T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması

Elif YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Doç. Dr. Tülin ÖZBEK

Eş Danışman

Doç. Dr. Beytullah KARADAYI

Mart, 2022

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması

Elif YÜKSEL tarafından hazırlanan tez çalışması 03.03.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Tülin ÖZBEK Yıldız Teknik Üniversitesi Danışman	Doç. Dr. Beytullah KARADAYI İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Tülin ÖZBEK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Şükriye KARADAYI, Üye
Altınbaş Üniversitesi _____

Prof. Dr. Muhammed Hamza MÜSLÜMANOĞLU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Tülin ÖZBEK ve eş danışmanım Doç. Dr. Beytullah KARADAYI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan 'Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması' başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Elif YÜKSEL

İmza

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FYL-2020-4072 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

‘Hayatımda iyi ki var’ dediklerime

TEŞEKKÜR

İki yıllık yüksek lisans öğrenimim boyunca üzerimde emeği geçen bütün hocalarıma bilhassa bu süreçte her koşulda yanımda olup gerektiğinde sakinleştiren gerektiğinde yeni yollar ve çözümler sunan değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Tülin ÖZBEK'e çok teşekkür ederim.

Tezime karar verme aşamasından sonra benim için yabancı bir alan olan Adli Bilimler konusunda beni bilgilendiren, olaylara ve durumlara nasıl yaklaşmam gerektiğini öğrenmem için kaynaklarla beni destekleyen sevgili hocalarım Doç. Dr. Beytullah KARADAYI ve Dr. Öğr. Üyesi Şükriye KARADAYI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte hem imkanlarını sunarak hem de manevi destek olarak yanımda olan NGC Sağlık Hizmetleri A.Ş çalışma arkadaşlarıma ve şeflerime teşekkürü borç bilirim.

Hayatım boyunca her kararımda beni destekleyen, sevgisini bir gün eksik etmeyen canım aileme sevgimi ve minnetimi sunuyorum.

Bu zorlu süreçte düştüğümde beni kaldıran, motivasyon konuşmalarıyla beni heyecanlandıran, her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Ve İlker KAYA'ya.

Elif YÜKSEL

İÇİNDEKİLER

KISALTMA LİSTESİ vii
ŞEKİL LİSTESİ viii
TABLO LİSTESİ ix
ÖZET x
ABSTRACT xii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 2
2 ADLİ BİLİMLER VE GENETİK 4
2.1 Adli DNA Analizlerinin Tarihçesi 4
2.2 Olay Yeri İncelemesi 5
2.2.1 Delil 5
2.3 Tırnak Altı DNA Materyali 7
3 ADLİ ANALİZLERDE KULLANILAN DNA BÖLGELERİ 11
3.1 Minisatallitler (VNTR: değişken sayıda sıralı tekrar) 13
3.2 Mikrosatallitler (STR) 13
3.3 STR Lokuslarının Çeşitliliği 14
3.4 Adli DNA Analizlerinde Kullanılan STR Lokuslarının Özellikleri 15
4 STR TESPİT AŞAMALARI 17
4.1 DNA İzolasyonu 18
4.2 DNA Kantitasyou 18
4.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu 19
4.4 Kapiller Elektroforez 19
4.5 STR Profilinin Çıkarılması 21
4.5.1 RFU (Rölatif Floresan Birim) 21
4.5.2 Allel Pikleri 22
4.5.3 Allellerin Adlandırılması 22
4.5.4 Yapay Pikler 22
4.5.5 Karışım DNA Örnekleri 25

4.5.6 Adli DNA Analizlerinde Karşılaşılan Sorunlar 29
5 MATERYAL VE METOT **31**
5.1 Çalışma için Sterilizasyon 32
5.1.1 Kürdanlardan svap yapımı ve sterilizasyonu 32
5.1.2 Tırnak makaslarının sterilizasyonu 34
5.1.3 Örneklerin Taşınmasında Kullanılan Malzemelerin Sterilizasyonu 34
5.2 Gönüllü Çiftlerden Örnek Toplanması 34
5.3 Örneklerden DNA İzolasyonu 37
5.3.1 Bukkal Svap ve Tırnak Altı Materyali Toplanılan Svap ve İnce Kürdan Svaplardan DNA İzolasyonu 37
5.3.2 Tırnak Kırpıntılarından DNA İzolasyonu 38
5.4 DNA Kantifikasyonu 39
5.5 STR Lokuslarının Amplifikasyonu 40
5.6 Kapiller Elektroforez 40
5.7 DNA Profil Sınıflandırması 41
5.8 STR Analiz Değerlendirme Formu 41
6 BULGULAR **43**
6.1 Örneklerin DNA Kantifikasyonu 43
6.2 Kapiller Elektroforez Görüntülemesi ve STR Profillerinin Değerlendirilmesi 43
7 SONUÇ VE ÖNERİLER **62**
KAYNAKÇA **64**
A ETİK KURUL ONAYI **68**
B BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU **69**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **72**

KISALTMA LİSTESİ

BGOF	Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu
BSA	Sığır Serum Albümin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksinükleosit Trifosfat
DTT	Dithiothreitol
ml	Mikrolitre
NA	Nutrient Agar
ng	Nanogram
PAM	Poliakrilamid
PBS	Phosphate-buffered Saline
PDMA	N,N-polydimetilakrilamid
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Lenght Polymorphism
RNA	Ribonükleik asid
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
STR	Short Tandem Repeats
UV	Ultraviyole
VNTR	Variable Number Tandem Repeats

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1 İnsan genomunun içerik dağılımı [11] 13
Şekil 3.2 İki STR lokusuna ait özellikler.....14
Şekil 4.1 STR tespit aşamaları [28] 17
Şekil 4.2 Kapiller elektroforez sistemi [31].....21
Şekil 4.3 STR tiplemesinde sıklıkla gözlemlenen çeşitli artefaktları gösteren elektroferogram [31] 23
Şekil 4.4 Bir '6,8' genotipine sahip heterozigot bireyle gösterilen primer bağlanma bölgelerindeki bir dizi polimorfizminin etkisi [31] 24
Şekil 4.5 Tek kaynaklı (a) ve karışım (b) örneklerine ait allel piklerinin şematik gösterimi [36].....26
Şekil 4.6 İki katılımcılı bir karışım örneğinin herhangi bir lokusundaki olası allel kombinasyonları [39] 27
Şekil 4.7 Karışım örneklerinin yorumlanmasında izlenecek adımlar [37,39] 28
Şekil 5.1 Kürdana sarılmış pamuktan elde edilen svaplar a)üstten görünüm b)alttan görünüm 33
Şekil 5.2 Sterilizasyon kontrolü için yapılan NA ve SDA kültürleri.....33
Şekil 5.3 İnce kürdan svap ve normal svapın boyut karşılaştırması.....34
Şekil 5.4 Ense altındaki sırt bölgesinin üç parmak ile kaşınması.....35
Şekil 5.5 Tırnak kırpıntısı örnek alımı.....35
Şekil 5.6 a) Svap ucuna serum fizyolojik damlatılması b)nemli svap ile örnek alımı 36
Şekil 5.7 İnce kürdan svap ile örnek alımı 36
Şekil 5.8 STR analiz değerlendirme formu.....42
Şekil 6.1 Bir erkek katılımcının bukkal svap ile alınan örneğinden elde edilen STR profili 44
Şekil 6.2 D21S11 STR lokusuna ait kapiller elektroforez görüntüsüne göre a) üst taraftaki 2 pik (28,31 allelleri) erkeğe ait STR allelleri iken altta görülen 4 pik tırnak kırpıntısından elde edilen STR allelleridir (28,29,30,31 allelleri) 28,31 erkeğe aitken 29,30 kadına ait allel tekrar sayılarıdır b) Kadına ait STR allelleri 45
Şekil 6.3 Bir gönüllü çiftin örneklerinden elde edilen STR profil görüntüleri.....47
Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları 48

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 D3S1358 STR bölgesinin isimlendirilmesi.....14

Tablo 4.1 İki katılımcının olduğu karışık örneklerde muhtemel allel kombinasyonları [11] 29

Tablo 4.2 PZR aşamasında sıklıkla karşılaşılan intihibitörler [36] 30

Tablo 5.1 PZR bileşenlerinin reaksiyon başına kullanılacak hacimleri.....40

Tablo 5.2 STR profillerinin sınıflandırılması [9] 41

Tablo 6.1 Örneklere ait STR profil sınıflandırma sonuçları 60

ÖZET

Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması

Elif YÜKSEL

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Tülin ÖZBEK

Eş-Danışman: Doç. Dr. Beytullah KARADAYI

Cinayet, cinsel istismar ve intihar gibi birçok adli vakanın aydınlatılmasında kullanılan biyolojik delillerden biri olan tırnak altı materyallerinden DNA analizi ile suçlunun kimliği belirlenmeye çalışılmaktadır. Adli örnekler genellikle ileri düzeyde parçalanmış, moleküler yapısı bozulmuş ve DNA içeriği 100 nanogramdan az olan biyolojik materyaller oldukları için, birçok yöntem sonuçsuz kalırken STR lokusları ile güvenilir sonuçlar alınabilmektedir. Fakat tırnak altı materyallerinin toplanmasından analizine giden süreçte henüz bir standart oluşturulamamıştır. Bu projede 3 farklı tırnak altı materyali toplama prosedürü karşılaştırılıp en verimli örnek toplama prosedürü belirlenerek adli vakalarda faili bulmaya yönelik rutin çalışmalara katkı sağlanması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda 12 gönüllü çiftten üç farklı yöntem ile tırnak altı materyali toplanmıştır. Toplanan örneklerden DNA ekstraksiyonu ve amplifikasyonu sonrasında kapiller elektroforezle STR profilleri elde edilmiştir. Analiz edilen STR profillerine göre üç farklı yöntemden tırnak kırpıntısı %58,3 (n:7) oranında 'Yüksek Seviye DNA Karışımı' sonucu verirken, ince uçlu pamuk

kürdan svaplar ile alınan örneklerin %75'i (n:9) 'Tam Tek Profil' eldesi sağlamıştır. Sonuç olarak bu çalışmada üç farklı tırnak altı materyali toplama prosedüründen erkeğe ait profilin çıkarılması noktasında en verimli yöntemin ince uçlu pamuk kürdan svaplar olduğunu söyleyebiliriz. Tırnak altı materyalinden faili bulmaya yönelik rutin çalışmalarda sık kullanılan normal boyutlardaki svapların yerine belli bir standartta üretilmiş ince uçlu svapların tercih edilmesinin, delillerin değerlendirilebilme potansiyelini arttırabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Adli genetik, str analizi, tırnak altı materyali, svap

ABSTRACT

A Comparative Study on the Collection and Analysis of DNA Evidence Obtained from Under the Nail Material

Elif YÜKSEL

Department of Molecular Biology and Genetic

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Tülin ÖZBEK

Co-supervisor: Assoc. Prof. Beytullah KARADAYI

The identity of the criminal is tried to be determined by the DNA analysis obtained from the under-nail materials, which is one of the biological evidences used in the clarification of many forensic cases such as murder, sexual abuse and suicide. Generally, forensic samples are highly fragmented, molecular structure degraded and DNA content is less than 100 nanograms (ng), so many methods (such as VNTR, RFLP) remain ineffective, while STR loci can yield reliable results. However, a standard has not yet been established in the process from collection to analysis of under-nail materials. In this project, it is aimed to contribute to the routine studies to find the perpetrator in forensic cases by comparing 3 different under-nail material collection procedures and determining the most efficient sample collection procedure. For this purpose, under-nail material was collected from 12 volunteer couples with three different methods. As a reference sample, samples were also collected from men by buccal svap. STR profiles were obtained by capillary electrophoresis after DNA extraction and amplification from the collected samples. According to the STR profiles analyzed, 58.3% (n:7) of the nail clippings gave the result of 'High Level DNA Mixture', while 75% (n:9) of the

samples taken with cotton swab wrapped in a toothpick gave the result of 'Full Single Profile'. As a result, in this study, we can say that the most efficient method for removing the male profile from three different under-nail material collection procedures is fine-tipped cotton toothpick swabs. We think that preferring fine-tipped swabs produced in a certain standard instead of the normal sized swabs that are frequently used in routine studies to find the perpetrator from under-nail material may increase the potential for evaluating the evidence.

Keywords: Forensic genetics, str analysis, under-nail material, swab

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Adli genetik, DNA analizleri ile nesep davaları, toplu felaketler, suçlunun kimliklendirilmesi ve miras gibi davalarda adalet sistemine yardım etmeyi amaçlayan bir bilim dalıdır [1]. Adli olguların aydınlatılmasında DNA teknolojilerinin kullanılması önemli olup daha fazla sayıda vakanın aydınlatılabilmesi için sürekli olarak geliştirilmektedir [2].

İşlenen bir suçun açıklığa kavuşturulmasına ve suç sanıklarının tespitine yarayan hukuka uygun olarak elde edilmiş her türlü ispat vasıtasına delil denir [3]. Canlıların vücudundan kopan, düşen, bulaşan veya akan her türlü delil biyolojik delildir. Biyolojik deliller kan, semen, diş, tırnak, tükürük, ter, deri, saç, kemik, idrar ve gaita şeklinde olabilir [4]. Biyolojik delillerin incelemesinde temel amaç, çoğunlukla canlıların genetik materyali olan deoksiribonükleik aside (DNA) ulaşmaktır.

Adli DNA örnekleri çoğunlukla DNA'nın kodlama yapmayan bölgelerindeki tekrarlayan DNA dizileri kullanılarak analiz edilir [1]. Short Tandem Repeats (STR) yani kısa ardışık tekrar dizileri 2-6 baz uzunluğunda tekrarlayan polimorfik DNA dizileridir [5]. Genellikle adli örnekler ileri düzeyde parçalanmış, moleküler yapısı bozulmuş ve DNA içeriği 100 nanogramdan (ng'dan) az olan biyolojik materyaller oldukları için birçok yöntem (VNTR, RFLP gibi) sonuçsuz kalırken STR lokusları ile güvenilir sonuçlar alınabilmektedir [6]. Günümüzde STR lokuslarının PZR tekniği ile çoğaltılmasına dayanan adli DNA analizleri kullanılmaktadır. Kullanılan polimorfik STR lokusları ticari markalar altında kit şeklinde temin edilebilmektedir [7].

Cinayet, intihar ve cinsel istismar gibi çözümlenmesi zorluk içeren birçok adli vakanın aydınlatılmasına yardımcı olan önemli biyolojik delillerden biri, tırnak altı

materyalleridir. Elde edilen tırnak altı materyallerinden DNA analizi ile suçlunun kimliği belirlenmeye çalışılır. Fakat tırnak altı materyallerinin toplanmasından analizine giden süreçte henüz 'en iyi' ya da 'ideal' diye ifade edilebilecek prosedürler ortaya konulamamış ve maalesef bir standart oluşturulamamıştır [8].

Gündelik fiziksel aktiviteler sırasında tırnak altında biyolojik materyal birikir. Bu hücresel birikim genellikle numunelerin çoğunda saptanabilir olmasına rağmen, DNA karışımı için yeterli olmamaktadır. Fakat bu durum şiddetli temas içeren cinayet ve tecavüz vakalarında geçerli olmayabilir [9].

Literatürde yer alan az sayıdaki adli çalışmada farklı metotlar uygulanarak tırnak altı materyalleri toplanmış ve metotlar karşılaştırılmıştır. Yapılan bir çalışmada tırnakların kesilmesi ve nemli ve kuru svapla örnek alımı ve kazıma yöntemi olmak üzere üç yöntemle örnekler toplanmış ve DNA STR analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tırnak kırpıntılarından daha fazla DNA elde edildiği fakat kadına ait allel pik yüksekliklerinin erkeğe ait allel piklerini gölgelediği görülmüştür. Kazıyarak örnek alma metodunda erkeğe ait DNA miktarı azlığı nedeniyle bazı STR lokuslarında erkeğe ait alleller tespit edilememiştir. Nemli ve kuru svaplar ile alınan örnekler hem DNA miktarı hem de kadın ve erkekten elde edilen DNA miktarlarının oranı açısından daha verimli bulunmuştur [10].

1.2 Tezin Amacı

Tırnak örnekleri ve tırnak altında yer alan biyolojik materyaller birçok kriminal vakanın aydınlatılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Adli olguda olayın aydınlatılabilmesi için gerekli tırnak altı materyali hem mağdura ait hücreler hem de olayın failine ait hücreleri içeren karışık DNA sunmaktadır. Bu durum kişi ya da kişilerin kimliklendirilmesi için kullanılan STR analizlerinde bazı sorunlar oluşturabilmektedir. Bundan dolayı adli vakalar sonrası tırnak ve tırnak altı materyalinin toplanma yöntemleri büyük önem taşımaktadır. Yapılan çalışmalarla tırnak örneklerinden ve tırnak altı biyolojik materyallerinin toplanması ve DNA izolasyonu noktasında farklı yöntemler denenmiş ancak en verimli yöntemleri içeren bir prosedür oluşturulamamıştır. Bu çalışmanın amacı; üç farklı prosedürle tırnak altı materyalinden DNA delillerinin toplanması ve STR analizi ile bu

toplama yöntemleri arasındaki etkinliğin karşılaştırılmasıdır. Elde edilen sonuçlarla adli vakaları aydınlatmada kullanılan rutin çalışmalara katkı sağlayarak, faili meçhul dosya sayısının azaltılmasına katkı sunmak hedeflenmektedir.

1.3 Hipotez

Sunulan tezde “Adli tıpta kanıt açısından önceliğini koruyan biyolojik materyallerden tırnak altı materyali eldesinden başlayarak STR lokusu analizine kadar geçen süreç standardize edilebilerek rutin çalışmalara katkı sağlanabilir” hipotezinden yola çıkılmıştır.

2
ADLİ BİLİMLER VE GENETİK

Pozitif bilimlerin adli olaylara uygulanması olarak kısaca tarif edilebilecek ‘Adli Bilimler’ disiplinler arası bir bilimdir. Adli Bilimler; meydana gelen olayda suç, suçlunun belirlenmesinde yardımcı olan ve bilimsel yöntemleri kullanan bir disiplindir [11].

Adli genetik ise, polimorfik eritrosit enzimleri ile başlayarak, çok çeşitli DNA analizleri ile devam eden süreçte, nesep davaları, toplu felaketler, suçlunun kimliklendirilmesi ve miras gibi davalarda adalet sistemine yardım etmeyi amaçlayan bir bilim dalıdır [1]. Adli olguların aydınlatılmasında DNA teknolojilerinin kullanılması ve bu teknolojilerin de çağın gerekliliklerine uygun olarak sürekli gelişme göstermesi, bu alanda çalışan araştırmacıların da sayısının artmasına sebep olarak, daha fazla yeni çalışmanın gerçekleştirilmesini sağlaması bakımından oldukça önemlidir [2].

Biyolojik materyallerin kullanımı ile bireylerin kimliklendirilmesi çalışmaları 1900’lü yılların başlarına dayanmaktadır. Dönemin başlarında adli bilimler için oldukça önemli olan kimliklendirme sorununun çözümlenmesinde kan grubu analizleri ve protein farklılıklarını tespit etmeye yönelik elektroforetik teknikler kullanılmıştır. DNA’nın yapısının ve işlevinin açığa çıkarılmasının ardından serolojik analizler yerini DNA polimorfizmlerinin ortaya çıkartılmasını hedefleyen DNA analizlerine bırakmıştır. Yıllar süren çalışmalar sonucunda adli DNA analizleri bugün geldiği noktada mahkemelerce kabul gören en değerli deliller arasında yerini almıştır [12].

2.1 Adli DNA Analizlerinin Tarihçesi

DNA molekülü üzerine yapılan çalışmalar Avery ve arkadaşlarının 1944 yılında DNA’nın kalıtımdan sorumlu molekül olduğunu ortaya koyan deneyleri ile hızlanmıştır. 1953 yılında Watson ve Crick DNA’nın çift sarmal yapıda olduğunu

keşfetmesi ile yapısal özellikleri aydınlatılan DNA'nın fonksiyonel özellikleri de çözülmeye başlamıştır. 1980'de David Botstein ve arkadaşları bireylerin DNA'larında bazı bölgelerin küçük farklılıklar içerdiğini tespit edip bu varyasyon tipini restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) olarak isimlendirmişlerdir. 1984'te Alec Jeffreys'in hastalıklar üzerinde genetik çalışmalar yaparken RFLP teknolojisinin kişilerin tanımlanmasında kullanılabileceğini keşfetmesi adli DNA analizlerinin hız kazanmasına vesile olmuştur. Bu yeni teknik "DNA Parmakizi" olarak adlandırılmış ve ilk olarak 1985'te İngiltere'de bir suç vakasının aydınlatılmasında kullanılmıştır. Bu vakada elde edilen başarı sonrasında adli DNA profillendirmesi olay, olay yeri ve kişiler arasında güçlü ve doğru bağlantı kurabilen bir yöntem olarak bilim adamları, hukukçular ve kolluk güçleri için temel araştırma yöntemlerinden biri haline gelmiştir [13]. 1986'da Kary Mullis PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) tekniğini keşfederek kimya dalında Nobel Ödülü kazanmış ve bu olay tüm moleküler genetik çalışmaları ile birlikte adli DNA analizlerinin de gelişmesini sağlamıştır. Günümüzde PZR tekniği yardımı ile tek bir hücreden dahi kimliklendirme yapılabilmektedir ve tüm adli laboratuvarlarında PZR temelli teknikler kullanılmaktadır [14].

2.2 Olay Yeri İncelemesi

Olay yeri, suçun davranışa dönüştüğü yerde başlayıp failin gidebileceği yerleri içeren, dinamik bir alandır [46]. Mağdur, fail ve olay yeri arasındaki geçiş, "Her temas, bir iz bırakır." ilkesi olarak bilinen Locard Prensibi ile açıklanır. Buna göre, iki nesne birbiriyle temas ettiğinde birtakım materyaller birinden diğerine geçiş yapar. Başka bir deyişle; bir şüpheli, olay yerine veya mağdura bir şeyler bırakır ve mağdurdan veya olay yerinden bir şeyler götürür. Bunun için adli bilimlerin olay yerinde başladığı kabul edilir [47].

2.2.1 Delil

İşlenen bir suçun açıklığa kavuşturulmasına ve suç sanıklarının tespitine yarayan hukuka uygun olarak elde edilmiş her türlü ispat vasıtasına delil denir [3].

A.) Beyan Deliller

Sanık, tanık, mağdur ve benzeri kişilerin ifadelerine denir ve genellikle savcılık veya soruşturmacı birimlerce alınır.

B.) Maddi Deliller

Fiziki bir yapıya sahip olan, olay-olay yeri -şüpheli-mağdur ilişkisini ortaya koyan ve olayın çözümüne katkı sağlayan bilimsel, gerçekçi ve mantığa uygun her türlü nesne veya ize maddi delil denir. Değerlendirilmelerine göre dört gruba ayrılırlar;

- Biyolojik deliller

- Kimyasal deliller

- Fiziksel deliller

- İz deliller

2.2.1.1 Biyolojik Delil

Canlıların vücudundan kopan, düşen, bulaşan veya akan her türlü delile biyolojik delil denir. Biyolojik deliller kan, semen, diş, tırnak, ter, deri, saç, kemik, idrar ve gaita şeklinde sıralanabilir [4]. Biyolojik delillerin incelenmesinde temel amaç, canlıların genetik materyali olan deoksiribonükleik aside (DNA) ulaşmaktır.

- Referans biyolojik örnekler

Olay yerinde bulunan diğer biyolojik deliller ile karşılaştırılmak üzere şüpheli,mağdur ve üçüncü kişilerden alınan mukayese örnekleridir. Bir bireye ait tüm hücrelerde DNA aynı yapıda olduğundan olay yerinde bulunabilecek çok çeşitli biyolojik örnekler ile mukayese için şahıslardan tek tip (kan veya yanak içi epitel) mukayese biyolojik örnek yeterli olacaktır. Şahıslardan alınabilecek en kolay biyolojik örnek ağız içi svap örneğidir [11].

Biyolojik Delil Çeşitleri

a.) Kan
b.) Tükürük
c.) Meni Örnekleri

d.) Kıl Örnekleri

e.) Ter ve Epitel Hücre

f.) İdrar

g.) Gaita

h.) Kepek

i.) Doku ve Kemik Örnekleri

j.) Kimliği Belirsiz Cesetler

k.) Entomolojik Deliller

l.) Palinolojik Deliller

2.3 Tırnak Altı DNA Materyali

Tırnak altı DNA materyali, uzun bir süredir adli vakaların aydınlatılmasında kıymetli bir delil olarak görülmektedir. Cinayet olgularında, kurbanın ölmeden önce en son temas ettiği kişi veya kişilerin tespit edilmesi noktasında tırnak altından alınan sürüntü örnekleri ya da tırnak örnekleri önemli bir rol oynamaktadır. Cinayet olgularının yanı sıra, cinsel saldırı vakalarında ve şiddet içeren diğer adli olgularda, genellikle saldırganla mağdur arasında boğuşma yaşandığı ve bu esnada da iki kişi arasında biyolojik materyal transferi gerçekleştiği düşünülmektedir [9]. Transfer olan biyolojik materyalin (deri döküntüsü, kan, saç vb.) bir kısmının tırnak altına depolandığı ve olay sonrasında saldırganın tespit edilmesinde faydalı olabileceği belirtilmiştir [15].

Gündelik fiziksel aktiviteler tırnak altında biyolojik materyalin birikmesine neden olurken, bu hücresel birikim genellikle numunelerin çoğunda saptanabilir DNA karışımı için yeterli olmamaktadır. Fakat bu durum şiddetli temas içeren cinayet vakalarında ve tecavüz vakalarında geçerli olmayabilir [9].

2007 yılında günlük aktivitelerin tırnak altına biyolojik materyal transferine yönelik 100 gönüllü katılımcıyla yapılan bir çalışmada, sadece 13 örnekten karışık DNA profili elde edildiği ve bu profillerden yalnızca 6 tanesinin raporlanabilecek düzeyde olduğu bildirilmiştir [16].

2003 yılında yapılan bir çalışmada iki ayrı cinayet vakasında iki kadının tırnaklarının altında bulunan hücresel materyalden DNA analizi yapılmıştır. Bu

vakalarda, ölen kadınlar sırasıyla 2 ve 3 saat boyunca birincisi banyo suyuna, ikincisi deniz suyuna maruz kalmıştı. Yapılan DNA analizleri sonunda her iki vakada da elde edilen profillerin karışık DNA profilleri olduğu, DNA profillerinin bir kısmının ölen kadınlarınkiyle tutarlı ve geri kalan kısmın büyük olasılıkla bir erkeğe ait olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre cinayet vakalarında, olay sırasında maktülün eylemlerinin genellikle tam olarak bilinmediği göz önüne alındığında, suya daldırma da dahil olmak üzere, bulundukları duruma bakılmaksızın tüm maktüllerin tırnaklarının alınmasının gerekli olduğu vurgulanmıştır [17].

Her ne kadar tırnak örneklerinin ve tırnak altı DNA materyalinin ve diğer biyolojik materyallerin önemli olduğu noktasında hemfikir olunsa da bu örneklerin toplanmasından analizine kadar giden sürecin nasıl olması gerektiği ile ilgili ortak bir prosedür oluşturulamamıştır [8]. Tırnak altı DNA materyali rutinde çalışılsa da materyalin alınma yönteminden analizine kadar geçen süreçte ortak bir protokol oluşturulamamıştır.

- DNA verimini en üst düzeye çıkarmak için tırnak kanıtı toplamanın en iyi yöntemi nedir?
- Svap yöntemiyle tırnak altı materyali toplanacaksa kullanılan svap nemli mi kuru mu olmalıdır?
- Tırnak materyallerinin laboratuvara transferi zarf içerisinde mi tüp içerisinde mi olmalıdır?
- Eğer birden fazla tırnaktan örnek alındıysa bu örnekler birlikte mi yoksa ayrı ayrı mı taşınmalıdır?
- Toplanan tırnak materyallerinden DNA eldesi için hangi protokol daha verimli sonuç vermektedir?
- Toplanan tırnak DNA'sından STR verilerinin elde edilmesi için en iyi yöntem nedir?
- Tırnaklarda sadece suçluya ait materyalden STR verisi elde etmek için en iyi yöntem nedir? [18].

Cevapsız kalmış bu sorular için literatürde bulunan az sayıda çalışmada, uygulanan farklı yöntemlerin kıyaslandığı görülmektedir.

Malsom ve ark., 2009 yılında aynı evi paylaşan çiftlerden oluşan bir grubun tırnak örneklerini çalıştıklarında, bu örneklerin sadece %17'sinde raporlanabilecek düzeyde karışık DNA profili elde etmişlerdir. Elde edilen karışık DNA profillerinin de son 48 saat içerisinde gerçekleşmiş olan cinsel ilişkiden kaynaklandığını ortaya koymuşlardır. Burada gözen çarpan önemli noktalardan biri, son 48 saat içerisinde cinsel ilişkide bulunmuş tüm katılımcıların tırnağında karışık profile rastlanmadığı, fakat tırnak örneklerinde karışık profile rastlanan katılımcıların tamamının son 48 saat içerisinde cinsel ilişkide bulunduğu olmuştur [19].

2014 yılında Hebda ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, bir kadın tırnağı üzerine bir erkeğin kan örneğini döktükten sonra üç farklı metotla tırnak örnekleri toplamışlardır. İlk yöntemde, kadının tırnakları kesilerek 24 saat kurumaya bırakılmış, kuruduktan sonra tırnak kırpıntısı solüsyon içine koyularak analiz edilmiştir. İkinci yöntemde ise ilk olarak nemli svaplar ile ardından kuru svaplar ile tırnaklardan örnek toplanmış ve bu iki svap aynı tüpün içerisine koyulmuştur. Toplanan örneklerden DNA analizleri yapıldığında; tırnakların doğrudan çalışıldığı ilk yöntemde, ikinci yönteme göre DNA miktarı daha fazla elde edilmiştir. Fakat yapılan analizlere göre, DNA profilinde kadına ait allellerin pik yükseklikleri, erkeğe ait pik yüksekliklerine oranla çok daha fazla olduğu görülmüştür. Son olarak da kazıma yöntemi ile örnekler toplanmış ve analiz edilmiştir. Fakat bu deneme sonunda erkeğe ait DNA'nın az olması nedeni ile bazı lokuslarda pik görülmemiş ve bu metot başarısız bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre hem DNA miktarı hem de kadına ve erkeğe ait DNA miktarlarının oranı dikkate alındığında, tırnak altından örneklerin toplanıp çalışılması noktasında ikinci yöntem olan nemli ve kuru svap ile örnek toplama metodu daha verimli bulunmuştur [10].

2015 yılında yapılan bir çalışmada ise otopsi sırasında 3 farklı metot kullanılarak 71 vakadan 164 tırnak örneği toplanmış ve DNA analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu üç metot sırasıyla; Tırnak örneklerinin direkt ekstraksiyonu, tırnak örneklerinin

kesilmesi ve svap ile tırnak örneklerinin alınması şeklinde belirtilmiştir. Toplanan örneklerden yapılan DNA analizlerine göre örneklerin %75'inde, sadece maktulün kendi DNA'sı tespit edilmişken; %10'ununda raporlanabilecek düzeyde yabancı DNA elde edilmiştir. Çalışma sonunda ilk metotla alınan örneklerin hepsinde maktule ait DNA elde edildiğini; svap ile ve keserek alınan tırnak örneklerinin bir kısmında karışık DNA profillerine ulaşabildiklerini bildirmişlerdir [20].

Tırnak örnekleri toplandıktan sonra laboratuvara transferi de delil kaybına neden olmaması adına dikkatli olunması gereken noktalardan biridir. Tırnakların aynı zarfa konularak transferi, tırnak örnekleri arasında DNA transferine neden olabilirken ayrıca tırnaktan zarfa da DNA geçişi ile delil kaybına neden olabilir. Bu sebeple tırnak örnekleri laboratuvara gönderilirken, her bir tırnağın ayrı tüplere konularak gönderilmesi en doğru yöntem olacaktır [10].

3
ADLİ ANALİZLERDE KULLANILAN DNA BÖLGELERİ

Gen “DNA’nın fonksiyonel bir protein için bilgi taşıyan en küçük segmenti” olarak tanımlanabilir. İnsan genomu yaklaşık 50.000–100.000 geni kodlayan 3 milyon baz çiftinden oluşmaktadır [21] Belli bir canlıda protein kodlayan bölgelerin büyük çoğunluğu sadece tek bir gen formuna sahiptir. Bunun nedeni fonksiyonel proteinleri kodlayan çoğu genin mutasyon toleransı olmamasıdır. Bazı genlerin ise mutasyon toleransları daha yüksek olduğundan populasyonda birden fazla formda görünürler. Bu farklı formlara o genin allelleri denir [22]. Tek bir genetik lokusun birden fazla farklı allele sahip olabilmesi ise “genetik polimorfizm” olarak adlandırılır. Kriminal DNA profillendirmesinin temeli de genetik polimorfizme dayanır [23].

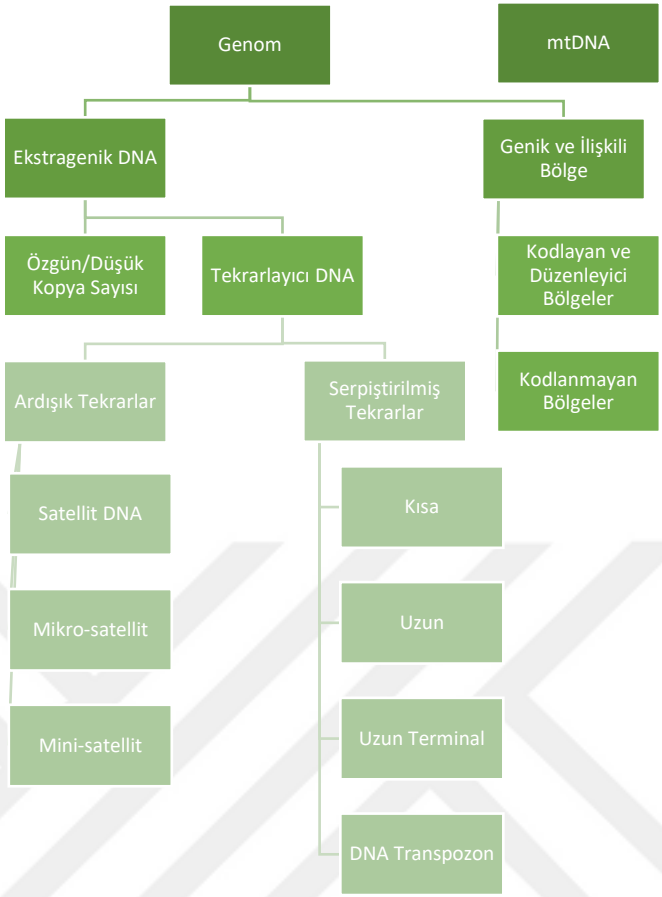
Bir organizmanın fonksiyonları ve gelişimi için gerekli tüm bilgileri taşıyan molekül DNA olduğundan, bütün insanlarda DNA’nın %99,5’lik bölümü aynıdır [24]. DNA’nın %0,5’lik bölümünü ise kişisel farklılıkların tespitinde kullanılan polimorfizmi taşıyan kısım oluşturur. Bu açıdan da adli bilimleri ilgilendiren DNA’nın bu %0,5’lik kısmıdır. Adli DNA analizleri aracılığı ile kimliklendirme yönteminin temelinde dünyada tek yumurta ikizleri dışında tüm bireylerin DNA’larının eşsiz olduğu gerçeği yatar. Polimorfizmin tespit edilmesi aşamasında moleküler biyoloji tekniklerinin kullanıldığı adli DNA analizlerinin sonuçlarını yorumlarken de genetik ve istatistik bilimlerinin temel yöntemlerinden faydalanılır [24].

Adli amaçlı DNA analizlerinde kullanılan DNA bölgelerini anlayabilmek için öncelikli olarak insan genomunun içerik dağılımı bilinmelidir. Genom, mitokondriyal DNA ve çekirdek DNA’sı olarak sınıflandırılabilir. Çekirdek DNA’sının %25’i genlerle ilgili bölge, %75’i ise ekstragenik, yani genlerle ilgili olmayan bölge şeklinde sınıflandırılmaktadır. %25 genlerle ilgili bölgeyi %1,5 kodlayan bölge %23,5 kodlamayan bölge birlikte oluşturmaktadır. Ekzonlar

kodlayan bölgeler iken, intronlar kodlamayan bölgelerdir. İntronlarda da genlerin regülasyonunu sağlayan elemanlar bulunur [25].

Ekstragenik, yani tamamı kodlamayan özellikte olan ve DNA'nın kalan %75'ini kapsayan bölgeler iki ana başlıkta değerlendirilir. Tekrar etmeyen DNA dizileri, kodlayıcı diziler olarak proteine dönüştürülmese de genin okunmasında ve proteine dönüştürülmesinde değişik görevler alırlar.

Tekrar eden DNA dizileri ise araya dağılmış ve sıralı tekrarlardan oluşan DNA dizilerini içerir. Ökoryatik DNA'ların toplam 500 000 'in üzerinde tekrarlı dizi (satellit DNA) lokusu içerdiği bilnmektedir. Satellit DNA bölgeleri tekrar eden dizinin büyüklüğüne göre mikro ve mini olmak üzere iki sınıfa ayrılır. (Şekil 3.1) Satellitler genellikle kromozomun subtelomerik kısımlarında yerleşiklerdir ancak genom içinde dağınık olarak bulunurlar [11].



Şekil 3.1 İnsan genomunun içerik dağılımı [11]

3.1 Minisatallitler (VNTR: değişken sayıda sıralı tekrar)

Minisatallitler 10 ile 100 baz çifti uzunluğundaki birimlerin organize bir şekilde 20-50 kez ardarda tekrarlanması şeklinde oluşan dizilerdir ve bu lokuslar yüksek oranda polimorfizm gösterirler. Bu allelik çeşitlilik Jeffreys ve arkadaşları tarafından çok çeşitlilik gösteren (hipervariable) minisatellit bölgeleri olarak adlandırılmıştır. Bütün lokuslar için yüzlerce genotip gözlenebilir [48]. VNTR analizinde 80'li yıllarda henüz PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) keşfedilmediğinden RFLP (Restriksiyon Fragment Length Polymorphism) tekniği ile analiz ediliyordu. Ayrım gücü çok yüksek olmasına rağmen VNTR'ler adli kimliklendirmede uzun süre kullanılmadı. Analiz süresinin uzun sürmesi, çalışma

yapılabilmesi için örnek miktarının fazla olması gerekliliği ve analiz sürecinin karmaşık olmasından dolayı tercih edilmemektedir [49].

3.2 Mikrosatallitler (STR)

Mikrosatallitler (STR) ya da kısa ardışık tekrarlar insan genomunun yaklaşık %3'ünü oluşturan 2-6 baz uzunluğunda tekrarlayan polimorfik DNA dizileridir [5,26].

STR lokuslarının birçoğu genomun kodlanmayan bölgelerinde yer almasına rağmen sadece %8'i kodlanan bölgelerde bulunmaktadır. İnsanlarda en sık görülen STR'lar Adenince zengin birimlerdir: A, AC(T), AAC(T), AAAC(T,G). STR isimlendirmesine örnek olması adına D3S1358 STR lokusunun isimlendirilmesi Tablo 3.1'de görülmektedir [27].

Tablo 3.1 D3S1358 STR bölgesinin isimlendirilmesi

D3S1358	
D	DNA
3	3.Kromozom
S	Tek kopya dizisi
1358	3.Kromozom üzerinde tanımlanmış 1358.lokus

Örnek olarak Şekil 3.2'de iki STR lokusuna ait özellikler verilmiştir [28].

1.	**STR lokusu:**	D5S818	Anonim	5q21-31
	STR dizisi:	$(AGAT)_n$		
2.	**STR lokusu:**	TH01	Tirozin hidroksilaz geni intron 1	5q21-31
	STR dizisi:	$(AGAT)_n$		

Şekil 3.2 İki STR lokusuna ait özellikler [28]

3.3 STR Lokuslarının Çeşitliliği

STR'ler tekrar eden baz sayısı ve tekrar eden dizinin yapısına göre farklılık göstermektedirler.

Tekrar eden baz sayısına göre;

1. Dinükleotit Tekrarlar : İki bazlık bloğun tekrar etmesi ile oluşan tekrarlardır. (Ör: CACACACA) Genomda çok fazla sayıda bulunmaktadırlar.
2. Trinükleotit Tekrarlar : Üç bazlık bloğun tekrar etmesiyle meydana gelirler. (Ör: AATAATAATAATAAT)
3. Tetranükleotit Tekrarlar : Dört bazlık bloğun tekrar etmesiyle oluşurlar.(Ör: AGATAGATAGATAGAT) Diğer STR lokuslarına çok daha az stutter ürünü oluştururlar.
4. Pentanükleotit Tekrarlar: Beş bazlık bloğun tekrar etmesiyle meydana gelirler. (Ör:AATGTAATGTAATGT)
5. Hegzanükleotit Tekrarlar: Altı bazlık bloğun tekrar etmesiyle meydana gelir. (Ör: CCATGTCCATGTCCATGT)

Tekrar eden dizinin yapısına göre;

1. Basit Tekrarlar : Belli bir dizinin ararda tekrarından oluşan STR lokuslarıdır. THO1 bölgesi bu grup için örnektir. AATG tek motifi 5 ila 11 arasında tekrar etmektedir.
2. Bileşik Tekrarlar : İki ya da ikiden fazla basit tekrarın birbirini takip etmesiyle oluşur [25]. Vwa STR lokusu bu grupta yer alır. TCTA ve TCTG tekrar bloklarının $TCTA(TCTG)_{3\text{-}4}(TCTA)_n$ şeklinde biraraya gelmesiyle meydana gelir [29].
3. Karışık Tekrarlar : Birkaç tekrar bölgesinin karışık veya değişik sayıda ve sırada bulunması ile oluşan STR'lardır. Bu tip STR'lara örnek olarak SE33 gen bölgesi verilebilir [25].

3.4 Adli DNA Analizlerinde Kullanılan STR Lokuslarının Özellikleri

STR'ların adli DNA analizlerinde yaygın olarak kullanılmasının belirli sebepleri vardır. Çoğaltılabilmesinin kolay ve uygun olması, diğer STR lokusları ile birlikte tek bir PZR ile çoğaltılabilmesi, ileri derecede bozunmuş örneklerde bile kısa olmaları sebebiyle sonuç alınabiliyor olması, düşük mutasyon oranına sahip olması, heterozigotluk düzeyinin yüksek olması başlıca STR'ların tercih

sebepleridir. Aynı zamanda STR bölgelerinin standart adlandırılmaları ve standart teknikler üzerinde yapılmaları nedeniyle kişiye veya laboratuvara göre değişik sonuçlar vermezler. Dolayısıyla sonuçların tekrarlanması ve laboratuvarlar arası karşılaştırılması mümkündür [25].

İnsan genomunda binlerce STR belirteçleri olmasına rağmen, sadece küçük lokus setleri insan kimliklendirme ve adli DNA testleri için seçilmiştir. Devletler, üniversiteler ve özel laboratuvarlar insan kimliklendirme testlerinin faklı çeşitlerini kullanarak dünya genelinde milyonlarca STR profilleri oluşturmuşlardır. Son zamanlarda Avrupa Standart Set (European Standard Set-ESS) STR bölgeleri ABD'nin kullandığı Kombine DNA İndeks Sistemi (Combined DNA Index System- CODIS) çekirdek lokuslarına eklenmiş ve çeşitli STR kitleri geliştirilmiştir. CODIS STR sistemi 13 STR bölgesi (D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, THO1, TPOX, CSF1PO) ve Amelogenin gen bölgesinden oluşmaktadır.

4
STR TESPİT AŞAMALARI

Yaygın kullanılan STR polimorfizmi tespit uygulamalarını bölümlere ayırmak gerekirse 5 temel aşamadan bahsedilebilir (Şekil 4.1) Bu aşamalar;

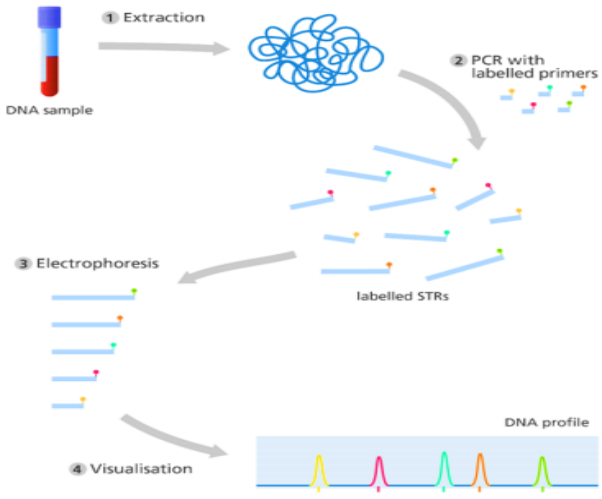
-DNA'nın İzolasyonu (Ekstraksiyonu) : DNA'nın bulunduğu hücreden çıkarılması

-DNA'nın kantitasyonu : ng/ μl cinsinden miktar tayini

-Polimeraz Zincir Reaksiyonu : Analiz cihazının 'görebileceği' ölçülere kadar DNA'nın çoğaltılması

-Elektroforez : Çoğalmış partiküllerin ilerleme hızındaki ve görülen büyüklüklerindeki farklılıklara göre örneğin genetik materyal profilinin çıkartılması

-Analiz : Toplumda görülen olası genetik materyal özelikleri ile örneğin özellikleri karşılaştırılarak, tüm özelliklerinin bir arada bulunma olasılığının hesaplanmasıdır [25].



Şekil 4.1 STR tespit aşamaları [28]

4.1 DNA İzolasyonu

DNA ekstraksiyonu, DNA'yı hücre zarlarından, proteinlerden ve diğer hücresel bileşenlerden ayıran, bir numuneden fiziksel ve/veya kimyasal yöntemler kullanarak DNA'yı saflaştıran yöntemdir. DNA ekstraksiyonu için manuel yöntemler ve ticari olarak temin edilebilen kitler kullanılmaktadır. DNA ekstraksiyonu için kan, vücut sıvıları, formalinle sabitlenmiş parafine gömülü dokular, donmuş doku kesiti vb. dahil olmak üzere farklı materyaller kullanılabilir [30].

4.2 DNA Kantitasyou

Biyolojik örnekten elde edilen DNA'nın analizler için yeterli miktar ve kalitede olup olmadığı hatta insana ait olup olmadığının bilinmesi yapılacak olan Adli DNA Analizleri için çok önemlidir [11].

Bir STR analizi için optimal miktar 0,5 ng – 2,0 ng /ul'dir. Fazla miktarlar sonuçların yorumlanmasını güçleştirebilir. Daha az miktarlarda ise allel kaybı görülebilir bu da yanlış analizler ile sonuçlanır. DNA miktarının tespiti sonraki analitik süreçlerde hem para hem zaman hemde çalışma doğruluğunu etkilediğinden oldukça önemlidir. Optimal olan 1ng DNA'dır ve yaklaşık her bir lokus için 303 kopya bulunur [31].

Kantitasyon çeşitleri PZR temelli ve PZR temelli olmayan yöntemler olarak ikiye ayırabiliriz. UV ışık spektrofotometresi, agaroz jel elektroforezi, 'Slot Blot' tekniği, 'PicoGreen' yöntemi ve son olarak bir Promega ürünü ALUQUANT Human DNA Quantitatıon kiti PZR temelli olmayan yöntemlerdir.

PZR temelli yöntemle Gerçek Zamanlı PZR prensibine göre düzenlenmiştir. Bu yöntemlerle tek seferde DNA'nın miktarı, insan kaynaklı olup olmadığı, DNA'nın parçalanmış olup olmadığı ve hatta PZR inhibitörü bulunup bulunmadığına kadar birçok etken değerlendirilebilir [11].

4.3 Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Adli DNA analizlerinde kullanılacak olan biyolojik örnekler işin doğası gereği bulundukları yerler ve miktarları nedeniyle az veya nitelik olarak kaliteli olmayacaklardır. Bu örneklerin analiz edilebilmesi için öncelikli olarak yeterli miktar ve kalite gerekir. Moleküler genetik alanında PZR tekniğinin bulunuşu adli DNA analizleri için bir dönüm noktası olmuştur. Bu teknik sayesinde olay yerinden toplanan eser miktardaki örnekler bile istenilen kaliteye ulaştırılabilmektedir [25].

PZR'ın çeşitli kimyasal bileşenleri arasında $MgCl_2$, tampon (pH: 8.3–8.8), Deoksinükleosit trifosfatlar (dNTP'ler), PZR primerleri, hedef DNA ve termostabil DNA polimeraz bulunur [32].

PZR tekniği; denatürasyon, RNA primerleriyle uçlardan hibridizasyon (annealing) ve DNA sentezi olmak üzere üç aşamalıdır. Önce DNA yüksek sıcaklıkta (90°C üzerinde) denatüre edilerek çift sarmallar birbirinden ayrılır. Sonra DNA içeren karışım 40-60°C 'de soğutularak uçlarında sentetik (18-30 bazlık) iki farklı primerle komplamenterlikleri (hibridizasyon) sağlanır. Daha sonra 70-75°C 'de işlevsel Taq DNA Polimeraz enzimiyle primerlerin 3'OH uçlarından DNA sentezi başlatılır. DNA sentezi tamamlandıktan sonra DNA sarmalları yeniden yüksek sıcaklıkta denatüre edilir ve tüm aşamalar tekrarlanır. Böylece 20-25 döngüde milyonlarca özgün DNA molekül kopyası elde edilmiş olur [33].

4.4 Kapiller Elektroforez

PZR sonrası elde edilen amplikonların uzunluklarına göre ayrımını sağlamak için uygulanan aşama elektroforezdir. Elektroforez için hız, maliyet ve hassaslık noktalarında farklılıklar gösteren birkaç çeşit yöntem vardır. Agaroz jel elektroforezi, poliakrilamid jel elektroforezi ve kapiller jel elektroforezi bunlara örnek verilebilir. Bu tez çalışmasında da kullanılan kapiller jel elektroforezi en hızlı ve otomatize olmuş elektroforez yöntemlerinden biridir. Örneklerin kapillere hareketi yüksek voltajlı elektrokinetik enjeksiyon ile sağlanır. Temel olarak, PZR aşamasında farklı renklerde floresans boyalarla işaretlenmiş DNA molekülleri büyüklük farklılığına göre floresans detektörü tarafından tespit edilir. Ardından

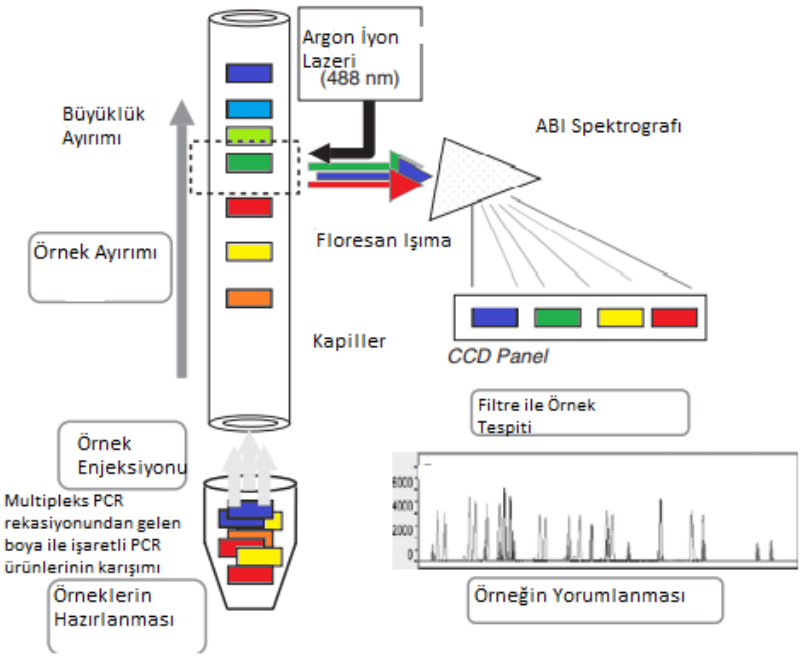
floresans işaretli molekülün enjeksiyonundan detektörde tespit edildiği ana kadar geçen süre bilgisayar tarafından hesaplanır ve standart değerlerle karşılaştırılması sonucu elektroferogramda pikler oluşturur [50].

Kapiller elektroforez cihazları veri işlemci ve elektroforez ünitesinden oluşur. Veri işlemci, elektroforez ünitesinin yönetiminden ve elde edilen verilerin işlenmesinden sorumludur. Elektroforez ünitesi ise örnek yükleme tepsisi, kapiller ve detektör ile piston bölümü olmak üzere üç bölümden oluşur. Diğer elektroforez tiplerinde kullanılan jellerin yerini kapiller elektroforezde sentetik olarak üretilen polimer alır. Polimerler sentetik olarak hazırlanmaları sayesinde standardizasyon ve otomasyon için daha uygundur. Poliakrilamid veya agoroz jellerin kapiller elektroforezde uygulanan yüksek ısı ve voltajda stabil kalması mümkün değildir. Günümüzde PAM (poliakrilamid), PDMA (N,N-polydimetilakrilamid) ve poloxyeenthylene temelli birçok polimer geliştirilmişse de en yayın kullanılanı PDMA temelli POP (4, 5, 6, 7) serisidir [11].

Cihazlarda analiz yapılmaya başlanmadan önce yapılması gereken iki önemli kalibrasyon vardır. Birincisi kapiller penceresinin detektör ünitesine tam olarak oturduğunun tespiti için yapılır. Bu aynı zamanda çoklu kapiller sistemlerinde hangi kapillerin detektörün hangi noktasından sinyal vereceğinin de tespitinde önemlidir. İkinci kalibrasyon ise analizlerde kullanılacak boyaların sisteme tanıtılmasıdır. Hangi dalga boyundaki ışığın hangi renge karşılık geleceği ve sistemin bunu nasıl algılayıp veriye dönüştüreceği bu kalibrasyon yöntemi ile sağlanır ve spektral kalibrasyon olarak bilinir. Spektral kalibrasyon ile sisteme girilen bilgiler toplamı matriks olarak adlandırılır. Matriks, floresan ışımaların tespiti ve birbirinden ayrılmasında kullanılan bir algoritmadır. Bu algoritma sayesinde farklı dalga boyunda ışıma yapan boyalar birbirinden ayrılarak tanımlanabilir. Öncelikle tanımlanması gereken boyalar ile işaretlenmiş olan DNA parçacıkları cihazda analiz edilir. Bu DNA parçacıkları Matriks standartları olarak adlandırılır. Matriks standartları daha sonra analizlerde kullanılacak olan tüm boyaları içerir. Bilgisayar tespit ettiği her bir dalga boyundaki ışık arasında karşılaştırmalı bir matriks tablosu oluşturur. Bu tablo her bir boya arasındaki geçiş bölümlerini ve birbirlerine olan yakınlıklarını içerir. Günümüzde adli DNA

analizlerinde en yaygın olarak kullanılan genetik analiz cihazları ABI marka genetik analiz cihazlarıdır. Bu marka cihazlar içerdikleri kapiller sayısına göre ve polimer yükleme ünitelerine göre modellenirler [29,34].

Lazerle uyarılmış floresan tespiti yapan kapiller elektforez cihazlarında süreci 4 temel aşamada özetlemek mümkündür. Bu dört aşama; örnek enjeksiyonu, örnek ayrılması, örnek tespiti ve örnek yorumlanmasıdır [25]. (Şekil 4.2)



Şekil 4.2 Kapiller elektroforez sistemi [31]

4.5 STR Profilinin Çıkarılması

Elektroforez ile yapılan analiz neticesi elde edilen verilerin değerlendirilerek DNA profilinin ortaya çıkarılması adli DNA analizlerinin son basamağıdır. Sonuçları yorumlamak için öncelikli olarak RFU (Rölatif Floresan Birim), allel drop-out, stutter pik gibi tanımlamalar açıklanmalı, STR profillerinin yorumlamasında dikkat edimesi gereken noktalara değinilmelidir.

4.5.1 RFU (Rölatif Floresan Birim)

Kapiller penceresine gelen DNA parçalarına bağlı boyalar lazer tarafından uyarılıp ışıma yapmaya zorlanırlar. Her bir DNA'ya bağlı boya kendi özelliklerine bağlı bir

ışıma yapar. Her bir boyaya özgü olan dalga boyunda ışımanın belirli bir anda belirli bir birimin baz alınarak karşılıklı olarak kıyaslanması ile elde edilen ışıma birimine rölatif floresan birim (Relative Flourescence Units - RFU) denir [29].

4.5.2 Allel Pikleri

Allel pikleri boy ve en olmak üzere iki düzlemde değerlendirilir. Pikin boyu allelin çoğalmış kopya sayısını verir, eni ise ürünlerin detektör önünden geçiş hızını verir. Pikin eninin dar ve tepe noktasının belirgin olması elektroforezin sağlıklı olduğunu gösterir. Pikin mümkün olduğunca enden dar olması tercih edilir. Pik boyunun standartın üstünde uzun olması ise diğer boyalara yansıma yaparak birtakım tiplendirme problemlerine yol açabilir [11].

4.5.3 Allellerin Adlandırılması

Allelik Ladder özgül bir STR bölgesi için popülasyonda var olan tüm yaygın allellerin sentetik olarak hazırlanması ile olan karışımdır. Her bir DNA parçacığının adlandırılması için allelik ladder kullanılır. Tiplendirme programları ya da manuel olarak allelik ladder ile örneklerin büyüklüklerine göre üst üste çakıştırılması ile bilinmeyen örnekten elde edilen her pik eşleştiği allelin ismini alır. Bu şekilde her pikin allel ismi belirlenmiş olur [11].

4.5.4 Yapay Pikler

Tek bir katılımcıdan en çok iki allel elde edilebileceği öngörülse de bazı istisnai durumlardan kaynaklı fazladan alleller görülebilmektedir. DNA profillemesi yapılırken gerçek allel pikleri ile fazladan ortaya çıkan yapay pikler ayrılmalıdır.

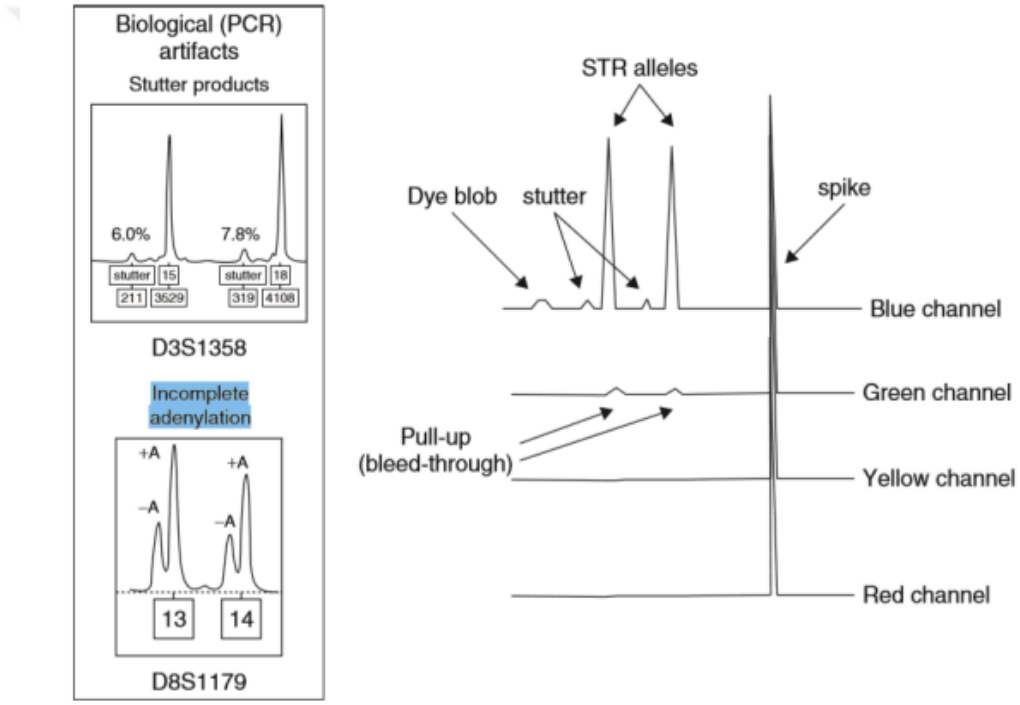
4.5.4.1 Stutter Pikler

Gerçek allellerin bir ya da daha fazla tekrar biriminin eksik olduğu ve PZR işlemi sırasında zincir kaymasından dolayı ortaya çıkan amplikonlardır. Gerçek pik boyunun %15'inden küçük olan piklerdir. Literatürde gölge bant ya da DNA polimeraz kayması sonucu oluşan ürünler olarak da adlandırılır [28]. (Şekil 4.3)

4.5.4.2 Split Pikler

Split pikler (n-1), (n-2) veya A-/ A+ pikler diye de adlandırılırlar. Amplifikasyon sırasında Taq Polimeraz ek görev olarak yeni sentezlenen DNA molekülünün sonuna tek nükleotid (genellikle Adenozin) ekler. Eğer ortamda amplikon fazlalığı mevcut ise Taq Polimeraz her kopyanın sonuna bu nükleotidi ekleyemez. Bu durum amplifikasyon sonunda aynı kaynaktan sentezlenen fakat uzunluk olarak tek nükleotid farkı olan iki çeşit DNA molekülü oluşmasına neden olur [35].

Şekil 4.3'te PZR amplifikasyon işleminin iki biyolojik eseri olarak, stutter ve tamamlanamamış adenilasyon nedeniyle gölge pikler görülmektedir.

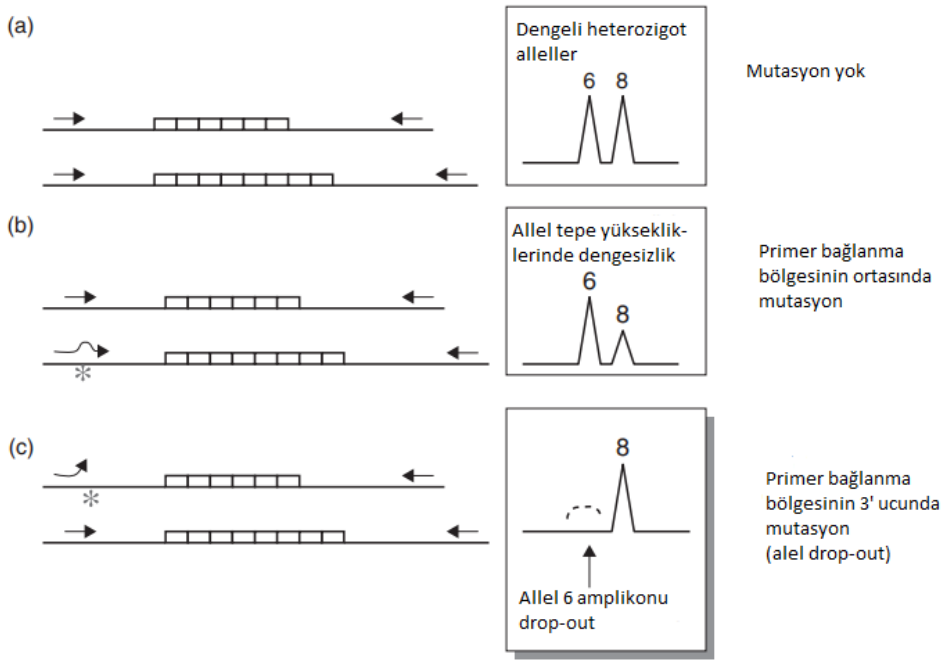


Şekil 4.3 STR tiplemesinde sıklıkla gözlemlenen çeşitli artefaktları gösteren elektroferogram [31]

4.5.4.3 Allel Düşmesi (Allel Drop-out) ve Boş (Null) Alleller

İki allelin pik yüksekliklerinin birbirine oranına heterozigot pik dengesi denir. İn vivo şartlarda, heterozigot bir lokusta her iki allele ait pik yükseliğinin aynı olması gerekmektedir. Fakat DNA izolasyonu sırasında bu denge bozulabilir. DNA sırasında hücrenin ve nukleusun membranı çözülür ve lokusa ait alleller rastgele

dağılır. Pipetle alındığı zaman bu alleller eşit miktarda gelmeyebilir ve PZR ile amplikasyon sonucunda miktarları aynı olmayabilir. Bu dengesizlik DNA miktarı düşükse daha da artar. Üstüne üstlük daha kısa DNA segmentlerinin daha önce amplifiye olmasından dolayı DNA fragmanının uzunluğu arttıkça daha düşük pik yüksekliği etkisi görülecektir. Reaksiyon inhibisyonu ve elde edilen DNA'nın degredasyonu sık olduğundan amplifiye olacak DNA fragmanı uzun ise o allelde kayıp görülebilir (allel drop-out) [28]. (Şekil 4.4)



Şekil 4.4 Bir '6,8' genotipine sahip heterozigot bireyle gösterilen primer bağlanma bölgelerindeki bir dizi polimorfizminin etkisi Oklar, STR tekrar bölgesi etrafındaki farklı pozisyonlardaki PZR primerlerini temsil eder. Heterozigot allel tepe noktaları (a) dengeli, (b) dengesiz veya (c) allel drop-out sergileyebilir. (c)'de gösterilen gibi bir "boş allel", farklı PZR primerleri kullanılarak saptanabilir [31]

4.5.4.4 Yansıma Pikler

Floresan boya miktarı fazla olduğunda ya da cihazın matriks ayarları ile ilgili bir aksama meydana gelmiş ise cihaz tespit ettiği dalga boyunu tam olarak sınıflandıramayabilir. Bunun sonucu olarak sanki tüm boyalardan sinyal alıyor gibi veri değerlendirip tüm boyalarda pik oluşturur. Yansımanın sebebine göre

cihaza yüklenen ürün miktarının düşürülmesi veya matriksin yenilenmesi ile sorun çözülebilir [11].

4.5.4.5 Floresan Boya Artefaktları

Teknik artefakt olan floresan boya artefaktları, primerlere bağlı bazı floresan boyaların primerlerden ayrılarak kapiller içinde ayrı hareket etmelerinden kaynaklanan ufak pikler görülmesi şeklinde gerçekleşir [11].

4.5.4.6 Mikroallel ve Allelik Ladder Dışı Allel

STR allelleri arasındaki dizi varyasyonları insersiyon, delesyon ve nükleotid değişimi gibi mekanizmalarla meydana gelir. Bu mekanizmaların herhangi birine maruz kalmış allellere mikrovaryantlar denir. Mikrovaryantlar, allellik merdivenin dışında tespit edildiklerinden bu allellere allel dışı (off-ladder) olarak adlandırılır [36,37].

Allelik Ladder ile örtüşmeyen her allel, allelik ladder dışı alleldir ancak allel eksik baz tekrarı içeriyor ise bu durumda mikroallel olarak adlandırılır [11].

4.5.5 Karışım DNA Örnekleri

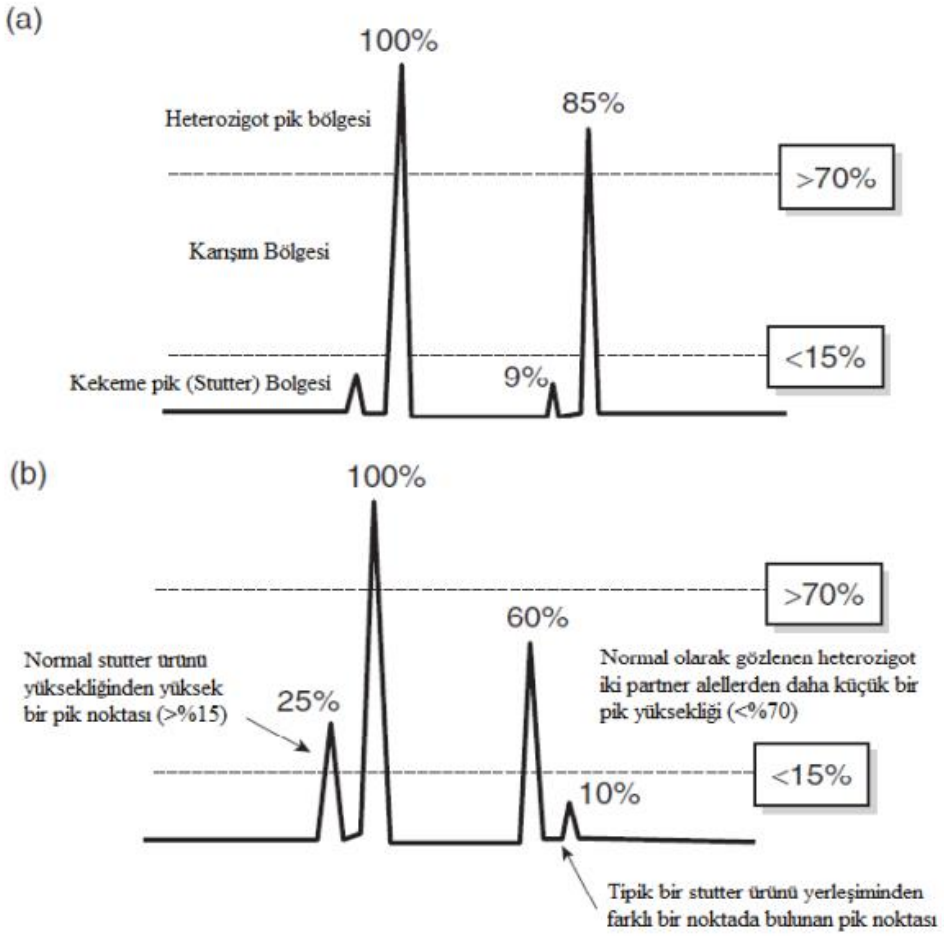
Çalışılan örnekte iki veya daha fazla kişinin genetik profili bulunuyorsa bu örneğe karışım (karışmış DNA) örneği denir. Karışım örneği, içerdiği DNA miktarına göre majör ve minör katılımcılardan oluşur. Majör katılımcının DNA miktarı daha yüksek olduğundan bu katılımcıya ait allel pik yükseklikleri daha büyük olur. Minör katılımcının DNA miktarı daha az olduğundan gözlenen allel pik yüksekliği daha küçük olur [38].

Karşım örneklerini yorumlamak tecrübe gerektiren ve birçok özel durumun bir arada değerlendirilmesi gereken karmaşık ve komplike bir çalışmadır.

Şekil 4.5'te STR profilinde tek kaynaklı bir örneğin, karışım örneğinden nasıl ayırt edildiği görülmektedir [36].

Tek kaynaklı bir STR lokusunda heterozigot iki ortak allel arasındaki pik yüksekliği oranı yaklaşık olarak %70 civarındadır. Genellikle karışım örnekler pik yükseklik oranı açısından % 15 ile % 70 sınırı arasında yer alırlar.Bunun dışında

birden fazla lokusta 3 veya daha fazla pik bulunması da karışım örneklerinin belirtecidir. Ancak homozigot-homozigot ve allelleri çakışan bir karışımın, bir lokusunda sadece tek bir pik bulunabileceği unutulmamalıdır [25].



Şekil 4.5 Tek kaynaklı (a) ve karışım (b) örneklerine ait allel piklerinin şematik gösterimi [36]

4.5.5.1 Karışım Örneğinde Bulunan Genotiplerin Ayırt Edilmesi

Karışım örneğinin varlığını tespit etmek için bazı ipuçları bulunmaktadır. Aşağıdaki sorulara verilen cevaplar profilin bir karışım olup olmadığını anlama noktasında yardımcı olur;

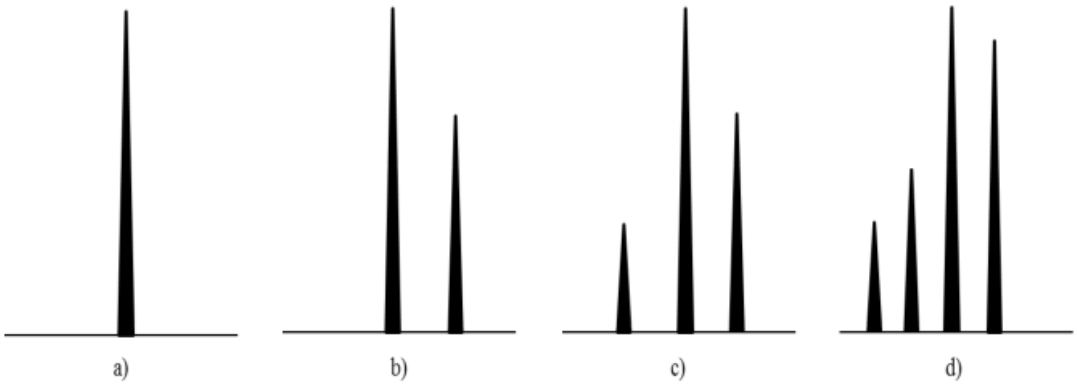
- Analiz sonucu herhangi bir lokusta valide edilmiş allel büyüklüğü aralığında iki ve/veya daha fazla lokus gözleniyor mu?

- Herhangi bir lokusta iki heterozigot allel arasında pik dengesizliği var mı?

• Normal pikin komşu pozisyonunda (%15- %20 den büyük) gölge (stuttter) pik var mı ?

• Değişik alleller arasında sinyal yoğunluğu farklılığı mevcut mu? [31].

Eğer bu sorulardan herhangi birine verilen yanıt evet ise söz konusu profil muhtemel bir karışım örneğine aittir denilebilir. Genellikle karışım örneği herhangi bir lokusta üç ve daha fazla allellin varlığında tespit edilir. Şekil 4.6'da iki kişinin katılımı ile oluşan karışım örneklerinde tek bir lokusa ait tüm olasılıklar gösterilmektedir.



Şekil 4.6 İki katılımcılı bir karışım örneğinin herhangi bir lokusundaki olası allel kombinasyonları [39]

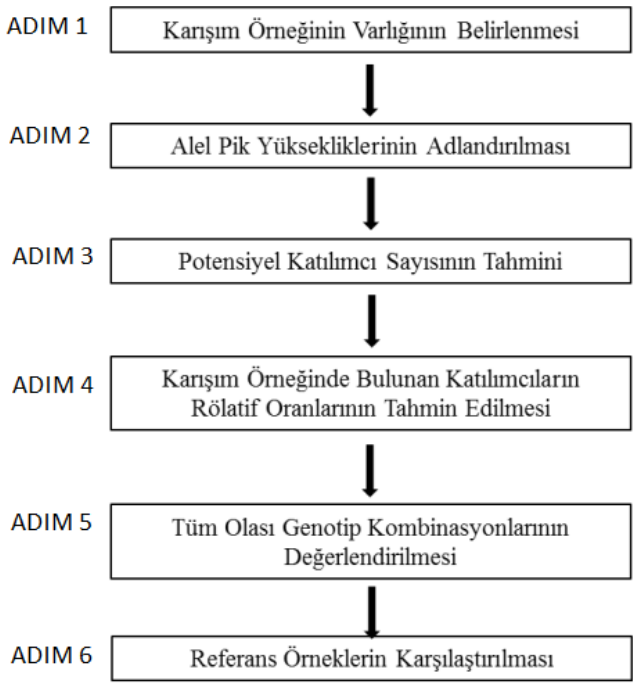
a) Bir pik:
   - Homozigot + homozigot, 1 adet çakışan allel (genotipler eş)

b) İki pik:
   - Heterozigot + heterozigot, 2 çakışan allel (genotipler eş)
   - Heterozigot + homozigot, 1 adet çakışan allel
   - Homozigot + homozigot, çakışan allel yok (genotipler benzersiz)

c) Üç pik:
   - Heterozigot + heterozigot, 1 adet çakışan allel
   - Heterozigot + homozigot, çakışan allel yok (genotipler benzersiz)

d) Dört pik:
   - Heterozigot + heterozigot, çakışan allel yok (genotipler benzersiz)

İlk olarak Clayton ve arkadaşları tarafından tanımlanan ve Uluslararası Adli Genetik Topluluğunun (ISFG- International Society of Forensic Genetics) DNA komisyonu tarafından da kabul edilen DNA karışımlarının yorumlanmasına ait basamaklar Şekil 4.7'de gösterilmiştir [37,39].



Şekil 4.7 Karışım örneklerinin yorumlanmasında izlenecek adımlar [37,39]

Katılımcı sayısı belirlenirken bazı istatistiksel hesaplamalar önem kazanmaktadır. Tipik olarak eğer 2, 3 veya 4 allel varsa 2 katılımcı, her bölgede 5-6 allel 3 katılımcı, eğer tek bir bölgede 6'dan fazla allel varsa 4'ten fazla katılımcının olduğu düşünülmelidir. Katılımcı sayısı belirlenirken pik sayısına güvenilmesi gerektiği, pik yükseklik verilerinin dikkate alınmaması gerektiği görüşü savunulmaktadır. Günümüzde kullanılan yazılımlar piklerin yükseklik ve enlerinin ilişkisi temeliyle karışık örneklerdeki katılımcıların ayıklanmasında analistlere yardım etmektedir.

Hangi piklerin allel olarak ele alınacağının belirlenmesi noktasında daha önce bahsedilen gerçek alleller ve artefaktları birbirinden ayırmak için alışılmış veri kuralları uygulanmalıdır. Stutter ürünleri, +A, -A pikleri, mikro alleller, boya kalıntıları (dye blob), null alleller gibi allel olmayan piklerin ayrımlarının dikkatli bir şekilde yapılması gerekmektedir.

İki katılımcının olduğu karışık örneklerde eğer bir bölgede; 4 allel varsa (A,B,C,D) 3 farklı kombinasyon, 3 allel varsa 6 farklı kombinasyon, 2 allel varsa 4 farklı kombinasyon ve tek allel varsa tek bir kombinasyon ortaya çıkacaktır. Toplamda 14 kombinasyon vardır [11]. (Tablo 4.1)

Tablo 4.1 İki katılımcının olduğu karışık örneklerde muhtemel allel kombinasyonları [11]

Dört Allel		Üç Allel		İki Allel		Bir Allel
AB	CD	AA	BC	AA	BB	AA
AC	BD	BB	AC	AA	AB	
BC	AD	CC	AB	BB	AB	
		AB	AC	AB	AB	
		AC	BC			
		BC	AB			

Genel olarak katılımcı sayısı en fazla allelik piki kapsayan bölge baz alınarak hesaplanabilir.

4.5.6 Adli DNA Analizlerinde Karşılaşılan Sorunlar

DNA laboratuvarları genellikle miktarı az ve bozunmuş örneklerle çalışmak durumundadır. Gelen biyolojik materyal olay yerinde saatler, günler, haftalar ve hatta yıllar boyunca zorlu çevre koşullarına maruz kalmış olabilir. Bu zaman zarfında biyolojik örnekler çeşitli mikro canlıların aktivitesine, sıcaklık ve nem gibi çevresel koşullara maruz kalır [41]. Bu tür örneklerde yeterli miktarda ve kalitede örnek bulunmamasından dolayı doğru analiz yapmak son derece kritiktir [36,40].

4.5.6.1 İleri Derecede Bozunmuş (Degrade) DNA Örnekleri

Bir olay yerinden toplanan herhangi bir fiziksel delil, olayın çözümlenmesi için değerli bilgiler sunabileceğinden doğru şekilde toplanması, özelliklerine uygun koşullarda saklanması ve fazla vakit kaybetmeden ilgili laboratuvara ulaştırılması son derece önemlidir. Çevresel şartlara (ısı, mikroorganizmaların varlığı, güneş ışınları vb) maruz kalan biyolojik delillerin bozulma olasılıkları çok yüksek olduğundan kurallar daha da katılaşır [51].

4.5.6.2 PZR İnhibisyonu

Olay yerinden elde edilen örneklerin maruz kaldıkları çevresel etmenler DNA'ya hasar vererek PZR sonucunu olumsuz etkileyebilirler. Adli vakalarda yaygın olarak bulunan iki PZR inhibitörü; kottan ve kumaştan gelen indigo boyalar ve hemoglobindir. Saç örneklerinde bulunan melanin de bir PZR inhibitörü olabilir [31]. Tablo 4.2'de sıklıkla karşılaşılan inhibitörler gösterilmiştir.

Tablo 4.2 PZR aşamasında sıklıkla karşılaşılan intihibitörler [36]

Kan	Heme (Hematin)
Doku ve Saç	Melanin
Dışkı	Polisakkarit ve Safra Tuzları
Toprak	Humik Bileşikleri
İdrar	Üre
Kot Pantolon (denim)	Tekstil boyaları

PZR inhibisyonunun giderilmesi için alternatif üç yol izlenebilir. İlk olarak; inhibitör içeren DNA örneği seyreltilebilir. Seyreltme ile inhibitörün konsantrasyonu da azalacağından DNA'nın tekrar çoğaltılması mümkün olacaktır. İkincisi; DNA polimeraz enziminin arttırılmasıdır. DNA polimeraz enzimi miktarı arttıkça, inhibe edici özellikli moleküller ile reaksiyon oranı artacak ve arta kalan DNA polimeraz hedef bölgeyi çoğaltacaktır. Son olarak ortama sığır serum albümini (BSA), betain ve sodyum hidroksit gibi ara maddeler eklenebilir. Aynı şekilde polimerazın aktif merkezlerine etki eden bazı demir içeren bileşiklerin eklenmesi de DNA polimerazın aktivitesini arttırır [42].

5
MATERYAL VE METOT

Bu tez çalışmasının temel amacı 3 farklı tırnak altı materyali toplama yönteminin karşılaştırılıp en verimli örnek toplama prosedürü belirlenerek adli vakalarda faili bulmaya yönelik rutin çalışmalara katkı sağlanmasıdır.

Çalışmaya İÜ-C, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02 Haziran 2020 tarihli toplantısının onayı (Ek-1) alındıktan sonra 12 gönüllü çift dahil edildi; Tırnaklarında herhangi bir mantar hastalığı bulunan, tırnak yeme alışkanlığı olan ve oje sürmüş olan kadınlar çalışma dışında tutuldu. Bireylerden alınan örnekler Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği (BGOF) formu (Ek-2) doldurularak ve hastalara gerekli bilgilendirme yapılarak toplandı.

Örnek toplama aşamasında gerçekleştirilecek işlemlerin tüm çiftler tarafından aynı yapılabilmesi için metodolojik standardizasyon aşağıdaki şekilde sağlandı;

i. Kaşıma yaparken her çiftin kadınlarının eşit basınç uygulamasına dikkat edildi.
ii. Kadınların üç parmağıyla eşit basınç uygulamalarına dikkat edildi.
iii. Kadınların kaşıma işlemini aynı süre devam ettirmesine dikkat edildi.
iv. Materyaller alındıktan sonra buz kalıplarıyla taşıma gerçekleştirildi. Materyaller izolasyon aşamasına kadar +4 C^o buzdolabında tutuldu.
v. Her materyalin toplama işleminden sonra ertesi gün izolasyon işlemi gerçekleştirildi.

Çiftlerin kadınlarından ilk olarak iyice ellerini yıkaması istendi ardından 30 saniye boyunca eşlerinin ense altındaki sırt bölgesini başparmak ve serçe parmak harici üç parmak ile eşit basınç uygulayarak kızarana dek kaşıması istendi. Bu işlemden 1 saat sonra aynı eldeki tırnaklara üç farklı toplama prosedürü uygulandı ;

i. Tırnak kesilerek bir tüpe konuldu. (1. Tırnak)
ii. Tırnak altından nemli svap ile sürüntü alınıp tüpe konuldu. (2. Tırnak)

iii. Tırnak altından kürdana sarılmış pamuktan elde edilen svap ile sürüntü alınıp tüpe konuldu. (3. Tırnak)

Referans örnek olması adına erkeklerden ve kadınlardan bukkal svaplar ile örnek alındı.

Örneklerin toplanmasının ardından sırasıyla aşağıdaki aşamalar izlendi;

i. Toplanan örneklerden DNA izolasyonu

ii. DNA miktar tayininden sonra STR lokuslarının amfilifikasyonu

iii. Amplifikasyon ürünlerinin kapiller elektroforeze yüklenmesi

iv. STR profillerinin analiz ve değerlendirilmesi

v. Üç farklı tırnak altı materyali toplama yönteminin karşılaştırmalı değerlendirilmesi

5.1 Çalışma için Sterilizasyon

5.1.1 Kürdanlardan svap yapımı ve sterilizasyonu

İnce uçlu svap için araştırma yapılmış fakat piyasada istenilen incelikte bir svap bulunamamıştır. Bunun üzerine ticari svaplardan daha ince olacak şekilde kürdanlardan svap yapıldı. (Şekil 5.3)

i. Kürdanların ucuna bir miktar pamuk sarılarak yaklaşık 40 adet svap yapıldıktan sonra bir cam behere konuldu. İçerisinde svapların olduğu cam beherin ağzı alüminyum folyo ile sıkıca kapatıldı. (Şekil 5.1)

ii. Elde edilen svaplar 160 C ° etüvde 2 saat sterile edildi.

iii. Daha sonra kürdanlardan 2 tanesi ile 2 adet Nutrient Agar(NA) besiyerine, 2 tanesi ile 2 adet Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine ekim yapıldı.

iv. NA petrileri 37 C °"lik etüvde, SDA petrileri ise kenarlarına parafilm çekilerek oda sıcaklığında inkübe edildi.



a) b)

Şekil 5.1 Kürdana sarılmış pamuktan elde edilen svaplar a)üstten görünüm b)alttan görünüm

3-4 gün sonunda petrilerde herhangi bir üreme gözlenmedi. (Şekil 5.2)

*Bu çalışmada buradan sonra kürdana sarılmış pamuktan elde edilen svaplar için ‘ince kürdan svap’ ibaresi kullanılmıştır.



Şekil 5.2 Sterilizasyon kontrolü için yapılan NA ve SDA kültürleri



Şekil 5.3 İnce kürdan svap ve normal svapın boyut karşılaştırması

5.1.2 Tırnak makaslarının sterilizasyonu

-Gönüllü kadınlardan tırnak kırpıntısı almak için kullanılacak olan tırnak makasları %70'lik etil alkol ile spreylenerek oda sıcaklığında kuruması beklenerek steril edildi.

5.1.3 Örneklerin Taşınmasında Kullanılan Malzemelerin Sterilizasyonu

Bukkal svaplar ve tırnak altı materyali toplamak için kullanılacak ticari svaplar kendi taşıma kaplarında muhafaza edildi.

İnce kürdan svaplar 2 ml'lik steril ependorflarda (ependorftan dışarıda kalan kısmı kırılarak) muhafaza edildi.

5.2 Gönüllü Çiftlerden Örnek Toplanması

Kontaminasyonun önlenmesi için örnek alacak araştırmacının eldiven takması sağlanarak örnek toplama aşamasında her çiftten örnek alındıktan sonra eldiven değişikliği yapılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen kadınların tırnaklarında oje olmamasına, herhangi bir mantar hastalığı olmamasına ve tırnak yeme alışkanlığı olmamasına dikkat edildi.

Kadınlardan tırnaklarını kesmesi istendi ve bu işlemden 2 hafta sonra örnek toplama prosedürü uygulandı. Buna göre; çiftlerin kadınlarından ilk olarak iyice ellerini yıkaması istendi. Ardından 30 saniye boyunca eşlerinin ense altındaki sırt bölgesini başparmak ve serçe parmak harici üç parmak ile eşit basınç uygulayarak

kızarana dek kaşıması istendi. (Şekil 5.4)

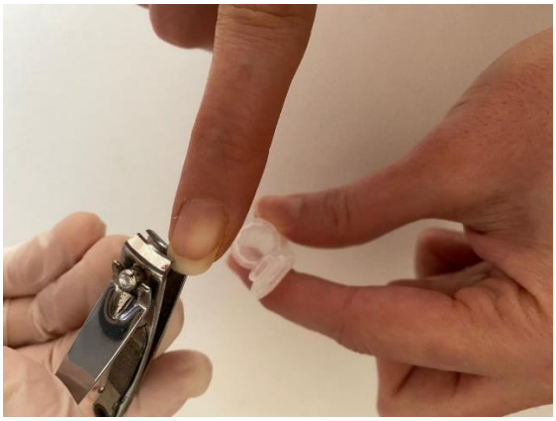


Şekil 5.4 Ense altındaki sırt bölgesinin üç parmak ile kaşınması

Bu işlemden 1 saat sonra aynı eldeki tırnaklara üç farklı toplama prosedürü uygulandı ;

1. Tırnak kesilerek bir tüpe konuldu. (1.Tırnak)

Tırnak makası %70'lik etil alkol ile spreylenerek oda sıcaklığında kuruması beklenip steril edildikten sonra tırnak deri sınırından kesildi. Steril tüpe konarak etiketlendi. (Şekil 5.5)

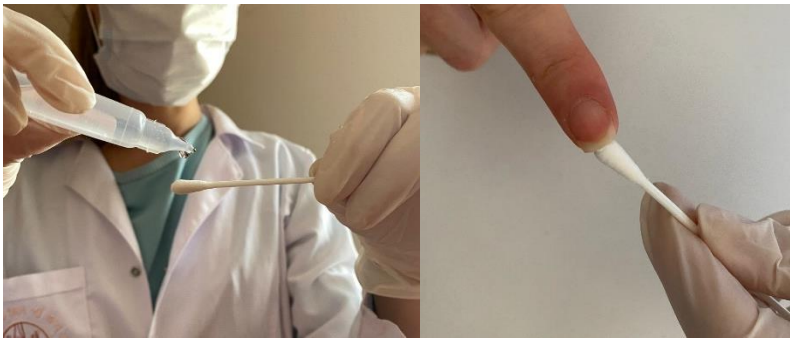


Şekil 5.5 Tırnak kırpıntısı örnek alımı

2. Tırnak altından nemli svap ile sürüntü alınıp tüpe konuldu. (2.Tırnak)

Svapın pamuklu kısmına 1-2 damla serum fizyolojikten damlatıldı. (Biyolojik svap alma kiti direktifine göre). Svap tırnak altına sokulup 2-3 kez tırnak

altında sarkaç hareketi yapılarak örnek toplandı. Svap tüpüne geri koyuldu ve tüp etiketlendi. (Şekil 5.6)



a) b)

Şekil 5.6 a) Svap ucuna serum fizyolojik damlatılması b)nemli svap ile örnek alımı

3. Tırnak altından ince kürdan svap ile sürüntü alınıp tüpe konuldu. (3.Tırnak)

Kürdanın ucundaki pamuklu kısma 1-2 damla serum fizyolojik damlatıldı. Svap tırnak altına sokulup 2-3 kez tırnak altında sarkaç hareketi yapılarak örnek toplandı. Svap 2ml'lik steril tüpe konuldu ve etiketlendi. (Şekil 5.7)



Şekil 5.7 İnce kürdan svap ile örnek alımı

Referans örnek olarak erkeklerden ve kadınlardan kuru bukkal svaplar ile örnek alındı.

Erkeklerden ve kadınlardan ağızlarını genişçe açmaları istenerek dile ve dişlere değmeden yanağın yan tarafından svabı döndürerek örnek alındı. Svap tüpüne

geri yerleştirildi ve etiketlendi.

Tüm alınan örnekler +4 C° buzdolabında bekletildi.

5.3 Örneklerden DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu aşamalarında redükleyici ajan Dithiothreitol (DTT) kullanıldı. DTT proteinlerin yapısında bulunan disülfid bağlarının yıkımından sorumludur. Özellikle kıl ve tırnak gibi keratin özellikteki protein yapılarının bozularak proteinlerin yıkılmasında etkilidir [11].

5.3.1 Bukkal Svap ve Tırnak Altı Materyali Toplanılan Svap ve İnce Kürdan Svaplardan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için bir QIAamp® DNA İnvestigator Kiti (QIAGEN) kullanıldı.

✓ 2 ml mikrosantrifüj tüpleri etiketlendikten sonra svaplar tüplere yerleştirildi. Tüplere 1 µl 1 M DTT (0,15 gr DTT ile 1000 µl distile su) konuldu.

✓ Negatif kontrol olarak bir tüpe de 200 µl PBS konuldu.

✓ Tüplere 20 µl proteinaz K ve 400 µl Tampon ATL eklenip, kapakları kapatılıp 10 saniye boyunca vorteksle karıştırıldı.

✓ Tüpler 1 saat boyunca 900 rpm'de çalkalanarak 56 ° C'de inkübe edildi.

✓ Kapağın içindeki damlaları aşağıya indirmek için tüpler kısa süre santrifüj edildi.

✓ 400 µl Tampon AL ve 1 μl taşıyıcı RNA çözeltisi eklenip 15 sn vortekslendi.

✓ İnkübatör içine 2 ml tüpler yerleştirilip 10 dakika boyunca 900 rpm'de çalkalanarak 70 ° C'de inkübe edildi.

✓ 200 µl etanol (% 96-100) eklenip, kapak kapatılıp 15 saniye vortekslendi, svaplar çöpe atıldı. Kolonlar 2ml'lik tüplere konulup etiketleme yapıldı.

✓ Lizatlar, 2 mL'lik tüpler içinde QIAamp MinElute® kolonlarına aktarılıp 6000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

✓ Kolonlar 2 mL'lik temiz toplama tüplerine aktarıldı. Sütunlara 500 µl Tampon AW1 ilave edilip 6000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

✓ Kolonlar temiz 2 mL toplama tüplerine yerleştirildi ve 700 uL Tampon AW2 ilave edildi.Tüpler, 1 dakika boyunca 6000 x g'de santrifüjlendi ve 2 mL'lik temiz toplama tüplerine transfer edildi.

✓ 700 µl %100 etanol ilave edildi ve tüpler, 6000 x g'de 1 dakika süreyle santrifüjlendi.

✓ Kolonlar, 2 mL temiz toplama tüplerine aktarıldı; bunlar, 14.000 rpm'de 3 dakika süreyle santrifüjlendi.

✓ Kolonlar temiz 1.5 mL mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi.

✓ Kolonların kapakları açıldı tüpler, oda sıcaklığında 10 dakika süreyle kurutuldu.

✓ Membranların merkezine 20 µl Tampon ATE ilave edildi, kapaklar kapatılıp tüpler, oda sıcaklığında 5 dakika süreyle inkübe edildi.

✓ Tüpler DNA elüsyonu için 2 dakika 14,000 rpm'de santrifüjlendi.

5.3.2 Tırnak Kırpıntılarından DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için bir QIAamp® DNA İnvestigator Kiti (QIAGEN) kullanıldı.

✓ 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne tırnak kırpıntıları konuldu. 300 ul Tampon ATL, 20 ul proteinaz K ve 20 ul 1 M DTT eklendi. Kapak kapatılıp 10 saniye vorteksleyerek karıştırıldı.

✓ Negatif kontrol olarak bir tüpe 200 ul PBS konuldu.

✓ Önekler gece boyunca 56 ° C'de inkübe edildi.

✓ Tüpler kısa süre santrifüjlenip 400 µl Tampon AL ve 1 µl taşıyıcı RNA çözeltisi (QIAamp® DNA İnvestigator Kiti kılavuzuna göre hazırlandı) ilave edildi.

✓ Tüpler 15 saniye vortekslenip , 10 dakika boyunca 900 rpm'de çalkalanarak 70 ° C'de inkübe edildi.

✓ Kısa süre santrifüjlendikten sonra, 200 uL %100 etanol ilave edildi. Tüpler 15 saniye vortekslenip, oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edilip kısa süre santrifüjlendi.

✓ Lizatlar, 2 mL'lik tüpler içinde QIAamp MinElute® kolonlarına aktarılıp 6000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

✓ Kolonlar 2 mL'lik temiz toplama tüplerine aktarıldı. Sütunlara 500 µl Tampon AW1 ilave edildi; bunlar, 6000 x g'de 1 dakika süreyle santrifüjlendi.

✓ Kolonlar temiz 2 mL toplama tüplerine yerleştirildi ve 700 uL Tampon AW2 ilave edildi. Tüpler, 1 dakika boyunca 6000 x g'de santrifüjlendi ve 2 mL'lik temiz toplama tüplerine transfer edildi. 700 µl %100 etanol ilave edildi ve tüpler, 6000 x g'de 1 dakika süreyle santrifüjlendi.

✓ Kolonlar, 2 mL temiz toplama tüplerine aktarıldı; bunlar, 14.000 rpm'de 3 dakika süreyle santrifüjlendi.

✓ Kolonlar temiz 1.5 mL mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi.

✓ Kolonların kapakları açılıp oda sıcaklığında 10 dakika süreyle kurutuldu.

✓ Membranların merkezine 20 µl Tampon ATE ilave edildi, kapaklar kapatılıp tüpler, oda sıcaklığında 5 dakika süreyle inkübe edildi.

✓ Tüpler DNA elüsyonu için 2 dakika 14,000 rpm'de santrifüjlendi.

5.4 DNA Kantifikasyonu

Örneklerden elde edilen DNA miktarı Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS Assay Kit kullanılarak ölçüldü.

Kit içerisinde Standart 1 ve Standart 2 bileşenleri, Qubit Buffer ve dsDNA HS reaktifi mevcuttur.

- ✓ -Ölçülecek toplam örnek sayısı göz önünde bulundurularak steril bir tüpe ya da falkona Qubit çalışma miksi hazırlanır. Örnek başına 199 µl Qubit Bufferı ve 1 µl Qubit reaktifi konulur.
- ✓ 2 tüp standart 1 ve standart 2 için etiketlenir ve tüplere 190 µl miksten 10 µl ise standartlardan koyulur. 2-3 saniye vortekslenir.
- ✓ Örnek sayısı kadar tüp etiketlenerek her tüpe 198 µl miksten 2 µl ise örnekten konularak her tüp 2-3 saniye vortekslenir.
- ✓ Qubit Florometre cihazı açılır. Anasayfadan DNA, dsDNA seçilir.

- ✓ İlk olarak standart 1 ardından standart 2 ölçülür. Oluşan grafik eğrisinin doğrusal olması gerekmektedir.
- ✓ Eğri doğrusalsa teker teker örneklerin ölçümü yapılır [45].

5.5 STR Lokuslarının Amplifikasyonu

Çalışmaya 15 otozomal STR belirteç (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA) ve Amelogenin (Applied Biosystems AmpFISTR Identifiler Direct User Guide, 2012) dahil edildi.

STR genetik lokusları 96 oyuklu bir GeneAmp1 PZR Sistemi 9700 (Applied Biosystems) üzerinde 28 döngü boyunca AmpFISTR Identifiler Plus PZR Amplifikasyon kiti (Applied Biosystems) kullanılarak 1 ng DNA kullanılarak amplifiye edildi.

Tablo 5.1 PZR bileşenlerinin reaksiyon başına kullanılacak hacimleri

PZR bileşenleri	**Reaksiyon başına kullanılan hacim**
AmpFlSTR® PZR Reaksiyon Karışımı	5,25μl/reaksiyon
AmpliTaq Gold® DNA Polimeraz enzimi	0,25μl/reaksiyon
AmpFlSTR® Identifiler® Primer Seti	2,25μl/reaksiyon
DNA izolatı (son konsantrasyon 1ng/5μl)	5μl

5.6 Kapiller Elektroforez

Amplifikasyon ürünleri, bir ABI PRISM1 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystems) üzerinde kılcal elektroforeze tabi tutuldu. Bir MicroAmpTM Optik 96 Kuyu Reaksiyon Plakasının her bir oyuğuna;

- ✓ 10 µl Hi-Di Formamid ve 0,5 µl GeneScan™-500LIZ™ (internal size standart)
- ✓ 1 µL PZR ürünü eklendi.

Not: Boş kuyucuklar için 15 µL Hi-DiTM Formamide eklendi [10].

Veriler, ABI PRISM1 GeneMapper1 ID yazılımı v.3.2 (Applied Biosystems) kullanılarak analiz edildi.

5.7 DNA Profil Sınıflandırması

Üç farklı yöntemin verimliliğinin karşılaştırılmasına yardımcı olmak adına profiller belli kriterlere göre sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma için tablodaki değerlendirme kriterleri kullanılmıştır. (Tablo 5.2)

Tablo 5.2 STR profillerinin sınıflandırılması [9]

Sınıflandırma	Allel Sayıları
Tam tek profil	1 veya 2 allel
Kısmi Tek Profil	4 allelden az
Düşük Seviye DNA Karışımı	4-11 allel
Yüksek Seviye DNA Karışımı	12 allelden fazla

5.8 STR Analiz Değerlendirme Formu

STR profillerinin analizini kolaylaştırmak adına bir form oluşturuldu. (Şekil 5.8) Bu formda amplifiye edilen STR lokuslarının adları, STR bölgelerinin işaretlenmesinde kullanılan boyaların renkleri, numune grupları, örneklerin DNA miktarları ve referans örneklere ait alanlar mevcuttur. Bu formda mavi renk erkeğe ait allelleri, kırmızı renk kadına ait allelleri, yeşil renk erkek ve kadın için ortak olan allelleri ifade etmektedir. Oluşturulan ‘STR Analiz Değerlendirme Formu’ Şekil 5.8 ‘de gösterilmiştir.

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi					
AmelY	Mavi					
D2S1338	Yeşil					
D3S1358	Mavi					
D5S818	Yeşil					
D7S820	Yeşil					
D8S1179	Kırmızı					
D13S317	Sarı					
D16S539	Sarı					
D18S51	Kırmızı					
D19S433	Yeşil					
D21S11	Mavi					
CSF1PO	Sarı					
FGA	Sarı					
TH01	Mavi					
TPOX	Yeşil					
vWA	Mavi					
SONUÇ						
Örneklerin DNA Miktarları Referans Örnek Kadın: Referans Örnek Erkek: Svap: Kürdan: Tırnak:						

Şekil 5.8 STR analiz değerlendirme formu

6
BULGULAR

6.1 Örneklerin DNA Kantifikasyonu

Çalışmaya dahil edilen örneklerin DNA izolasyonu QIAamp® DNA İnvestigator Kiti (QIAGEN) ile gerçekleştirilip miktar tayini Invitrogen™ Qubit™ dsDNA HS Assay Kit kullanılarak yapıldı.

STR profillerinin yorumlanmasına yardımcı olması adına oluşturulan STR Analiz Değerlendirme Formunda her çiftten toplanan örneklerin DNA miktarları görülmektedir. (Şekil 6.4)

Üç farklı yöntemden normal svap ile alınan örneklerin iki tanesinin, ince kürdan svap ile alınan örneklerin bir tanesinin DNA miktarı Qubit florometreyle ölçülemeyecek kadar düşük seviye olarak saptandı.

Gönüllü 12 çiftten toplanan örneklerin DNA miktar tayini sonuçlarına göre ortalama örnek miktarları erkeklerden alınan bukkal svap (referans örnekler) için 9.42 ng/ µl, kadınlardan alınan bukkal svap (referans örnekler) için 8,65 ng/ µl, tırnak kırpıntısı için 7.9 ng/ µl, ticari svap için 1.87 ng/ µl, son olarak ince kürdan svap için 5.6 ng/ µl'dir.

Bu sonuçlara göre; tırnak altı materyalinden elde edilen DNA miktarı açısından en verimli yöntem tırnak kırpıntısı olarak gözükse de önemli olan sadece DNA miktarı değil STR analiziyle elde edilen profillerde erkeğe ait profilin sorunsuz olarak ortaya konulabilmesidir.

6.2 Kapiller Elektroforez Görüntülemesi ve STR Profillerinin Değerlendirilmesi

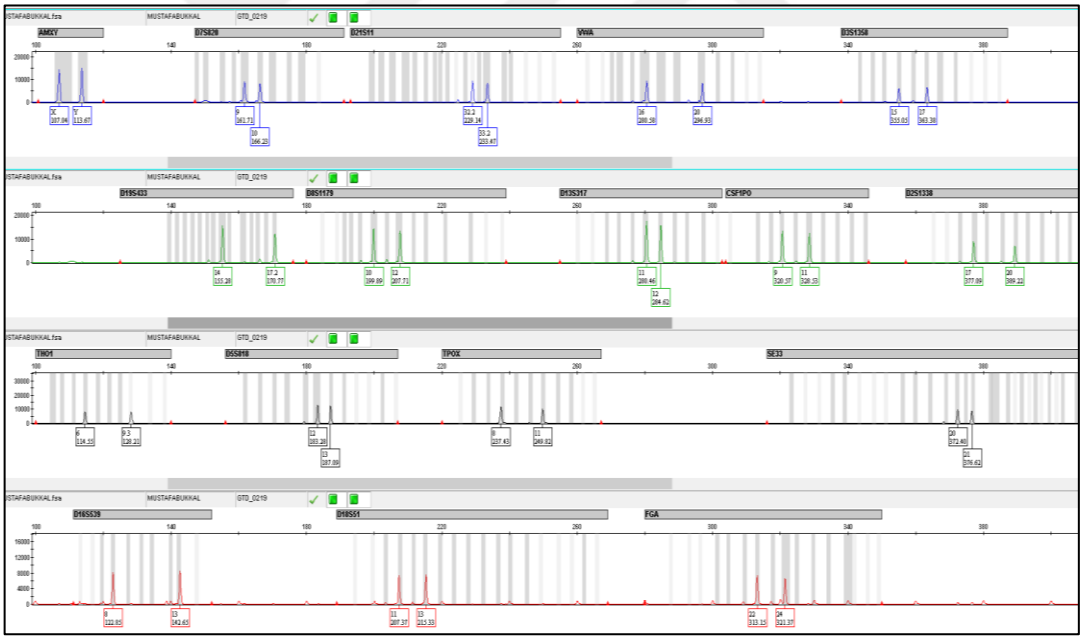
Amplifikasyon ürünleri, bir ABI PRISM1 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystems) üzerinde kılcal elektroforeze tabi tutuldu.

Veriler, ABI PRISM1 GeneMapper1 ID yazılımı v.3.2 (Applied Biosystems)

kullanılarak analiz edildi.

STR profillerinin analiz ve değerlendirmesinde ilk olarak her çift için elde edilen STR piklerinin isimlendirilmeleri kontrol edildi. Örneğe ait pikler GeneMapper programı tarafından Allelic Ladder'a göre isimlendirilmemişse, manuel olarak allelik ladder ile piklerin büyüklüklerine göre üst üste çakıştırılması ile her pike eşleştiği allelin ismi verilir.

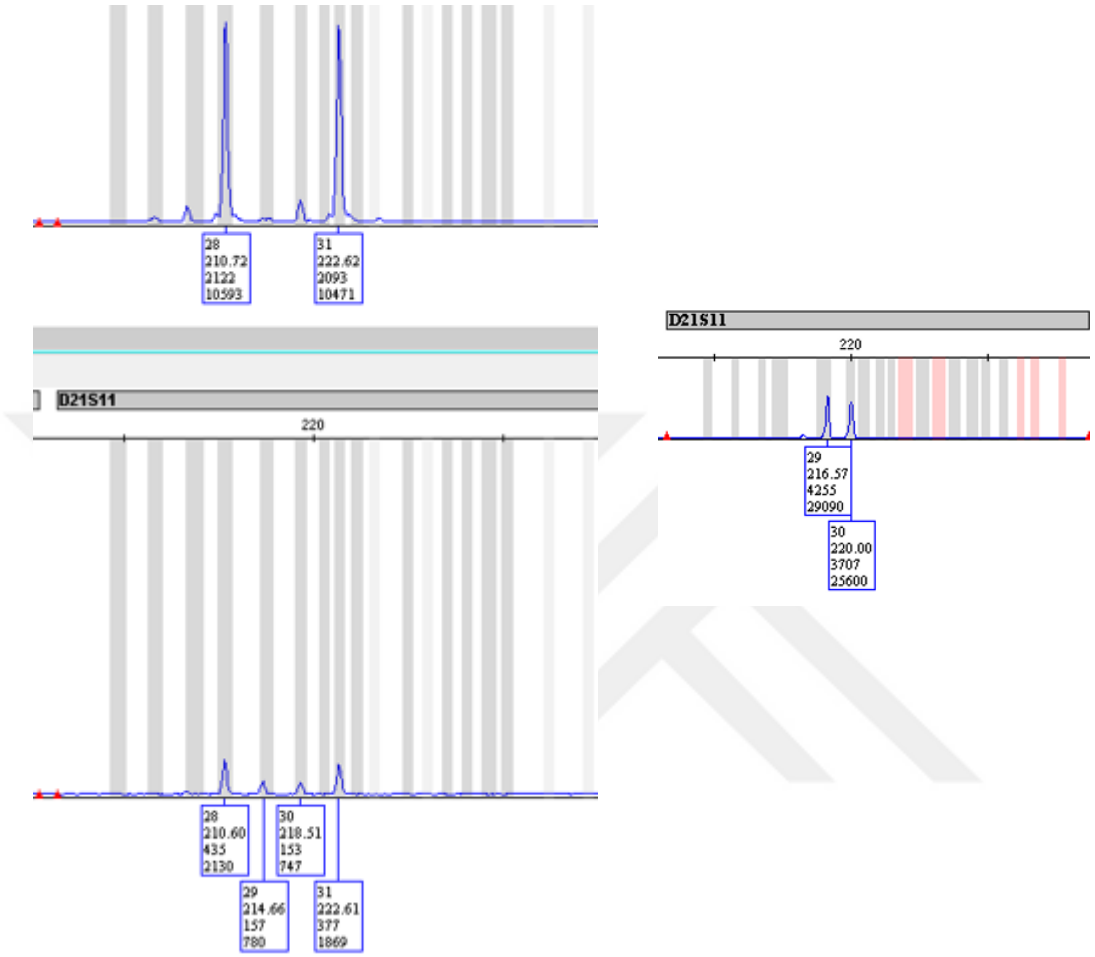
Referans örnek olması adına toplanan örneklerin STR profili için her bir lokusta en çok iki allel elde edileceği öngörülse de bazı katılımcılarda istisnai durumlar saptandı. Bu durumdaki profiller için uzman analistlerden destek alınarak yapay pikler dışlandı ve gerçek allel pikleri tespit edildi. RFU boylarının birbirine oranı %70'in altında olmayan iki pike sahip lokuslar ise heterozigot bölgeler olarak kabul edildi. Şekil 6.1 'de görülen STR profiline göre bu gönüllü katılımcının tüm STR lokusları heterozigottur.



Şekil 6.1 Bir erkek katılımcının bukkal svap ile alınan örneğinden elde edilen STR profili

Tırnak altından üç farklı yöntemle toplanan örneklerin STR profilleri için miks profiller elde edilebileceği öngörülen bir durumdu. Bu örnekler için STR analizi yapılırken kadın DNA'sına ait STR piklerinin varlığı göz önünde bulundurularak

pikler isimlendirildi. Buna göre bazı STR lokuslarında 4 farklı pik elde edilirken (Şekil 6.2) bazı STR lokuslarında erkek ve kadına ait ortak allellerin varlığı saptandı.

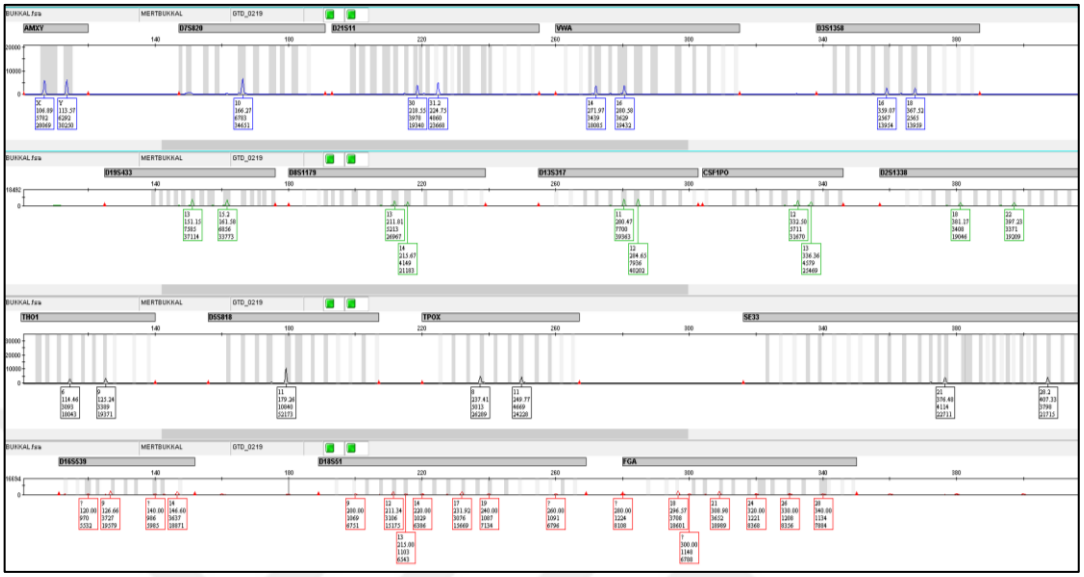


a) b)

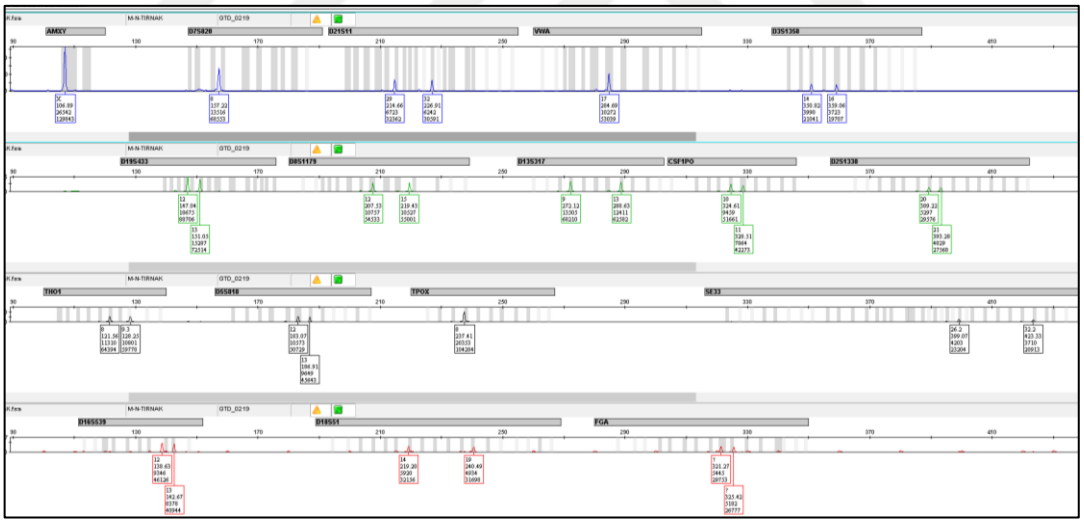
Şekil 6.2 D21S11 STR lokusuna ait kapiller elektroforez görüntüsüne göre a) üst taraftaki 2 pik (28,31 allelleri) erkeğe ait STR allelleri iken altta görülen 4 pik tırnak kırpıntısından elde edilen STR allelleridir (28,29,30,31 allelleri) 28,31 erkeğe aitken 29,30 kadına ait allel tekrar sayılarıdır b) Kadına ait STR allelleri

Gönüllü çiftlerden birinde her üç yöntem ile toplanan örneklerin STR profilleri sınıflandırmaya göre 'Yüksek Seviye DNA Karışımı' olarak bulunmuştur. Gerek tırnak kırpıntısı örneklerinden gerekse normal svap örneklerinden elde edilen karışım DNA STR profilinde pek çok lokusta erkeğe ait alleller kadına ait DNA tarafından baskılanmıştır. Buna rağmen ince kürdan svap ile elde edilmiş örneğe ait DNA profilinde hem kadına hem de erkeğe ait alleller karışım DNA profili

olarak tespit edilebilmektedir. Şekil 6.3'te bu çiftten toplanan örneklerin STR profilleri görülmektedir. Aynı çiftin 'STR Analiz Değerlendirme Formu' EK-3'te Gönüllü Çift 4 olarak görülmektedir.

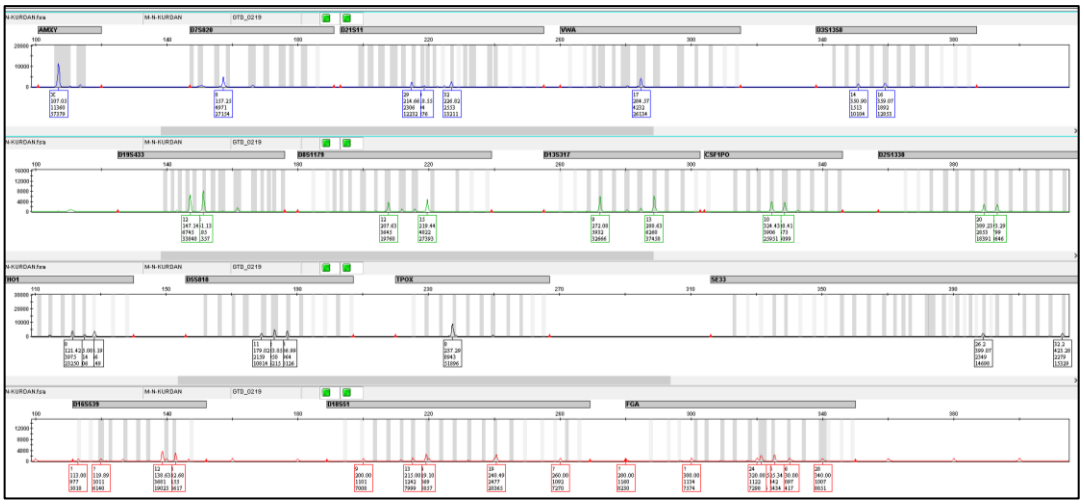


a)

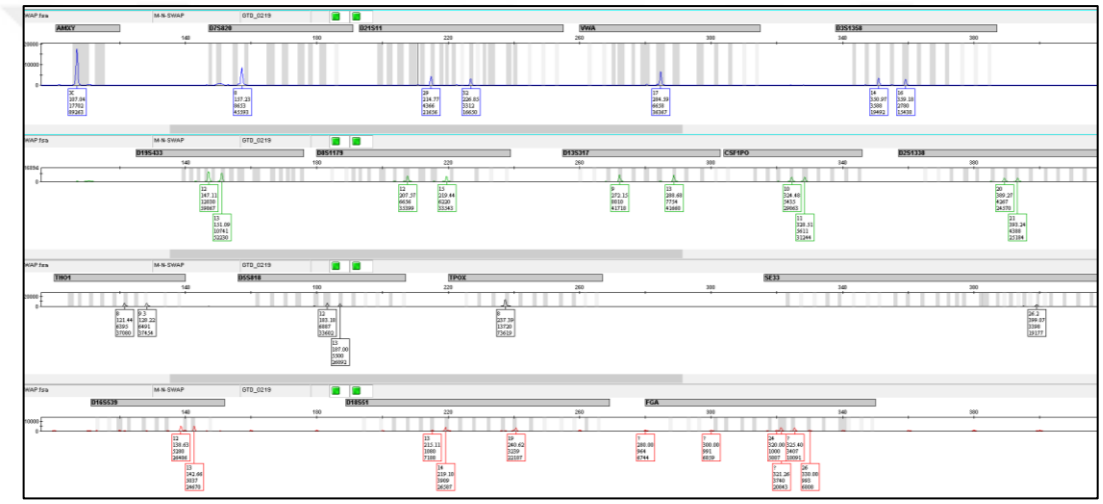


b)

Şekil 6.3 Bir gönüllü çiftin örneklerinden elde edilen STR profil görüntüleri a) Erkek bireyden bukkal svap ile alınan örneğin STR profili b) tırnak kırpıntısı yöntemi c) ince kürdan svap yöntemi d) normal svap yöntemi ile alınan örneklerin STR profilleri



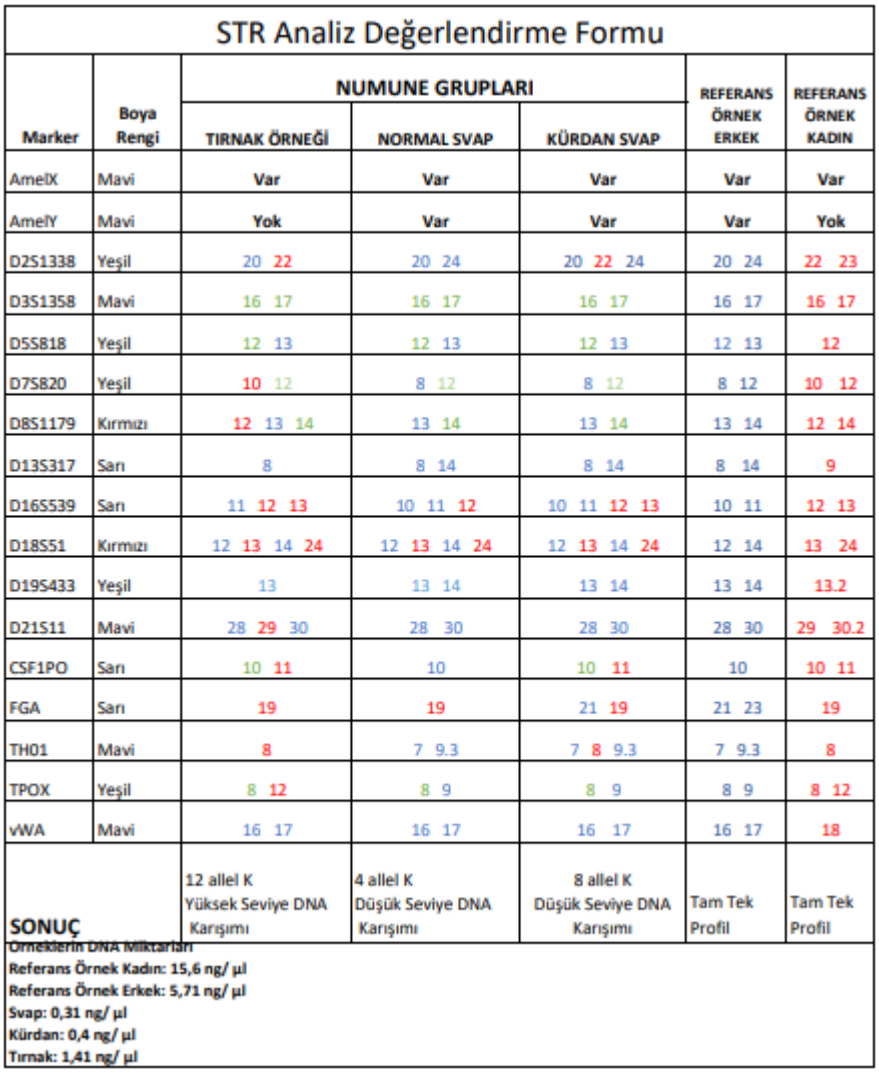
c)



d)

Şekil 6.3 Bir gönüllü çiftin örneklerinden elde edilen STR profil görüntüleri a) Erkek bireyden bukkal svap ile alınan örneğin STR profili b) tırnak kırpıntısı yöntemi c) ince kürdan svap yöntemi d) normal svap yöntemi ile alınan örneklerin STR profilleri (devamı)

Bu çalışma kapsamında toplanan örneklere ait elde edilen tüm STR profilleri daha önce anlatılan STR analizinde dikkat edilmesi gereken noktalar göz önünde bulundurularak her gönüllü çift için oluşturulan STR Analiz Değerlendirme Formu'na kaydedildi. (Şekil 6.4)



STR Analiz Değerlendirme Formu

Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Yok	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	20 22	20 24	20 22 24	20 24	22 23
D3S1358	Mavi	16 17	16 17	16 17	16 17	16 17
D5S818	Yeşil	12 13	12 13	12 13	12 13	12
D7S820	Yeşil	10 12	8 12	8 12	8 12	10 12
D8S1179	Kırmızı	12 13 14	13 14	13 14	13 14	12 14
D13S317	Sarı	8	8 14	8 14	8 14	9
D16S539	Sarı	11 12 13	10 11 12	10 11 12 13	10 11	12 13
D18S51	Kırmızı	12 13 14 24	12 13 14 24	12 13 14 24	12 14	13 24
D19S433	Yeşil	13	13 14	13 14	13 14	13.2
D21S11	Mavi	28 29 30	28 30	28 30	28 30	29 30.2
CSF1PO	Sarı	10 11	10	10 11	10	10 11
FGA	Sarı	19	19	21 19	21 23	19
TH01	Mavi	8	7 9.3	7 8 9.3	7 9.3	8
TPOX	Yeşil	8 12	8 9	8 9	8 9	8 12
vWA	Mavi	16 17	16 17	16 17	16 17	18
SONUÇ		12 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	4 allel K Düşük Seviye DNA Karışımı	8 allel K Düşük Seviye DNA Karışımı	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 15,6 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 5,71 ng/ µl
Svap: 0,31 ng/ µl
Kürdan: 0,4 ng/ µl
Tırnak: 1,41 ng/ µl

a) Gönüllü Çift 1

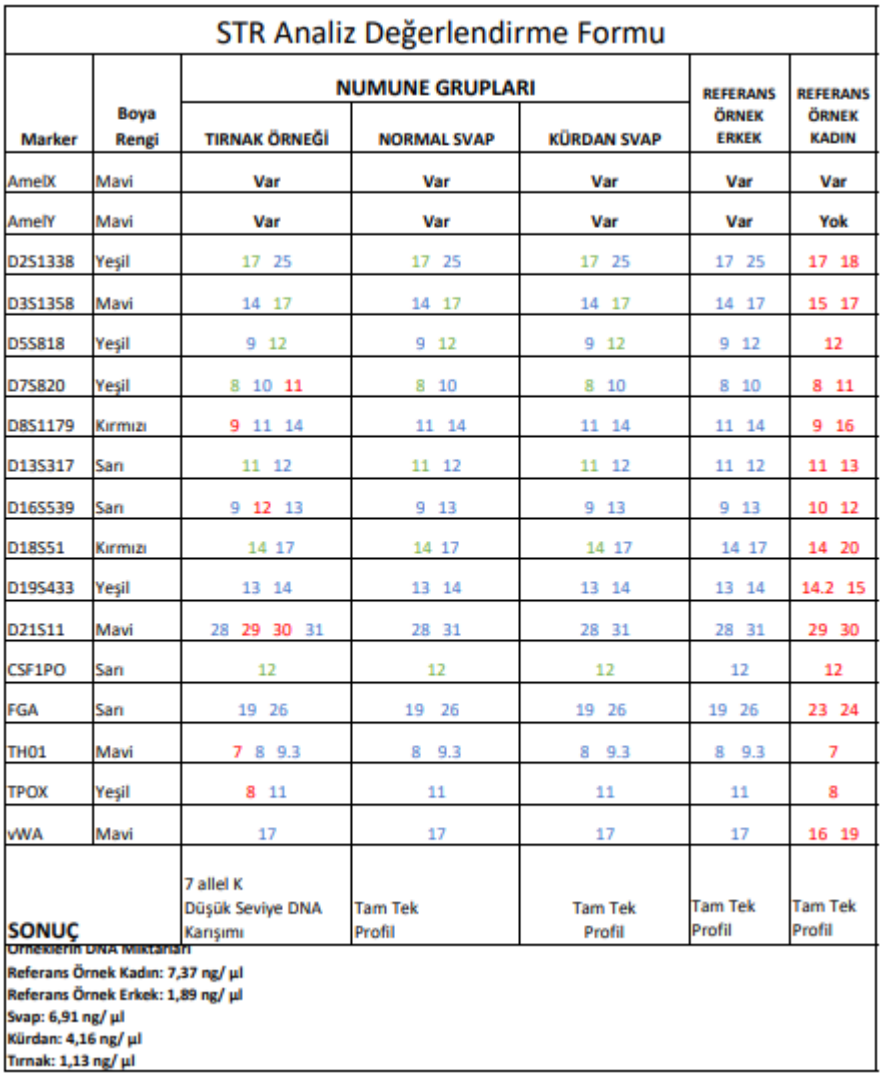
Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	20 24	24	24	24	20 25
D3S1358	Mavi	16 17	Pik yok	14 16	14 16	16 17
D5S818	Yeşil	11 12 13	12 13	12 13	12 13	11 12
D7S820	Yeşil	11 13	9 11	9 11	9 11	10 13
D8S1179	Kırmızı	12 13 14 17	14 17	14 17	14 17	12 13
D13S317	Sarı	8 12 14	12 14	12 14	12 14	8
D16S539	Sarı	11 12	12 13	12 13	12	10 11
D18S51	Kırmızı	14 19	13 14 19	12 13 14 19	12 14	13 19
D19S433	Yeşil	13.2 15	13.2 14	13.2 14	13.2 14	15
D21S11	Mavi	30.2 32.2	28 30	28 30	28 30	30.2 32.2
CSF1PO	Sarı	10 12	10 12	10 12	10 12	10
FGA	Sarı	22 23 24	24	21 24	21 24	22 23
TH01	Mavi	7 8 10	10	10	10	7 8
TPOX	Yeşil	8 10	8	8	8	8 10
vWA	Mavi	18 19	19	17 19	17 19	18 19
SONUÇ		18 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	1 bölge çalışmamış 3 allel K Kısmi Tek Profil	3 allel K Kısmi Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 6,10 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 26,4 ng/ µl
Svap: Ölçülemedi.
Kürdan: Ölçülemedi.
Tırnak: 2,19 ng/ µl

b) Gönüllü Çift 2

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)



STR Analiz Değerlendirme Formu

Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	17 25	17 25	17 25	17 25	17 18
D3S1358	Mavi	14 17	14 17	14 17	14 17	15 17
D5S818	Yeşil	9 12	9 12	9 12	9 12	12
D7S820	Yeşil	8 10 11	8 10	8 10	8 10	8 11
D8S1179	Kırmızı	9 11 14	11 14	11 14	11 14	9 16
D13S317	Sarı	11 12	11 12	11 12	11 12	11 13
D16S539	Sarı	9 12 13	9 13	9 13	9 13	10 12
D18S51	Kırmızı	14 17	14 17	14 17	14 17	14 20
D19S433	Yeşil	13 14	13 14	13 14	13 14	14.2 15
D21S11	Mavi	28 29 30 31	28 31	28 31	28 31	29 30
CSF1PO	Sarı	12	12	12	12	12
FGA	Sarı	19 26	19 26	19 26	19 26	23 24
TH01	Mavi	7 8 9.3	8 9.3	8 9.3	8 9.3	7
TPOX	Yeşil	8 11	11	11	11	8
vWA	Mavi	17	17	17	17	16 19
SONUÇ		7 allel K Düşük Seviye DNA Karışımı	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 7,37 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 1,89 ng/ µl
Svap: 6,91 ng/ µl
Kürdan: 4,16 ng/ µl
Tırnak: 1,13 ng/ µl

c) Gönüllü Çift 3

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Yok	Yok	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	20 21	20 21	20 21 22	18 22	20 21
D3S1358	Mavi	14 16	14 16	14 16 18	16 18	14 16
D5S818	Yeşil	11 12 13	12 13	11 12 13	11	12 13
D7S820	Yeşil	8	8	8 10	10	8
D8S1179	Kırmızı	12 14 15	12 15	12 13 14 15	13 14	12 15
D13S317	Sarı	9 12 13	9 13	9 11 12 13	11 12	9 13
D16S539	Sarı	12 13	12 13	9 12 13 14	9 14	12 13
D18S51	Kırmızı	14 19	14 19	12 14 17 19	12 17	14 19
D19S433	Yeşil	12 13	12 13	12 13 15.2	13 15.2	12 13
D21S11	Mavi	29 32	29 32	29 30 31.2 32	30 31.2	29 32
CSF1PO	Sarı	10 11	10 11	10 11 12 13	12 13	10 11
FGA	Sarı	24 25	24 25	18 21 24 25	18 21	24 25
TH01	Mavi	8 9.3	8 9.3	6 8 9 9.3	6 9	8 9.3
TPOX	Yeşil	8	8	8 11	8 11	8
vWA	Mavi	17	17	14 16 17	14 16	17
SONUÇ		24 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	24 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	24 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil
Örneklerin DNA Miktarları Referans Örnek Kadın: 8,07 ng/ µl Referans Örnek Erkek: 0,86 ng/ µl Svap: 3,75 ng/ µl Kürdan: 1,22 ng/ µl Tırnak: 7,23 ng/ µl						

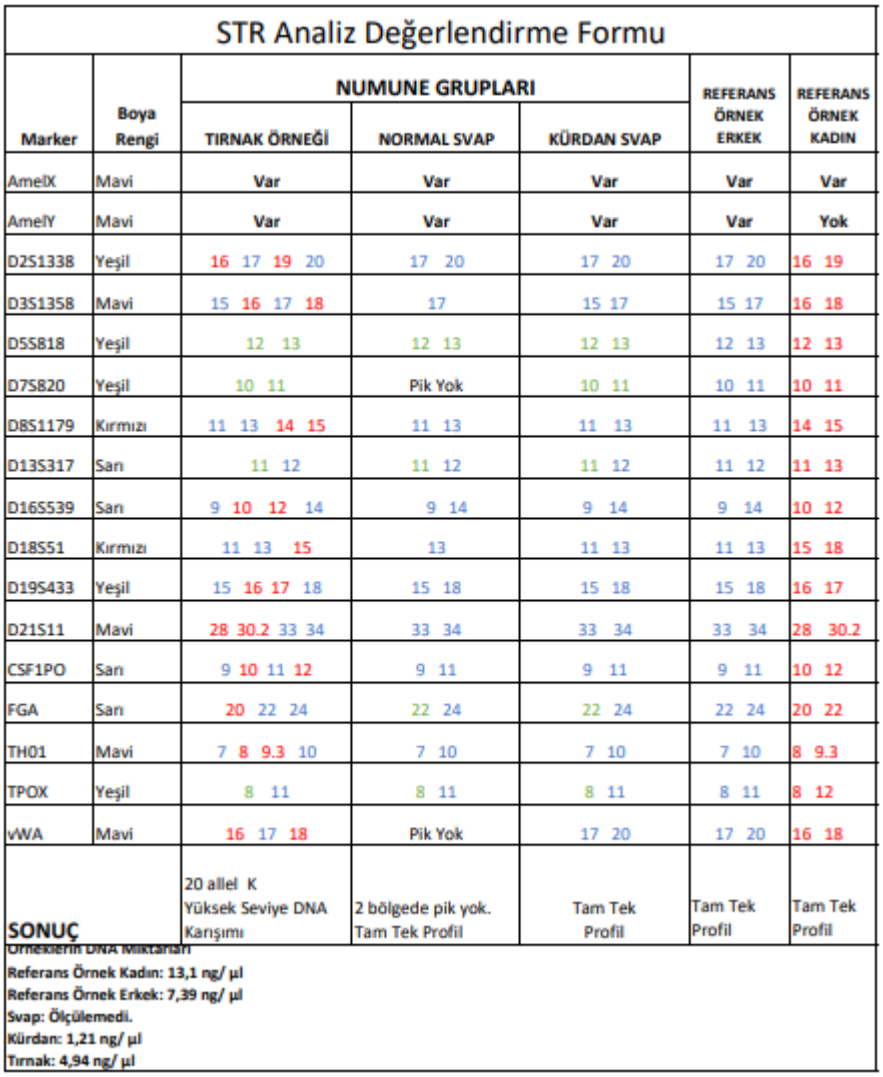
d) Gönüllü Çift 4

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	17 19	17 19	17 19	17 19	20 24
D3S1358	Mavi	Pik Yok	17 18	17 18	17 18	15 16
D5S818	Yeşil	10 13	10 13	10 13	10 13	12
D7S820	Yeşil	10 14	10 14	10 14	10 14	7 8
D8S1179	Kırmızı	13 14	13 14	13 14	13 14	12 13
D13S317	Sarı	11 12	11 12	11 12	11 12	14
D16S539	Sarı	13	13	13	13	10 12
D18S51	Kırmızı	14 15	14 15	14 15	14 15	16
D19S433	Yeşil	15 16	15 16	15 16	15 16	14 16
D21S11	Mavi	29 30.2	29 30.2	29 30.2	29 30.2	31.2 34.2
CSF1PO	Sarı	10 12	10 12	10 12	10 12	10
FGA	Sarı	Pik Yok	22 24	22 24	22 24	20 23
TH01	Mavi	7 9.3	7 9.3	7 9.3	7 9.3	6 9
TPOX	Yeşil	8	8	8	8	8
vWA	Mavi	15 16	15 16	15 16	15 16	18
SONUÇ		2 bölgede pik yok Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil
Örneklerin DNA Miktarları Referans Örnek Kadın: 6,49 ng/ µl Referans Örnek Erkek: 10,4 ng/ µl Svap: 4,18 ng/ µl Kürdan: 24,3 ng/ µl Tırnak: 3,87 ng/ µl						

e) Gönüllü Çift 5

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)



STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	16 17 19 20	17 20	17 20	17 20	16 19
D3S1358	Mavi	15 16 17 18	17	15 17	15 17	16 18
D5S818	Yeşil	12 13	12 13	12 13	12 13	12 13
D7S820	Yeşil	10 11	Pik Yok	10 11	10 11	10 11
D8S1179	Kırmızı	11 13 14 15	11 13	11 13	11 13	14 15
D13S317	Sarı	11 12	11 12	11 12	11 12	11 13
D16S539	Sarı	9 10 12 14	9 14	9 14	9 14	10 12
D18S51	Kırmızı	11 13 15	13	11 13	11 13	15 18
D19S433	Yeşil	15 16 17 18	15 18	15 18	15 18	16 17
D21S11	Mavi	28 30.2 33 34	33 34	33 34	33 34	28 30.2
CSF1PO	Sarı	9 10 11 12	9 11	9 11	9 11	10 12
FGA	Sarı	20 22 24	22 24	22 24	22 24	20 22
TH01	Mavi	7 8 9.3 10	7 10	7 10	7 10	8 9.3
TPOX	Yeşil	8 11	8 11	8 11	8 11	8 12
vWA	Mavi	16 17 18	Pik Yok	17 20	17 20	16 18
SONUÇ		20 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	2 bölgede pik yok. Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 13,1 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 7,39 ng/ µl
Svap: Ölçülemedi.
Kürdan: 1,21 ng/ µl
Tırnak: 4,94 ng/ µl

f) Gönüllü Çift 6

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	19 20 21 22	19 20	19 20	19 20	21 22
D3S1358	Mavi	15 16	15 16	15 16	15 16	15
D5S818	Yeşil	8 11 13	13	13	13	8 11
D7S820	Yeşil	11 13	11 13	11 13	11 13	11
D8S1179	Kırmızı	10 11	10 11	10 11	10 11	13 17
D13S317	Sarı	10 11 13	10 13	10 13	10 13	10 11
D16S539	Sarı	12 13	12 13	12 13	12 13	12 13
D18S51	Kırmızı	14 16	14 16	16	16	14 17
D19S433	Yeşil	13 14 15 16	13 16	13 16	13 16	14 15
D21S11	Mavi	28 29 32.2	29	29	29	28 32.2
CSF1PO	Sarı	9 11 12	9 11	9 11	9 11	11 12
FGA	Sarı	18 22 23	18 22 23	22	22	18 23
TH01	Mavi	9 9.3	9 9.3	9 9.3	9 9.3	9.3
TPOX	Yeşil	8 10	8	8	8	8 10
vWA	Mavi	13 15 16 19	15 19	15 19	15 19	13 16
SONUÇ		16 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	3 allel K Kısmi Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 10,5 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 12,6 ng/ µl
Svap: 0,7 ng / µl
Kürdan: 1,84 ng/ µl
Tırnak: 2,9 ng/ µl

g) Gönüllü Çift 7

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu

Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	17 18 20 24	20 24	20 24	20 24	17 18
D3S1358	Mavi	15 16 18	16 18	16 18	16 18	15 19
D5S818	Yeşil	11 12	12	12	12	11 12
D7S820	Yeşil	8 11 12	11	11	11	8 12
D8S1179	Kırmızı	10 13 14	13 14	13 14	13 14	10 14
D13S317	Sarı	12 14	12	12	12	14 15
D16S539	Sarı	9 11 12 13	9 11	9 11	9 11	12 13
D18S51	Kırmızı	12 14 16 17	12 14	12 14	12 14	16 17
D19S433	Yeşil	12 13 15 16.2	15 16.2	15 16.2	15 16.2	12 13
D21S11	Mavi	31.2 32 32.2 33.2	31.2 32	31.2 32	31.2 32	32.2 33.2
CSF1PO	Sarı	10 12	10	10	10	12
FGA	Sarı	20 21 22 24	20 22 24	20 22 24	20 22	21 24
TH01	Mavi	6 8 9.3	6 8	6 8	6 8	9.3
TPOX	Yeşil	8 9 11	8 9	8 9	8 9	8 11
vWA	Mavi	16 17 18	17 18	17 18	17 18	16
SONUÇ		22 allel K Yüksek Seviye DNA Karışımı	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 2,88 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 6,65 ng/ µl
Svap: 3,19 ng/ µl
Kürdan: 4,76 ng/ µl
Tırnak: 8,23 ng/ µl

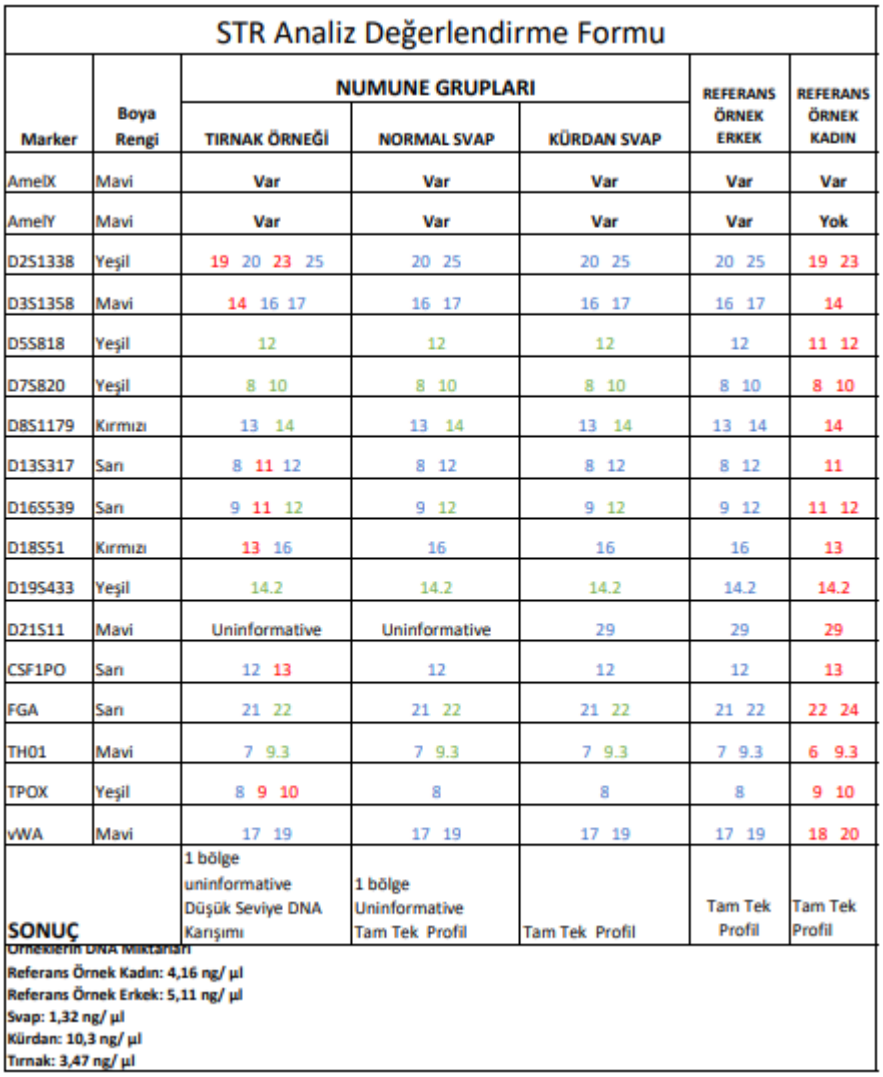
h) Gönüllü çift 8

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Yok	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	17 19	17 19	17 19	17 19	17 18
D3S1358	Mavi	Pik Yok	16 18	16 18	16 18	16 19
D5S818	Yeşil	11 12 13	11 13	11 13	11 13	12 13
D7S820	Yeşil	12	12	12	12	12
D8S1179	Kırmızı	12 13	12 13	12 13	12 13	11 14
D13S317	Sarı	11 12	11 12	11 12	11 12	13 14
D16S539	Sarı	9 11	9 11	9 11	9 11	10 12
D18S51	Kırmızı	Pik Yok	13 17	13 17	13 17	17
D19S433	Yeşil	14.2 15.2	14.2 15.2	14.2 15.2	14.2 15.2	13.2 14.2
D21S11	Mavi	Uninformative	Uninformative	Uninformative	29	30.2
CSF1PO	Sarı	11 12	11 12	11 12	11 12	14
FGA	Sarı	Pik Yok	20 22	20 22	20 22	21 22
TH01	Mavi	6 8 9	6 9	6 9	6 9	6 8
TPOX	Yeşil	11	11	11	11	12
vWA	Mavi	Pik Yok	15 17	15 17	15 17	14 17
SONUÇ		4 bölgede pik yok 1 bölge uninformative 2 allel K Tam Tek Profil	1 bölge uninformative Tam Tek Profil	1 bölge uninformative Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil
Örneklerin DNA Miktarları Referans Örnek Kadın: 18,2ng/ µl Referans Örnek Erkek: 7,79 ng/ µl Svap: 1,57 ng/ µl Kürdan: 2,09 ng/ µl Tırnak: 0,9 ng/ µl						

i) Gönüllü Çift 9

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)



STR Analiz Değerlendirme Formu

Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	19 20 23 25	20 25	20 25	20 25	19 23
D3S1358	Mavi	14 16 17	16 17	16 17	16 17	14
D5S818	Yeşil	12	12	12	12	11 12
D7S820	Yeşil	8 10	8 10	8 10	8 10	8 10
DBS1179	Kırmızı	13 14	13 14	13 14	13 14	14
D13S317	Sarı	8 11 12	8 12	8 12	8 12	11
D16S539	Sarı	9 11 12	9 12	9 12	9 12	11 12
D18S51	Kırmızı	13 16	16	16	16	13
D19S433	Yeşil	14.2	14.2	14.2	14.2	14.2
D21S11	Mavi	Uninformative	Uninformative	29	29	29
CSF1PO	Sarı	12 13	12	12	12	13
FGA	Sarı	21 22	21 22	21 22	21 22	22 24
TH01	Mavi	7 9.3	7 9.3	7 9.3	7 9.3	6 9.3
TPOX	Yeşil	8 9 10	8	8	8	9 10
vWA	Mavi	17 19	17 19	17 19	17 19	18 20
SONUÇ		1 bölge uninformative Düşük Seviye DNA Karışımı	1 bölge Uninformative Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 4,16 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 5,11 ng/ µl
Svap: 1,32 ng/ µl
Kürdan: 10,3 ng/ µl
Tırnak: 3,47 ng/ µl

j) Gönüllü Çift 10

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu						
Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Pik Yok	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Pik Yok	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	18 24	Pik Yok	18 24	18 24	17 20
D3S1358	Mavi	15 16	Pik Yok	15 16	15 16	15 16
D5S818	Yeşil	11 13	Pik Yok	11 13	11 13	12
D7S820	Yeşil	8	Pik Yok	8	8	7 12
D8S1179	Kırmızı	12 13	Pik Yok	12 13	12 13	13
D13S317	Sarı	12 15	Pik Yok	12 15	12 15	9 14
D16S539	Sarı	11 13	Pik Yok	11 13	11 13	11 12
D18S51	Kırmızı	16	Pik Yok	16	16	15
D19S433	Yeşil	14 15.2	Pik Yok	14 15.2	14 15.2	11 14
D21S11	Mavi	29 34	Pik Yok	29 34	29 34	30.2 31.2
CSF1PO	Sarı	11 12	Pik Yok	11 12	11 12	9 10
FGA	Sarı	21 23	Pik Yok	21 23	21 23	23
TH01	Mavi	7 10	Pik Yok	7 10	7 10	9 10
TPOX	Yeşil	9	Pik Yok	9	9	8
vWA	Mavi	16 17	Pik Yok	16 17	16 17	18 19
SONUÇ		Tam Tek Profil	Çalışmadı.	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil
Örneklerin DNA Miktarları Referans Örnek Kadın: 3,66 ng/ µl Referans Örnek Erkek: 19,8 ng/ µl Svap: 0,05 ng/ µl Kürdan: 12,5 ng/ µl Tırnak: 52 ng/ µl						

k) Gönüllü Çift 11

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formu

Marker	Boya Rengi	NUMUNE GRUPLARI			REFERANS ÖRNEK ERKEK	REFERANS ÖRNEK KADIN
		TIRNAK ÖRNEĞİ	NORMAL SVAP	KÜRDAN SVAP		
AmelX	Mavi	Var	Var	Var	Var	Var
AmelY	Mavi	Var	Var	Var	Var	Yok
D2S1338	Yeşil	16 19 20 23	19 20	19 20	19 20	16 23
D3S1358	Mavi	14 15 16	14 15	14 15	14 15	14 16
D5S818	Yeşil	11 12	12	12	12	11 12
D7S820	Yeşil	8 9 10 12	10 12	10 12	10 12	8 9
D8S1179	Kırmızı	14	14	14	14	14
D13S317	Sarı	11	11	11	11	11
D16S539	Sarı	10 11 12	11 12	11 12	11 12	10 11
D18S51	Kırmızı	13 14 16 19	13 14 16 19	13 16	13 16	14 19
D19S433	Yeşil	14	14	14	14	14.2
D21S11	Mavi	27 28 29 30	27 29	27 29	27 29	28 30
CSF1PO	Sarı	11 12 13	12 13	12 13	12 13	11
FGA	Sarı	20 21 22 24	20 22 24	20 22	20 22	21 24
TH01	Mavi	6 7 9.3	7 9.3	7 9.3	7 9.3	6 9.3
TPOX	Yeşil	8 9 10	8 10	8 10	8 10	9 10
vWA	Mavi	17 18 19	17 18	17 18	17 18	19 20
SONUÇ		17 allel K Yüksek DNA Karışımı	3 allel K Kısmi Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil	Tam Tek Profil

Örneklerin DNA Miktarları
Referans Örnek Kadın: 7,72 ng/ µl
Referans Örnek Erkek: 8,44 ng/ µl
Svap: 0,6 ng/ µl
Kürdan: 4,97 ng/ µl
Tırnak: 6,79 ng/ µl

l) Gönüllü Çift 12

Şekil 6.4 Gönüllü katılımcıların STR Analiz Değerlendirme Formları a) Gönüllü Çift 1, b) Gönüllü Çift 2, c) Gönüllü Çift 3, d) Gönüllü Çift 4, e) Gönüllü Çift 5, f) Gönüllü Çift 6, g) Gönüllü Çift 7, h) Gönüllü Çift 8, i) Gönüllü Çift 9, j) Gönüllü Çift 10, k) Gönüllü Çift 11, l) Gönüllü Çift 12'nin STR Analiz Değerlendirme Formlarıdır (devamı)

STR Analiz Değerlendirme Formlarına göre Tablo 6.1'de elde edilen sonuçlar gösterilmektedir.

Tablo 6.1 Örneklere ait STR profil sınıflandırma sonuçları

Numune Grupları	Tam Tek Profil	Kısmi Tek Profil	Düşük Seviye DNA Karışımı	Yüksek Seviye DNA Karışımı
Referans Örnek Erkek	12	-	-	-
Referans Örnek Kadın	12	-	-	-
Tırnak Kırpıntısı	3	-	2	7
Normal Svap	6	3	1	1
İnce Kürdan Svap	9	1	1	1

Bu sonuçlara göre üç farklı yöntemden tırnak kırpıntısı %58,3 (n:7) oranında 'Yüksek Seviye DNA Karışımı' sonucu verirken sadece %25 (n:3) oranında 'Tam Tek Profil' eldesi sağlamıştır. Erkeğe ait STR profili eldesinde üç farklı yöntemden tırnak kırpıntısının başarılı sonuçlar sağladığı söylenilemez. Bununla birlikte örneklerin büyük çoğunluğunda erkeğe ait DNA beklendiği üzere kadın DNA'sı ile karışım halinde elde edilmiştir.

Normal svap %50 (n:6) oranında 'Tam Tek Profil' sonucu vererek başarılı sayılabilecek bir yöntemdir. Fakat ince kürdan svapın bu noktada çok daha etkili sonuçlar verdiği görülmektedir.

Bu tez çalışmasında erkeğe ait STR profili eldesi noktasında 'Tam Tek Profil' sınıflandırması en doğru sonucu vermekle birlikte bu konuda üç farklı örnek toplama yönteminden ince kürdan svap %75 (n:9) oranla 'Tam Tek Profil' eldesi sağlayarak en verimli yöntem olarak göze çarpmaktadır.

7
SONUÇ VE ÖNERİLER

Adli DNA analizleri, gerek dayandığı bilimsel temeller ile ölçülebilir nicel sonuçlara ulaştırabiliyor olması gerekse doğrudan kişiler ile ilişkilendirilebilmesi nedeni ile adli bilimler alanında altın standart olarak sınıflandırılan bilim dallarındandır. Bu sebeple adli kolluk güçlerinin ve adli yargı makamlarının suç olaylarının çözümünde - deliller uygun toplandı ise mutlaka kullandıkları bir araçtır.

Olay yerinden ya da kurbanların üzerinden toplanan deliller çoğu zaman birden fazla kişinin DNA'sını içeren karışım örneklerinden oluşur. Karışım örnekler, bazen mağdur ile birlikte olayın failine ait olabileceği gibi birden fazla kişinin olaya dahil olabileceği olasılığını da düşündürür. Bu durumda katılımcıların profillerinin doğru bir şekilde analiz edilebilmesi ve katılımcıların olaya dahil olma olasılıklarının doğru bir şekilde tahmin edilebilmesi çok önemlidir [43,44]. Önceki bölümlerde anlatıldığı üzere karışım örneklerinin analizinde ve yorumlanmasında bazı sorunlar bulunmaktadır. Adli bir olguda suçluyu bulmaya yönelik toplanan delillerden biri de tırnak ve tırnak altındaki materyallerdir. Bu tür örnekler de çoğu zaman mağdurun DNA'sı ile birlikte karışım halinde bulunur. Bununla birlikte bu örneklerin toplanmasından suçlu kimliklendirmesine giden süreçte henüz standart bir prosedür oluşturulamamıştır. Mesela tırnak örneğinin direkt kendisinden mi yoksa tırnak altından alınan sürüntü örneklerinden mi DNA analizi yapılacağı konusu belirsizdir. Şayet tırnak altından sürüntü örneği alınacaksa bu nemli bir svap yardımıyla mı, kuru bir svap yardımıyla mı yapılmalıdır? Tırnak örnekleri veya tırnak altlarından alınan sürüntü örnekleri ayrı ayrı mı çalışılmalıdır, aynı elden alınan örnekler birleştirilmeli midir? Bunların yanında tırnak örneklerinin saklanması ve transferi ile ilgili olarak da adli laboratuvarlar arasında standart ve rutin bir uygulama söz konusu değildir. Maalesef bu konuda literatürde de çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma kapsamında üç farklı prosedürle tırnak altı materyalinden DNA delilleri toplanarak otozomal STR analizi yöntemi ile bu toplama prosedürleri arasındaki etkinlik karşılaştırılmıştır.

Toplanan örneklerden DNA izolasyonu QIAamp® DNA İnvestigator Kiti (QIAGEN) ile gerçekleştirilip DNA miktar tayini yapılmıştır. 1 ng DNA ile AmpFISTR Identifiler Plus PZR Amplifikasyon kiti (Applied Biosystems) kullanılarak örnekler amplifiye edilmiştir. Amplifikasyon ürünleri, bir ABI PRISM1 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystems) üzerinde kılcal elektroforeze tabi tutulmuştur. Elde edilen profiller her çift için hazırlanan STR Analiz Değerlendirme Formu doldurularak analiz edildikten sonra materyal yöntem kısmında belirtilen sınıflandırmaya göre formdaki sonuç kısmına not edilmiştir.

DNA miktar tayini sonuçlarına göre ortalama örnek miktarları erkeklerden alınan bukkal svaplar (referans örnekler) için 9.42 ng/ µl, kadınlardan alınan bukkal svaplar (referans örnekler) için 8,65 ng/ µl, tırnak kırpıntısı için 7.9 ng/ µl, ticari svap için ng/ µl, son olarak ince kürdan svap için 5.6 ng/ µl'dir. Bu sonuçlara göre; tırnak altı materyalinden elde edilen DNA miktarı açısından en verimli yöntem tırnak kırpıntısı olarak gözükse de burada önemli olan elde edilen DNA miktarı değil STR analiziyle elde edilen profillerde erkeğe ait profilin sorunsuz olarak ortaya konulabilmesidir.

Yapılan otozomal STR analizi ve STR profillerinin sınıflandırılmasına göre 12 çift için tırnak kırpıntılarından elde edilen profillerden 7 tanesi 'Yüksek Seviye DNA Karışımı', 2 tanesi 'Düşük Seviye DNA Karışımı' ve 3 tanesi 'Tam Tek Profil' olarak değerlendirilmiştir. Normal svaplardan elde edilen profillerden 1 tanesi 'Yüksek Seviye DNA Karışımı', 1 tanesi 'Düşük Seviye DNA Karışımı' ,3 tanesi 'Kısmi Tam Tek Profil' ve 6 tanesi 'Tam Tek Profil' olarak değerlendirilmiştir. Alınan bir örnekte ise DNA miktarı ölçülemeyecek kadar düşük olduğundan STR profili elde edilememiştir.

İnce kürdan svaplardan elde edilen profillerden 1 tanesi ‘Yüksek Seviye DNA Karışımı’, 1 tanesi ‘Düşük Seviye DNA Karışımı’, 1 tanesi ‘Kısmi Tek Profil’ ve 9 tanesi ‘Tam Tek Profil’ olarak değerlendirilmiştir.

Tırnak kırpıntıları direkt kadına ait materyaller olduklarından izolasyon ile yüksek oranda miks bir DNA elde edilmiştir. Bu STR profilleri kadına ait allellerin erkeğe ait allelleri gölgelemesiyle sonuçlanabilmektedir ve erkeğe ait profilin çıkarılmasında bazen yorumlamayı zorlaştırabilmektedir.

Bu çalışmada kullandığımız ticari svaplar (normal svap), ince kürdan svaplardan daha büyük uçlara sahip olduklarından özellikle de örnek alma aşamasında tırnağın altına biriken erkeğe ait materyalin svaba toplanması daha zor olmuştur. Her ne kadar elde edilen DNA’nın ne kadarı kadına ne kadarı erkeğe ait bilinmese de bu sonuç genel itibarı ile hesaplanan ortalama DNA miktarlarına bakılarak da görülebilir.

Çalışmanın DNA izolasyon aşamasında ince kürdan svaplardan kırılan kürdan parçaları ve çözünen pamuk parçaları nedeniyle zaman zaman kullanılan kitin kolonları tıkanmıştır. Bu durum DNA izolasyon aşamasında birtakım zorluklara neden olmuştur. Bu noktada kendi ürettiğimiz ince kürdan svaplar kadar ince uçlu ticari svaplar kullanılsaydı daha verimli performans elde edilebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada üç farklı tırnak altı materyali toplama prosedüründen erkeğe ait profilin çıkarılması noktasında (tam tek profil eldesinde) en verimli yöntemin ince uçlu pamuk kürdan svaplar svaplar olduğunu söyleyebiliriz. Tırnak altı materyalinden faili bulmaya yönelik rutin çalışmalarda sık kullanılan normal boyutlardaki svapların yerine belli bir standartta üretilmiş ince uçlu svapların tercih edilmesinin, delillerin değerlendirilebilme potansiyelini arttırabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKÇA

[1] Budowle B., Bieber F.R., Eisenberg A.J. (2005). Forensic Aspects of Mass Disasters: Strategic Considerations for DNA-Based Human İdentification. Leg. Med., 7(4): 230–243.

[2] Børsting C, Fordyce SL, Olofsson J, Mogensen HS, Morling N. Evaluation of the Ion Torrent™ HID SNP 169-Plex: A SNP Typing Assay Developed for Human İdentification by Second Generation Sequencing. Forensic Sci Int Genet 2014;12:144-54.Dellamonica P., Cefuroxime axetil, International J Antimicrobial Agents, 1994; 4:1:23-36.

[3] Kalemoğlu M. Acil Serviste Hekim Sorumluluğu. Türkiye Klinikleri J Med Sc 2005, 25: 824-8.

[4] James SH. (2005) Principles of Bloodstain Pattern Analysis, p: 1, 295 CRC Press, New York.

[5] Brinkmann, B. (1992). The use of STR_s in stain analysis. In: Prooceedings from the Third International Symposium on Human Identification. Promega Corporation, Madison, USA. 132: 357-73.

[6] Alford, R.L, Hammond, H.A, Coto, I., Caskey, C.T. (1994). Rapid and Efficient Resolution of Parantage by Amplification of Short Tandem Repeats. Am. J. Hum. Genet. 55: 190-195.

[7] Budowle B., van Daal A. (2008) Forensically Relevant SNP Classes. Biotechniques, 44(5) 603610.

[8] DOĞAN, M., ERCAN, Ö. B., & TÜFEK, G. F. (2020). Tırnak Altı DNA Materyalinin Adli Genetik Açısından Önemi ve Farklı Çalışma Metotlarının Karşılaştırılması. Turkiye Klinikleri J Foren Sci Leg Med, 17(2), 162-6.

[9] Nurit, B., Anat, G., Michal, S., Lilach, F., & Maya, F. (2011). Evaluating the Prevalence of DNA Mixtures Found in Fingernail Samples from Victims and Suspects in Homicide Cases. Forensic science international: genetics, 5(5), 532-537

[10] Hebda, L. M., Doran, A. E., & Foran, D. R. (2014). Collecting and Analyzing DNA Evidence from Fingernails: A Comparative Study. Journal of forensic sciences, 59(5), 1343-1350.

[11] Semizoğlu,İ.(2013).Adli DNA Analizleri.Adalet Yayınevi.Ankara.

[12] Duncan GT., Tracey ML. Serology and DNA Typing. In “Introduction to Forensic Sciences” Ed. Eckert WG. CRC Press. New York. 1992; p. 233–294.)

[13] Witkowski JA. Milestones in The Development of DNA Technology. In "Forensic DNA Technology" Ed. Farley MA and Harrington JJ. Lewis Publishers. 1991; p. 10–17.]

[14] Sensabaugh GF., Beroldingen CV. The Polymerase Chain Reaction: An Application to The Analysis of Biological Evidence. In "Forensic DNA Technology" Ed. Farley MA and Harrington JJ. Lewis Publishers. 1991; p. 66–78.].

[15] Dowlman Ea, Martin NC, foy MJ, Lochner T, Neocleous T. The Prevalence of Mixed DNA Profiles on Fingernail Svaps. sci Justice.2010;50(2):64-71.]

[16] Cook, O., & Dixon, L. (2007). The Prevalence of Mixed DNA Profiles in Fingernail Samples Taken from İndividuals in the General Population. Forensic Science International: Genetics, 1(1), 62-68.

[17] Harbison, S. A., Petricevic, S. F., & Vintiner, S. K. (2003, January). The Persistence of DNA Under Fingernails Following Submersion in Water. In International Congress Series (Vol. 1239, pp. 809-813). Elsevier.

[18] Foran, D., Lisa Hebda, M. S., & Doran, A. Document Title: Trace DNA from Fingernails: Increasing the Success Rate of Widely Collected Forensic Evidence.

[19] Malsom, S., Flanagan, N., McAlister, C., & Dixon, L. (2009). The Prevalence of Mixed DNA Profiles in Fingernail Samples Taken from Couples who Co-Habit Using Autosomal and Y-Strs. Forensic Science International: Genetics, 3(2), 57-62.

[20] Bozzo, W. R., Colussi, A. G., Ortíz, M. I., Laborde, L., Pilili, J. P., Carini, G., & Lojo, M. M. (2015). Analysis of DNA from Fingernail Samples in Criminal Cases. Forensic Science International: Genetics Supplement Series, 5, e601-e602.

[21] Başaran N. Tıbbi Genetik. Nobel ve Tıp yayınevi. 1999; p. 59–76.].

[22] Akar N. Klinik Moleküler Patoloji'ye Giriş. Antıp AŞ Yayınları. Ankara, 1999; s. 262].

[23] Kahn R. An Introduction to DNA Structure and Genome Organization. In "Forensic DNA Technology" Ed. Farley MA and Harrington JJ. Lewis Publishers. 1991; p. 25–38.].

[24] Özçelik T. DNA Polimorfizmi ve Tıbbi Önemi. Hacettepe Tıp Dergisi. 1996;27(1):72–76.].

[25] Esen Melez,İ. (2013) Kan lekesi üzerinden adli geetiğe giriş: olay yerinden laboratuvara. İstanbul :Nobel Tıp Kitabevi]

[26] Wyner, N., Barash, M., & McNevin, D. (2020). Forensic Autosomal Short Tandem Repeats and Their Potential Association With Phenotype. Frontiers in genetics, 11, 884.

[27] Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., ... & Proctor, M. J. (2001). Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome.

[28] Akbar, H. (2018). Kısa Ardışık Tekrar Bölgelerinin ("Short Tandem Repeats"-STR) Analizi Doku Karışıklığına Çözüm Olabilir Mi ve Aynı Hastada Non-Neoplastik ve Neoplastik Bölgeler Arası STR Profilinin Karşılaştırılması?–Ön Çalışma.

[29] Semizoğlu,İ.(2016). Adli DNA Analizlerinde Kullanılmak Üzere Multipleks STR Kiti Oluşturulması. (Doktora Tezi).Hacettepe Üniversitesi,Ankara.

[30] Gupta, N. (2019). DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction. Journal of cytology, 36(2).]

[31] Butler JM. Forensic DNA Typing.Burlington(USA):Elsevier Academic Press;2005.

[32] Theaker, J. (2011). Polymerase Chain Reaction. Biomedical Scientist, 55(6), 388.]

[33] Ekmekçi,A.(2021) Tıbbi Biyoloji ve Genetik.Ankara: Gazi Kitabevi]

[34] ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer User Guide, Applied Biosystems, Copyright 2001, 2010.]

[35] Butler, J. M. (2014). Advanced Topics in Forensic DNA Typing: İnterpretation. Academic Press.

[36] Zorlu,T.(2015).Karışmış Örneklerde STR Analizinin LR (Likelihood Ratio) Kullanılarak Yorumlanması.(Doktora Tezi).İstanbul Üniversitesi,İstanbul.

[37] Crouse, C. A., Rogers, S., Amiott, E., Gibson, S., & Masibay, A. (1999). Analysis and İnterpretation of Short Tandem Repeat Microvariants and Three-Banded Allele Patterns Using Multiple Allele Detection Systems. Journal of Forensic Science, 44(1), 87-94.

[38] ZORLU, T., BÜLBÜL, Ö., & FİLOĞLU TÜFEK, G. Ö. N. Ü. L. (2019). Karışım DNA Örneklerinde STR Analizi ve Yorumlanması. Türkiye Klinikleri Adli Tıp ve Adli Bilimler Dergisi, 16(2), 104-119.

[39] Gill P., Brenner C.H., Buckleton J.S., Carracedo A., Krawczak M., Mayr W.R., Morling N, Prinz M., Schneider P.M., Weir B.S. (2006). DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): Recommendations on the İnterpretation of Mixtures. Forensic Sci Int, 160: 90- 101.

[40] Butler, J. M., Shen, Y., & McCord, B. R. (2003). The Development of Reduced Size STR Amplicons as Tools for Analysis of Degraded DNA. Journal of forensic sciences, 48(5), 1054-1064.

[41] Bright, J.A., Turkington, J., Buckleton, J. (2010). Examination of the Variability in Mixed DNA Profile Parameters for the Identifiler Multiplex. Forensic Sci Int Genet. 4:111–4.

[42] Al-Soud ve Radstrom 2001, Bourke ve ark 1999, Comey ve ark. 1994). Al-Soud, W. A., & Rådström, P. (2001). Purification and Characterization of PZR-İnhibitory Components in Blood Cells. Journal of clinical microbiology, 39(2), 485-493.

[43] Morling, N., Allen, R.W., Carrecedo, A., Geada, H., Guidet, F., Hallenberg, C., Martin, W., Mayr, W.R., Olaisen, B., Pascali, V.L., Schneider, P.M. (2002).

[44] Paternity testing commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendation on genetic investigation in paternity cases. Forensic Sci. Int. 129:148–157.)

[45] Guide, U. Qubit® dsDNA HS Assay Kits for use with the Qubit® Fluorometer (all models), 2015. Life Technologies Molecular Probes.

[46] Yükseloğlu, E. H., Özcan, Ş. Ş., & Beyhan, C. E. Y. L. A. N. (2008). Olay Yeri İncelemesi ve Türkiye'deki Uygulamalar. Polis Bilimleri Dergisi, 10(1), 61-80.

[47] James, Stuart and Nordby, Jon, (2003), Forensic Science: An İntroduction to Scientific and İnvestigative Techniques, New York: CRC Press.

[48] Akgüneş, E. (2008). Adli Kimliklendirmede VNTR İle STR Sistemlerinin Ayrım Güçlerinin Karşılaştırılması.

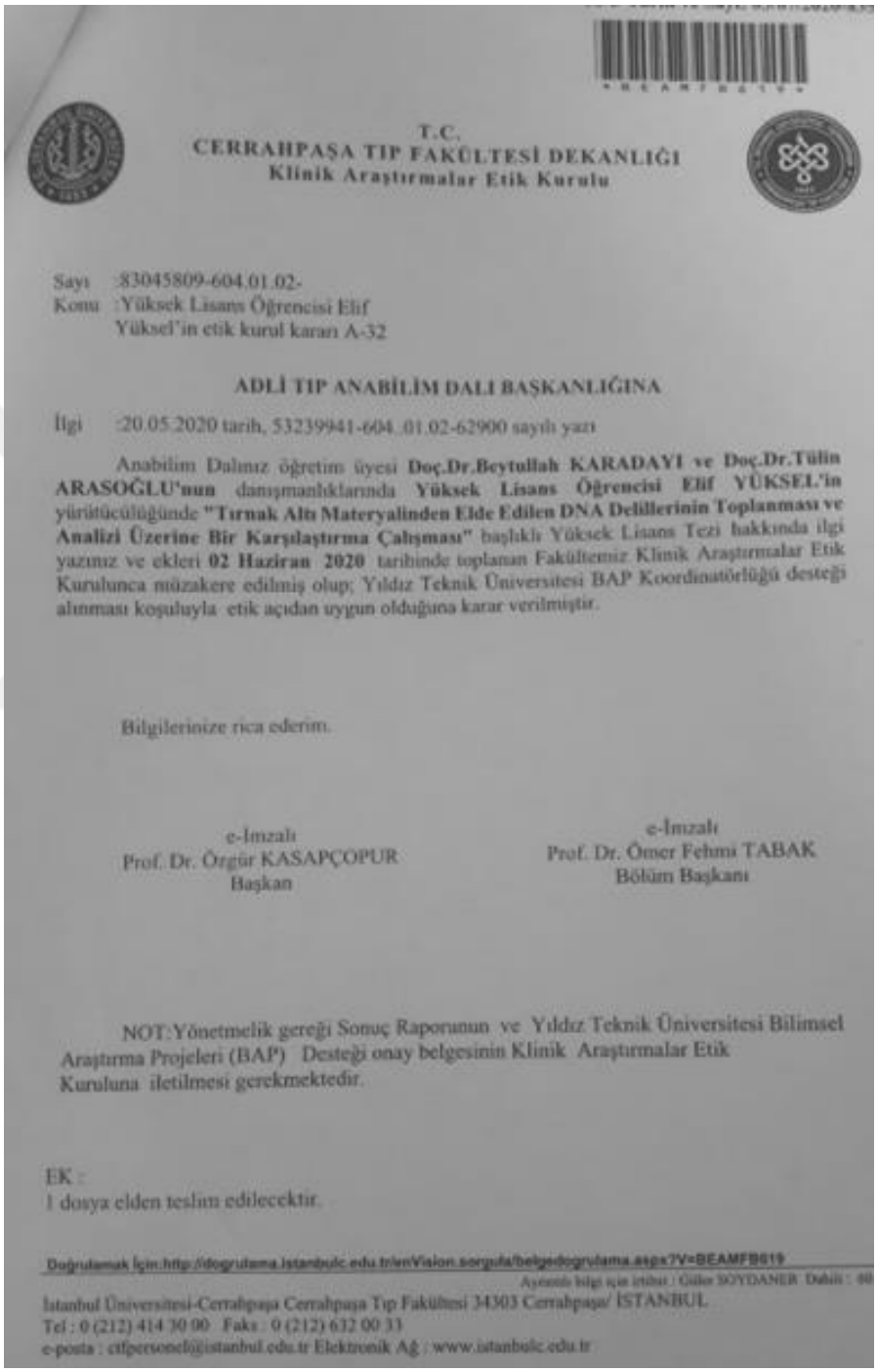
[49] Filoğlu, G. Mikrosatellit Markırlar ve Adli Bilimler. In Mathematıcs and Natural Scıences-2019/2, 161.

[50] Ay, M. Ü. (2018). 13 RM Y-STR Lokusunun Multipleks Analizi Ve Mutasyon Oranlarının Saptanması (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

[51] ALAKOÇ, Y. D. (2010). Adli Bilimlerde DNA Analizleri. Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi, 9(2), 1-8.

A

Etik Kurul Onayı



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yüksek Lisans Öğrencisi Elif Yüksel'in etik kurul kararı A-32

ADLİ TIP ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :20.05.2020 tarih, 53239941-604.01.02-62900 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Doç.Dr.Beytullah KARADAYI ve Doç.Dr.Tülin ARASOĞLU'nun** danışmanlıklarında **Yüksek Lisans Öğrencisi Elif YÜKSEL'in** yürütücülüğünde **"Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması"** başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Haziran 2020** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Yıldız Teknik Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Ömer Fehmi TABAK
Bölüm Başkanı

NOT:Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BEAMFB619

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

B

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa ve Yıldız Teknik Üniversitesi bünyesinde gerçekleştirilecektir.

Araştırmanın amacı: Cinsel saldırılarda failin belirlenmesinde kullanılabilen tırnak altı materyallerinin 3 farklı şekilde toplanması ve DNA analizi sonuçlarının karşılaştırılması ile en verimli toplama yönteminin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Gönüllünün sorumlulukları: Örnek alımı sırasında, araştırmacıya yardımcı olmak.

Gönüllünün araştırmaya katılımı isteğe bağlıdır ve gönüllü istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın ve hiçbir hak kaybına uğramaksızın araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir.

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunmaktadır, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisi, söz konusu erişime izin vermiş olmaktadır.

İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacaktır, kamuoyuna açıklanamayacaktır; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllü veya yasal temsilcisi zamanında bilgilendirilecektir.

Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir tereddütü hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için temasa geçebileceği kişiler ile bunlara günün 24 saatinde erişebileceği telefon numaraları şöyledir:

Elif Yüksel : *

Tülin Özbek: *

Beytullah Karadayı: *

Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler şöyledir.

a) Gönüllü hasta olursa ya da,
b) Gönüllü şehir dışında yaşamaya başlarsa, katılımı sona erdirilebilir.

Gönüllünün araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre: 3 ay
Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı: 12 evli çift
Gönüllülerden elde edilecek olan biyolojik materyaller: STR DNA analizi için kullanılacaktır.

Biyolojik materyallerin analizleri yurtdışında yapılmayacaktır.

"Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen doktor tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum."

"Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum."

"[Tırnak altı materyalinden elde edilen DNA delillerinin toplanması ve analizi üzerine bir karşılaştırma çalışması] araştırması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin ;

□*Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum*
□*İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum*
□*Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum*

Gönüllünün adı soyadı
imzası tarih

Araştırmacının adı soyadı
imzası tarih

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. E.Yüksel, T.Özbek,B.Karadayı, (2021) “Tırnak Altı Materyalinden Elde Edilen DNA Delillerinin Toplanması ve Analizi Üzerine Bir Karşılaştırma Çalışması”, 4th Internatıonal Health Scıences And Innovatıon Congress, Tam Metin Bildirisi, (s. 672-680)