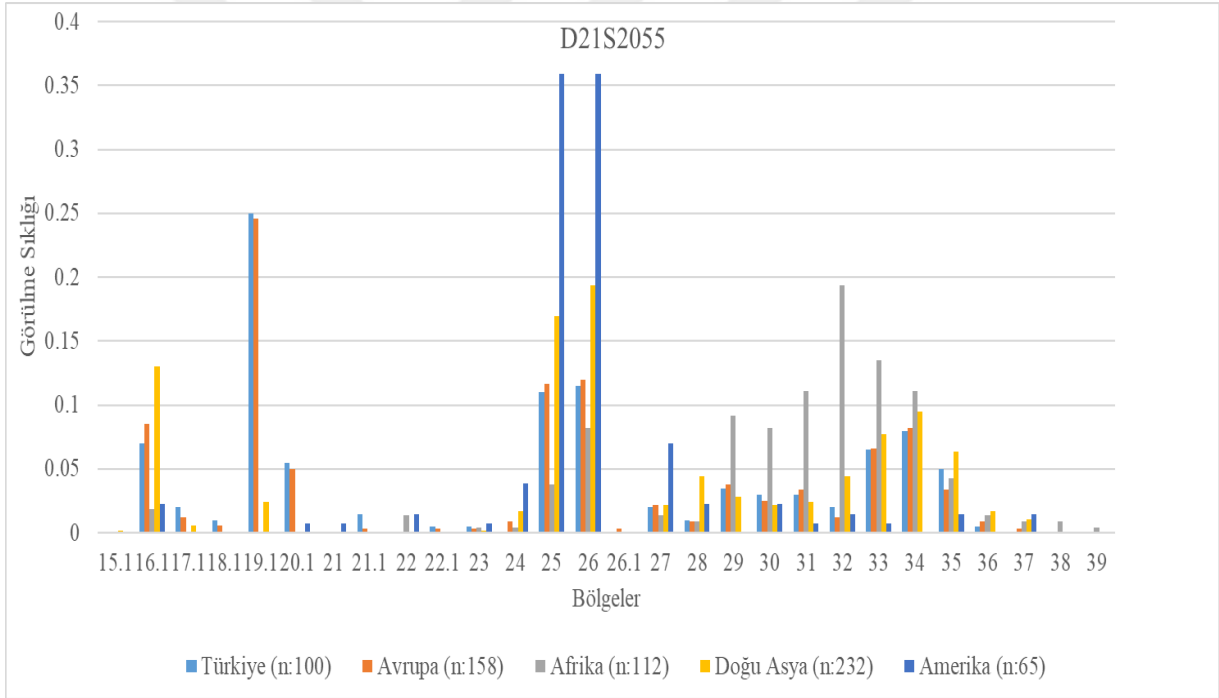
Şekil 29: D8S1132 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



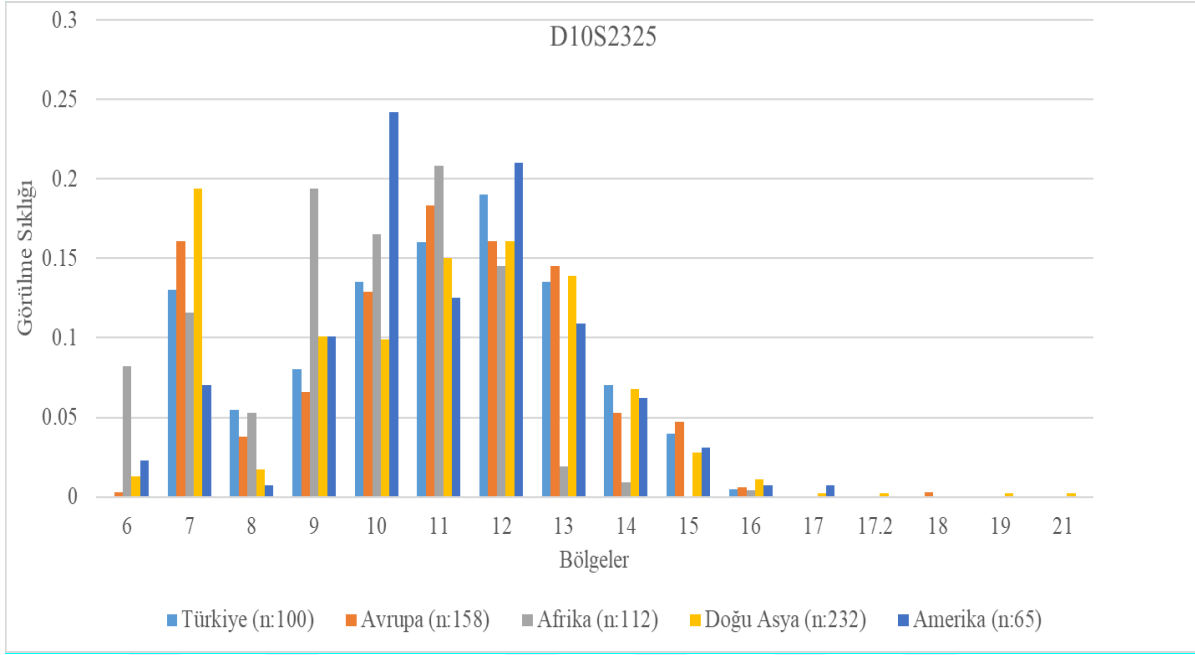
Şekil 30: D5S2500 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



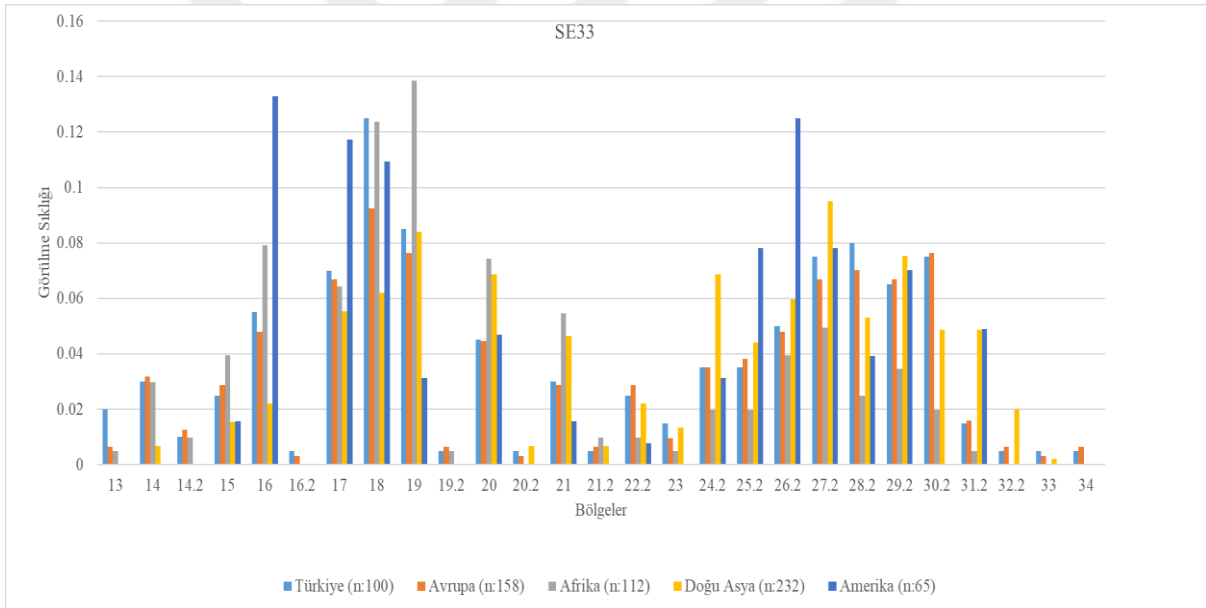
Şekil 31: D18S51 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



Şekil 32: D21S2055 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



Şekil 33: D10S2325 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması



Şekil 34: SE33 lokusuna ait alellerin popülasyonlar arası karşılaştırılması

Tablo XXI. 12 STR lokusunun farklı popülasyonlardaki alel frekansları.

Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)	Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)						
D2S1360	17	0	0	0.009	0	0	D5S2500	9	0	0	0.024	0.008	0						
	19	0.01	0.006	0.004	0.013	0		10	0.075	0.072	0.155	0.024	0.117						
	20	0.11	0.101	0.019	0.017	0		11	0.27	0.269	0.247	0.298	0.312						
	21	0.075	0.072	0.063	0.161	0.273		12	0.165	0.167	0.111	0.174	0.156						
	22	0.295	0.294	0.194	0.648	0.46		13	0.06	0.069	0.077	0.035	0.031						
	23	0.155	0.167	0.155	0.097	0.14		14	0.05	0.053	0.082	0.077	0.023						
	24	0.095	0.082	0.165	0.031	0.07		15	0.245	0.253	0.179	0.287	0.343						
	25	0.085	0.069	0.194	0.015	0.023		16	0.105	0.088	0.077	0.064	0.015						
	26	0.09	0.075	0.087	0.006	0.031		17	0.025	0.025	0.024	0.024	0						
	27	0.04	0.053	0.058	0.004	0		18	0.005	0	0.019	0.004	0						
	28	0.035	0.044	0.019	0.004	0													
	29	0.01	0.009	0.024	0	0													
	30	0	0.022	0	0	0													
D7S1517	31	0	0	0.004	0	0	D18S51	10	0.005	0.007	0	0.005	0						
	15	0	0	0.009	0	0		12	0.09	0.121	0.026	0.077	0.0583						
								13	0.16	0.184	0.037	0.095	0.0556						
								14	0.16	0.245	0.056	0.195	0.0639						
								15	0.125	0.121	0.179	0.227	0.1667						
								16	0.165	0.11	0.247	0.155	0.1889						
								17	0.105	0.096	0.202	0.082	0.1639						
								18	0.08	0.057	0.108	0.032	0.1306						
								19	0.05	0.032	0.063	0.05	0.0778						
								20	0.045	0.011	0.045	0.032	0.0556						
								21	0.005	0.004	0.019	0.023	0.0111						
								22	0.105	0.113	0.087	0.135	0.304	23	0.01	0.007	0	0	0
								23	0.12	0.139	0.14	0.159	0.242	D21S2055	15.1	0	0	0	0.002
24	0.13	0.107	0.106	0.112	0.031	16.1	0.07	0.085	0.019	0.13	0.023								
25	0.21	0.208	0.155	0.163	0.031	17.1	0.02	0.012	0	0.006	0								
26	0.025	0.025	0.034	0.057	0.023	18.1	0.01	0.006	0	0	0								

Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)	Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)
	27	0.01	0.012	0.014	0.026	0		19.1	0.25	0.246	0	0.024	0
	28	0.005	0.012	0.019	0.008	0		20.1	0.055	0.05	0	0	0.007
	29	0	0	0.014	0.002	0		21	0	0	0	0	0.007
	31	0	0	0.029	0	0		21.1	0.015	0.003	0	0	0
D3S1744	11	0	0	0	0.002	0	22	0	0	0.014	0	0.015	
	13	0.005	0	0.004	0.013	0	22.1	0.005	0.003	0	0	0	
	14	0.09	0.088	0.058	0.092	0.062	23	0.005	0.003	0.004	0.002	0.007	
	15	0.075	0.072	0.131	0.081	0.195	24	0	0.009	0.004	0.017	0.039	
	16	0.145	0.132	0.116	0.117	0.195	25	0.11	0.117	0.038	0.17	0.359	
	17	0.32	0.341	0.344	0.345	0.296	26	0.115	0.12	0.082	0.194	0.359	
	18	0.185	0.18	0.228	0.192	0.195	26.1	0	0.003	0	0	0	
	19	0.115	0.132	0.082	0.099	0.046	27	0.02	0.022	0.014	0.022	0.07	
	20	0.045	0.038	0.034	0.046	0.007	28	0.01	0.009	0.009	0.044	0.023	
	21	0.02	0.012	0	0.008	0	29	0.035	0.038	0.092	0.028	0	
D12S391	15	0.03	0.035	0.021	0.016	0.032	30	0.03	0.025	0.082	0.022	0.023	
	16	0.015	0.019	0.012	0.006	0.029	31	0.03	0.034	0.111	0.024	0.007	
	17	0.115	0.107	0.249	0.106	0.059	32	0.02	0.012	0.194	0.044	0.015	
	17.3	0	0.019	0	0.001	0.012	33	0.065	0.066	0.135	0.077	0.007	
	18	0.195	0.215	0.196	0.278	0.182	34	0.08	0.082	0.111	0.095	0	
	18.3	0	0.007	0	0.001	0.007	35	0.05	0.034	0.043	0.064	0.015	
	19	0.14	0.121	0.145	0.221	0.178	36	0.005	0.009	0.014	0.017	0	
	19.3	0	0.016	0	0	0.01	37	0	0.003	0.009	0.011	0.015	
	20	0.13	0.117	0.071	0.155	0.197	38	0	0	0.009	0	0	
	21	0.125	0.093	0.055	0.109	0.104	39	0	0	0.004	0	0	
	22	0.105	0.114	0.113	0.051	0.073	D10S2325	6	0	0.003	0.082	0.013	0.023
	23	0.095	0.072	0.078	0.028	0.061		7	0.13	0.161	0.116	0.194	0.07
24	0.04	0.04	0.009	0.015	0.026	8		0.055	0.038	0.053	0.017	0.007	
						9		0.08	0.066	0.194	0.101	0.101	
							10	0.135	0.129	0.165	0.099	0.242	

Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)	Lokus	Aleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)
	25	0.01	0.021	0.014	0.007	0.016		11	0.16	0.183	0.208	0.15	0.125
	26	0	0.002	0.002	0.001	0.003		12	0.19	0.161	0.145	0.161	0.21
D6S474	12	0	0	0.014	0.004	0.031	13	0.135	0.145	0.019	0.139	0.109	
	13	0.255	0.262	0.262	0.36	0.359	14	0.07	0.053	0.009	0.068	0.062	
	14	0.23	0.221	0.184	0.342	0.14	15	0.04	0.047	0	0.028	0.031	
	15	0.13	0.136	0.16	0.121	0.179	16	0.005	0.006	0.004	0.011	0.007	
	16	0.28	0.281	0.286	0.112	0.14	17	0	0	0	0.002	0.007	
	17	0.09	0.085	0.077	0.057	0.14	17.2	0	0	0	0.002	0	
	18	0.015	0.012	0.014	0	0.007	18	0	0.003	0	0	0	
D4S2366	8	0	0.003	0	0	0	19	0	0	0	0.002	0	
	9	0.3	0.284	0.092	0.236	0.171	21	0	0	0	0.002	0	
	10	0.145	0.142	0.335	0.057	0.007	13	0.02	0.0064	0.005	0	0	
	11	0.085	0.075	0.218	0.354	0.179	14	0.03	0.0318	0.0297	0.0066	0	
	11.2	0	0.003	0.16	0.002	0	14.2	0.01	0.0127	0.0099	0	0	
	12	0.175	0.189	0.135	0.161	0.304	15	0.025	0.0287	0.0396	0.0155	0.0156	
	12.2	0	0	0.019	0	0	16	0.055	0.0478	0.0792	0.0221	0.1328	
	13	0.165	0.177	0.029	0.092	0.078	16.2	0.005	0.0032	0	0	0	
	14	0.12	0.113	0.004	0.09	0.242	17	0.07	0.0669	0.0644	0.0553	0.1172	
	15	0.01	0.009	0.004	0.004	0.015	18	0.125	0.0924	0.1238	0.0619	0.1094	
D8S1132	15	0	0.003	0.024	0	0	19	0.085	0.0764	0.1386	0.0841	0.0313	
	16	0.015	0.028	0.101	0.008	0.062	19.2	0.005	0.0064	0.005	0	0	
	17	0.08	0.094	0.189	0.068	0.093	20	0.045	0.0446	0.0743	0.0686	0.0469	
	18	0.215	0.212	0.15	0.203	0.14	20.2	0.005	0.0032	0	0.0066	0	
	19	0.155	0.164	0.126	0.216	0.203	21	0.03	0.0287	0.0545	0.0465	0.0156	
SE33							21.2	0.005	0.0064	0.0099	0.0066	0	
							22.2	0.025	0.0287	0.0099	0.0221	0.0078	
							23	0.015	0.0096	0.005	0.0133	0	
							24.2	0.035	0.035	0.0198	0.0686	0.0313	
							25.2	0.035	0.0382	0.0198	0.0442	0.0781	

Lokus	Alleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)	Lokus	Alleller	Türkiye (n:100)	Avrupa (n:158)	Afrika (n:112)	Doğu Asya (n:232)	Amerika (n:65)
	20	0.13	0.148	0.126	0.157	0.179		26.2	0.05	0.0478	0.0396	0.0597	0.125
	21	0.125	0.117	0.14	0.123	0.109		27.2	0.075	0.0669	0.0495	0.0951	0.0781
	22	0.13	0.098	0.038	0.13	0.14		28.2	0.08	0.0701	0.0248	0.0531	0.0391
	23	0.095	0.098	0.068	0.059	0.054		29.2	0.065	0.0669	0.0347	0.0752	0.0703
	24	0.045	0.025	0.029	0.028	0.007		30.2	0.075	0.0764	0.0198	0.0487	0
	25	0.005	0.006	0.004	0.002	0.007		31.2	0.015	0.0159	0.005	0.0487	0.0489
	26	0.005	0.003	0	0	0		32.2	0.005	0.0064	0	0.0199	0
								33	0.005	0.0032	0	0.0022	0
								34	0.005	0.0064	0	0	0

(Türkiye haricindeki diğer ülkelere ait veriler Phillips C, Fernandez-Formoso I, Gelabert-Besada m, Garcia-Magarinos J, Carracedo A ve ark. Global population variability in Qiagen Investigator Hdplex STRs. Forensic Science International: Genetics 8 2014; 36-43 yayınından alınmıştır (73)).

6.2.3. Hardy-Weinberg dengesi

Elde edilen veriler kullanılarak Arlequin v.3.5.1.2 programında araştırılan 12 lokusun gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p-değerleri hesaplandı ve Hardy-Weinberg dengesine bakıldı. Analiz sonucu elde edilen p-değerlerinin anlamlılığını değerlendirebilmek için $p = 0,05/12$ şeklinde Bonferonni düzeltmesi uygulanarak anlamlılık düzeyi $p > 0.00416$ olarak alındı. Bonferonni düzeltmesi yapıldıktan sonra araştırılan 7 lokus için (D4S2366, D7S1517, D8S1132, D10S2325, D12S391, D21S2055, SE33) istatistiksel olarak Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo XXII'de gösterilmiştir.

Tablo XXII. Hardy-Weinberg denge tablosu.

Lokus	Alel sayısı	Gözlenen Heterozigotluk (Ho)	Beklenen Heterozigotluk (He)	P-değeri HWD
D2S1360	11	0.79000	0.84809	0.03432
D3S1744	9	0.73000	0.81704	0.16202
D4S2366	7	0.67000	0.81347	0.00032
D5S2500	9	0.77000	0.82055	0.00617
D6S474	6	0.63000	0.78236	0.07197
D7S1517	13	0.70000	0.87618	0.00000
D8S1132	11	0.66000	0.86693	0.00016
D10S2325	10	0.74000	0.87337	0.00010
D12S391	11	0.72000	0.87814	0.00255
D18S51	12	0.77000	0.88015	0.06853
D21S2055	20	0.70000	0.89085	0.00000
SE33	27	0.75000	0.94090	0.00007

6.2.4. Popülasyonlar arası lokus bazındaki farklılıklar ve genetik uzaklık (Fst)

Çalışma sonucu elde edilen veriler ile literatürde paylaşılmış olan Avrupa, Afrika, Doğu Asya ve Amerika popülasyonlarına ait alel frekans verilerinden yararlanılarak Fisher's Exact Test Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programı ile popülasyonlar arası lokus bazındaki farklılıklar belirlendi. Analiz sonucu elde edilen p-değerlerinin anlamlılığını değerlendirebilmek için $p=0.05/5$ şeklinde Bonferonni düzeltmesi yapıldı ve 0.01'in altındaki değerler anlamlı olarak değerlendirildi. Ayrıca Fst değerleri de hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Tablo XXIII'de gösterilmiştir.

Tablo XXIII. Popülasyonlar arası lokus bazında farklılıklar (Fisher's Exact Test).

Lokus	Türkiye – Avrupa		Türkiye - Afrika		Türkiye - Doğu Asya		Türkiye - Amerika	
	<i>Fst</i>	<i>p</i> -değeri	<i>Fst</i>	<i>p</i> -değeri	<i>Fst</i>	<i>p</i> -değeri	<i>Fst</i>	<i>p</i> -değeri
D2S1360	-0.00732	0.99099+-0.0030	0.01070	0.05405+-0.0201	0.11082	0.00000+-0.0000	0.04373	0.00901+-0.0091
D3S1744	-0.00717	0.99099+-0.0030	-0.00313	0.73874+-0.0446	-0.00585	0.98198+-0.0096	0.00459	0.22523+-0.0546
D4S2366	-0.00786	0.99099+-0.0030	0.08542	0.00000+-0.0000	0.04687	0.00000+-0.0000	0.03910	0.00000+-0.0000
D5S2500	-0.00754	0.99099+-0.0030	0.00022	0.40541+-0.0563	-0.00114	0.48649+-0.0667	0.00364	0.18018+-0.0332
D6S474	-0.00811	0.99099+-0.0030	-0.00745	0.97297+-0.0125	0.02776	0.00000+-0.0000	0.01501	0.08108+-0.0212
D7S1517	-0.00695	0.99099+-0.0030	-0.00423	0.78378+-0.0490	-0.00098	0.51351+-0.0731	0.06650	0.00000+-0.0000
D8S1132	-0.00654	0.98198+-0.0096	0.00963	0.02703+-0.0194	-0.00279	0.77477+-0.0474	-0.00252	0.62162+-0.0345
D10S2325	-0.00596	0.94595+-0.0205	0.01686	0.00901+-0.0091	-0.00169	0.63063+-0.0407	0.00043	0.40541+-0.0493
D12S391	-0.00604	0.96396+-0.0142	0.00774	0.09009+-0.0192	0.00782	0.06306+-0.0194	-0.00465	0.64865+-0.0618
D18S51	0.00520	0.31532+-0.0563	0.01970	0.00000+-0.0000	0.00482	0.11712+-0.0360	0.00326	0.27928+-0.0417
D21S2055	-0.00703	0.99099+-0.0030	0.05557	0.00000+-0.0000	0.03018	0.00000+-0.0000	0.11010	0.00000+-0.0000
SE33	-0.00734	0.99099+-0.0030	0.00075	0.45045+-0.0621	-0.00325	0.75676+-0.0474	0.01063	0.00000+-0.0000

**Fst* değeri 0-0.05 küçük, 0.05-0.15 orta düzey, 0.15-0.25 büyük, 0.25'den büyük ise çok büyük bir genetik farklılaşmayı göstermektedir (75).

7. Tartışma ve Sonuç

DNA analizi; tıp, hukuk ya da sosyal alanlar gibi birçok farklı disiplin için çok değerli bir bilgi kaynağıdır. Günümüzde suç ve suçlunun ortaya çıkarılması, suç araçlarının araştırılması ve suçlunun kimliğinin belirlenmesi, şüpheli ile olay yerinden elde edilmiş olan DNA örneklerinin aynı kaynaklı olup olmadığının tespit edilmesi, miras-babalık davaları, kayıp kişilerin ve akrabalık ilişkilerinin tespit edilmesi gibi birçok farklı konu adli bilimlere ve gelişen DNA teknolojileri ile aydınlatılmaktadır (1). Adli vakalarda genetik analizlerin kullanılmasının asıl amacı ayırım gücü oldukça yüksek olan DNA profilinin elde edilerek hem suç araştırmalarında hukuka hizmet etmek hem de bireylerin genetik olarak ırk ve coğrafi gruplar içinde sınıflandırılmasını mümkün kılarak popülasyon genetiği çalışmaları gerçekleştirmektir. Coğrafi basamakları yaratan bölgesel farklılıklar alel frekanslarının kademeli olarak değişiminden kaynaklanmaktadır (14). Mevcut teknolojik ilerlemeler ile birlikte yeni genetik işaretler tespit edilmiş olmasına rağmen rutin kimliklendirmede daha ucuz, uygulaması daha kolay, standardizasyonu yapılmış ve güvenilirliği kanıtlanmış STR sistemleri tercih edilmektedir (4). Son yıllarda tüm dünyada CODIS'te yer almayan yeni STR lokuslarının tespit edilmesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır (8). 2017 yılında FBI, CODIS'te yer alan 13 lokusun sayısını 20'ye yükselttiğini duyurmuştur. Yeni eklenen lokuslar daha çok olay yerinden gelen bozulmuş veya eser miktardaki DNA örneklerinin kolayca tiplendirilmesini sağlayan miniSTR lokuslarından oluşmaktadır (76). CODIS'in güncel lokusları haricinde yeni STR markırlarının belirlenmesi klasik STR analizleri için tamamlayıcı ekstra bilgiler sağlamanın yanı sıra özellikle akrabalık ilişkilerinin söz konusu olduğu zor vakalarda lokus sayısının artırılmasıyla çalışmanın güvenilirliği de yükselmiş olacaktır (10).

Bu tez çalışmasında aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, Türkiye'nin genelini yansıtabilecek şekilde çalışmaya onam veren 100 kişinin kan örneklerinde daha önce araştırılmamış

10 STR lokusu (D7S1517, D3S1744, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, , D10S2325, D12S391, D21S2055) ve iki bilinen lokus (D18S51, SE33) Qiagen® Investigator HDplex ticari kiti ile tiplendirildi. Gen sıklıkları PowerStats v.1.2 (Promega Cooperation) ile belirlendi ve farklı toplumlarla karşılaştırıldı.

Çalışılan lokuslarda Türkiye popülasyonunda en yaygın görülen aleller D7S1517 lokusu için 25. alel (0.210), D3S1744 lokusu için 17. alel (0.32), D12S391 lokusu için 18. alel (0.195), D2S1360 lokusu için 22. alel (0.295), D6S474 lokusu için 16. alel (0.280), D4S2366 lokusu için 9. alel (0.300), D8S1132 lokusu için 18. alel (0.215), D5S2500 lokusu için 11. alel (0.270), D18S51 lokusu için 16.alel (0.165), D21S2055 lokusu için 19.1. alel (0.25), D10S2325 lokusu için 12. alel (0.190) ve SE33 lokusu için 18. alel (0.125) olarak belirlenmiştir. Elde edilen genotip verilerinden Arlequin v.3.5.1.2. yazılım programı kullanılarak beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ve p-değerleri hesaplanmıştır. Bonferroni düzeltmesi yapılarak anlamlılık düzeyi $p > 0.00416$ olarak alınmıştır. Tablo XXII'de gösterilmiş olduğu gibi araştırılan 7 lokus için Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmiştir. Bunun nedeni örnek birey sayısının küçük olması, lokusların alel sayılarının fazla olması, göç oranlarının ya da mutasyon oranlarının yüksek olması ya da örneklemin tüm popülasyonu temsil edecek şekilde yapılamamış olması ile açıklanabilir (81). Bu tez çalışmasına dahil edilen örnek birey sayısı az olduğundan bir ön çalışma olarak değerlendirilmiştir. Ancak bu sapmalara rağmen araştırılan 12 bölgenin 5'i açısından dengede olduğu ve alel frekanslarının tümü Avrupa popülasyonuna benzerlik gösterdiğinden örnek sayısının arttırılarak tekrarlanması halinde Türk toplumunun dünya toplumları arasındaki yerinin belirlenmesi açısından da önemli bir çalışma olacaktır.

Olgu çözümünde hangi lokusun daha yararlı olduğunu anlayabilmek için her bir lokusun adli istatistik parametrelerinin bilinmesi gerekir. PIC, Het ve PD değerlerinin yüksek olması o lokusun adli genetik açısından üstünlüğünü gösterir. Bu çalışmada araştırılan 12 lokus için elde

edilen genotiplerin alel sıklıkları ve istatistiksel parametreleri PowerStats v.1.2 (Promega) kullanılarak hesaplanmıştır. PowerStats v.1.2. veri girişinin kolay olması, verilerin özetlenebilirliği ve sonuçların grafik olarak elde edilebilmesi gibi avantajlardan dolayı tercih edilmiştir. Bu program ile gerçekleştirilen analizde; araştırılan her bir lokusun Türkiye toplumundaki alel sıklıkları, polimorfik bilgi içeriği (PIC), eşleşme olasılığı (PM), ayırım gücü (PD), babalık indeksi (TPI), dışlama gücü (PE) ve heterozigotluk (Het) oranları hesaplanmış olup her biri ilgili tabloda (Tablo IX-XX) sunulmuştur. Dışlama gücü değerlerine göre en ayırt edici lokuslar D2S1360 (PE: 0.581), D5S2500 (PE: 0.545), D18S51 (PE:0.545) ve SE33 (PE:0.510) olarak belirlenmiştir. Dışlama gücü daha zayıf olan en az ayırt edici lokuslar ise D6S474 (PE:0.328), D8S1132 (PE:0.369) ve D4S2366 (PE: 0.383) olarak gözlenmiştir. Tüm lokuslar için elde edilen PIC, PD ve Het değerleri global popülasyon verileri (73,77) ile kıyaslandığında; PIC ve PD verileri tüm lokuslar için benzer, heterozigotluk (Het) ise tüm lokuslar için daha düşük olarak gözlenmiştir. Araştırılan 12 STR lokusunun heterozigotluğu 0.630 ile 0.79 arasında değişiklik göstermiştir. Tablolarda da gösterildiği gibi en ayırt edici lokus 0.79 heterozigotluk değeri ile D2S1360 iken en düşük olan lokus ise D6S474 (Het 0.670) olmuştur. Ayırım gücü en yüksek olan lokuslar ise SE33 (PD:0.983) ve D21S2055 (PD 0.968) olarak belirlenmiştir. Adli istatistik parametreler ayrı ayrı her bir lokus için değerlendirildiğinde aralarında denge olduğu ve PD değerleri araştırılan tüm lokuslar için 0.918 ve 0.983 aralığında olduğundan, tüm lokuslar bir arada çalışıldığında Türk popülasyonu için kimliklendirmede kullanılabilecek oranda rutin çalışılan lokuslara ek olarak gerekli dışlama gücüne ulaşılabilir.

Investigator Hdplex Kit (Qiagen) ile çalışılmış olan diğer popülasyonların (Avrupa (158), Afrika (112), Doğu Asya (232) ve Amerika (65)) frekans verileri, bu çalışmada araştırılan lokusların alel frekansları ile karşılaştırılmış (73, 80) ve grafik gösterimleri Şekil

23-34'te gösterilmiştir. Grafiklerde de görüldüğü üzere Türkiye popülasyonu genel olarak Avrupa popülasyonu ile benzerlik göstermektedir.

Çalışılan yeni STR lokusları için çeşitli toplumlar için çalışmalar yapılmış olmasına rağmen Türkiye toplumu için yapılmış herhangi bir çalışma henüz rapor edilmemiştir. Bu nedenle bu çalışma dünya toplumları arasında Türk toplumunun yerinin belirlenmesi açısından da önemli bir ön çalışma olarak değerlendirilebilir. Popülasyonlar arasında hangi lokusların genetik olarak daha yakın veya uzak olduğunun bilinmesi önemlidir. Popülasyonlar arası genetik uzaklık (Fst) analizi ile farklı popülasyonların genetik benzerliğinin seviyesinin tespit edilmesi mümkündür. 0-0.05 arasındaki Fst değeri genetik farklılaşmanın küçük olduğu anlamına gelirken, 0.05-0.15 arasındaki değerler orta düzeyde farklılaşma, 0.15-0.25 arasındaki değerler büyük ve 0.25'den büyük olan değerler ise çok büyük bir genetik farklılaşma olduğunu ifade etmektedir. Bu değerlerin negatif olması ise iki popülasyon arasındaki farklılıktan çok popülasyondaki bireyler arasında farklılık olduğu anlamına gelmektedir (75). Türkiye popülasyonu için araştırılan 12 lokusa ait alel frekansları Arlequin v.3.5.1.2. yazılımı kullanılarak lokus bazında p-değerleri ve popülasyonlar arası Fst değerleri hesaplandıktan sonra elde edilen verilerin anlamlılığını değerlendirebilmek için Bonferonni düzeltmesi yapılmıştır. Bonferonni düzeltmesi yapıldıktan sonra 0.00416'nın altındaki değerler anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Tablo XXIII'de gösterilmiş olduğu gibi Türkiye ve Avrupa popülasyonları arasında bir farklılık gözlenmezken; Afrika popülasyonu ile 4 lokusta (D4S2366, D10S2325, D18S51, D21S391), Doğu Asya popülasyonu ile 4 lokusta (D2S1360, D4S2366, D6S474, D21S2055) ve Amerika popülasyonu ile 5 lokusta (D2S1360, D4S2366, D7S1517, D21S2055, SE33) farklılıklar gözlenmiştir.

Investigator Hdplex kiti, kimliklendirmede kullanılan STR lokusları için tamamlayıcı niteliktedir ve iki kardeşin dahil olduğu babalık davaları gibi bazı özel olguların adli uygulamalarında bireyler arasında daha çok lokusla ayırım yapmak üzere geliştirilmiştir.

Çalışmamızda kitin toplumumuz için analiz edilen adli parametreleri açısından ele alındığında kimliklendirme, babalık testi ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi gibi adli çalışmalarda güvenilirlikle kullanılabilceği ortaya konmuştur.

Daha sonra benzer çalışma yapacak olan kişilerin örnek birey sayısını arttırmaları halinde populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olması öngörülmektedir. Kit prosedürü takip edildiğinde DNA konsantrasyonu yeterli ise (0.5 ng) herhangi bir teknik kısıtlama yoktur.

Sonuç olarak bu çalışma bulguları ile söz konusu kitin adli laboratuarlarda mevcut STR lokuslarını desteklemek amacıyla kullanılabilceği söylenebilir, ancak bu araştırma bir ön çalışma niteliğinde olduğundan daha sonra yapılacak çalışmalarla örnek sayısının artırılması gerekmektedir.

8. Kaynaklar

1. Butler JM, Forensic DNA typing: biology, technology and genetics of STR markers. 2.baskı USA: Elsevier Academic Press, 2005.
2. Robertson J, Ross AM, Burgayne LA. DNA in forensic science: theory, techniques and applications. 3. baskı Longooddon: Ellis Howard Ltd, 1990.
3. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable minisatellite regions in human DNA. Nature 1985; 314:67-73.
4. Reno J, Marcus D, Leary ML, Samuels JE. The future of Forensic DNA Testing: Predictions of the Research and Development Working Group. National Institutes of Justice, National Commission on the Future of DNA Evidence; 2000. Rapor no.: NCJ 18397.
5. Gaensleen RE. Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and Biochemistry. National Institute of Justice; Washington: US Government Printing Office, 1984; 293-320.
6. Filoğlu G. 7 Tetrametrik STR lokusunun kriminal identifikasyondaki önemi [Doktora Tezi]. İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul, 1999.
7. Saferstein R. Forensic Science from the Crime Scene to the Crime Lab. 3. baskı New Jersey: Pearson Education Hall, 2009.
8. Gettings KB, Borsuk LA, Steffen CR, Kiesler KM, Vallone PM. Sequence-based U.S. population data for 27 autosomal STR loci. Forensic Science International: Genetics 2018 Kasım; 37: 106-115 doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.07.013> (Nisan 2019).
9. Gill P, Urquhart A, Millican E, Oldroyd N, Watson S, Sparkes R ve ark. A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database. International Journal of Legal Medicine 1996 Mart; 109(1):14-22.
10. Gettings KB, Kiesler KM, Faith SA, Montago E, Baker CH, Young BA ve ark. Sequence variation of 22 autosomal STR loci detected by next generation sequencing. Forensic

- Science International: Genetics 2016 Mart; 21: 15-21. doi: 10.1016/j.fsigen.2015.11.005
(Ocak 2019)
11. Butler JM, Hill CR, Decker AE, Kline MC, Vallone PM. New autosomal STR loci. Forensic Science International: Genetics Supplement Series 2008; 1: 95-96.
 12. Calladine CR, Drew HR, Luisi BF, Travers AA. Understanding DNA: The Molecule & How It Works. 3 baskı USA: Elsevier Academic Press, 2004.
 13. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. An Introduction To Forensic Genetics. 2. baskı USA: Jhon Wiley and Sons Ltd., 2007.
 14. Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. The History and Geography of Human Genes. Abridged Paperback Edition New Jersey: Princeton University Press, 1994.
 15. Khaleda P. Forensic use of DNA information: human rights, privacy and other challenges [Doktora Tezi]. Avustralya: Wollongong Üniversitesi Hukuk Fakültesi, 2012. Alıntı: <http://ro.uow.edu.au/theses/3693> (Kasım 2018).
 16. Butler JM, Fundamentals of Forensic DNA Typing. 3. baskı USA: Elsevier Academic Press, 2010.
 17. Daniels GL, Fletcher A, Garratty G, Henry S, Jorgensen J, Judd WJ ve ark. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. Vox Sang 2004 Kasım; 87(4):304-16.
 18. Southern E. Gel Electrophoresis of Restriction Fragments. Methods in Enzymology 1979; 68:152-76.
 19. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1977 Aralık; 74(12):5463-7.
 20. Southern EM. Detection of Specific Sequences among DNA Fragments Separated by Gel Electrophoresis. Journal of Molecular Biology 1975 Kasım; 98(3):503-17.
 21. Jeffreys AJ. Genetic Fingerprinting. Nature Medicine 2005; 11:1035-39.

22. Gill P, Jeffreys AJ, Werrett DJ. Forensic application of DNA 'fingerprints'. Nature 1985 Aralık; 318(6046):577-9.
23. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT ve ark. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 1988 Ocak; 239 (4839):487-91.
24. Blake E, Mihalovich J, Higuchi R, Walsh PS, Erlich H. Polymerase chain reaction (PCR) amplification and human leukocyte antigen (HLA)-DQ α oligonucleotide typing on biological evidence samples: Casework experience. Journal of Forensic Sciences 1992 Mayıs; 37(3):700-26.
25. Fregeau CJ, Fourney RM. DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats: A sensitive and accurate approach to human identification. Biotechniques 1993 Temmuz; 15(1):100-19.
26. Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. Biotechniques 2007 Ekim; 43(4):ii-v.
27. Butler JM. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. 1. baskı USA: Elsevier, Academic Press, 2012.
28. Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. American Journal of Human Genetics 1991 Ekim; 49(4):746-756.
29. Gill P. Role of short tandem repeat DNA in forensic casework in the UK-past, present, and future perspectives. Biotechniques 2002 Şubat; 32(2):366-72.
30. Butler JM, Hill CR. Biology and Genetics of New Autosomal STR Loci Useful for Forensic DNA Analysis. Forensic Sci Rev 2012 Ocak; 24(1):15-26.
31. Jin L, Zhong Y, Chakraborty R. The exact numbers of possible microsatellite motifs. American Journal of Human Genetics 1994 Eylül; 55(3):582-583.

32. Dönbak L. Kısa Ardarda Tekrar Eden DNA Dizilerinin Adli Amaçlı DNA Çalışmalarındaki Yeri. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2002; 22(2):233-8.
33. Sprecher CJ, Puers C, Lins AM, Schumm JW. General approach to analysis of polymorphic short tandem repeat loci. Biotechniques 1996 Şubat; 20(2):266-76.
34. The Evaluation of Forensic DNA Evidence [editöryal] Committee on DNA Forensic Science. Washington DC: National Academy Press, 1996.
35. Brinkmann B. Stain examination with DNA technology: a retrospective analysis. Arch Kriminol. 1993 Eylül; 192(3-4):87-96.
36. Gill P, Sparkes R, Kimpton C. Development of guidelines to designate alleles using an STR multiplex system. Forensic Science International 1997 Ekim; 89(3):185-97.
37. Hammond HA, Jin L, Zhong Y, Caskey CT, Chakraborty R. Evaluation of 13 short tandem repeat loci for use in personal identification applications. American Journal of Human Genetics 1994 Temmuz; 55(1):175-189.
38. Kimpton CP, Gill P, Walton A, Uriguhart A, Milican ES, Adams M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. PCR Methods and Applications 1993 Ağustos; 3(1):13-22.
39. Budowle B, Moretti TR, Niezgoda SJ, Brown BL. CODIS and PCR-Based Short Tandem Repeat Loci: Law Enforcement Tools. FBI Laboratory Division publication number 98-06,2002. Alıntı:
<https://www.promega.com/~media/files/resources/conference%20proceedings/ishi%2002/oral%20presentations/17.pdf> (Kasım 2018)
40. U.S. Department of Justice. The FBI DNA Laboratory: A Review of Protocol and Practice Vulnerabilities. Office of the Inspector General 2004 Mayıs. Alıntı:
<https://oig.justice.gov/special/0405/final.pdf> (Kasım 2018)

41. Hares DR. Selection and Implementation of Expanded CODIS Core Loci in the United States. *Forensic Sci. Int. Genet.* 2015 Temmuz; 17:33-34.
42. Greenspoon SA, Scarpetta MA, Drayton ML, Turek SA. QIAamp spin columns as a method of DNA isolation for forensic casework. *Journal of Forensic Sciences* 1998 Eylül; 43(5):1024-30.
43. Nicklas JA, Buel E. Quantification of DNA in forensic samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2003 Ağustos; 376(8):1160-7.
44. Butler JM, Buel E, Crivellente F, McCord BR. Forensic DNA typing by capillary electrophoresis using the ABI Prism 310 and 3100 genetic analyzers for STR analysis. *Electrophoresis* 2004 Haziran; 25(10-11):1397-412.
45. Rosenblum BB, Oaks F, Menchen S, Jhonson B. Improved single-stand DNA sizing accuracy in capillary electrophoresis. *Nucleic Acids Research* 1997 Ekim; 25(19):3925-3929.
46. Sgueglia JB, Geiger S, Davis J. Precision studies using the ABI prism 3100 genetic analyzer for forensic DNA analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2003 Ağustos; 376(8):1247-54.
47. Slater GW, Desruisseaux C, Hubert SJ, Mercier JF, Labrie J, Boileau J ve ark. Theory of DNA electrophoresis: A look at some current challenges. *Electrophoresis* 2000 Aralık; 21(18):3873-87.
48. Watts D. Genotyping STR loci using an automated DNA sequencer. Lincoln PJ, Thomson J, editörler. *Forensic DNA Profiling Protocols*, Totowa, NJ: Humana Press, 1998; 193-208.
49. Butler JM. The future of forensic DNA analysis. *Phil. Trans. R. Soc. B* 2015 Haziran; doi: 10.1098rstb.2014.0252 (Ocak 2019).

50. Gill P, Brinkmann B, d'Aloja E, Andersen J, Bar W, Carracedo A ve ark. Considerations from the European DNA profiling group (EDNAP) concerning STR nomenclature. *Forensic Science International* 1997 Haziran; 87(3):185-192.
51. Hartzell B, Graham K, McCord B. Response of short tandem repeat systems to temperature and sizing methods. *Forensic Science International* 2003 Mayıs; 133(3):228-34.
52. Forensic Bioinformatics. Possible Issues with DNA Evidence. Alıntı: <http://www.bioforensics.com/dna-testing-issues/> (Kasım 2018)
53. Torres Y, Flores I, Prieto V, LopezSoto M, Farfan MJ, Carracedo A ve ark. DNA mixtures in forensic casework: A 4-year retrospective study. *Forensic Science International* 2003 Haziran; 134 (2):180-6.
54. Schneider PM, Bender K, Mayr WR, Parson W, Hoste B, Decorte R ve ark. STR analysis of artificially degraded DNA- Results of a collaborative European exercise. *Forensic Science International* 2004 Ocak; 139 (2-3):123-34.
55. Scientific Working Groups on DNA Analysis Methods (SWGDM). SWGDM Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories. 2010 Ocak Alıntı: http://www.forensicdna.com/assets/swgdam_2010.pdf (Kasım 2018).
56. Applied Biosystems. AmpFISTR® Identifiler® PCR Amplification Kit User's Manual. 2006 Alıntı: <https://www.thermofisher.com/search/results?persona=DocSupport&refinementSearch=true&query=Manuals+%26+Protocols&navId=4294959596&refinementQuery=AmpFISTR%C2%AE+Identifiler%C2%AE+PCR+Amplification+Kit+> (Kasım 2018).

57. Leclair B, Fregeau CJ, Bowen KL, Fourney RM. Precision and accuracy in fluorescent short tandem repeat DNA typing: Assessment of benefits imparted by the use of allelic ladders with the AmpF/STR profiler plus kit. *Electrophoresis* 2004 Mart; 25(6):790-6.
58. Rockenbauer E, Holgersson MB, Fordyce SL, Avilla-Arcos MC, Borsting C, Hansen AJ ve ark. Sequences of microvariant/“off-ladder” STR alleles. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2011 Aralık; 3(1):e204-e205.
59. Mulero JJ, Hennessy LK. Next-Generation STR Genotyping Kits for Forensic Applications. *Forensic Sci Rev* 2012 Ocak; 24(1):1-13.
60. Hares DR. Expanding the CODIS core loci in the United States. *Forensic Sci Int Genet* 2012 Ocak; 6(1):e52-4.
61. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 1993 Nisan; 362(6422):709-15.
62. Coble MD, Butler JM. Characterization of new miniSTR loci to aid analysis of degraded DNA. *J Forensic Sci* 2005 Ocak; 50(1):43-53.
63. Hill CR, Kline MC, Mulero JJ, Lagace CW, Hennessy LK, Butler JM. Concordance study between the AmpF ℓ STR MiniFiler PCR amplification kit and conventional STR typing kits. *J Forensic Sci* 2007 Temmuz; 52(4):870-3.
64. Børsting C, Sanchez JJ, Morling N, Rapley R, Whitehouse D. Application of SNPs in forensic casework. *Molecular Forensics* 2007; 6:91-102.
65. Budowle B. SNP typing strategies. *Forensic Sci Int* 2004 Aralık; 146:139-42.
66. Sobrino B, Brion M, Carracedo A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Science International* 2005 Kasım; 154(2-3):181-94.
67. Børsting C, Morling N. Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet* 2015 Eylül; 18:78-89.

68. Atdbio. Next Generation Sequencing Free Exclusive Online Book. Alıntı: <http://www.atdbio.com/content/58/Next-generation-sequencing> (Kasım, 2018).
69. Yang Y, Xie B, Yan J. Application of Next-generation Sequencing Technology in Forensic Science. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2014 Kasım; 12(5):190-7.
70. Illumina. An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology. Alıntı: https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf (Kasım, 2018).
71. Ansorge WJ. Next-generation DNA sequencing techniques. *N Biotechnol* 2009 Nisan; 25(4):195-203.
72. Qiagen. Investigator® HD-plex Handbook. Alıntı: <https://www.qiagen.com/at/resources/resourcedetail?id=7d1661bd-a47b-4b19-a882-357a61b48c64&lang=en> (Kasım, 2018).
73. Phillips C, Fernandez-Formoso L, Gelabert-Besada M, Garcia-Magarinos M, Amigo J, Carracedo A ve ark. Global population variability in Qiagen Investigator Hdplex STRs. *Forensic Sci Int Genet* 2014 Ocak; 8(1):36-43.
74. Schmid D, Anslinger K, Rolf B. Allele frequencies of the ACTBP2 (=SE33), D18S51, D8S1132, D12S391, D2S1360, D3S1744, D5S2500, D7S1517, D10S2325 and D21S2055 loci in a German population sample. *Forensic Sci Int* 2005 Temmuz; 151(2-3):303-5.
75. Nei M. Molecular evolutionary genetics. 1987 Kasım; 51(3):343-4. doi: 10.1016/0092-8674(87)90630-1.
76. Hares DR. Selection and implementation of expanded CODIS core loci in the United States. *Forensic Sci Int Genet* 2015 Temmuz; 17:33-34.

77. Qiuling L, Hailun N, Xin H, Weiwei W ve Dejian L. Population genetic data of Investigator HDplex markers in Han population from Southern China. *International Journal of Legal Medicine* 2019 Ocak;133(1):77-79.
78. Tillmar AO, Nilsson H, Kling D, Montelius K. Analysis of Investigator HDplex markers in Swedish and Somali populations. *Forensic Sci Int Genet.* 2013 Ocak;7(1):e21-2.
79. Wojtkiewicz R, Markiewics B, Jedrzejczyk M, Jacewicz R. Polymorphism of 12 STR loci included in the Investigator HD-plex kit in Polish population of Lodz region. *Arch Med Sad Kryminol* 2016;66(1):13-22.
80. Qiagen. Population data for Investigator HDplex. Alıntı:
<https://www.qiagen.com/ca/resources/resourcedetail?id=517e2fea-d66a-43f8-b859-faef953ca951&lang=en&Print=1> (Kasım, 2018).
81. Zintzaras E. Impact of HardyWeinberg equilibrium deviation on allele-based risk affect of genetic association studies and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology* 2010; 25 (8):553-560.

9. Ekler

Ek 1. Bilgilendirilmiş Onam Formu

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü tarafından yürütülen ve aşağıda adı geçen araştırma projesinde kullanılmak üzere biyolojik örnek verme yoluyla katkıda bulunmanızı dileriz.

Projenin adı : Yeni 10 STR Lokusunun (D7S1517, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) Türkiye'deki Gen Sıklığının Belirlenmesi

Proje Yürütücüsü: Tuğba Sohtorik Öztürk

Araştırmanın amacı: Bu tez çalışmasında biyolojik örneklerden kişilerin DNA profilleri çıkarılacaktır. Bunun için DNA üzerindeki STR denilen kısa tekrar dizileri incelenecektir. Ancak kişi identifikasyonunda, adli araştırmalarda, babalık davaları ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde rutinde sıklıkla bakılan bölgelere alternatif daha önce çalışılmamış yeni STR bölgeleri kullanılacak ve bu bölgelerin Türkiye'deki görülme sıklıklarına bakılacaktır. Tez çalışması sonunda söz konusu lokuslara ait elde edilecek gen sıklıkları çeşitli biyolojik delillerden kişi identifikasyonu, babalık ve akrabalık tayininde kullanılabilir. Ayrıca literatüre daha önce araştırılmamış yeni polimorfik bölgeler kazandırması açısından da önem taşımakta olan bu çalışma kişi identifikasyonunda zorlukların yaşanabildiği bazı durumlarda sonuçların alternatif yollarla teyit edilmesini mümkün kılacaktır.

Araştırmanın katılımcıya herhangi bir etkisi yoktur. Gönüllü, istediği anda araştırmacıya haber vererek araştırmadan çekilmek isteyebilir. Bu durumda araştırmacı, katılımcının örneklerini derhal imha edecektir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir.

Gönüllü katılımcı, araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecektir. Ayrıca kendisine bir ödeme yapılmayacaktır.

Gönüllü katılımcının kimlik bilgileri son derece gizli tutulacaktır ve hiçbir surette kimse ile paylaşılmayacaktır. Bilgilerin kullanımında kodlama kullanılacaktır. Katılımcının çalışmadan herhangi bir neden ile ayrılması durumunda tüm kayıtları silinecektir.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verilmektedir.

Bilgilendirilmiş olur: Bilgilendirilmiş olur formunu okudum ve anladım. Konu ile ilgili yazılı ve sözlü açıklamalar tarafıma yapıldı. Yukarıda adı geçen çalışma için biyolojik örnek vermeyi kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kabul ediyorum. İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsünün genetik inceleme sonuçlarımı anonim bir şekilde bilimsel yayınlarında kullanmalarını kabul ediyorum.

Araştırmacının mobil telefon numarası: 0535 2283147

Araştırmaya gönüllü katılan kişinin

Araştırmacının

Adı – Soyadı:

Adı – Soyadı:

Doğum yeri:

İmza

Yaşı:

İmza

Ek 2. Etik Kurul Onayı

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI**

İstanbul / /

Sayı : 40222
Konu :

İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü
Müdürlüğüne

31 Ekim 2011

İLGİ: 03.10.2011 tarihli, 1562 sayılı yazınıza:

Enstitünüz Fen Bilimler Anabilim Dalı öğretim Üyesi Yard.Doç.Dr.Gönül FİLOĞLU'nun danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi Tuğba Sohtorik ÖZTÜRK'ün yürütücülüğünde "Yeni 10 STR Lokusunun (D7S1S17, D3S1744, D12S391, D2S1360, D6S474, D4S2366, D8S1132, D5S2500, D21S2055, D10S2325) Türkiye'deki Gen Sıklığının Belirlenmesi" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 25 Ekim 2011 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.

Eki:
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar
Etik Değerlendirme Kurulu Başkanı

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
Adli Tıp Enstitüsü**

GELEN EVRAK

Sayı : 2011/1812

Tarih : 26.11.2011

Sema L A

Not: Yanıtlarda yazınızın gün sayısını belirtmesi rica olunur. Tel:(0212)4143000

ASLININ AYNIĞI
Şaban AYKUT
Adli Tıp Enstitüsü Sekreteri

Ek 3. Genotip Bilgileri

Örnek No	D7S1517	D3S1744	D12S391	D2S1360	D6S474	D4S2366	D8S1132	D5S2500	D21S2055	D10S2325	D18S51	SE33
5	21 23	14 18	21 23	20 20	14 16	13 13	19 18	11 15	26 26	8 8	19 19	22.2 22.2
6	19 21	15 16	18 21	22 24	13 14	9 13	22 18	11 16	30 35	11 12	17 23	17 24.2
7	21 22	15 18	15 15	22 23	13 14	9 12	21 18	11 14	25 34	14 14	16 20	20 30.2
8	18 24	15 18	21 23	22 26	17 17	12 13	17 18	11 16	29 30	11 11	16 21	22.2 31.2
9	24 24	15 17	18 18	24 25	15 16	13 14	19 17	14 15	19.1 32	12 13	13 13	14 14
10	22 25	18 17	17 22	22 23	13 16	9 12	22 22	10 16	19.1 19.1	7 7	13 23	14 23
11	24 24	16 16	21 21	22 24	14 14	9 13	17 17	11 12	19.1 19.1	9 10	13 13	30.2 30.2
12	19 26	16 19	23 23	22 26	13 13	12 12	20 18	13 16	19.1 25	11 12	15 19	19 28.2
13	21 22	17 18	19 21	21 22	13 16	9 13	20 18	11 15	19.1 25	8 14	16 16	16 29.2
14	19 22	17 19	19 21	22 22	13 14	9 12	20 18	12 16	19.1 25	8 12	15 16	16 27.2
15	22 22	14 17	17 18	22 23	13 16	10 14	21 22	10 15	19.1 31	12 14	17 17	17 17
16	23 25	16 17	19 22	21 25	16 16	9 12	18 18	11 10	20.1 25	13 13	16 20	16 26.2
17	17 20	17 18	18 23	24 29	15 15	10 14	19 23	15 16	19.1 19.1	11 12	16 17	27.2 29.2
18	19 20	16 17	17 23	21 29	13 15	9 13	19 22	11 15	19.1 25	8 11	14 16	16 27.2
19	21 21	17 18	18 18	27 26	14 14	12 12	21 21	11 11	26 34	11 15	15 17	15 17
20	19 21	17 18	17 18	20 25	13 16	11 14	21 18	11 11	26 34	12 15	16 17	17 29.2
21	21 22	17 20	17 18	23 23	16 16	10 12	18 23	11 13	26 25	14 15	16 16	16 16
22	19 20	18 19	17 17	22 28	15 16	11 13	19 24	12 15	19.1 30	11 12	16 17	17 28.2
23	21 24	17 19	19 21	22 24	14 17	9 14	19 18	13 16	19.1 32	12 14	18 18	18 18
25	19 25	14 17	21 21	21 22	15 15	9 14	19 19	10 13	19.1 31	12 13	16 16	27.2 27.2
26	22 22	17 18	15 17	21 22	13 14	10 14	17 25	11 15	19.1 26	7 7	16 20	20 33
27	21 21	17 17	20 21	21 26	13 17	12 13	20 23	11 10	19.1 19.1	8 13	14 18	18 19
28	20 20	17 17	15 20	22 22	15 17	11 11	19 17	11 13	19.1 34	13 12	14 14	19 19
29	18 24	16 18	17 20	20 21	13 15	9 9	19 19	12 16	25 25	8 11	16 17	17 32.2
30	25 25	15 15	20 20	23 26	13 13	10 14	18 19	14 15	17.1 26	12 12	16 20	20 21
31	19 23	16 18	18 22	21 22	14 16	10 12	21 18	11 12	19.1 19.1	7 10	15 18	15 18

Örnek No	D7S1517	D3S1744	D12S391	D2S1360	D6S474	D4S2366	D8S1132	D5S2500	D21S2055	D10S2325	D18S51	SE33
32	25 23	15 19	19 21	25 27	13 13	9 12	18 18	11 13	25 33	12 14	14 15	14 15
34	19 19	17 17	19 19	20 22	13 15	11 13	22 22	14 15	16.1 26	11 12	15 15	18 24.2
40	19 19	14 14	20 23	20 26	13 16	12 12	22 18	11 15	26 34	11 11	13 14	18 18
42	20 25	19 19	17 17	20 25	13 15	9 12	17 17	13 15	19.1 26	10 15	14 20	16 26.2
43	22 22	20 20	18 20	22 22	17 17	9 12	17 21	11 16	19.1 30	11 13	13 13	15 21
48	16 19	20 20	19 20	22 22	13 16	9 12	22 23	13 11	26 16.1	9 10	14 17	29.2 30.2
54	21 21	19 19	18 22	20 21	13 13	9 13	18 18	12 15	16.1 16.1	10 12	12 16	18 27.2
55	20 25	16 18	21 24	20 22	13 17	9 13	20 22	10 15	16.1 16.1	12 13	17 17	18 27.2
58	23 23	17 17	20 23	23 23	13 14	9 9	16 16	17 17	16.1 16.1	7 13	12 14	18 26.2
59	25 23	18 17	18 23	22 27	14 17	9 9	21 21	15 17	19.1 19.1	7 13	14 15	16 30.2
60	19 25	18 19	15 19	22 25	16 17	13 14	19 19	11 14	16.1 35	9 12	12 19	28.2 30.2
61	20 26	17 17	18 19	20 22	16 16	9 13	17 19	15 16	25 29	10 11	12 14	15 28.2
62	19 19	14 16	16 18	21 22	15 16	11 14	18 18	11 15	19.1 25	7 7	13 15	14 31.2
63	20 25	18 20	19 23	25 25	14 16	13 13	20 18	11 10	31 31	12 13	17 19	19 28.2
64	25 25	18 19	20 20	22 22	14 16	9 9	17 18	11 10	16.1 19.1	8 11	15 19	19 25.2
65	25 25	21 21	21 21	26 26	13 13	10 14	17 17	15 15	19.1 30	10 10	13 13	20.2 29.2
66	19 24	18 19	19 22	22 23	14 15	12 12	20 26	12 11	19.1 25	13 12	12 16	17 19
67	19 25	15 15	18 18	23 23	14 14	9 9	19 20	16 16	19.1 19.1	7 7	20 20	27.2 27.2
69	19 25	18 19	18 20	22 24	14 14	13 14	18 22	16 16	19.1 29	12 15	15 16	14 19
70	23 25	17 21	20 20	20 23	14 16	10 13	22 18	12 15	19.1 34	10 12	12 20	19.2 24.2
71	20 20	14 18	17 18	22 24	15 16	9 13	20 23	11 12	19.1 34	9 14	13 16	22.2 25.2
72	19 22	16 19	22 25	22 22	15 17	10 12	20 18	12 15	33 34	12 13	14 15	27.2 30.2
74	22 23	17 17	22 22	22 23	15 15	11 14	17 18	15 16	21.1 31	7 12	12 17	16 17
75	23 23	14 17	18 18	22 26	14 16	9 11	23 24	15 16	19.1 19.1	7 14	13 15	19 19
76	22 25	17 17	23 24	22 26	14 18	9 14	19 19	11 16	25 36	9 12	13 15	26.2 26.2
77	24 25	14 16	19 22	22 27	16 17	13 13	18 18	12 10	19.1 21.1	7 7	13 15	28.2 28.2
78	23 25	17 18	16 16	22 27	14 16	11 14	19 24	12 12	21.1 34	7 12	13 19	18 25.2
79	22 22	16 17	22 22	22 28	15 15	13 13	24 24	13 13	25 30	9 11	14 14	24.2 28.2

Örnek No	D7S1517	D3S1744	D12S391	D2S1360	D6S474	D4S2366	D8S1132	D5S2500	D21S2055	D10S2325	D18S51	SE33
80	25 23	17 18	18 18	20 22	13 14	11 12	21 21	17 17	19.1 25	10 15	13 18	23 23
81	20 20	17 17	21 23	26 27	13 18	9 9	19 23	12 15	19.1 32	14 14	13 16	19 19
82	25 26	17 20	19 21	20 24	14 14	10 14	23 23	15 15	16.1 25	11 14	13 17	26.2 29.2
83	24 25	15 17	22 24	21 21	14 16	14 14	23 24	15 16	18.1 18.1	8 10	12 16	24.2 25.2
84	21 25	14 16	19 21	23 24	16 16	9 13	22 23	12 15	35 35	10 10	16 18	21 28.2
87	19 24	18 18	19 23	22 26	16 16	9 15	21 22	11 13	19.1 33	8 12	14 14	18 29.2
88	19 23	14 16	17 19	22 24	16 18	10 10	21 22	11 10	19.1 19.1	10 11	15 16	26.2 26.2
89	20 25	17 19	20 20	23 22	15 16	9 9	20 20	12 12	19.1 34	8 11	13 14	28.2 28.2
90	25 25	15 18	22 22	22 23	13 13	10 10	17 20	15 15	33 33	9 13	12 17	19 19
91	26 25	17 18	17 18	22 23	16 16	9 12	20 22	11 12	16.1 26	9 13	10 16	19 27.2
92	20 20	16 17	17 22	20 22	15 17	9 11	20 21	12 12	25 35	12 13	14 17	17 25.2
93	20 20	16 17	20 23	22 28	13 16	14 14	19 23	11 15	26 33	13 10	13 14	28.2 29.2
140	20 25	17 17	19 22	21 24	14 16	10 10	22 18	10 11	19.1 23	7 7	13 15	19 30.2
141	20 26	17 17	18 19	27 28	14 17	9 13	20 20	12 15	19.1 20.1	7 7	15 17	16.2 27.2
145	25 25	17 17	20 21	24 24	16 16	9 9	20 20	13 15	26 33	12 13	18 18	18 26.2
177	21 24	14 14	24 24	23 24	16 17	9 9	21 21	15 15	20.1 20.1	10 10	14 15	16 20
178	22 24	15 17	23 24	22 23	13 14	9 13	19 23	12 15	19.1 26	9 16	14 17	21.2 27.2
179	18 21	15 18	19 20	20 22	13 13	9 12	19 20	11 10	19.1 20.1	9 14	14 14	25.2 26.2
181	23 23	14 17	18 18	23 25	13 13	9 9	22 23	15 15	16.1 29	11 11	16 16	30.2 30.2
182	21 25	17 20	17 21	20 23	16 16	9 12	17 22	11 14	17.1 26	10 11	13 17	17 19
183	21 22	15 17	15 19	20 20	13 16	13 13	22 22	11 11	20.1 25	7 7	13 15	17 17
186	19 19	16 19	17 23	22 25	14 16	9 9	18 18	11 11	17.1 17.1	11 13	13 15	25.2 31.2
191	18 27	14 16	18 20	19 19	16 17	12 14	20 24	15 15	19.1 19.1	10 12	13 18	18 18
192	23 25	19 19	20 20	25 25	13 13	10 11	18 18	12 12	16.1 31	9 10	14 16	24.2 28.2
197	21 23	14 18	17 18	22 23	16 16	9 9	18 18	10 11	27 27	13 15	18 18	20 29.2
200	21 24	16 18	19 19	22 26	15 16	9 10	20 20	11 12	26 26	10 10	13 18	17 29.2
201	21 23	16 17	17 17	25 25	16 16	9 9	21 22	14 15	26 26	13 13	14 16	21 21
202	25 25	15 19	17 18	20 28	16 16	11 12	18 18	12 15	19.1 32	11 11	14 15	14.2 20

Örnek No	D7S1517	D3S1744	D12S391	D2S1360	D6S474	D4S2366	D8S1132	D5S2500	D21S2055	D10S2325	D18S51	SE33
203	24 24	17 19	18 18	23 23	13 14	12 12	20 20	11 12	34 34	11 12	12 14	18 18
204	23 24	13 17	21 21	20 28	15 15	12 15	19 19	11 10	20.1 35	12 13	16 16	18 24.2
206	18 20	16 21	18 21	23 26	13 14	12 13	21 21	11 14	26 29	9 13	14 18	27.2 30.2
207	22 27	18 18	18 19	21 25	13 15	10 10	19 22	12 12	26 33	7 10	12 12	18 29.2
208	23 25	14 18	20 22	22 25	14 15	10 12	19 22	11 12	26 35	7 7	17 18	29.2 34
209	23 25	16 18	18 23	23 23	13 16	11 14	21 24	11 12	29 34	9 10	18 20	20 30.2
210	24 24	16 19	18 19	23 23	13 14	10 11	23 24	15 15	33 33	10 12	18 19	21 29.2
212	18 24	16 18	19 20	22 24	14 16	10 14	18 19	15 16	25 33	12 12	13 15	13 27.2
213	25 23	17 18	21 24	24 26	14 17	10 11	21 23	11 18	35 35	11 11	12 19	13 13
214	18 22	16 20	17 19	22 26	14 14	10 10	22 23	11 16	20.1 20.1	12 13	14 15	18 18
215	19 23	17 17	22 25	20 26	13 13	10 12	21 22	15 15	34 34	10 9	12 12	18 30.2
216	25 25	14 19	20 22	27 28	13 14	10 13	16 18	14 15	20.1 22.1	11 15	12 14	22.2 30.2
217	18 24	16 17	17 24	20 25	13 14	10 13	19 21	10 11	27 34	9 11	12 15	20 28.2
218	19 24	16 17	19 23	23 24	13 16	9 9	20 23	12 15	25 33	7 11	16 17	18 20
219	18 24	18 18	20 22	22 24	14 14	11 14	21 23	11 14	20.1 29	11 13	13 14	14.2 16
220	24 28	17 17	18 22	21 22	16 16	9 9	19 21	11 12	25 35	10 14	12 13	13 30.2
221	22 24	17 19	18 23	22 24	14 14	12 13	18 18	11 16	28 28	12 12	13 14	18 28.2
222	24 25	16 17	18 21	23 26	13 17	9 12	19 18	11 11	27 33	13 9	13 19	18 28.2

10. ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyad: Tuğba SOHTORİK ÖZTÜRK

Doğum Tarihi: 15.04.1983

Doğum Yeri: İstanbul

E-Posta: tugbasohtorik@yahoo.com

Eğitim Bilgileri:

2010-2018 : İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, Yüksek Lisans

1999-2005 : İTÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Lisans.

1996-1999 : Çağlayan Lisesi, Mezuniyet Derecesi 1.lik.

Sertifika Eğitimleri:

2008 : İTÜ, ONKIM Kök Hücre Teknolojileri, İnsan Embriyonik Kök Hücreleri Uygulamaları Kursu Sertifikası

2007 : İTÜ İşletme Mühendisliği Bölümü, Sağlık İşletmeleri Yöneticiliği Sertifika Programı, Mezuniyet Derecesi 2.lik

2006 : İTÜ İşletme Mühendisliği Bölümü, ISO 9001 Kalite İç Tetkikçi (Denetçi) Eğitimi

İş Tecrübesi:

Magma Mühendislik Çeviri Yönetimi – Eylül 2012 – Kasım 2013, Freelance çevirmen

Taksim Alman Hastanesi – Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Moleküler Genetik Laboratuvarı, Ağus. 2008-Eylül 2012, Moleküler Genetik Sorumlusu

EUROFERTIL – Üreme Sağlığı Merkezi: Androloji, embriyoloji ve kryo laboratuvarları, Kasım 2005-Mayıs 2007, Biyolog

İTÜ MOBGAM – Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarları, Mayıs 2004-Mayıs 2005, Proje Asistanı

T.C. Adli Tıp Kurumu – Biyoloji İhtisas Daire Başkanlığı, Mayıs 2004- Ekim 2004, Stajyer

Katılan Sempozyumlar:

2012 Temmuz: 22. Uluslararası Adli Tıp Akademisi Kongresi, Haliç Kongre Merkezi, İstanbul.

2008 Mayıs: 3. Klinik Pratikte Kök Hücre ve Gen Tedavisi Kongresi, Askeri Müze, İstanbul.

2008 Mayıs: 7. ALPHA 2008 Bienial Konferansı, Askeri Müze, İstanbul.

2007 Nisan: 6. MSRM Toplantısı, Gloria Golf Resort Hotel, Antalya.

2005 Ocak: 1. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.

2005 Ocak: 4. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul Üniversitesi.

2004 Eylül: Türkiyede Tarımsal Biyoteknoloji Sempozyumu, Sabancı Üniversitesi, İstanbul.

2001 Eylül: Mühendislikte Modern Teknikler Sempozyumu, İTÜ BUMAT, İTÜ, İstanbul.

Yayınlar:

Sohtorik Öztürk T, Bülbül Ercan Ö, Filoğlu Tüfek G. Allele frequencies of the non-codis 10 str loci in Turkish population. *Forensic Science International*, vol.277, pp.27-28, 2017.

Sohtorik T ve diğ. 2007. "A Case Report: Twin Pregnancy with Globozoospermia after intracytoplasmic sperm injection" 6th Annual Meeting of Mediterranean Society for Reproductive Medicine (MSRM), Sunum, 20-23 Nisan, Antalya.

Ergin E, Sohtorik T ve diğ. 2007. "Comparison of pregnancy and implantation rates for two different embryo transfer catheters" *Fertility and Sterility*, v. 88, sup. 1, sy. 333-334.

Ozgel Z, Sohtorik T ve diğ. 2007. "Effects of incubation time of frozen-thawed testicular sperm on pregnancy and implantation rates in intracytoplasmic sperm injection patients" *Fertility and Sterility*, v. 88, sup. 1, sy. 375-376.

Ergin E, Sohtorik T ve diğ. 2007. "Using modified intracytoplasmic sperm injection technique to increase fertilization and pregnancy rates for globozoospermic patients" *Fertility and Sterility*, v. 88, sup. 1, sy. 378-379.

Ergin E, Sohtorik T ve diğ. 2006. "Embriyo kültür medyumunda tespit edilen Soluble Human Leukocyte Antigen-G gebelik tahmininde belirleyici midir?" 2. Ulusal Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite Kongresi (TSRM), Poster, 7-10 Eylül, Antalya.

Sohtorik T, 2005. "Kemikten DNA İzolasyonu" 4. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci Sempozyumu, Sunum, 4-5 Ocak, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul.

Sohtorik T, 2005. "Dye decolorisation using white rotter LSK-27 and possible role of redox mediators " Bitirme Tezi, İTÜ Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul.