

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI
Danışman: Prof. Dr. Ersi Abacı Kalsoğlu

**DNA DÜZEYİNDE SOYBAĞI BELİRTİMİ YAPILAN
LABORATUARLARDA ULUSLARARASI KALİTE GÜVENCESİ**

DOKTORA TEZİ

YANI KOÇIAS
Biyolog

İstanbul - 2008

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

Proje Numarası: T-659/17032005

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü'nde doktora eğitiminin boyunca gösterdiği desteklerinden ötürü, Enstitü Müdürü Prof. Dr. İmdat Elmas'a, Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Salih Cengiz'e, tez çalışmasının danışmanı Prof. Dr. Ersi Abacı Kalsoğlu'na, izleme komitesinin diğer üyeleri Prof. Dr. Feridun Yenisey ve Prof. Dr. Sevil Atasoy'a, ayrıca Münih Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Başkanı Prof. Dr. W. Eisenmenger'e en içten teşekkürlerimi sunarım. 3 Eylül 2008.

Adli Bilimler Uzmanı
Biyolog Yani Koçias

İÇİNDEKİLER

1 GİRİŞ VE AMAÇ	7
2 GENEL BİLGİLER	11
2.1. Soybağı incelemesinde kullanılan yöntemler	13
2.1.1 Biyolojik örneklerden DNA eldesi:	14
2.1.2 İncelenecek bölgenin PCR ile çoğaltılması:	17
2.1.3 Polimorfizmin saptanması.....	17
2.1.4 Bulguların yorumlanması:.....	20
2.2 Soybağı İlişkileri ve Olasılık Hesapları	20
2.2.1 Rastlanma sıklığının hesaplanması	21
2.2.2 Çeşitli populasyon veri tabanlarının etkisi.....	25
2.2.3 Akrabaların STR profil sıklığı tahminleri üzerine etkisi	27
2.2.4 Genel uyuşma olasılığı.....	29
2.3. Kalite güvencesini sağlamaya yönelik gayretler.....	29
3 GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1 Deneylerin yapılışı	31
3.2. Çekitleme yöntemleri	32
3.2.1. QIAGEN Mini Kit ile Ağız içi Kazıntısından DNA Çekitlemesi.....	32
3.2.2. QIAGEN Mini Kit ile Kandan DNA Çekitlemesi	33
3.3. PCR YÖNTEMİ.....	33
3.3.1. PCR Karışımının Hazırlanması.....	34
3.3.2. PCR Döngü Parametreleri.....	34
3.4 Kapiler Elektrophorez Yöntemi.....	35
3.4.1. Aletin Temizlenmesi, Kurulması ve Kalibrasyonu.....	35
3.4.2. Aletin Yürütme için Hazırlanması	38
3.4.3. Örneklerin Yükleme ve Yürütme için Hazırlanması	39
3.4.4. Örneklerin Yüklenmesi ve Yürütülmesi	39
3.4.5. Analizi Tamamlanan Örneklerin Sonuçlarının Görüntülenmesi.....	40
3.5 İstatistiksel analiz	41
4 BULGULAR.....	42
4.1. Deney sonuçları.....	42
4.2. İstatistiksel değerlendirme	52
5 TARTIŞMA VE SONUÇ	54
5.1. ISO 17025 standardının soybağı analizlerine uygulanması	54
5.1.1. "4.7 Müşteriye Hizmet"	55
5.1.2. "4.7 Müşteriye Hizmet" maddesi için önerilen ek:.....	55
5.1.3. "4.8 Şikayetler" maddesi için önerilen ek:.....	56
5.1.4. "5.2 Personel" maddesi için önerilen ek	58
5.1.5. "5.3. Yerleşim ve çevre şartları" maddesi için önerilen ek.....	61
5.1.6. "5.4.2 Metotların seçilmesi" maddesi için önerilen ek	61
5.1.7. "5.4.4 Standart olmayan metotlar" maddesi için önerilen ek.....	63
5.1.8. "5.4.5.2 Metotların geçerli kılınması " maddesi için önerilen ek.....	64
5.1.9. "5.4.5.3 Metotların geçerli kılınması " maddesi için önerilen ek.....	65
5.1.10 "5.4.6.2 Ölçme belirsizliğinin tayini " maddesi için önerilen ek	66
5.1.11. "5.4.7.2 Verilerin kontrolü" maddesi için önerilen ek	67
5.1.12. "5.5.1. maddesi için önerilen ek:.....	68

5.1.13. “5.6.3.4 maddesi için önerilen ek:”	69
5.2. Soybağı analizleri için örnek alma.....	69
5.2.1. “5.7.1 maddesi için önerilen ek:”	70
5.2.2. “5.8.1 maddesi için önerilen ek:”	71
5.2.3. “5.9 maddesi için önerilen ek:”	74
5.2.4. “5.10. maddesi için önerilen ek:”	74
5.3. Biyolojik babaya ulaşılama durumunda dolaylı soybağı analizi.....	74
6 ÖZET	77
7 SUMMARY	78
8 KAYNAKLAR	79
9 ÖZGEÇMİŞ	90
10 EKLER.....	91
Yargıtay Hukuk Genel Kurulu Kararı.....	91
İstatistik hesaplarda kullanılan sıklıklar.....	93
Rıza formu	100

KISALTMALAR

ASCLD	American Society of Crime Laboratory Directors Amerika Kriminal Laboratuar Yöneticileri Derneği.
DNA	Dezoksiribonukleik asit
EDNAP	European DNA Profiling Group Avrupa DNA Profilleme Grubu
ENFSI	European Network of Forensic Science Institutes Avrupa Adli Bilimler Ağı
FBI	Federal Bureau of Investigation Federal Soruşturma Bürosu
IEC	International Electrotechnical Commission Uluslararası Elektroteknik Komisyonu
Interpol	International Criminal Police Organization Uluslar Arası Polis Birliği
ISO	International Organization for Standardization Uluslararası Standardizasyon Örgütü
NRC	The National Research Council ABD Ulusal Araştırma Merkezi
PCR	Polymerase Chain Reaction Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism Restriksiyon Parçaları Uzunluk Polimorfizmi
STR	Short Tandem Repeats Kısa Ardışık Tekrarlar
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlanan Diziler

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Dezoksiribonukleik asit (DNA), bilinen tüm canlı organizmaların ve bazı virüslerin gelişim ve işlevi için gerekli genetik bilgiyi içeren bir nükleik asittir. Adli bilimlerde sadece bu molekülün analiziyle, aynı türün bireyleri arasında bir fark olup olmadığını belirleyen tekniğe DNA analizi, DNA tiplemesi, DNA profillemesi ya da genetik parmak izi denir (Bieber F.R. 2001).

DNA analizlerinin ceza ve hukuk davalarının karara bağlanmasına katkısı artık tartışılmaz bir gerçektir. Dünyanın hemen her ülkesinin kriminal laboratuvarlarında gerçekleştirilen DNA analizleri sayesinde olay yerinde ya da bir suç aleti üzerinde bırakılan biyolojik delilin DNA analizi ile failin kimliği belirlenmektedir (Cóllica M. V. ve ark. 2004).

Olay yeri inceleme uzmanlarının topladıkları deliller arasında saç, kan, semen, tükürük, deri döküntüsü ve kemik gibi değişik biyolojik kalıntılar, kimlikleme amaçlı DNA analizlerinde yaygın biçimde kullanılırlar (Whittall H. 2008)

Öte yandan mağdurun zanlı ile ya da zanlıya ait eşyalarla temas ettiğini delillendirmek, mağdurun zanlıya ait bir mekânda örneğin evi ya da otomobilinde bulunduğunu kanıtlamak, kimi zaman suçun aydınlatılmasında vazgeçilmez bir unsurdur. Bu tür ilişkilerin ortaya çıkartılmasında yararlanılan başlıca yöntem yine DNA analizleridir (Sensabough G. ve ark. 1999).

Ceza davalarında adli amaçlı DNA analizlerinin bir diğer uygulama alanı babalık ya da akrabalık gibi soy bağı belirtimidir. Örneğin, bir çöp tenekesinde bulunan yeni doğmuş bebeğin ya da düşük/kürtaj materyalinin DNA analizi sayesinde annenin ve biyolojik babanın belirlenmesi mümkün olur (Wenk R.E. 1996, Serra A. 2008).

DNA analizleri, başkaca hiçbir kimliklendirme olanağının bulunmadığı durumlarda, cinayet mağdurlarının kim olduklarının anlaşılmasında, değişik yerlerde bulunan beden parçalarının birleştirilmesinde de işe yarar. Bir otomobilin tamponundaki doku parçasından yola çıkarak kimliklendirme yapılması gerektiğinde ve olası mağdura bir nedenle ulaşılması mümkün olmadığında, mağdurun ebeveynlerinin genetik özellikleri kullanılarak dolaylı olarak kimlik tespiti yapılabilmektedir (Schneider P.M. 2007).

Nitekim 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunumuz'un 78. maddesi "... elde edilen örnekler üzerinde, soybağının veya elde edilen bulgunun şüpheli ya da sanığa ya da mağdura ait olup olmadığının tespiti için zorunlu olması halinde moleküler genetik incelemeler yapılabilir" demekte, ayrıca 2. fıkrasında bu incelemelerin, bulunan ve kime ait olduğu tespit edilemeyen beden parçaları üzerinde de yapılabilmesine imkan sağlamaktadır. (Kunter N. ve ark. 2008)

Bir çocuğun soybağını değiştiren veya gizleyen kişiye yada sağlık kurumundaki bir çocuğun başka bir çocukla karışmasına neden olan kişiye verilecek cezayı düzenleyen 5237 sayılı Türk Ceza Kanunu'nun 231. maddesinin uygulanması da, bu tür moleküler genetik analizleri bir diğer değişle DNA analizlerini gerekli kılan koşullardan sadece bir kaçıdır (Yenerer-Çakmut Ö. 2008).

DNA analizlerinin, tıpkı şiddet içeren suçların konu edildiği ceza davalarının aydınlatılmasında olduğu gibi, soybağının reddi, babalık ve her türlü kan akrabalığının önem taşıdığı hukuk davalarında, göçmenlik başvurusu, kitlesel felaketler, ya da kayıp bir kişinin gerçekten ölen olup olmadığının, aydınlatılmasında kullanılmasına da yaygın biçimde tanık olmaktadır.

Her ne kadar geleneksel serolojik analizler ya da dişlerin ve kemiklerin röntgenlerinin karşılaştırılması, ayrıca parmak izlerinin karşılaştırılması bu tip sorunların çözümüne ciddi katkılarda bulunsun da kimi zaman DNA analizleri tek seçenektir. Böylesi yaygın kullanım alanı olan DNA analizleri pek çok kez doğrudan ya da dolaylı biçimde soy bağının belirlenmesini zorunlu kılar (Varsha 2006).

Bu analizler sonucu verilen raporlar, sadece incelenen örneklerin DNA özelliklerini değil, belirli formüller kullanılarak elde edilen bir olasılık değerini de kapsar. İki laboratuvarın aynı sorunu çözmekte kullandıkları yöntem ve gereç birbirinin tıpatıp aynısı olsa da özellikle failin ya da mağdurun kimliğinin kan akrabalarının kullanılarak, dolaylı biçimde saptandığı hallerde farklı olasılık sonuçlarına ulaştıkları bir gerçektir. Bu farklılık, dolaylı tiplerede kullanılan akrabaların seçiminden kaynaklanır (Elston R.C., ve ark 1971).

Adaletin gerçekleşmesinde temel teşkil edecek bir tekniğin güvenilirliği kuşkusuz büyük önem taşır. Kimi zaman incelemelerin sadece bir kez yapılabileceği ve bir daha başkaca bir laboratuvarında tekrarlanma olasılığı bulunmadan karar verildiği göz önüne alınır, bu tür analizleri gerçekleştiren her laboratuvarın belirli bir düzeyde kalite güvencesine sahip olması beklenir. (Kızılarıslan H. 2007). Bu güvence, bazı ülkelerin ulusal düzenlemeleri ile sağlanmaya çalışılmakla birlikte, verilen bilirkişi raporunun uluslar arası düzeyde kabul görmesi için yeterli değildir (Crespillo M. ve ark. 2006).

Ceza ve hukuk davalarını karara bağlamada dayanak teşkil edecek ve soybağı incelemelerini kapsayacak DNA analizlerinin, uluslar arası kalite güvencesini sağlayacak özel bir yaptırım bulunmamaktadır. Bulguları sunulan bu tezin birbiriyle doğrudan bağlantılı iki amacı bulunmaktadır.

Bunlardan ilki, deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar adı ile bilinen TS EN ISO/IEC 17025 standardının yukarıda çerçevesi belirtilen DNA analizlerini gerçekleştirecek laboratuvarlara uygun şekilde geliştirilmesidir.

İkincisi, soybağı ilişkilerinin aydınlatılmasında kullanılan olasılık hesaplarının yapılmasında işe yarayan en uygun modeli belirlemektir. Çünkü gerek ceza gerekse hukuk davalarında kimi zaman genetik özellikleri belirlenmesi gereken kişiye bir nedenle ulaşılamaz. Bu takdirde kan akrabalarından yola çıkarak dolaylı biçimde hedef kişi kimliklendirilir. Bu kimliklendirmenin olabildiğince gerçeğe yakınlığını sağlamak üzere kan akrabaları arasında kimin ya da kimlerin seçileceği laboratuvarın tercihidir (Pretty I.A. ve Hildebrand D.P. 2005)

Bu çalışmada, birbiri ile akrabalık ilişkilerinin niteliği bilinen ve her biri en az 5 kişiden oluşan aile kümelerinin DNA analizleri yapılarak, dolaylı tiplemede kullanılmak üzere seçilecek en uygun kişi/lerin saptanması hedeflenmiştir.

Böylelikle DNA düzeyinde soybağı belirtimi yapılan laboratuvarlarda uluslar arası kalite güvencesini sağlayacak geniş kapsamlı yeni bir standardın yanı sıra, sıklıkla başvurulan ve dolaylı kimliklendirme nin istatistik hesaplarında kullanılmak üzere seçilen kişilerin farklı olması nedeni ile raporlar arasında ortaya çıkan çelişkiler giderilmeye çalışılmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

Soybağı terimi 17.2.1926 tarih ve 743 sayılı Eski Medeni Kanunumuzda yer alan "nesep" yerine 22.11.2001 tarih ve 4721 sayılı Yeni Medeni Kanunumuzda kullanılarak hukuk diline kazandırılmış yeni bir terim olmakla beraber, biri geniş diğeri dar olmak üzere iki farklı anlamda kullanılmaktadır.

Geniş anlamda soybağı, bir kimse ile onun altsoyu ve üstsoyu (usul-füru) arasındaki hısımlığı ifade etmektedir. Örneğin, bir çocuk ile ana ve babası, büyük ana ve büyük babaları arasında biyolojik ve doğal bir bağlantı, bir başka deyişle geniş anlamı ile bir soybağı vardır. Dar anlamda soybağı ise, çocuğun kendisini dünyaya getiren ana ve babası ile arasındaki doğal ve hukuki bağlantıyı ifade eder ki, Medeni Kanunumuzun Aile Hukuku kitabında düzenlenmiş olan soybağı ile ifade edilmek istenen esasında dar anlamda soybağıdır (MK. m. 282 vd.). (Arsebük E. 1940, Saymen F.H. ve Elbir H.K. 1960, Velidedeoğlu H.V. 1965, Gençcan Ö.U. 2002).

Soybağının Çeşitleri

Doğal Soybağı

Bir kişi (çocuk) ile kendilerinden biyolojik-genetik olarak türediği kişiler arasındaki doğal bağa, **doğal soybağı** (tabii nesep) denmektedir. Doğal soybağı, doğumla birlikte kendiliğinden doğar. Bir başka deyişle, hukukumuzda kural olarak çocuk ile ana ve babası arasındaki soybağı genetik kökene ve biyolojik türemeye dayanır. Ancak, ana-baba terimi sadece çocuğun biyolojik olarak türediği kişileri; bir başka deyişle aralarında doğal soybağı (biyolojik ve genetik) soybağı olan kişileri ifade etmek için kullanılmaz.

Örnek olarak, başka bir erkekten olan çocuğun soybağını reddetmeyen koca ile başka kişilerin çocuğunu evlat edinen kişiler ile çocuk arasında doğal (biyolojik ve genetik) bir soybağı değil, ancak hukuki bir soybağı oluşmaktadır. Bu gibi

durumlarda, hukuk düzeninin bu tür ana-babalıktan yani doğal (biyolojik-genetik) ana-babalık ile hukuki ana-babalıktan hangisine üstünlük tanıyacağına karar vermek zorunluluğu ortaya çıkmaktadır.

Hukuki Soybağı

Hukuki soybağı da, hukuksal düzen tarafından aranan koşulların gerçekleşmesi ile birlikte bir çocuğun hukuki olarak bir ana-babaya bağlanması sonucunda ana-baba ile çocuk arasında kurulan soybağı olarak tarif edilebilir.

Mevcut hukuk düzenimizde doğal (biyolojik-genetik) soybağı ile hukuki soybağı genellikle örtüşür. Örneğin, çocuk ile ana arasındaki soybağı doğumla kurulur (MK. m. 82/ f.1). Bu ifadeye paralel olarak diyebiliriz ki, bir çocuğun annesi doğum olgusuna göre her zaman bellidir. Zira kanunkoyucu da, ister evlilik içinde isterse evlilik dışında doğmuş olsun, bir çocuk ile annesi arasında doğum ile birlikte soybağı kurulacağı hususunda hukuk kuralı ortaya koymuştur. Yani çocuğu doğuran kadın, anneliğini inkar edemez. Nitekim pozitif hukukumuzda da çocuğu doğuran kadına veya çocuğa analığı reddetmek için herhangi bir analığın reddi davası açma olanağı tanınmamıştır.

Sonuç olarak, - evlat edinme, yapay dölleme ve kiralık (taşıyıcı) annelik ile ilgili tartışmalar bir kenara bırakılacak olursa- anne bakımından, doğal (biyolojik-genetik) soybağı ile hukuki soybağı her zaman örtüşür. Bir başka deyişle, hukuk düzenimizin anne bakımından soybağının kurulmasında aradığı tek şart; doğum olgusudur.

Babanın belirlenmesi açısından ise kanunkoyucu aksi ispat edilebilir bir karine ortaya koymuştur. Zira babalık olgusunun saptanması analığa nazaran daha zor olduğu için baba ile çocuk arasında soybağının kurulması anne ile çocuk arasında soybağının kurulması kadar basit değildir. (Kırkbeşoğlu N. 2006). Günümüzde bu ilişkinin kurulmasında başvurulan yöntemlerin başında, moleküler genetik analizler gelir. (Yargıtay Hukuk Genel Kurulu E.N.1994 / 671, K. 1995/162 Tarih: 08/03/1995)

2.1. Soybağı incelemesinde DNA temelinde kullanılan yöntemler

DNA molekülünün polimorfik özelliği bir başka deyişle tek yumurta ikizleri dışında DNA molekülünü oluşturan baz dizinleri birbirinin aynı olan iki kişinin bulunmaması bu molekülün kimliklendirmede kullanılabilmesine temel oluşturur.

DNA baz dizileri arasındaki farklılığın ortaya çıkartılmasında, başlangıçta VNTR (Variable Number of Tandem Repeat Polymorphism – değişken sayıda ardışık tekrarlanan diziler) adıyla bilinen teknik kullanılmıştır. 1985’ te Alec Jeffreys’in DNA üzerindeki VNTR bölgelerinin kişiden kişiye büyük farklılıklar gösterdiğini yayınlaması ile birlikte uygulama alanı bulan bu teknik hızla yerini daha kolay ve daha duyarlı olan RFLP (Restriction fragment length polymorphism) yöntemine bırakmıştır (Jeffreys A.J. 2004, Bing D.H. 2001, Kenefic L.J. 2008).

1983’te Kary Banks Mullis’in belirli bir DNA bölgesini milyonlarca kez çoğaltmaya yarayan ve bu sayede ona 1993 Nobel Kimya ödülünü kazandıracak olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu’nu bulması ile birlikte DNA analizleri bir tek saç telinden dahi kimliklendirme yapılmasını sağlayan duyarlılığa ulaşmıştır (Butler J.M. 2007).

Günümüzde, ister ceza ister hukuk davalarında delil teşkil etmek üzere gerçekleştirilen DNA analizleri, ülkeler arası veri paylaşımını, ayrıca aynı kişilerce işlenen ancak failin bilinmediği suçların birbirleri ile ilişkilendirilebilmesini sağlamak üzere DNA üzerindeki belirli bazı bölgelerin polimorfik özelliklerinin incelenmesi şeklinde yapılır. Hangi bölgelerin inceleneceğine dair herhangi bir yasal yaptırım bulunmamakla birlikte, güvenlik birimlerinin kriminal laboratuvarları, Uluslar Arası Polis Birliği (Interpol), Avrupa Adli Bilimler Ağı (ENFSI) gibi uluslar arası meslek örgütlerinin tavsiyelerine bağlı kalmaktadır (Niewoehner L. ve ark. 2008, Malkoc E. ve ark. 2007).

Hangi bölge incelenecek olursa olsun DNA analizleri başlıca 4 aşamada gerçekleştirilir

- 1- İncelenecek örnekten DNA eldesi
- 2- İncelenecek bölgenin PCR ile çoğaltılması
- 3- Polimorfizmin saptanması
- 4- Bulguların yorumlanması

Aşağıda her bir aşamanın temel prensibi ve işlemler sırasında karşılaşılabilecek sorunlar sunulmaktadır.

2.1.1 Biyolojik örneklerden DNA eldesi:

Herhangi bir laboratuarda DNA analizlerinin ilk basamağını, incelenen biyolojik örnek ile mağdura ve şüphelilere ait olduğu bilinen örneklerden DNA eldesidir. Elde edilecek sonuçların kalitesi diğer her türlü biyolojik analizde olduğu gibi, incelemeye alınan örneğin kalitesine bağlıdır. Bu nedenle gereksiz parçalanma ve kontaminasyona yol açmamak için örneklerin toplanması ve korunmasına özen gösterilir (Sambrook ve Russell 2001).

İncelenen biyolojik örneğin niteliğine bağlı olarak değişmekle birlikte, hücre çekirdeğindeki genomik DNA'nın eldesi oldukça kolaydır ve bu işlem sonucunda olabildiğince daha yüksek verimde ve daha saf DNA elde edilmesi hedeflenir (Glasel J. 1995). Bu aşamada karşılaşılabilecek en temel sorun, incelenen örneğin iki ya da daha fazla kişiye ait örneklerin bir karışımı olmasıdır ki, böylesi bir olasılıkta kullanılacak aşamalı çekitleme de mevcuttur.

Yüksek bir verimin elde edilip edilmediği genellikle agaroz jel elektroforezi yapılarak kontrol edilir. Bu sırada bilinen miktarlarda ve bilinen büyüklükte DNA parçacıkları örneklerle birlikte agaroz jel elektroforezine tabi tutulur, ardından hepsi görünür hale getirilir.

Biyolojik örneklerden DNA eldesi prensipte hücre zarının parçalanması, zar lipidlerinin uzaklaştırılması ve DNA'nın etanol ya da izopropanol gibi bir alkolle çöktürülmesinden ibaret olmakla birlikte, DNA'nın DNaz enzimleri tarafından

parçalanmasını engellemek üzere bu enzimlerin çalışmasına gerekli olan magnezyum Mg^{2+} ve kalsiyum Ca^{2+} gibi 2 değerli katyonların kelatlaştırılması (bağlanması) tercih edilir.

DNA'ya bağlı hücrel ve histon proteinleri, DNA çöktürülmeden önce ortama bir proteaz ekleyerek, sodyum ya da amonyum asetatla çöktürülerek ya da fenol kloroform karışımı ile çekitlenerek uzaklaştırılabilirler.

Böylelikle elde edilen DNA'nın saflığı, 260 nm ve 280 nm dalga boyundaki emiliminin (abzorbans) yoğunluğu ölçülerek belirlenebilir. DNA 260 nm mor ötesi ışığı abzorbladığı halde proteinler sadece 280 nm uv ışığı absorplarlar. Saf ve protein kontaminasyonu olabildiğince uzaklaştırılmış bir DNA örneğinin 260/280 oranı 1.8 dir (Sambrok ve Russell 2001).

Bu değer altındaki bir oran DNA'nın proteinle kontamine olduğunu gösterir.

Buna ek olarak DNA'nın miktar belirtiminin yapılabilmesi için, DNA önce bir restriksiyon enzimi ile kesilir, ardından agaroz jelde yürütülür, etidyum bromür ya da bir başka boya ile görünürleştirilir ve derişimi bilinen DNA markerlerin renk yoğunluğu ile karşılaştırması yapılır (Beltran S. 2008).

Fenol kloroform çekitleme yöntemi polimeraz zincir reaksiyonu inhibitörlerini ortamdaki uzaklaştırmada yararlı olmakla birlikte DNA verimi düşüktür.

Fenol kloroform ekstraksiyon metodunun yerini son yıllarda bir kelatlaştırıcı reçine olan Chelex 100 almıştır.

Chelex 100 her ne kadar fazla miktarda DNA eldesine olanak sağlarsa da bu kez PCR inhibitörlerini tamamen uzaklaştırmada yetersiz kalır (Walsh P.S. 1991).

Çok sayıda araştırmacı silika membrana dayalı (QIAamp DNA Mini Kit) çekitleme yönteminin bazı biyolojik örneklerde Chelex 100'den daha üstün olduğunu ileri sürmektedir (Fimmers R. 1992).

Pulların arkasından ve zarfların yapıştırma yerinden DNA elde etmek gibi başarı düzeyi düşük olgularda, QIAamp™ (Qiagen) çekitlemesinin QIAshredder™ (Qiagen) kolonlar kullanılarak geliştirilebileceği kayıtlıdır (Greenspoon S.A. ve ark. 1998, Sinclair K. ve ark. 2004).

Castella ve arkadaşları, QIAshredder ve QIAamp'ı birlikte kullanarak swapla alınmış kan ve tükürük, kas dolusu, sigara izmariti, giysi üzerinde epiderm hücresi ya da besinler üzerindeki tükürük gibi birbirinden çok farklı koşullardaki biyolojik örneklerden, Chelex çekitlemesine oranla daha yüksek bir DNA verimine ulaşmıştır (Castella V. ve ark. 2006).

Rutin uygulamada kriminal laboratuvarlar, genellikle yukarıda sıralanan aşamaları hızlı, verimli, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir kılabilmek amacı ile ticari kitlerden yararlanırlar. Yaygın olarak başvuru kitleri örneğin EPICENTRE Biotechnology firmasının ürettiği Buccal Amp™ DNA çekitleme kiti yanak içinden alınan sürüntü örneklerinden tek tüp içerisinde DNA elde edilmesini mümkün kılar (Sorensen K. J. Ve ark 2004).

Hatta aynı firmanın ürettiği Catch-All™ örnek toplama swapları kullanıldığında parmak izlerinden dahi DNA elde edilebildiği bildirilmiştir (EPICENTRE).

2.1.2 İncelenecek bölgenin PCR ile çoğaltılması:

Olay yerlerindeki biyolojik örneklerden, bunlarla karşılaştırılacak mağdur veya şüphelilerden, ya da soy bağı belirlenecek kişilerden, yeterli miktar ve saflıkta DNA elde edilmesinin ardından izlenecek uygulamalar yaklaşık son 20 yılda gelişerek önemli değişiklikler göstermiştir. Başlangıçta kullanılan VNTR polimorfizmi, DNA'nın kodlamayan bölgesinde yer alan 10-50 baz çifti uzunluğundaki parçacıkların tekrar sayısının, kişiden kişiye farklılık göstermesine dayanmaktaydı (Bär W. ve ark 1988, Lahiri D.K. ve ark. 1992, Huang Q. ve ark. 2005, Brost P. 2005, Legendre M. ve ark. 2007).

Tekrarlanan dizindeki baz çifti sayısı az olmakla birlikte bunların tekrar sayısı, kişiden kişiye çok büyük farklılıklar gösterdiğinden adli amaçlı kimliklendirmede bu tekniğin başarı ile kullanılmasının yanı sıra, genetik bilginin yarısının anneden diğer yarısının da babadan alındığı gerçeğinden hareketle, aynı teknik, soy bağı incelemelerinde de kullanılmıştır (Singer-Sam J. ve ark. 1989, Jung J.M. ve ark. 1991, Kramvis S. ve ark. 1996, Sweet D. 1996).

2.1.3 Polimorfizmin saptanması

DNA üzerindeki VNTR (Variable Number of Tandem Repeat Polymorphism – Değişken Sayıda Ardışık Tekrarlanan Diziler) polimorfizmleri saptanabilir ve çoğaltılabilirse işe yarar. Bu da ancak belirli dizinleri (allel) idantifiye etmek ve böyle bir dizini tam başladığı ve bittiği yerden kesmekle, mümkün olur. Böyle bir işlemin gerçekleştirilebilmesi için restriksiyon endonukleazları da denen restriksiyon enzimleri kullanılır. Bunlar bakteri kaynaklı doğal protein molekülleri olup, DNA çift sarmal molekülünü sadece tanıdıkları bölgelerden (lokus) kesen özel makaslar olarak düşünülebilir (Thomson J. 1998).

Örneğin TaqI restriksiyon enzimi ardı ardına gelen Timin, Sitozin, Guanin, Adenin (TCGA) dizinini gördüğü yerde DNA molekülünü keser. DNA molekülünün bu tür tanıma bölgelerinden kesilmesi sonucunda molekül farklı uzunluklarda parçacıklara ayrılır. Her bir parçacığın uzunluğu 2 tanıma bölgesi arasındaki baz çifti sayısına bağlıdır. Bu parçacıklar RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism – Restriksiyon Parçaları Uzunluk Polimorfizmi) olarak adlandırılır (Primorac D. ve ark 2000).

İlk kez 1985'te göçmenlikle ilgili bir soruyu yanıtlamak üzere kullanılan VNTR polimorfizmi tek yumurta ikizleri dışında aynı RFLP'leri olan iki kişinin bulunma ihtimalinin çok uzak olduğunu göstermiştir. Sadece İki yıl içinde bu amaçla kullanılacak seksene yakın VNTR bölgesinin bulunması, gerek ceza gerekse hukuk davalarında karşılaşılan ve o güne değin kan grubu, enzim, ve protein polimorfizmi gibi hatalı dahil etme olasılığı çok yüksek inceleme yöntemlerinin bir anda terk edilmesine neden olmuştur (Raina A. ve ark 2002).

DNA molekölü restriksyon enzimleri ile parçalara ayrıldıktan sonra bu parçaların büyüklüklerine göre tasnifi gerekir ki agaroz jel elektroforezi bu amaçla başvurulan temel yöntem olmuştur. Kısaca özetlenecek olursa parçalara ayrılmış, bir başka değişle sindirilmiş DNA, bir moleköler elek gibi davranacak olan % 1'lik agaroz jel çubuk ya da plakasının negatif elektroda yakın çukurcuklarına tatbik edilir. Jele bir elektrik akımının uygulanması ile birlikte negatif yüklü DNA parçaları pozitif elektroda doğru göç eder. Uzunlukları baz çifti birimi ile ölçülen parçacıklardan küçük olanlar jelin pozitif ucuna daha yakın bir yere kadar ilerlerler daha büyük parçacıklar ise geride kalır. Bunun sonucunda negatif elektrottan pozitive doğru, büyükten küçüğe bir sıralanma gerçekleşir. DNA parçacıklarının elektrik akımı altında ilerleyeceği uzaklık, baz çifti şeklinde ölçülen parçacık büyüklüğü ile ters orantılıdır. Bu aşamadan sonra parçacıkların çeşitli yöntemlerle görünürleştirilmesi mümkündür (Lander E.S. ve ark. 1989).

RFLP yöntemlerine paralel olarak gelişen ve adına polimeraz zincir tepkimesi (PCR) denen DNA çoğaltma tekniğinin RFLP uygulamasına oranla üstünlükleri ortaya çıkınca, bu tip analizleri yapmakla yükümlü olan laboratuvarlar, yaklaşık on yıllık bir zaman dilimi içinde bu yeni yöntemi yaygın biçimde kullanmaya başlamıştır. Türkiye'nin laboratuvarları adli amaçlı DNA analizlerine doğrudan doğruya polimeraz zincir tepkimesi (PCR) kullanarak başlamıştır. Günümüzde RFLP teknolojisine dayalı olarak çalışan hiçbir laboratuvar kalmamıştır.

PCR'ın temeli, DNA üzerindeki kısa parçacıkların seçilerek çoğaltılmasına, böylelikle kimliklendirmede kullanılacak DNA miktarının artırılmasına dayanır.

PCR çoğaltımının başlıca avantajı çok az miktarda biyolojik örneğin çalışılabilmesidir. Polimorfik VNTR tekniğinde 10 ila 50 ng, iyi kalitede yüksek moleköl ağırlıklı DNA ya ihtiyaç olduğu halde, PCR teorik olarak bir tek çekirdekli hücreden bile kimliklendirmeyi mümkün kılar (Brinkmann B. 1998).

Dökülmüş bir tek saç teli ya da sigara izmaritinin ucunda kalan kurumuş tükürükten failin bulunabilmesi ancak polimeraz zincir tepkimesi ile mümkün olmuştur. Polimeraz zincir tepkimesinin yararı sadece çok az biyolojik örnekle

kimliklendirmenin yapılabilmesi olmayıp, değişik nedenlerle çok küçük parçalara ayrılmış DNA ile dahi sonuç verebilmesidir (Budowle B. 2005, Biesecker L.G. 2005).

Öte yandan az miktardaki biyolojik örneklerin bir başka laboratuvar tarafından yeniden çalışılabilmesi, böylelikle olası adli hataların telafisi polimeraz zincir tepkimesi sayesinde mümkün olmuştur. PCR'ın bir başka avantajı, RFLP'yle karşılaştırıldığında oldukça basit olan işlemlerin hızlı bir biçimde gerçekleştirilebilmesidir. RFLP ile haftalar süren incelemeler PCR ile önce günlere, şimdilerde saatlere kadar kısalmıştır. Ayrıca PCR ile DNA milyonlarca kez çoğaltılabildiğinden, parçacıkların görünürleştirilmesinde radyoaktif yöntemlerin kullanılmasına da ihtiyaç kalmamıştır.

Esasen PCR, hücre içindeki DNA'nın replikasyonuna benzer bir prensibe dayanır. Üç aşamalı bu uygulamanın ilk adımı DNA'nın önce denatüre edilerek sarmalın açılması, böylece birbirine komplementer iki DNA iplikçığının elde edilmesidir. Denatüre DNA'ya primer adı verilen, bilinen nükleotid dizinli, küçük moleküllerin eklenmesi ve böylece DNA iplikçiklerinin komplementer dizinleri ile hibritleşmesi ikinci basamağı oluşturur. Bir primer, incelenmek istenen bölgenin hemen başlangıcındaki hedef dizinle hibritleşir. Daha sonra bir DNA polimeraz ile bu primerin hedef dizin boyunca uzaması sağlanır. Böylelikle hedef dizin primer için bir kalıp oluşturur. Ve sonuçta bu hedef dizine komplementer (tamamlayıcı) yeni bir dizin sentezlenir (Tamaki K. ve ark. 2005).

Bu yeni sentezlenmiş komplementer dizin yeniden denatüre edildiğinde bir sonraki döngü için iki kat kalıp elde edilmiş olur. Sonuçta, DNA logaritmik olarak çoğalır. 20 kadar PCR döngüsü başlangıçtaki kalıbın yaklaşık bir milyon kopyasını üretir.

PCR' a dayalı DNA analizlerinden yola çıkarak iki biyolojik örnek DNA düzeyinde farklı tekniklerle karşılaştırılabilir. Bu amaçla, günümüzde adli amaçlı laboratuvarlarda kullanılan ve hemen her zaman ticari kitlelerle uygulanan STR'lar (Short Tandem Repeats - Kısa Ardışık Tekrarlar) kullanılmaktadır (Fregeau C.S. ve ark. 1999, Leclair B. ve ark. 2005).

2.1.4 Bulguların yorumlanması:

Klinik laboratuvarlarda popülasyon içerisinde bir allele rastlanma sıklığının fazlaca bir önemi olmamakla birlikte adli laboratuvarlarda bir biyolojik örneğin kime ait olduğunun belirlenmesinde olağanüstü öneme sahiptir (Walker R.H. 1983).

İki biyolojik örnek ile şüphelinin DNA özellikleri birbirini tutmadığında, yani bir dışlama gözlemlendiğinde herhangi bir teknik hata yapılmadığı, ya da örnekler karıştırılmadığı takdirde sorun çözülmüş ve örneğin şüphelinin iddia edildiği gibi bıçağı tutan, ırza geçen yada çocuğun babası sanılan kişi olmadığına kesin olarak kanaat getirilir. Buna karşılık incelenen örnekle karşılaştırılan arasında bir uyum görülmesi, DNA molekülünün tamamının baz dizini incelenmeyip sadece belirli bölgelerin özelliklerinin karşılaştırılmasını içerdiğinden, rastlantısal benzerliğin istatistiksel olarak hesaplanmasını gerekli kılar (Li, C. 1985). Türkiye Cumhuriyeti yasaları böylesi bir benzerlikte alt sınırı % 99.73 olarak belirlemiştir. (Bkz. Ek 1. Yargıtay Hukuk Genel Kurulu Kararı 95/162 "*.....testleri mutlaka yapılmalı, baba olduğu iddia olunan kişinin % 99,73 oranından daha az ihtimalle baba olabileceği belirlenmiş ise, bu kez (DNA) tiplemesi yapılması imkanı araştırılmalı, davalının baba olamayacağı ihtimali tamamen kaldırılıp deliller hep birlikte değerlendirilerek takdir edilmelidir.*")

Her ne kadar Bayes teoremini eleştirenler olsa da çarpan kuralına dayalı sıklık hesaplaması bulguların değerlendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan istatistiksel bağlantıdır. Bu kural kullanılarak her bir genotipin, rastlanma sıklığı, birbiri ile çarpılmak sureti ile rastlantısal uyumun olasılığı hesaplanır (Elston R. 1986). Çarpan kuralının geçerliliği popülasyon genetiğinin iki prensibinin uygulanıp uygulanmamasına bağlıdır. Bunlar Hardy-Weinberg yasası ve bağlantı eşitliği (Linkage Equilibrium) a bağlıdır (Wehner H. 1971, Mickey M. 1986, Stivers D. 1997).

2.2 Soybağı İlişkileri ve Olasılık Hesapları

Bir uyuşmanın istatistiksel açıdan ne kadar güvenilir olabileceğini gösteren bir veri tabanı yokluğunda, bir eşleşmeyi kesin kanıt olarak göstermek bilimsel olarak kabul edilemez. ABD Ulusal Araştırma Merkezi (NRC), sorgulanan A delili

ile referans örnek B arasında bir uyuşma belirlendiğinde, bu uyuşmanın anlamlılığı istatistiksel yöntemlerle belirlenir. Davacı taraf, A ile B arasındaki uyuşmayı, delillerinin aynı orijinli örnekler olduğunun kanıtı olarak sunarken, savunma tarafı bu uyuşmanın tamamen tesadüfi olduğunu savunur (Chakraborty R. 1991, Fung WK ve ark 2002).

Populasyon içinden rasgele seçilmiş, olayla ilgisi olmayan bir bireyin, delil örneği ile aynı genotipe sahip olması ihtimali, gözlenen genotipin, temsil edici bir populasyon veri tabanı içerisinde görülme sıklıklarının hesaplanması ile belirlenmektedir (Elston R. 1986, Morton N. 1992).

DNA profili çok yaygın olduğunda kolayca şüphelinin olay yeri ile ilgisi rahatlıkla kurulamaz. Öte yandan DNA profili çok ender olduğunda güçlü bir şekilde şüphelinin olay yeri ile ilgisi rahatlıkla kurulur. DNA profillerinin karşılaştırılması amacı ile son yıllarda pek çok populasyon için veri tabanları oluşturulmuştur (Morris J. 1993).

2.2.1. Rastlanma sıklığının hesaplanması

DNA profili sıklıkları ilk olarak her lokus için genotip sıklıklarının belirlenmesi ve sonrasında bu sıklık değerlerinin çarpılması ile hesaplanır. Herhangi bir DNA profilinin sıklığı, DNA profilinde belirlenmiş olan alleller ile populasyon veri tabanındaki sıklık değerlerinin yardımı ile hesaplanır. Farklı büyüklükteki veya farklı allel sıklıklarına sahip veri tabanları araştırılan her lokus için değişik genotip sıklıkları dolayısı ile değişik DNA profili sıklığı verecektir. Bu yüzden kullanılan veri tabanının yeterince büyük ve DNA profilinin ait olduğu populasyonu temsil edici olması gerekmektedir (Stivers D. 1997). Söz konusu durum aşağıdaki tablolarda (I,II ve III) verilen örneklerde açıkça görülebilmektedir(Butler J.M. 2005).

Tablo I, II ve III' de üç STR lokusu için, üç farklı veri tabanının allel sıklıkları kullanılarak belirlenen DNA profili sıklıkları gösterilmektedir. Tablo I de kullanılan veri tabanı beyaz ırka ait sıklıkları içerirken, Tablo II Latin Amerikalılara ve Tablo III Türk popülasyonuna ait verileri içermektedir. (Yavuz İ. 2003, Butler J.M. 2005).

Tablolara bakıldığında incelenen DNA örneği D13S317 lokusu için 11 ve 14 (heterozigot), TH01 lokusu için 6 (homozigot) ve D18S51 lokusu için 14 ve 16 (heterozigot) olarak tiplenmiştir.

Beyaz ırkta D13S317 lokusunun 11 allelinin sıklığı $p=0.34$ olarak kaydedilmiştir. Bir başka deyişle, rastgele seçilmiş ve ilişkisiz herhangi bir kişinin D13S317 lokusunda % 34 ihtimalle 11 allele rastlanacağını varsayabiliriz. Aynı şekilde, 14 allelinin gözlemlenme şansı $q= 0.05$ olarak görülmektedir.

Tablo I

Beyaz ırkta 3 STR lokusu için, allel sıklıkları ve DNA profili sıklıkları (Butler J.M. 2005).

DNA Profili		Veritabanı Allel Sıklıkları			Lokus İçin	
Lokus	Alleler	Allelin Görülme sıklığı	Veritabanı Büyüklüğü	Sıklık	Formül	Değer
D13S317	11	205	604	$p=$ 0.34	2pq	0.03
	14	29		$q=$ 0.05		
TH01	6	140	604	$p=$ 0.23	p ²	0.05
	6					
D18S51	14	83	604	$p=$ 0.14	2pq	0.04
	16	84		$q=$ 0.14		
					Profil Sıklığı=0.000060	
					17000 'de 1	

Tablo II

Latin Amerika kökenlilerde 3 STR lokusu için, allel sıklıkları ve DNA profili sıklıkları (Butler J.M. 2005).

DNA Profili		Veritabanı Allel Sıklıkları			Lokus İçin Genotip Sıklığı	
Lokus	Alleller	Allelin Görülme sıklığı	Veritabanı Büyüklüğü	Sıklık	Formül	Değer
D13S317	11	66	280	p= 0.24	2pq	0.02
	14	13		q= 0.05		
TH01	6	60	280	p= 0.21	p ²	0.04
	6					
D18S51	14	39	280	p= 0.14	2pq	0.04
	16	38		q= 0.14		
				Profil Sıklığı=0.000032		
				31 000' de 1		

Tablo III

Türk Popülasyonu'nda 3 STR lokusu için, allel sıklıkları ve DNA profili sıklıkları (Yavuz İ. 2003).

DNA Profili		Veritabanı Allel Sıklıkları			Lokus İçin Genotip Sıklığı	
Lokus	Alleller	Allelin Görülme sıklığı	Veritabanı Büyüklüğü	Sıklık	Formül	Değer
D13S317	11	308	1000	p= 0.31	2pq	0.02
	14	280		q= 0.03		
TH01	6	300	1000	p= 0.30	p ²	0.09
	6					
D18S51	14	210	1000	p= 0.21	2pq	0.06
	16	139		q= 0.14		
				Profil Sıklığı=0.000108		
				9 000' de 1		

D13S317 lokusu için 11 ve 14 allellere sahip kişi bu allelleri ebeveynlerinden rastgele almış ise 11' i annesinden ve 14' ü babasından almış olma ihtimali pq , 11' i babasından 14'ü de annesinden almış olma ihtimali de yine pq dur. Her mümkün ihtimalde kişinin 11,14 olma olasılığı $pq + pq$ veya $2pq$ dur.

Bu formülde p ve q nun sıklık değerlerini $p= 0.34$ ve $q= 0.05$ yerlerine koyacak olursak, $2pq = (2 \times 0.34 \times 0.05) = 0.034$ değeri bulunur. Bir başka deyişle beyaz ırka ait kişilerin % 3'ünün D13S317 lokusu için 11,14 genotipine sahip olması beklenir. Aynı analizi Latin Amerika ve Türk Popülasyonu veri tabanı için yaptığımızda ise % 2' lik bir oran elde etmiş oluruz.

THO1 lokusu ile ilgili olarak 6 alleli homolog olarak bulunmaktadır. Bu durumda her iki ebeveynin çocuklarına 6 allelini verme ihtimali pp veya p^2 ile hesaplanır. Beyaz ırkta 6 alleli için $p=0.23$ dolayısı ile $p^2 = 0.05$ olarak hesaplanır. Aynı uygulama Latin Amerikalılara ait veritabanına göre yapıldığında, $p= 0.21$ dolayısı ile $p^2 = 0.04$ olarak hesaplanır. Türk popülasyonuna göre yapıldığında ise $p^2 = 0.09$ olarak hesaplanır

Bu iki lokusun ayrı kromozomlar üzerinde olması nedeni ile (D13S317 lokusu 13. kromozomda, THO1 lokusu 11. kromozomda) mayoz bölünme sırasında birbirinden bağımsız ayrılırlar. Bu durum genotip sıklıklarının çarpılmasını mümkün kılar.

Beyaz ırk veri tabanı göz önüne alındığında bir kişinin D13S317 lokusu için 11 ve 14 allellere, THO1 lokusu için de 6 (homozigot) allellere birlikte sahip olma şansı %5'in %3' ü kadardır. Yani $0.05 \times 0.03 = 0.0015$, bir başka deyişle %0.15 dir.

Benzer hesaplamalar D18S51 lokusunun 14 ve 16 allelleri için yapıldığında tahmini genotip sıklığı %4 olarak bulunur. Bu üç lokusun belirtilen allellerinin bir kişide bir arada bulunabilme olasılığı hesaplanacak olursa $(0.03 \times 0.05 \times 0.04) = 0.000060$ değerine ulaşılır. Bu değer yaklaşık olarak 17000'de 1 anlamına gelir. Aynı hesaplama Latin Amerika veri tabanı göz önüne alınarak yapıldığında

$(0.02 \times 0.04 \times 0.04) = 0.000032$ veya 31000 kişide 1'e, Türk popülasyonuna göre yapıldığında ise $(0.02 \times 0.09 \times 0.06) = 0.000108$ veya yaklaşık olarak 9000 kişide 1'e değerine ulaşır .

Örneklerinin karşılaştırılması sırasında uyuşan lokusların sayısının artması, olayla ilişkisi olmayan popülasyon içinden rastgele seçilmiş birinin olay yerinde bulunmuş örnekle ilişkili olabileceği ihtimalini çok zayıflatmaktadır.

2.2.2 Çeşitli popülasyon veri tabanlarının etkisi

Tablo I-III den de anlaşılacağı üzere farklı popülasyon veri tabanları kullanılarak yapılan STR profili sıklık tahminleri çok farklı sonuçlar verebilmektedir. Bunun nedeni allel sıklık değerlerinin popülasyonlar arası farklılıklar göstermesidir.

Yayınlanmış olan 97 farklı popülasyon veri tabanı kullanılarak yapılan kümülatif sıklık tahminlerinde, 3.43×10^{14} 'te 1 ile 2.65×10^{21} 'de 1 arasında farklı değerlere ulaşılmıştır. (Butler J.M. 2005).

OmniPop olarak adlandırılan Microsoft Exel macro programının geliştirilmesi ile, belli bir STR profilinin aynı anda pek çok veritabanı içerisinde sıklık tahmininin gerçekleştirilmesi mümkün kılınmıştır (Published Population Data From a Variety of STR Systems 2008).

Tablo IV de 166 yayınlanmış veri tabanı değerleri göz önüne alınarak 13 Codis lokusu ile yapılan kümülatif sıklık değeri tahminleri görülmektedir.

Tabloda ayrıca A.B.D. beyaz ırkına mensup kişilerin veri tabanı göz önüne alınarak yapılan kümülatif sıklık değeri tahminleri de görülmektedir. Bu sıklık tahminlerinin hepsi teta değeri 0.01 kabul edilerek hesaplanmıştır.

Tablo IV: 166 yayınlanmış veri tabanı değerleri göz önüne alınarak 13 Codis lokusu ile yapılan kümülatif sıklık değeri tahminleri (Butler J.M. 2005)

STR Lokusu	Hesaplanan profil	Kullanılan Populas-yonların Sayısı	Kümülatif Profil Sıklık aralığı	Kümülatif Profil Sıklığı
D351358	16,17	166	5.24 - 62.6	9.19
VWA	17,18	166	37.6 - 1080	81.8
FGA	21,22	166	737 - 119000	1010
D851179	12,14	166	8980 - 5430000	16400
D21S11	28,30	166	165 000 - 248000000	186000
D18551	14,16	166	3.85×10^6 - 2.68×10^{10}	4.88×10^6
D55818	12,13	166	2.28×10^7 - 4.22×10^{11}	4.51×10^7
D135317	11,14	166	4.32×10^8 - 1.69×10^{13}	1.38×10^9
D75820	9,9	166	1.17×10^{10} - 2.98×10^{16}	4.22×10^{10}
D165539	9,11	97	4.06×10^{11} - 1.11×10^{18}	5.82×10^{11}
TH01	6,6	97	9.30×10^{12} - 1.45×10^{19}	1.05×10^{13}
TPOX	8,8	97	3.33×10^{13} - 1.54×10^{20}	3.63×10^{13}
CSF1PO	10,10	97	3.43×10^{14} - 2.65×10^{21}	7.43×10^{14}

2.2.3 Akrabaların STR profil sıklığı tahminleri üzerine etkisi

Bir suçta ait şüpheli ile gerçek suçlu arasında akrabalık ilişkisi mevcut ise genotip sıklıkları birbirinden bağımsız olamayacağından farklı hesaplamalar yapılmalıdır

Bu durumda akrabalarından elde edilen STR profillerinin, rastgele seçilmiş ve akrabalık ilişkisi bulunmayan kişilerinkine göre daha benzer olması beklenir.

Şüpheliyle çeşitli şekillerde akrabalık ilişkilerinin bulunabileceği düşünülerek çeşitli durumlar için farklı olasılık hesaplamaları belirlenmiştir. Tablo V'te konu ile ilgili bir uygulama görülmektedir.

Yakın zamanda Weir uyuşma olasılığı hesaplanmasında, populasyon altyapısını etkilerini de içine alan aile ilişkisi formülleri geliştirmiştir. Bu formüller de Tablo V te listelenmiş olup bir örnekle uygulaması da yapılmıştır.

Örnek olarak homozigot THO1 6,6 ve heterozigot olarak D13S317 11,14 lokusları alınmış ve beyaz ırk allel sıklıkları temel alınarak işlemler yapılmıştır (Weir B.S ve ark. 2003).

Dikkat edilecek olursa: THO1 6,6 örneğinde eşleşme olasılığı 0.06283' ten (akraba olmayan biri için) üç katı artışla 0.38921' e (öz kardeş için) çıkmaktadır. Aynı şekilde D13S317 11,14 allelleri için eşleşme olasılığı akraba ilişkisi olmayandan öz kardeşe gidildiğinde 9.3 kat artarak 0.03864'ten 0.35955'e çıkmaktadır.

Tablo V Şüpheliyle akrabalık ilişkilerinin bulunduğu durumlarda farklı olasılık hesaplamaları (Butler J.M. 2005)

Akrabalık derecesi	Uyuşma olasılığı formülü	
	Homozigotlar (AiAi)	TH01: 6,6 ile sonuç
Kardeş	$\frac{(1 + pi)^2 + (7 + 7pi - 2pi^2)\theta + (16 - 9pi + pi^2)\theta^2}{4(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.38921
Ebeveyn ve çocuk	$\frac{28 + (1 - \theta)pi}{(1 + \theta)}$	0.24700
Üvey kardeş	$\frac{[2\theta + (1 - \theta)pi][2 + 4\theta + (1 - \theta)pi]}{2(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.27479
1. derece kuzen	$\frac{[2\theta + (1 - \theta)pi][2 + 11\theta + 3(1 - \theta)pi]}{4(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.10888
İlgisiz	$\frac{[2\theta + (1 - \theta)pi][3\theta + (1 - \theta)pi]}{4(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.06283
	(NRCII, 4.10a)	$p^2 = 0.05373$
	Heterozigotlar (AiAj)	D13S317: 11,14 ile sonuç
Kardeş	$\frac{(1 + pi + pi + 2pipi) + (5 + 3pi + 3pi - 4pipi)\theta + 2(4 - 2pi - 2pi + pipi)\theta^2}{4(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.35955
Ebeveyn ve çocuk	$\frac{2\theta + (1 - \theta)(pi + pi)}{2(1 + \theta)}$	0.19977
Üvey kardeş	$\frac{(pi + pi + 4pipi) + (2 + 5pi + 5pi + \theta pipi)\theta + (\theta - 6pi - 6pi + 4pipi)\theta^2}{(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.11921
1. derece kuzen	$\frac{(pi + pi + 12pipi) + (2 + 13pi + 13pi - 24pipi)\theta + 2(\theta - 7pi - 7pi + 6pipi)\theta^2}{\theta(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.07893
İlgisiz	$\frac{2\theta + (1 - \theta)pi}{(1 + \theta)(1 + 2\theta)}$	0.03864
	(NRC II, 4.10b)	$2pq = 0.03259$

2.2.4 Genel uyuşma olasılığı.

Yukarıda da belirtildiği gibi profil olasılıklarının çeşitli senaryolara göre hesaplanması gerekmektedir. Balding'e göre bir şüpheli için beş farklı grup insan ve ilişki söz konusudur. Bunlar:

- 1- Şüphelinin kardeşleri
- 2- Bunun diğer akrabaları
- 3- Alt popülasyonunun başka üyeleri
- 4- Kendi ırkına ait başka kişiler
- 5- Kendi popülasyonu dışındaki herhangi bir popülasyona ait kişi (Balding D.J. 1999).

Geçerli hesap için, her lokusa ait en yaygın iki allele teorik olarak en sade metodun uygulanması ile ortaya çıkan genel uyuşma olasılıkları kullanılmalıdır. Bu yaklaşımın birincil avantajı gözlenen her profil için devamlı hesaplamaların gerekli olmamasıdır.

Foreman ve Evett' in olguya özgü hesaplamalardan kaçınmamızı sağlayan genel uyuşma olasılığını savunmasının bir başka sebebi, küçük öneme/değere sahip olasılıkların kusursuz istatistiksel bir desteğe dayanmasını sağlamanın zor olmasıdır (Foreman L.A. ve ark. 2001).

2.3. Kalite güvencesini sağlamaya yönelik gayretler

DNA analizleri ile ilgili çalışmaların kalite güvencesini sağlama gayretlerinden önce, elde edilen verilerin, aynı ülkenin farklı kriminal laboratuvarları arasında paylaşımını, ayrıca uluslararası suçla mücadele çerçevesinde, hukuki yardımlaşmayı sağlayabilmek ve veri paylaşımına olanak sağlamak üzere, DNA'nın aynı bölgelerinin polimorfik özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Amerika Birleşik Devletlerinde, ASCLD kısa adıyla bilinen American Society of Crime Laboratory Directors adlı derneğin başlattığı çalışmalar sonucunda, Federal Soruşturma Bürosu FBI, 16 bölgenin çalışılmasını şart koşmuştur (Hughes B.A. ve ark. 2001).

Benzeri çabaları gösteren Avrupa polis ve jandarma kriminal laboratuvarları, kısaca ENFSI adıyla bilinen European Network of Forensic Science Institutes çatısı altında 8 bölgenin çalışılması kuralını getirmiştir. Bunlara ek olarak EDNAP, European DNA Programı kapsamında dış kalite kontrol programları düzenlenmiş, laboratuvarlar genellikle üniversitelerin adli tıp birimlerinin hazırladığı örneklerle, kalitelerini kontrol etmeye çalışmışlardır.

Günümüzde, gerek Avrupa gerekse A.B.D. Kanada, Avustralya gibi ülkeler, bu arada Türkiye'de tam ya da yarı otomasyona dayalı ve hazır ticari kitler kullanılarak kalite güvencesine katkıda bulunulmaya çalışılmaktadır (Dixon L.A. ve ark. 2006, Niewoehner L. ve ark. 2008).

Halen A.B.D. laboratuvarları ASCLD'ın akreditasyonuna gönüllü olarak katılmaktadırlar. Akreditasyon açısından Avrupa'da da herhangi bir yasal zorunluluk bulunmamakla birlikte, ISO 17025 belgesine sahip olanların, savcılıklarca resmi bilirkişi olarak tercih edildiğini görmekteyiz. Ancak, Almanya, Fransa, İtalya gibi gelişmiş ülkelerde bile çok sayıda küçük kriminal laboratuvarın akredite olmadığı bir gerçektir. Bir diğer sorun, birden fazla faaliyet alanı olan laboratuvarlarda (örneğin uyuşturucu madde analizi, parmakizi ve DNA gibi) bunlardan sadece birinden akreditasyon alınmakta, tüm laboratuvar faaliyetlerinin akredite olduğu önyargısı yaratılmaktadır (Atasoy S. 2008).

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deneylerin yapılışı

Çalışmamıza katılmayı kabul eden (bkz. aydınlatılmış rıza formları) ve aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 10 aileye mensup kişilerin oluşturduğu kümeler materyalimizi oluşturdu. Ailelerin özellikle baba tarafından 3 kuşaktan birey içermesine özen gösterildi özellikle dolaylı yoldan babalık belirtimi için 1. ve 2. derece akrabaların sayısının büyük olmasına özen gösterildi. Bu bağlamda toplam olarak incelemeye alınan 77 kişilik bir grup oluştu.

Biyolojik babanın bulunmadığı durumlarda, erkeğin akrabalarından yola çıkarak, çocukların babası olabilirliğinin hesaplanmasında kullanılacak en uygun istatistiksel bağlantının saptanabilmesi amacıyla, birbiriyle akrabalık ilişkileri bulunmayan on aileye mensup anne, biyolojik baba olduğu kabul edilen erkek, 18 yaşından büyük çocukları ve erkeğin birinci kuşak kan akrabaları (annesi, babası, kardeşleri) D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin lokusları için tiplendi.

Biyolojik delillerdeki DNA, silika temelli kit ile çekitlendi. PCR aşamasında, ABI Prism 310 Genetik Analizör cihazı için özel olarak geliştirilmiş AmpF/STR Identifiler DNA PCR Amplifikasyon kiti kullanıldı. Bu aşamada, DNA'nın çoğaltılacak bölgelerini tanıyan dört farklı renk floresanla işaretli primerler kullanılarak, uygun sürelerde uygun sıcaklıklarla tekrarlayan döngüler sonunda, incelenecek lokusların onbinlerce kopyası elde edildi ve kapiler elektroforez ile tiplenebilecek miktara ve özelliğe ulaşmış oldu (AmpF/STR Identifiler PCR Amplification Kit User's Manual). Ayrıca her örnek setiyle birlikte pozitif ve negatif kontrol örnekleri de PCR'a tabi tutuldu.

PCR ürünlerinin yürütülmesi, boyutlandırılması ve tiplendirilmesi, ABI Prism 310 Genetik Analizör ile İ.Ü Adli Tıp Enstitüsü ve Ludwig-Maximilian Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalında yapıldı ve GeneScan v3.7.1 programı ile değerlendirildi.

3.2. Çekitleme yöntemleri

3.2.1. QIAGEN (C.A. USA) Mini Kit ile Ağız içi Kazıntısından DNA Çekilmesi

1. 1.5ml'lik tüpe ağız izi kazıntı çubuğu yerleştirildi ve 400µl PBS eklendi.
2. 20µl Proteinaz K ve 400µl Buffer AL konuldu. 15 saniye vorteks yapıldı.
3. Etüvde 56°C'de 10 dakika inkübe edildi ve kısa bir santrifüj yapıldı.
4. 400µl etanol eklenip 15 saniye vorteks yapıldı. Kısaca santrifüj yapıp, karışımından 700µl Qiagen Mini kit kolona aktarıldı.
5. 8000rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Atık tüpü değiştirildi.
6. Geriye kalan ~700µl'lik örnek 4-5 kademelerden geçirildi.
7. 500µl Buffer AW1 eklendi. 8000rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Atık tüpü değiştirildi.
8. 500µl Buffer AW2 eklendi. 14000rpm'de 3 dakika santrifüj yapıldı. Atık tüpü değiştirildi.
9. Filtre kuruyuncaya kadar 14000rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
10. Kolon 1.5ml'lik tüpe yerleştirildi ve 150µl Buffer AE eklendi.
11. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilip, 8000rpm'de 1 dakika santrifüj yapılarak çekit hazır hale getirildi.

Çekitler PCR öncesi ½ oranında dilüe edildi. Dilüsyon 5µl örneğe 5µl steril distile su konarak gerçekleştirildi.

3.2.2. QIAGEN Mini Kit ile Kandan DNA Çekilmesi

1. Eppendorf tüpüne 20µl Proteinaz K kondu.
2. 200µl kan ve 200µl Tampon AL eklendi. 15 saniye vortekslendi.
3. Etüvde 56°C'de 10 dakika inkübe edilerek, örneğin tamamen parçalanması sağlandı.
4. Kısa bir santrifüjden sonra, 200µl etanol eklenip 15 saniye vortekslendi ve karışım Qiagen Mini kit kolona aktarıldı.
5. 8000rpm'de 1 dakika santrifüjlendi.
6. 500µl Tampon AW1 eklendi. 8000rpm'de 1 dakika santrifüjlendi.
7. 500µl Tampon AW2 eklendi. 14000rpm'de 3 dakika santrifüjlendi.
8. Filtre kuruyuncaya kadar 14000rpm'de 1 dakika santrifüjlendi.
9. Kolon 1.5ml'lik tüpe yerleştirildi ve 200µl Tampon AE eklendi.
10. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilip, 8000rpm'de 1 dakika santrifüjlenerek çekit hazır hale getirildi.

3.3. PCR YÖNTEMİ

Çalışmamızda, ABI Prism 310 Genetik Analizöre uygun Applied Biosystems tarafından üretilen AmpF/STR Identifiler PCR Amplifikasyon kiti kullanıldı.

AmpF/STR Identifiler PCR amplifikasyon kitinin içerdiği malzemeler ve saklama koşulları şöyledir:

- AmpF/STR PCR Reaksiyon Karışımı (1.1mL/tüp olarak iki tüp)
MgCl₂, dNTP'ler, %0.05 sodyum azidli tampon içinde BSA
- AmpF/STR Identifiler Primer Seti (1.1mL)
Floresan olarak işaretlenmiş ve işaretlenmemiş 16 STR lokusuna özgü primer çiftleri
- AmpliTaq Gold DNA Polimeraz (50µL/tüp olarak iki tüp)
5U/µL aktiviteli enzim
- AmpF/STR Kontrol DNA 9947A (0.3mL)
%0.05 sodyum azidli tampon içinde 0.10ng/µL kadın hücre DNA'sı
- AmpF/STR Identifiler Alelik *Ladder* (50µL)

16 STR lokusuna özgü amplifiye edilmiş tüm aleller

200 adet 25µL'lik amplifikasyon sağlamak üzere hazırlanan AmpF/STR Identifiler PCR Amplifikasyon kitinde bulunan malzemelerden Reaksiyon Karışımı, Primer Seti, Kontrol DNA ve *Ladder* 2-8°C'de; Taq Gold DNA Polimeraz ise -20°C'de saklandı.

3.3.1. PCR Karışımının Hazırlanması

PCR karışımı şu şekilde hazırlandı:

1. PCR Reaksiyon Karışımı, Primer Seti ve Taq Gold DNA Polimeraz 5'er saniye vortekslendi.
2. Kapakta kalabilecek miktarları indirmek için, tüpler kısaca santrifüj yapıldı.
3. Steril bir ependorf içine şu miktarlarda kondu:

Örnek sayısı x 10.5µL PCR Reaksiyon Karışımı

Örnek sayısı x 5.5µL Primer Seti

Örnek sayısı x 0.5µL Taq Gold DNA Polimeraz (5U/µl)

4. Karışım orta hızda 5 saniye vortekslendi.
5. Her tüpe karışımdan 15µL dağıtıldı.
6. Özelliğine uygun miktarda örnek eklenerek toplam hacmin 25µL olması sağlandı:

konsantrasyonu ≤ 0.125 ng/µL olan DNA örneği için 10µL

konsantrasyonu > 0.125 ng/µL olan DNA örneği için seyreltik
örnekten 10µL

pozitif kontrol (kit içindeki Kontrol DNA 9947A) 10µL

negatif kontrol (TE tamponu) 10µL

3.3.2. PCR Döngü Parametreleri

PCR döngü parametreleri:

ilk inkübasyon	95°C	11 dakika	
denatürasyon	94°C	1 dakika	} 28 döngü
bağlanma	59°C	1 dakika	
uzama	72°C	1 dakika	
son uzama	60°C	60 dakika	

PCR sonunda program, +4°C'ye bağlanarak, örneklerin oda sıcaklığında kalıp bozulması engellendi.

3.4 Kapiler Elektroforez Yöntemi

Kapiler elektroforez için gerek İ.Ü Adli Tıp Enstitüsünde gerekse Ludwig-Maximilian Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalında ABI Prism 310 Genetik Analizör aleti kullanıldı. Alet önce temizlendi. Her temizlemeden sonra parçaların ve maddelerin yerleştirildiği, alet kurutuldu. Daha sonra alet şırınga kalibrasyonu ve otomatik örnekleyici kalibrasyonuna tabi tutuldu.

3.4.1. Aletin Temizlenmesi, Kurulması ve Kalibrasyonu

Veri Toplama Yazılımı'nda "Windows" menüsünden "Manual Control" alt menüsü açıldı. Bu menüden "Autosampler Present Tray" seçildi ve "Execute" komutu verildi. Böylece otomatik örnekleyici kolunun tampon ve distile su kaplarını taşıyan tepsiyi kullanıcıya doğru getirmesi sağlandı. Aletin otomatik örnekleyici kolu üzerindeki biri tampon diğer ikisi su dolu olan kaplar alındı. İçlerindeki tampon ve su dökülüp, ılık distile suyla yıkandı ve kurumaya bırakıldı.

"Manual Control" alt menüsünden "Syringe Home" seçildi ve "Execute" komutu verildi. Böylece şırıngayı aşağı iten kol, yukarı doğru çıktı ve bu kolun düğme kısmı sola çevrilerek, pompa bloktan vidası gevşetilmiş şırınganın çıkarılması sağlandı. Ilık distile su içine batırılan şırınganın pistonu yavaşça çekildi ve çıkartıldı. Hem şırınga, hem de piston birkaç kere ılık distile suyla yıkandı. Kağıt havluyla

kurulanan piston, şırınganın içine yerleştirildi ve birkaç kere yavaşça itilerek şırınga içinde kalabilmesi muhtemel olan su giderildi. Şırınganın dışı kurulandı ve yüklemeye hazır hale getirildi.

Isı plakası üzerindeki kapak ve bu kapağın altındaki lazer kutusu kapağı açıldı. Plaka üzerindeki kapileri tutan bantlar çıkarıldı. Kapilerin sağ ucunda elektrodu da tutan vida ve sol ucunda pompa bloğuna bağlanan vida gevşetildi. Kapiler yavaşça çıkarıldı ve iki ucu tampon içinde kalacak şekilde tüplere yerleştirilip, kurulacağı zamana kadar +4°C’de bekletildi.

Elektrod, bağlı olduğu vidasından çıkarılarak distile suyla nemlendirilmiş kağıt havlu ile temizlendi.

Pompa bloğunun altındaki tampon kabı alındı. İçindeki tampon dökülüp, kapılık distile suyla yıkandı ve kurumaya bırakıldı.

Pompa bloğu çıkarmak için “Manual Control” menüsünden “Tampon Valve Open” seçildi ve “Execute” komutu verildi. Blok yavaşça çekilip çıkarıldı. Üzerindeki vidalar da döndürülerek çıkarıldı. Hem bu pompa bloğu, hem de vidaların önce dışı, sonra bir şırınga yardımıyla içindeki kanalları ılık distile suyla yıkandı. Blok yıkanırken, üzerindeki vida deliklerinden hepsi kapatılıp sadece ikisi açık bırakıldı ve bu açık deliklerden birinden içeri şırıngayla su basıldı. Böylece pompa bloğun içindeki tüm kanalların polimerden temizlenmesi sağlandı. Daha sonra bloğun tüm kanallarından ve vidalardan kuru bir şırınga yardımıyla hava basılarak kuruması sağlandı. Ayrıca tüm parçalar, dıştan da kağıt havlu ile kurulandı.

Pompa bloğu yavaşça yerleştirildi. Üzerine döndürülerek vidalar monte edildi. “Manual Control” menüsünden “Tampon Valve Close” seçildi ve “Execute” komutu verildi.

Kapiler +4°C’den alındı. Alkolle temizlenen cam kısmı, detektöre gelecek şekilde, bir ucu pompa bloğunun sağındaki vidadan geçirilirken, diğer ucu da elektrodun bulunduğu vidadan geçirilerek elektroda paralel olacak şekilde yerleştirildi. Burada, kapilerin elektrodan 1-1.5mm daha aşağıda olmasına dikkat

edildi. Tüm bu şartlara uygun olarak yerleştirilen kapiler, bantlarla ısı plakası üzerine sabitlendi.

Şırınga oda sıcaklığına getirilmiş POP-4 polimeri ile dolduruldu. Burada şırıngaya -en fazla 0.8mL olmak üzere- o yürütmeye yetecek miktarda polimer çekmeye özen gösterildi. Şırınga pistonu biraz itilerek ucunda polimer damlası oluşunca, pompa bloğa vidalandı. Yavaşça şırıngaya basılarak ve aynı zamanda da blok üzerindeki vidalar gevşetilir sıkılarak bloğun tüm kanallarının polimerle dolması sağlandı. Bu arada kanallar içinde hava kabarcığı olmamasına dikkat edildi.

1XTBE tamponu hazırlandı. Bunun için, Applied Biosystems tarafından üretilen 10XTBE (EDTA'lı) tampondan 1.5mL alınıp, distile suyla 15mL'ye tamamlandı.

10mL'lik tampon kabı, 1XTBE tamponu ile belirtilen çizgiye kadar doldurularak pompa bloğunun altına yerleştirildi.

Aletin otomatik örnekleyici kolu üzerindeki kaplardan birincisine 1XTBE tamponu, ikincisine distile su, kap üzerinde belirtilen çizgiye kadar kondu ve üçüncü boşluğa ise içi distile su dolu, kapağı olmayan bir tüp yerleştirildi. "Manual Control" alt menüsünden "Autosampler Return Tray" seçildi ve "Execute" komutu verildi. Böylece otomatik örnekleyici kolunun tampon ve distile su kaplarını taşıyan tepsiyi geriye götürmesi ve kapilerle elektrodun, içinde tampon çözelti bulunan kap içine girmesi sağlandı.

Öncelikle şırınga kalibre edildi: Şırıngayı iten kolun düğme kısmı sağa çevrildi. "Manual Control" alt menüsünden "Syringe Down" seçildi, belirli sayı değerleri yazılarak "Execute" komutu verildi. Böylece şırıngayı iten kolun, yazılan sayı değeri kadar aşağı inerek şırıngaya basabilmesi için pistonu en yakın temas konumuna getirilmesi sağlandı.

Daha sonra otomatik örnekleyici kalibrasyonu yapıldı: Veri Toplama Yazılımı'nda "Instrument" menüsünden "Autosampler Calibration" seçildi. Açılan pencereden "Start" komutu verilerek kalibrasyona başlandı. Otomatik örnekleyici

sağa, sola, aşağı, yukarı hareket ettirilerek, kapilerin ucunun otomatik örnekleyici kolunun önünde ve arkasında bulunan iki noktasına göre ayrı kalibrasyonları yapıldı. Kalibrasyon bittikten sonra “Finish” komutu verildi. Bu işlemden sonra “Windows” menüsünden “Manual Control” alt menüsü açıldı. Bu menüden “Autosampler to Position 1” seçildi ve “Execute” komutu verildi. Böylece otomatik örnekleyici kolu hareket ederek 1 numaralı yerdeki tampon kabının kapiler ve elektrod ile aynı hizaya gelmesi sağlandı. Daha sonra “Manual Control” alt menüsünden “Autosampler Up” seçildi, belirli sayı değerleri yazılarak “Execute” komutu verildi. Böylece otomatik örnekleyici yazılan sayı değeri kadar yukarı çıkarak, kapilerle elektrodun, içinde tampon çözelti bulunan 1 numaralı kap içine en iyi şekilde girmesi sağlandı.

3.4.2. Aletin Yürütme için Hazırlanması

Veri Toplama Yazılımı’nda “Windows” menüsünden “Manual Control” alt menüsü açıldı. Bu menüden “Temperature Set” seçildi, “60°C” yazılarak “Execute” komutu verildi. Böylece aletin ısı plakasında ön ısıtma aşamasının başlaması sağlandı.

“File” menüsünden “New” alt menüsü seçildi. Bu menüden “Create New” seçildi. Açılan pencereden “GeneScan Smp1 Sheet 96 Tube” seçilerek, örnek sayfası oluşturmaya başlandı. Açılan örnek sayfasında sağ üst köşeden “5 Dyes” işaretlendi. Sayfaya örnek adları ve örneklerle ilgili gerekli görülen bilgiler (örneğin kodu, çekitleme yöntemi, PCR kitinin lot numarası, çekitleme tarihi ve PCR tarihi, varsa dilüsyon oranı ve tarihi ya da konsantrasyon yöntemi ve tarihi) girildi. Hazırlanan dosyaya isim verilerek kaydedildi ve kapatıldı.

“File” menüsünden “New” alt menüsü seçildi. Bu menüden “Create New” seçildi. Açılan pencereden “GeneScan Injection List” seçilerek, enjeksiyon sayfası oluşturmaya başlandı. Bu sayfada, biraz önce oluşturulan örnek sayfası adıyla seçilip bulundu ve ekranda yüklenip yürütülecek örneklerin listesi görünür hale geldi. Operatör adı girildi.

3.4.3. Örneklerin Yükleme ve Yürütme için Hazırlanması

1. Yürütülecek örneklerle birlikte, biri pozitif diğeri negatif iki kontrol örnek ve tiplene yapmak için gerekli olan *Ladder* da göz önüne alınarak, yeterli sayıda tüp alındı.
2. 4°C’de saklanan boyut standardı ve daha önceden alikotlanarak derin dondurucuda saklanan Hi-Di Formamid, oda sıcaklığına geldikten sonra 5’er saniye vortekslendi.
3. Kapakta kalabilecek miktarları indirmek için, tüplere kısaca santrifüj yapıldı.
4. Her örnek için tüp içine şu karışım hazırlandı:
24.5µL Formamid
0.5µL İç Standart
1.5µL DNA örneği (PCR ürünü)
5. Karışım pipetlendi.
6. Tüpler PCR aletinde 95°C’de 3 dakika denatürasyon yapıldı.
7. Denatürasyon sonunda 3 dakika buzda bekletildi.

3.4.4. Örneklerin Yüklenmesi ve Yürütülmesi

Denatüre edilip buzda bekletilen örnekleri içeren tüpler, enjeksiyon listesinde yazıldığı sırayla ABI 310 aletinin tepsisine yerleştirildi. Üzerine ikinci tepsi oturtuldu. Lastik tıkaçlarla kapatılarak, beyaz kapakla kilitlendi.

Isısı 60°C’ye gelmiş olan aletin kapakları açılarak, otomatik örnekleyici kolu öne getirildi ve örnek tepsisi kol üzerindeki alana yerleştirildi.

Otomatik örnekleyici kolu geri gönderilerek, kapiler ve elektrodun tampon kabı içine yerleşmesi sağlandı. Aletin kapakları kapatıldı.

Enjeksiyon listesinden “Run” komutu ile yürütme başlatıldı. Alet, önce şırınga kolunu iterek kapilerin içini polimerle doldurdu. Kapilerin ve elektrodun ucunu distile su kabında temizledi. Örnekten bir miktar kapilere çekti. Kapilerin ve elektrodun ucunu tekrar distile su kabında temizleyip, tampon kabına

gitti. Akımı başlatarak, içine çektiği örneği kapilerde yürüttü. Bir örneğin yürütmesi bittikten sonra, o örnek için kullanılmış polimeri, içinde distile su bulunan atık kabına boşalttı. Daha sonra tekrar şırınga kolunu iterek kapilerin içini yeni polimerle doldurdu ve aynı işlemleri sırasıyla tekrar ederek tüm örnekleri yürüttü.

3.4.5. Analizi Tamamlanan Örneklerin Sonuçlarının Görüntülenmesi

İlk örneğin analizi bittiğinde, Gen Tarama Yazılımı penceresi otomatik olarak açıldı ve örnekle ilgili veriler bu dosya içine kaydedilerek, yorumlanabilecek sonuçlara dönüştürüldü. Daha sonra her örnek, analiz bittiğinde, sırayla bu dosyaya eklendi.

Gen Tarama Yazılımı penceresinden, “Windows” menüsü içindeki “Results Control” seçildi. Açılan pencerede “Quick Tile” seçeneği “On” olarak işaretlendi. Örneğin yazılı olduğu alan seçildiğinde, her boya bir analiz kutusuna yerleştirildi. Daha sonra “Display” komutu verilerek, açılan ekrandan sonuçlar incelendi. Örneklerle birlikte ayrı bir tüpte yürütmesi yapılan *Ladder* da aynı şekilde incelendi. Örnek sonuçları *Ladder* sonuçları ile üstüste getirilerek, örnek tiplmesi yapıldı. Bu amaçla, yine aynı şekilde “Windows” menüsü içindeki “Results Control” seçildi. Açılan pencerede “Quick Tile” seçeneği “On” olarak işaretlendi. Örneğin yazılı olduğu alan ile birlikte *Ladder*’ın yazılı olduğu alan da seçilerek, ikisinin de aynı renklerle verilen sonuçlarının aynı kutulara gelmesi sağlandı. Daha sonra “Display” komutu verilerek, örnek ile *Ladder*’ın üstüste getirilen sonuçlarının bulunduğu ekranda, örneğin ya da *Ladder*’ın her alandaki rengi değiştirildi ve ikisi arasında fark yaratılarak örneğin piklerinin *Ladder*’ın hangi alellerine denk geldiği daha doğru bir şekilde tespit edildi. Ekranın altındaki sayısal veriler de kullanılarak, her pikin boyutu ile denk geldiği *Ladder* alelinin Identifiler Kullanıcı Kılavuzu’nda yer alan tablodaki verilere göre olması beklenen boyutu karşılaştırıldı ve buna göre tüm örneklerdeki aleller tespit edildi.

3.5 İstatistiksel analiz

Her bir ailenin biyolojik baba olarak kabul edilen erkeğinin, önce anne ve çocuk/lar dan birinin kullanılması ile (babalık olasılığı) hesaplandıktan sonra bu erkeğe ulaşılammaması durumunda baba tarafının bir yada birkaç akrabasından yola çıkılarak olası babalık oranları yeniden hesaplandı.

Bu hesaplarda Bayes'in iki alternatifli hipotezinin (baba olabilir – olmayabilir ve ana olabilir – olmayabilir) geçerli olduğu kabul edildi (Essen-Möller 1938, Essen-Möller ve Quensel 1939, Li C. ve Chakraborti A. 1985, Baur M. ve ark. 1986). Hesapların yapılmasında (Baur M.B., Fimmers R., Spitz W., Version 1.22 m+, Bonn, Germany) tarafından geliştirilen ticari yazılımın 1.22 deneme sürümünden yararlanıldı. Benzerlikler Elston ve Steward'ın önerdiği şekilde manuel olarak hesaplandı (Elston R.C. 1971). Olası mutasyon konusunda Fimmers ve arkadaşlarının görüşü (çocuğa ebeveynlerinden bir yada iki tekrar sayısı farklı allel geçebileceği) kabul edildi (Fimmers ve ark. 1992). Her bir sistemin Türk toplumundaki frekansları, bu konuda çalışan araştırmacıların verilerinin bir araya getirilmesi ile belirlendi. (Cakır H.A. ve ark. 2001-2003-2004, Yavuz İ. 2003, Erkol Z. ve ark. 2007). Kullanılan sıklıklar Ek'te sunulmuştur.

4 BULGULAR

4.1. Deney sonuçları

Biyolojik babanın bulunmadığı durumlarda, erkeğin akrabalarından yola çıkarak, çocukların babası olabilirliliğinin hesaplanmasında kullanılacak en uygun istatistiksel bağlantının saptanabilmesi amacıyla incelenen, birbiriyle akrabalık ilişkileri bulunmayan on aileye mensup anne, biyolojik baba olduğu kabul edilen erkek, 18 yaşından büyük çocukları ve erkeğin birinci kuşak kan akrabalarının (annesi, babası, kardeşleri) D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin bulguları Tablo VI - XV'de birarada verilmiştir.

Tablo VI. 1. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C), Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA) ve Babanın erkek kardeşi (BEK) 'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	B.B	B.A	B.E.K
D8S1179	10-13	11-14	10-11	11-13	10-16	13-11	11-16
D21S11	29-30	28-31	28-29	28-29	30-28	29-31	28-29
D7S820	10-13	8-9	9-13	8-13	13-11	10-11	11-13
CSF1PO	10-13	12-12	12-13	10-12	10-12	12-13	10-12
D3S1358	15-17	17-18	15-17	17-17	16-17	15-18	15-17
THO1	6-9	6-9.3	6-6	6-9.3	9-8	6-9.3	9-9.3
D13S317	9-11	11-11	9-11	9-11	9-9	11-12	9-11
D16S539	8-12	10-13	8-13	8-13	12-11	8-11	8-12
D2S1338	20-23	18-23	23-23	18-23	23-23	20-17	17-23
D19S433	14-16	13-13	13-16	13-14	16-15	14-15.2	15.2-16
vWA	15-17	14-14	14-15	14-17	16-17	15-16	16-17
TPOX	11-12	8-11	11-12	8-11	8-12	11-11	8-11
D18S51	12-17	15-17	12-17	15-17	12-15	17-14	12-17
Amelogenin	X-Y	X-X	X-X	X-Y	X-Y	X-X	X-Y
D5S818	11-11	10-11	10-11	11-11	11-12	11-13	11-12
FGA	19-21	22-22	19-22	19-22	21-23	19-22	22-23

Tablo VII. 2. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C2) Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA), ve babanın kız kardeşleri (BKK1), (B.K.K2)'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	B.B	B.A	B.K.K1	B.K.K2
D8S1179	11-13	10-14	13-14	10-13	11-13	13-13	13-13	13-13
D21S11	29-29	31.2-31.2	29-31.2	29-31.2	28-29	29-31.2	29-31.2	29-29
D7S820	9-10	10-12	9-10	9-12	10-11	8-9	9-11	8-10
CSF1PO	11-12	12-14	12-14	11-12	10-12	11-11	10-11	11-12
D3S1358	15-17	14-15	14-17	14-15	15-17	16-17	17-17	17-17
THO1	9.3-9.3	9-9.3	9.3-9.3	9.3-9.3	6-9.3	9-9.3	9.3-9.3	6-9
D13S317	8-12	8-11	8-8	8-12	8-10	9-12	8-9	10-12
D16S539	11-12	12-12	12-12	11-12	9-12	10-11	10-12	11-12
D2S1338	17-23	17-17	17-17	17-23	17-19	19-23	19-19	19-23
D19S433	15-15	14-16	15-16	14-15	12-15	14.2-15	15-15	14.2-15
vWA	16-18	14-18	18-18	18-18	14-16	18-18	16-18	16-18
TPOX	8-9	8-8	8-8	8-9	8-8	9-9	8-9	8-9
D18S51	14-19	15-16	15-19	15-19	13-19	14-15	14-19	15-19
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-X	X-X
D5S818	9-12	11-12	9-12	11-12	11-12	9-12	11-12	12-12
FGA	20-21	23-23	21-23	21-23	21-23	20-24	23-24	23-24

Tablo VIII 3. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Babanın babası (BB) Babanın annesi (BA) ve babanın erkek kardeşi (BEK) 'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	B.B	BA	B.E.K
D8S1179	12-16	10-11	11-12	14-16	12-14	12-14
D21S11	30-31	32.2-32.2	31-32.2	29-30	30-31	29-31
D7S820	8-11	8-12	11-12	10-11	8-11	8-11
CSF1PO	12-12	9-10	9-12	11-12	11-12	11-11
D3S1358	17-18	15-16	16-17	16-17	15-18	17-18
THO1	6-9.3	6-9	9-9.3	6-9.3	6-9	6-6
D13S317	12-12	11-12	12-12	12-12	9-12	12-12
D16S539	10-11	9-12	9-10	11-13	9-10	9-13
D2S1338	21-25	19-19	19-25	17-21	19-25	19-21
D19S433	13-14	14-15.2	14-15.2	13-14	13-14	13-14
vWA	16-18	17-19	18-19	16-18	16-17	16-17
TPOX	8-8	8-9	8-9	8-8	8-11	8-11
D18S51	15-15	12-13	13-15	12-15	14-15	12-15
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-Y	X-X	X-Y
D5S818	11-11	12-13	11-13	11-13	11-11	11-13
FGA	21-22	20-21	21-22	21-23	21-22	21-22

Tablo IX. 4. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C2), Babanın babası (BB) Babanın annesi (BA), babanın erkek kardeşi (BEK) ve babanın kız kardeşi (BKK)'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	B.B	B.A	B.E.K	B.K.K
D8S1179	13-15	10-12	10-13	10-13	10-15	10-13	10-10	10-10
D21S11	30-30	28-32.2	28-30	28-30	30-30	29-30	30-30	30-30
D7S820	10-10	10-12	10-10	10-12	8-10	10-10	8-10	8-10
CSF1PO	12-12	11-11	11-12	11-12	10-12	12-12	12-12	10-12
D3S1358	15-16	15-16	15-16	15-15	16-16	15-15	15-16	15-16
TH01	9-9.3	6-7	7-9	6-9.3	9.3-10	7-9	9-9.3	7-9.3
D13S317	9-10	11-13	10-11	10-13	10-12	9-11	9-10	9-10
D16S539	11-12	9-13	12-13	11-13	11-12	12-14	12-12	11-14
D2S1338	17-25	17-19	19-25	17-19	17-20	17-25	17-17	17-20
D19S433	13-14	13-14	13-13	13-14	13-14	13-15.2	13-14	13-13
vWA	14-17	16-17	14-17	17-17	14-19	17-18	14-18	14-17
TPOX	8-11	11-11	8-11	8-11	8-8	8-11	8-8	8-11
D18S51	13-14	13-14	13-14	13-13	13-16	14-16	16-16	13-16
Amelogenin	X-Y	X-X	X-X	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-X
D5S818	12-12	11-12	12-12	12-12	12-13	10-12	10-12	10-12
FGA	23-24	18-24	18-24	18-24	21-23	24-25	23-25	23-24

Tablo X 5. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Babanın babası (BB) Babanın annesi (BA), babanın erkek kardeşi (BEK) ve babanın kız kardeşi (BKK)'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	B.B	B.A	B.K.K	B.E.K
D8S1179	13-15	13-15	13-15	12-13	10-15	10-12	12-15
D21S11	30-31.2	31.2-33.2	30-31.2	28-30	31.2-32.2	31.2-30	30-32.2
D7S820	12-12	11-11	11-12	8-12	12-12	8-12	8-12
CSF1PO	10-11	12-12	11-12	11-11	10-13	10-11	10-11
D3S1358	15-18	14-15	15-15	15-17	15-18	18-15	17-18
THO1	6-9.3	6-6	6-6	8-9.3	6-9.3	9.3-8	6-8
D13S317	12-13	12-13	12-13	11-12	10-13	13-11	12-13
D16S539	12-13	12-13	12-13	12-13	11-12	11-12	12-12
D2S1338	19-20	17-23	17-19	19-20	17-20	17-19	19-20
D19S433	12-14	15-15.2	12-15	14-14	12-14	14-14	14-14
vWA	14-19	16-17	14-17	16-19	14-20	20-19	16-20
TPOX	10-12	10-11	11-12	9-10	11-12	11-9	9-11
D18S51	12-14	14-14	14-14	12-18	14-14	14-12	14-18
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-Y	X-X	X-X	X-Y
D5S818	11-12	11-13	11-11	11-12	11-11	11-12	11-12
FGA	22-23	22-23	23-23	20-23	21-22	22-23	20-21

Tablo XI 6. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C), Çocuk 3 (C3) Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA) ve Babanın kız kardeşi 1 (BKK1) ve Babanın kız kardeşi 2 (BKK2) 'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	C3	B.B	B.A	B.K.K1	B.K.K2
D8S1179	12-15	10-14	14-15	10-12	12-14	12-14	11-15	12-15	11-14
D21S11	29-29	31-34.2	29-34.2	29-31	29-34.2	29-29	29-31.2	29-29	29-31.2
D7S820	7-8	9-11	8-11	8-9	7-11	7-11	8-9	7-8	7-9
CSF1PO	10-10	10-11	10-11	10-10	10-11	10-11	10-12	10-10	11-12
D3S1358	15-15	15-17	15-17	15-17	15-17	15-15	15-16	15-16	15-15
TH01	8-9.3	9-9.3	9.3-9.3	8-9	8-9.3	9.3-10	8-8	8-9.3	8-9.3
D13S317	8-11	11-12	11-12	8-11	8-12	11-12	8-13	8-11	11-13
D16S539	8-12	8-10	10-12	8-10	8-8	12-13	8-9	8-13	9-12
D2S1338	17-19	20-20	19-20	19-20	17-20	19-23	17-20	17-19	17-19
D19S433	14.2-15	14-16.2	15-16.2	14.2-16.2	14-14.2	14-14.2	13-15	14-15	13-14
vWA	16-18	17-18	16-17	18-18	16-18	18-18	16-17	17-18	16-18
TPOX	8-8	8-12	8-12	8-12	8-12	8-11	8-8	8-8	8-8
D18S51	12-17	14-18	17-18	17-18	17-18	12-14	17-18	12-17	12-17
Amelogenin	X-Y	X-X	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-X	X-X
D5S818	12-13	11-12	11-13	11-12	12-13	12-13	12-13	12-13	12-12
FGA	24-26	19-25	19-24	19-26	19-24	23-26	20-24	23-24	24-26

Tablo XII 7. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C), Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA) ve Babanın erkek kardeşi (BEK) ve babanın kız kardeşleri (BKK1) ve (B.K.K2)'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	B.B	B.A	B.E.K	B.K.K1	B.K.K2
D8S1179	13-14	16-16	14-16	14-16	13-16	14-15	15-16	13-15	15-16
D21S11	28-31	30-31	31-31	28-30	30-31	28-33.2	30-33.2	31-33.2	30-33.2
D7S820	10-10	11-12	10-12	10-11	10-10	10-11	10-11	10-11	10-11
CSF1PO	10-10	12-12	10-12	10-12	10-10	9-10	9-10	10-10	10-10
D3S1358	17-19	16-18	17-18	16-19	15-19	17-19	15-19	17-19	17-19
THO1	9-9.3	6-9	6-9	6-9.3	7-9.3	6-9	9-9.3	9-9.3	7-9
D13S317	12-13	12-12	12-13	12-13	11-13	10-12	12-13	10-11	12-13
D16S539	12-13	9-10	9-13	9-13	11-12	12-13	12-13	12-13	11-12
D2S1338	17-17	18-21	17-18	17-18	17-17	17-19	17-19	17-17	17-19
D19S433	14-15	13-13	13-15	13-14	15-15.2	13-14	14-15	13-15	14-15.2
vWA	16-17	16-16	16-17	16-17	17-18	14-16	16-17	14-17	14-18
TPOX	8-8	8-8	8-8	8-8	8-8	8-12	8-12	8-8	8-8
D18S51	13-16	15-15	15-16	13-15	13-13	14-16	13-14	13-14	13-16
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-X
D5S818	11-13	11-12	11-13	12-13	11-11	12-13	11-13	11-12	11-12
FGA	25-26	19-22	19-25	22-25	23-25	25-26	25-25	23-26	25-26

Tablo XIII 8. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C2), Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA)' nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	C3	B.B	B.A
D8S1179	13-14	14-15	14-15	14-14	14-14	13-14	13-14
D21S11	30-31.2	29-30	29-31.2	29-30	29-31.2	30-31	31.2-32.2
D7S820	9-12	11-12	11-12	9-12	11-12	9-11	11-12
CSF1PO	10-12	11-12	10-11	10-12	10-12	12-12	10-12
D3S1358	15-16	14-15	14-15	15-16	15-15	15-17	15-16
THO1	7-9	8-9.3	7-8	7-9,3	7-8	7-9	7-8
D13S317	12-12	11-12	11-12	12-12	12-12	8-12	8-12
D16S539	9-9	13-14	9-14	9-14	9-13	9-12	9-11
D2S1338	20-25	17-25	17-25	20-25	25-25	22-25	18-20
D19S433	13-15	14-16.2	15-16.2	13-14	13-16.2	14-15	13-16
vWA	17-18	17-19	17-18	17-18	18-19	16-17	18-18
TPOX	8-11	8-10	10-11	8-11	8-8	8-11	8-8-
D18S51	16-18	17-17	17-18	17-18	17-18	14-16	14-18
Amelogenin	X-Y	X-X	X-X	X-X	X-Y	X-Y	X-X
D5S818	11-13	11-13	13-13	11-13	11-11	11-13	12-13
FGA	21-24	21-24	21-21	21-24	21-21	22-24	21-23

Tablo XIV 9. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C2), Çocuk 3 (C3), Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA) ve Babanın erkek kardeşlerinin (BEK1) ve (B.E.K2)'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	C3	B.B	B.A	B.E.K1	B.E.K2
D8S1179	13-14	12-14	12-14	12-14	12-14	8-14	12-13	13-14	8-13
D21S11	30.2-31.2	28-29	29-31.2	29-30.2	28-30.2	29-30.2	30-31.2	29-30	30-30.2
D7S820	8-13	10-11	8-11	8-10	8-11	8-13	9-13	9-13	9-13
CSF1PO	11-12	11-11	11-12	11-11	11-12	10-11	12-12	10-12	11-12
D3S1358	14-16	16-17	16-17	16-16	14-16	14-16	15-16	16-16	14-15
THO1	6-9	9-9.3	6-9.3	6-9	6-9.3	9-10	6-9	6-10	9-10
D13S317	12-12	9-10	9-12	9-12	10-12	10-12	11-12	12-12	10-11
D16S539	11-11	9-12	11-12	11-12	11-12	11-12	11-11	11-11	11-12
D2S1338	18-25	21-23	18-21	21-25	18-23	18-23	17-25	18-25	17-23
D19S433	14-14	13-14	14-14	13-14	13-14	14-15	14-14	14-14	14-15
vWA	18-19	14-20	14-18	18-20	14-18	17-19	16-18	16-17	16-19
TPOX	8-11	8-11	8-8	8-11	8-8	8-8	8-11	8-11	8-11
D18S51	12-19	14-18	12-18	18-19	12-14	12-19	12-16	12-12	12-16
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-Y	X-X	X-Y	X-X	X-Y	X-Y
D5S818	12-13	11-13	12-13	11-13	12-13	12-12	9-13	12-13	12-13
FGA	24-25	19-20	20-24	20-25	20-24	24-26	21-25	24-25	25-26

Tablo XV. 10. Aileye mensup Baba (B), Anne (A), Çocuk 1 (C1), Çocuk 2 (C2), Babanın babası (BB), Babanın annesi (BA) ve Babanın erkek kardeşi (BEK) 'nin D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin sonuçları.

LOKUSLAR	B	A	C1	C2	B.B	B.A	B.K.K
D8S1179	13-13	12-12	12-13	12-13	10-13	13-14	13-14
D21S11	29-31.2	28-31.2	28-29	31.2-31.2	30-31.2	29-32.2	30-32.2
D7S820	11-11	9-11	9-11	11-11	11-12	8-11	8-11
CSF1PO	11-12	9-12	11-12	9-11	12-12	10-11	10-12
D3S1358	16-17	15-16	15-16	15-16	16-18	17-18	16-18
THO1	8-9.3	7-9	7-9.3	7-8	6-8	7-9.3	7-8
D13S317	8-10	12-13	10-13	10-13	10-12	8-11	12-12
D16S539	9-11	12-13	11-12	11-12	11-13	9-9	9-11
D2S1338	17-18	18-23	17-18	18-18	17-18	17-22	17-18
D19S433	12-14	13-15	14-15	12-13	12-12	14-14	12-14
vWA	18-19	14-16	16-18	16-19	17-18	17-19	17-18
TPOX	11-12	8-9	8-11	9-12	8-12	11-11	8-11
D18S51	17-17	9-15	15-17	9-17	14-17	12-17	14-17
Amelogenin	X-Y	X-X	X-Y	X-Y	X-Y	X-X	X-X
D5S818	12-12	10-12	12-12	10-12	12-12	12-13	12-12
FGA	20-22	23-24	20-23	22-24	22-26	20-20	20-26

4.2. İstatistiksel değerlendirme

İncelenen ailelerin her birinde önce anne, baba ve çocuğa ait bulgulardan yola çıkarak babalık ve analık oranları hesaplandı. Ardından babanın bulunmadığı koşullarda, çocuğun diğer kardeş/leri, erkeğin ana, baba ve varsa kardeş/lerinin (amca/lar) bulguları kullanılarak, dolaylı babalık oranı hesaplandı. Hesapların yapılmasında M.B. Baur, R. Fimmers, W. Spitz, (Version 1.22 m+, Bonn, Germany). tarafından geliştirilen ticari yazılımın 1.22 deneme sürümünden yararlanıldı. Çıktıların bir örneği Şekil 1. de, elde edilen oranlar Tablo XVI'da birarada sunulmuştur.

```
Filename      : aile 1 baban"n erkek kardeği
Allele Frequency : Turkish data
Genotype File  : Complex Paternity & Kinship Testing
Purpose       : Kinship Analysis (Missing person determination)
Date         : Sun Jul 27 13:35:15 2008
```

Tested Person	Sample Info
AX Alleged X	ALLEGED_X
XS1 Sibling 1 of Father	sibling 1 of father
C1 Child 1 of X	Child 1 of x

```
-----
Overall Summary
```

Locus tested	AX	XS1	C1	LR
D3S1358	15/17	17/18	15/17	1.3593
VWA	15/17	14/14	14/15	1.1861
FGA	19/21	22/22	19/22	0.5029
D8S1179	10/13	11/14	10/11	0.2967
D21S11	29/30	28/31	28/29	0.1049
D18S51	12/17	15/17	12/17	6.8292
D5S818	11/11	10/11	10/11	1.6201
D13S317	9/11	11/11	9/11	2.3140
D7S820	10/13	8/9	9/13	0.7853
Overall				0.5073

```
-----
LR - Likelihood ratio
```

```
-----
Paternity Probability
```

Prior	Posterior
0.100	0.053360
0.500	0.336566
0.900	0.820331

Şekil 1. İlk ailede, babanın erkek kardeşinden yola çıkarak, 9 lokus kullanılmak suretiyle dolaylı hesaplama örneği

Tablo XVI. Analık, babalık, babanın bulunmadığı durumlarda dolaylı babalık hesaplaması

Ailele	Babalık oranı (%)	Annelik oranı (%)	Çocuklardan kümülatif babalık oranı (%)	Babanın babasından babalık oranı (%)	Babanın annesinden babalık oranı (%)	Babanın kardeşlerinden kümülatif babalık oranı (%)
1	99.99350	99.9999	99.1632	96.3211	96.2317	76.1429
2	99.99997	99.9965	98.5684	95.4567	85.3336	66.8971
3	99.99560	99.99615	-	96.6879	99.7166	81.2229
4	99.99910	99.99972	89.6136	99.5016	99.002	88.5565
5	99.98600	99.99939	-	81.2137	96.8875	84.8881
6	99.99980	99.9993	88.4761	89.6215	95.8984	90.1789
7	99.99999	99.99998	76.8977	94.6741	90.5127	92.4897
8	99.99448	99.9992	99.2162	85.3692	92.4565	-
9	99.99321	99.9968	81.3022	98.5611	87.6128	86.3215
10	99.99995	99.9991	62.6719	99.4569	89.6543	79.8999

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. ISO 17025 standardının soybağı analizlerine uygulanması

Babalık testlerinin güvenilirliği bir dizi parametreye sıkıca bağlıdır :

Analizi yapılacak bir verinin adaleti ne ölçüde sağlayacağı, analizin yapılacağı laboratuvarın yönetim şekline, personelinin nitelik ve eğitimine, kalite sistemlerinin varlığına, teknik altyapısına ayrıca yorum ve raporlama sistemlerine bağlıdır. Bu çerçevede, en azından ölçme ve deney yapımında uluslararası laboratuvar standartlarından biri olan **ISO 17025 “DENEY VE KALİBRASYON LABORATUVARLARININ YETERLİLİĞİ İÇİN GENEL ŞARTLAR”** adlı belgeye uyulması gerekir. Her ne kadar ISO 17025, gerekli koşulları babalık testi laboratuvarlarına özgü biçimde sıralamayıp genel terimler kullansa da, bu standart babalık testlerinde de kullanılabilir biçimde genişletilebilir (Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar 2005, Morling N. ve ark. 2002).

Bu tezin amaçlarından biri, anılan standardın sadece babalık belirtilimlerinde değil, değişik amaçlarla gerek adli makamlardan, gerekse bireysel başvurulardan gelebilecek her türlü soy bağı belirtimi taleplerinin cevaplanabilmesinde de kullanılabilir şekilde genişletilmesidir.

Aşağıda, Türk Standartları Enstitüsü tarafından Aralık 2005 tarihinde yayınlanan, ICS 03.120.20 sayılı **TSEN ISO/IEC 17025 “DENEY VE KALİBRASYON LABORATUVARLARININ YETERLİLİĞİ İÇİN GENEL ŞARTLAR”** (bundan böyle ISO 17025 olarak geçecektir) adlı standardın, soybağı belirtimi yapılan laboratuvarlarda kullanılabilmesini sağlamak üzere, önerilen değişikler sunulmuştur.

5.1.1. “4.7 Müşteriye Hizmet”

ISO 17025 standardının “4.7 Müşteriye Hizmet” başlıklı maddesinin içeriği aşağıda belirtildiği gibidir:

4.7.1 Diğer müşterilerin gizliliğinin sağlanması kaydıyla, laboratuvar müşterilerle veya onların temsilcileri ile müşterinin taleplerini açıklığa kavuşturma ve yapılan işle ilgili olarak laboratuvarın performansını izleme konularında işbirliğine istekli olmalıdır.

Not 1 - Böyle bir iş birliği aşağıda belirtilenleri içerebilir:

- a- Müşteri için yapılan deneylere ve/veya kalibrasyonlara tanıklık etmek üzere müşteriye veya müşterinin temsilcisine laboratuvarın izin verilen alanlarına giriş imkanı sağlanması,*
- b- Doğrulama amaçları için müşteri tarafından ihtiyaç duyulan deney ve/veya kalibrasyon malzemelerin hazırlanması, ambalajlanması ve gönderilmesi.*

Not 2 - Müşteriler, iyi iletişimin sürdürülmesine, teknik konularda tavsiyelere ve kılavuzluğa ve sonuçların dayandırıldığı görüşlere ve yorumlara değer vermektedir. Müşteri ile iletişim, özellikle büyük görevlendirmelerde, işin süresince sürdürülmelidir. Laboratuvar, herhangi bir gecikme veya deneylerin ve/veya kalibrasyonların performansında önemli sapmalar olduğunda müşteriye bilgi vermelidir.

4.7.2 Laboratuvar, müşterilerden hem olumlu hem de olumsuz olan geri besleme bilgilerini almalıdır. Bu bilgiler, yönetim sistemini, deney ve kalibrasyon faaliyetlerini ve müşteri hizmetlerini iyileştirmek için analiz edilmeli ve kullanılmalıdır.

Not - Geri bildirim örnekleri, müşteri memnuniyeti araştırmaları ve deney veya kalibrasyon raporlarının müşteri ile birlikte gözden geçirilmesini içerir.

5.1.2. “4.7 Müşteriye Hizmet” maddesi için önerilen ek:

Soy bağı belirtilmelerinde, bazı kaygıların ortaya çıkması durumunda ikinci bir incelemenin yapılabilmesi ve farklı bir bilirkişi görüşünün alınması önem taşır. ISO 17025, böyle bir ihtiyaca cevap vermekten uzaktır. Maddeye aşağıda belirtilen şekilde bir ekleme yapılması önerilmektedir:

Laboratuvarın incelenmek üzere teslim aldığı örnek miktarının yeterli olması durumunda ikinci bir laboratuvarın aynı deneyi tekrarlayabileceği şekilde örneğin bir bölümünün uygun koşullarda korunması gerekir.

“4.8 Şikayetler”

ISO 17025 standardının “4.8 Şikayetler” başlıklı maddesinin içeriği aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar, müşterilerden veya diğer ilgililerden gelen şikayetlerin çözümlenmesi için bir politikaya ve prosedüre sahip olmalıdır. Şikayetlerin, incelemelerin ve laboratuvar tarafından yapılan düzeltici faaliyetlerin tamamı kaydedilmelidir”.

5.1.3. “4.8 Şikayetler” maddesi için önerilen ek:

Maddeye, herhangi bir şikayetin olması durumunda laboratuvarın ne şekilde davranması gerektiği eklenmelidir. Bu madde tek başına yeterli olmamaktadır, buna laboratuvarın ne şekilde davranması gerektiği eklenmelidir. Bu maddeye aşağıda belirtilen şekilde bir ekleme yapılarak bu ihtiyaca cevap verilebilir.

Herhangi bir şikâyet durumunda laboratuvar, başvuru sahiplerini başka bir laboratuvardan ikinci bir görüş alabilecekleri konusunda bilgilendirmelidir.

“5.2 Personel”

ISO 17025 standardının “5.2 Personel” başlıklı maddesinin içeriği aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar yönetimi, özel cihazları çalıştıran, deney ve/veya kalibrasyonları yapan, sonuçları değerlendiren ve deney raporları ve kalibrasyon/ölçümleme sertifikalarını imzalayan bütün personelin yeterliliğini sağlamalıdır. Henüz eğitim görmekte olan personel kullanıldığında, uygun bir nezaret sağlanmalıdır. Özel görevleri yürüten personel, gereken uygun öğretim, eğitim, deneyim ve/veya ispat edilen beceriler temel alınarak vasıflandırılmalıdır.

Not 1 - Bazı teknik alanlarda (tahribatsız muayene gibi), belirli görevleri yapacak personelin şahsi sertifikaya sahip olması gerekebilir. Laboratuvar, belirlenmiş olan personel sertifikalandırma şartlarının yerine getirilmesinden sorumludur. Personel sertifikalandırmanın şartları kurullarla belirlenmiş olabilir, belirli bir teknik alanla ilgili standartlar kapsamında olabilir veya müşteri tarafından talep edilebilir.

Not 2 - Deney raporlarında yer alan ve görüş bildirme ve yorumlamadan sorumlu personel, yapılan deneyle ilgili olarak uygun vasıflara, eğitime, deneyime ve tatmin edici bilgiye sahip olmasının yanı sıra aşağıda verilen özellikleri haiz olmalıdır:

- Deneyi yapılan malzeme, ürün ve benzerlerinin imalat teknolojisi veya bunların kullanım şekilleri veya amaçlanan kullanım alanları ve bunların kullanımı sırasında oluşabilecek hatalar veya bozulmalar hakkında gereken bilgiye,*
- Yönetmelik ve standartlarda belirtilen genel şartlar hakkında bilgiye,*
- Tespit edilen sapmaların, söz konusu olan malzeme, ürün ve benzerlerinin normal kullanımlarındaki önemi hakkında bilgiye.*

5.2.2 Laboratuvar yönetimi, laboratuvar personelinin eğitim ve becerilerine yönelik hedefleri belirlemelidir Laboratuvar, personelin eğitim ihtiyaçlarının belirlenmesi ve eğitimin sağlanmasıyla ilgili bir politikaya ve prosedürlere sahip olmalıdır. Eğitim programı, laboratuvarın halen sürdürmekte olduğu ve gelecekte beklenen işlerine uygun olmalıdır. Eğitim faaliyetlerinin etkinliği değerlendirilmelidir.

5.2.3 Laboratuvar, kadrolu veya sözleşmeli personeli kullanılmalıdır. Sözleşmeli ve ilave teknik ve kilit destek personel kullanıldığında, bu kişilerin yeterli özelliklerde olmaları ve laboratuvarın yönetim sistemine göre çalışmalarını sağlamalı ve çalışmalarına nezaret edilmelidir.

5.2.4 Laboratuvar, deneyler ve/veya kalibrasyonlarda görev alacak idari, teknik ve kilit destek personelin geçerli görev tanımını yapmalıdır.

Not - Görev tanımları birçok yolla yapılabilir. En azından aşağıdaki hususlar tanımlanmalıdır:

- Deney ve/veya kalibrasyonların yapılması ile ilgili sorumluluklar,
- Deney ve/veya kalibrasyonların planlanması ve sonuçların değerlendirilmesi ile ilgili sorumluluklar,
- Görüşlerin ve yorumların rapor haline getirilmesi ile ilgili sorumluluklar,
- Metotta değişiklik ve geliştirmelerin yapılması ve yeni metotların geçerli kılınması ile ilgili sorumluluklar,
- Gerekli olan uzmanlık ve deneyim, Vasıflar ve eğitim programları, idari görevler.

5.2.5 Yönetim, belirli tipteki numune alma işlemlerini, deney ve/veya kalibrasyonu yapmak, deney raporlarını ve kalibrasyon sertifikalarını düzenlemek, görüş bildirmek ve yorumlamak ve belirli tipteki cihazları kullanmak için, özel personeli yetkilendirmelidir. Laboratuvarda, sözleşmeli personel de dahil bütün teknik personelin yetkileri, yeterlilikleri, öğrenim durumları ve profesyonel vasıfları, eğitimleri, becerileri ve deneyimleri ile ilgili kayıtlar tutulmalıdır. Bu bilgiler kolaylıkla erişilebilir olmalı ve yetkilendirme ve/veya yeterliliğin teyit edildiği tarihi içermelidir”.

5.1.4. “5.2 Personel” maddesi için önerilen ek:

Soy bağı incelemeleri yapan laboratuvarların yöneticilerinin (sorumlu müdür) ve raporlara imza atan çalışanlarının eğitim düzeylerinin ne olacağı konusu pek çok ülkenin ulusal yasalarında belirtilmiş olmakla birlikte ISO 17025’te bu konuda bir açıklık bulunmamaktadır.

Bu maddeye, farklı yaklaşımlarla ekler yapılabilir. Şöyle ki, akredite bir üniversiteden mezun olunduktan sonra adli bilimler dalında yüksek lisans, insan genetiği dalında yüksek lisans eğitimi yapmış olmak, ya da tıp ve fen bilimlerinin bir

dalından mezun olduktan sonra soy bağı incelemeleri yapma izni bulunan bir laboratuvarında danışman denetiminde en az üç yıl çalışmış olmak gibi bir sınırlama ile bu sorun çözülebilir. Öte yandan gerek yönetici gerekse çalışanların eğitim açısından bir farkı bulunmamalıdır. (Atasoy S. ve ark. 1996, National Research Council 1996).

"5.3 Yerleşim ve Çevre Şartları"

ISO 17025 standardının Yerleşim ve Çevre Şartları ile ilgili 5.3.3 No.lu maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Birbirine uymayan faaliyetlerin sürdürüldüğü komşu alanlar arasında etkin bir ayırım olmalıdır. Karşılıklı kirlenmeyi önlemek için tedbirler alınmalıdır”

5.1.5. "5.3. Yerleşim ve çevre şartları" maddesi için önerilen ek:

Günümüzdeki DNA analizleri, çalışılan örnekten elde edilen DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (**Polymerase Chain Reaction – PCR**) tekniğine dayalı çoğaltımını içermektedir. Bu teknik kontaminasyona açıktır ve çoğaltımın yapılacağı mekânın diğer çalışma alanlarından farklılaştırılmasını gerektirir. Şu haliyle ISO 17025 standardı bu ihtiyaca cevap verecek nitelikte değildir. Bu nedenle 5.3.3 ve 5.3.5 maddelerine bazı eklemelerin yapılması önerilmektedir.

"5.3.3. maddesine" aşağıda belirtilen eklemeler yapılmalıdır:

PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemini kullanarak inceleme yapan bir laboratuvarın **PCR** ürünlerinin kontaminasyonunu/karşılıklı kirlenmesini önleyecek biçimde, laboratuvarı aşağıdaki çalışma alanlarına bölecek gerekli düzenlemeleri yapması gerekir.

- PCR ürünleri ile karşılıklı kirlenme olmasından kaygı duyulmayan işlemlerin yapıldığı çalışma alanı.
- PCR işlemlerinin yapılacağı ve örneklerin karşılıklı kirlenmeye uğramaması için gerekli önlemin alındığı çalışma alanı.

- PCR ürünlerinin kontamine olmaması için gerekli önlemlerin alındığı çalışma alanı.

ISO 17025 standardının Yerleşim ve Çevre Şartları ile ilgili 5.3.5 No.lu maddesi ise aşağıda belirtildiği gibidir:

Laboratuvarın düzenli ve temiz tutulmasını sağlayacak önlemler alınmalıdır. Bunun için özel prosedürler gerekli olabilir.

"5.3.5 maddesi" için önerilen ek:

PCR temelli analiz yapan laboratuvarların, PCR ürünlerinin çevreyi kontaminasyonunu izleyebileceği bir düzenlemesinin bulunması gerekir.

"5.4.2 Metotların seçilmesi"

ISO 17025 standardının "5.4.2 Metotların seçilmesi" maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

"Laboratuvar, müşterilerinin ihtiyaçlarını karşılayabilen ve uygulanacak deney ve/veya kalibrasyon metotlarına uygun, numune alma metodunu da içeren deney ve/veya kalibrasyon metotlarını kullanmalıdır. Tercihen, uluslararası, bölgesel veya ulusal standartlarda yer alan metotlar kullanılmalıdır. Laboratuvar, müşteri tarafından önerilmesi veya metodun uygun olmaması dışında standartların en son ve geçerli baskısının kullanılmasını sağlamalıdır. Tutarlı bir uygulamayı sağlamak üzere, gerekli olduğunda ayrıntılarla standard tamamlanmalıdır.

Müşteri, kullanılacak metodu belirtmemiş ise laboratuvar uluslararası, bölgesel veya ulusal standartlarda veya güvenilir bir teknik kuruluş tarafından veya ilgili bilimsel yayınlarda veya dergilerde yayınlanmış olan veya cihazı imal eden firma tarafından belirtilmiş olan uygun metotları seçmelidir. Laboratuvarda geliştirilmiş metotlar veya laboratuvara uyarlanan metotlar, kullanım için uygunlarsa ve geçerli kılınımlarsa kullanılabilirler. Müşteri, seçilen metottan haberdar edilmelidir.

Laboratuvar, seçilmiş olan metodu deneylere ve kalibrasyonlara uygulamadan önce, standard metotları uygulayabildiğini teyit etmelidir. Standard metot değişirse teyit işlemi tekrarlanmalıdır.

Laboratuvar, müşteri tarafından önerilen metodun uygun olmadığı veya yürürlükten kaldırılmış olduğu durumlarda müşteriyi bilgilendirmelidir”

5.1.6. “5.4.2 Metotların seçilmesi” maddesi için önerilen ek:

17025’in 5.4 Deney ve kalibrasyon metotları ve metodun geçerli kullanılmasına dair, “5.4.1 Genel” başlıklı bölümü uygun olmakla birlikte, “5.4.2 Metotların seçilmesi” bölümüne bazı eklentilerin yapılması gerekir.

Sözkonusu laboratuvarların, soy bağı belirtilmelerinde dış kalite kontrol (proficiency control) imkanının bulunduğu sistemleri seçmesi gerektiğine dair bir kısıtlamayı kapsamalıdır.

Ayrıca kullanılacak sistemin bulunulan toplumdaki dağılımı bilinmeli ve gereği gibi istatistik hesaplarda değerlendirilmelidir.

İncelenen sistemin mutasyon sıklığı da mutlaka belgelenmeli ve istatistik hesaplarda göz önüne alınmalıdır (Fimmers R. 1992).

“5.4.4. Standart olmayan metotlar”

ISO 17025 standardının “5.4.4 Standart olmayan metotlar” bölümü, standardı olmayan yöntemler kullanılmak zorunda kalındığında nasıl davranılması gerektiğini açıklamaktadır ve aşağıda belirttiği gibidir:

“Standard metotlar arasında yer almayan metotların kullanılması gerektiğinde, bu metotlar müşteri ile yapılacak anlaşmaya bağlı olmalı ve deney ve/veya kalibrasyon şartlarının amacını ve müşteri şartlarının açık bir tanımını içermelidir. Geliştirilen metot, uygulanmadan önce uygun şekilde geçerli kılınmalıdır.

Not- Yeni deney ve/veya kalibrasyon metotları için, deneyler ve/veya kalibrasyonlar yapılmadan önce prosedürler oluşturulmalı ve bu prosedürler en azından aşağıdaki bilgileri içermelidir:

a- Uygun tanımlama,

b- Kapsam,

c- Deneyi veya kalibrasyonu yapılacak malzemenin tarifi,

d- Tayin edilecek değişkenler veya miktarlar ve tayin aralıkları,

e- Teknik performans şartlarını da içeren düzenek ve cihazlar,

f- Gereken referans standartlar ve referans malzemeler,

g- Gereken çevre şartları ve kararlı duruma gelme süresi,

h- Aşağıdaki hususları kapsayacak şekilde prosedürün tarifi

-Malzemelerin tanıtım için işaretlenmesi, taşınması, depolanması ve hazırlanması,

-Çalışmaya başlamadan önce yapılması gereken kontroller,

-Cihazın doğru çalıştığı kontrolü ve gerektiğinde her kullanım öncesinde

cihazın kalibrasyonunun ve ayarının yapılması,

-Gözlemlerin ve sonuçların kaydedilme metodu,

-Uygulanacak güvenlik tedbiri,

i- Kabul/ret için kriterler ve/veya şartlar,

j) Kayıt edilecek veriler, analiz metodu ve sunuş,

k) Belirsizlik veya belirsizliğin tayini için prosedür. “

5.1.7. "5.4.4 Standart olmayan metotlar" maddesi için önerilen ek:

Standart olmayan yöntemler kullanılmak zorunda kalındığında 17025'in 5.4.4 standart olmayan metotlar bölümü işe yaramakla birlikte, konusu soy bağı incelemesi olduğunda oluşabilecek hatanın istenmeyen yasal sonuçları yüzünden standart olmayan bir yöntemi tek başına kullanmaktan kaçınılmalıdır.

Kullanılan standart dışı yöntemin en az bir başka laboratuvar tarafından kullanıldığı bilindiğinde, analizin bir de bu laboratuvarda tekrarlanması ve bu laboratuvarın da görüşünün alınması gerekmektedir.

"5.4.5 Metotların geçerli kılınması"

ISO 17025 standardının "5.4.5.2 Metotların geçerli kılınması" maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

"Laboratuvar, standard olmayan metotların, laboratuvarda tasarımılanmış/geliştirilmiş metotların, amaçlanan kapsamı dışında kullanılan standard metotların ve ilavelerle takviye edilmiş veya değiştirilmiş standard metotların, amaçlanan kullanıma uygun olduklarını teyit etmek için geçerli kılınmalıdır. Geçerli kılma, yapılacak uygulama veya uygulama alanının ihtiyaçlarını da karşılayacak kapsamda olmalıdır. Laboratuvar, elde edilen sonuçları ve geçerli kılma için kullanılan prosedürü ve metodun amaçlanan kullanıma uygun olup olmadığını belirten bir ifadeyi kaydetmelidir.

***Not 1** - Geçerli kılma, numune alma, taşıma ve nakil ile ilgili prosedürleri içerebilir.*

***Not 2** - Bir metodun performansının (çalışmasının) belirlenmesi için kullanılan teknikler, aşağıdakilerden biri veya bunların birlikte uygulanması olmalıdır:*

-Referans standartlar veya referans malzemeler kullanarak kalibrasyon,

-Diğer metotlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırma,

- Laboratuvarlar arası karşılaştırma,
- Sonucu etkileyen faktörlerin sistematik bir değerlendirmesi,
- Metodun teorik prensiplerinin bilimsel olarak anlaşılması ve uygulama sırasında elde edilen deneyime dayanılarak sonuçların belirsizliğinin değerlendirilmesi.

Not 3 - Geçerli kılınmış standard olmayan metotlarda bazı değişiklikler yapıldığında, bu değişikliklerin etkisi doküman haline getirilmeli ve uygunsa yeni geçerli kılma işlemi yapılmalıdır.”

5.1.8. "5.4.5.2 Metotların geçerli kılınması " maddesi için önerilen ek:

Analizlerin hata kabul etmezliği dikkate alındığında bir soy bağı laboratuvarının standart olmayan bir metodu kullanma durumunda bu tekniklerden sadece birini uygulaması kesinlikle doğru olmayıp 2 no.lu notta sıralanan ve aşağıya çıkarılan tekniklerin hepsinin uygulanması gereklidir. Bu teknikler aşağıdaki gibidir:

- Referans standartlar veya referans malzemeler kullanılarak kalibrasyon,
- Diğer metotlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırma,
- Laboratuvarlar arası karşılaştırma,
- Sonucu etkileyen faktörlerin sistematik bir değerlendirilmesi,
- Metodun teorik prensiplerinin bilimsel olarak anlaşılması ve uygulama sırasında elde edilen deneyime dayanılarak sonuçların belirsizliğinin değerlendirilmesi.

ISO 17025 standardının “5.4.5.3 Metotların geçerli kılınması” maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Geçerli kılınmış metotlardan elde edilebilen değerlerin aralığı ve doğruluğu (mesela, sonuçların belirsizliği, tespit sınırı, metodun seçiciliği, doğrusalılık, tekrarlanabilirlik ve/veya uyarlık sınırı, dış faktörlere ve/veya numune/deney parçası

matrisinden girişimlere olan duyarlılığa karşı dayanıklılık) kullanım amacına göre değerlendirilmeli ve bunlar müşterinin ihtiyaçlarına uygun olmalıdır.

***Not 1** - Geçerli kılma, şartların tanımlanmasını, metotların özelliklerinin belirlenmesini, bu metodun kullanılmasıyla şartların yerine getirilebileceğinin teyidini ve geçerli kılma ile ilgili bir ifadeyi içermelidir.*

***Not 2** - Metodun geliştirilmesi devam ederken, müşterinin ihtiyaçlarının hala yerine getirildiğinin ispatlanması için düzenli olarak gözden geçirme gereklidir. Geliştirme planında yeni düzenlemeler gerektiren herhangi bir değişiklik onaylanmalı ve uygulanması için yetki verilmelidir.*

***Not 3** - Geçerli kılma, daima maliyetler, riskler ve teknik olasılıklar arasındaki bir dengedir. Bilgi eksikliği nedeniyle ölçme aralığının ve belirsizliğinin sadece basitleştirilmiş yollarla verilebildiği birçok durum (mesela, doğruluk, tespit sınırı, seçicilik, doğrusallık, tekrarlanabilirlik, uyarlık, kesinlik ve karşılıklı hassasiyet) vardır.”*

5.1.9. "5.4.5.3 Metotların geçerli kılınması " maddesi için önerilen ek:

Laboratuvar uygun popülasyon sıklıklarını kullanmalı bu konuda kendi ürettiği sıklık değerlerini değil de bir başka laboratuvarın verilerini kullanması durumunda hazırlanacak raporda açıkça belirtmelidir.

"5.4.6 Ölçme belirsizliğinin tayini"

ISO 17025 standardının "5.4.6.2 Ölçme belirsizliğinin tayini" maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

"Deney laboratuvarları, ölçme belirsizliğini tayin etmek için prosedürlere sahip olmalı ve bu prosedürleri uygulamalıdır. Bazı durumlarda deney metodunun doğası, ölçme belirsizliğinin dikkatli, metrolojik ve istatistiksel bakımlardan geçerli tayininin

yapılmasını olanaksız kılar. Böyle durumlarda laboratuvar, en azından belirsizliğin bütün bileşenlerini tanımlamaya çalışmalı, mümkün olan en iyi tahmini yapmalı ve yazılan raporun belirsizlik hakkında yanlış fikir vermemesini sağlamalıdır. Makul bir tahmin, metodun uygulanması hakkındaki bilgiye, ölçmenin kapsamına dayanmalı ve mesela, önceki deneyimleri ve geçerli kılma verilerini dikkate almalıdır.

Not 1 -Ölçme belirsizliğinin tayininde gereken hassasiyet derecesi:

- Deney metodunun şartlarına,
- Müşterinin şartlarına,
- Şartnameye uygunluk ile ilgili kararların dayandırıldığı dar sınırların varlığına bağlıdır.

Not 2 - İyi bilinen bir deney metodunun, ölçme belirsizliğinin ana kaynaklarına ait sınır değerlerini ve hesaplanan sonuçların ifade edilme şeklini belirlediği durumlarda, laboratuvar, rapor hazırlama talimatlarını uyguladığında bu maddeyi uygulamış sayılır.

5.1.10 "5.4.6.2 Ölçme belirsizliğinin tayini " maddesi için önerilen ek:

Dikkat edilecek olursa ölçüm belirsizliğinin ne olduğuna dair bilgiye laboratuvarın sahip olması şartını gerekli kılmamaktadır. Bir soy bağı laboratuvarının ise bu belirsizliği sadece ölçmekle yetinmeyip sonuçların yorumuna da dâhil edilmesi gerekir. Dolayısı ile analizlerin ölçme belirsizliği bilinmeli ve sonuçların yorumlarına dahil edilmelidir.

"5.4.7 Verilerin kontrolü"

ISO 17025 standardının "5.4.7.2 verilerin kontrolü" maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

"Deney veya kalibrasyon verilerinin elde edilmesi, işleme tabi tutulması, kaydedilmesi, rapor haline getirilmesi, muhafaza edilmesi veya iptal edilmesi için

bilgisayarlar veya otomatik cihazlar kullanıldığında, laboratuvar aşağıdaki hususları sağlamalıdır.

a) Kullanıcı tarafından geliştirilen bilgisayar yazılımı, kullanım için uygun olacak şekilde yeterli ayrıntıda dokümante edilmelidir,

b) Verilerin bütünlüğünü korumak için prosedürler hazırlanmalı ve uygulanmalıdır. Bu prosedürler, sadece bunlarla sınırlı kalmamak kaydıyla, verilerin giriş veya toplama doğruluğunu ve gizliliğini, veri depolamayı, veri aktarımını ve verilerin işlenmesini içermelidir,

c) Bilgisayarlar ve otomatik cihazlar, fonksiyonlarını düzgün olarak yerine getirecek şekilde bakıma alınmalı ve deney ve kalibrasyonların doğruluğunu korumak için gereken çevre ve işletme şartları sağlanmalıdır.

***Not** - Tasarlanmış uygulama alanı içinde genel kullanımda olan ticari yazılımların (mesela metin yazma, veri tabanı ve istatistikle ilgili yazılımlar) yeterince geçerli kılınmış olduğu varsayılır. Bununla birlikte, laboratuvarda yapılan yazılım değişiklikleri/düzenlemeleri Madde 5.4.7.2 a'ya göre geçerli kılınmalıdır.*

5.1.11. "5.4.7.2 Verilerin kontrolü" maddesi için önerilen ek:

Bir soy bağı laboratuvarında bilgisayar aracılığı ile yapılacak her türlü hesaplamanın yetkili bir uzman ya da laboratuvar sorumlusu tarafından değerlendirilip onaylandıktan sonra verilecek bilirkişi raporunda kullanılması gerekir. Böyle bir koşul 17025'in ilgili maddesinde bulunmamakla birlikte soy bağı laboratuvarları için vazgeçilmez bir önem taşır.

"5.5.1 "Cihazlar"

ISO 17025 standardının Cihazlarla ilgili 5.5.1. maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar, deneylerin ve/veya kalibrasyonların doğru bir şekilde yapılması için gereken bütün numune alma imkanları, ölçüm ve deney cihazları ile (numune alınmasını ve deney ve/veya kalibrasyon malzemelerinin hazırlanmasını ve veri işleme ve analizlerinin yapılmasını da içerecek şekilde) donatılmalıdır. Laboratuvar, daimi kontrolü dışındaki cihazları kullanma ihtiyacı duyduğunda, söz konusu cihazların bu standardın şartlarını karşılamaını sağlamalıdır.”

5.1.12. "5.5.1. Cihazlar" maddesi için önerilen ek:

PCR kullanılarak analiz yapıldığında, PCR öncesi ve sonrasında sadece o örneğe özgü malzeme kullanılması gerekir (Mullis K.B. 1990, Bing D.H ve ark. 2001).

Soy bağı incelemelerinde hangi genetik analiz yöntemlerinin kullanılacağı ve yöntem güvenilirliğinin ne şekilde belirleneceğine ilişkin bağlayıcı nitelikte uluslar arası bir standart bulunmamakta, her ülke kendi ulusal yasa ve yönetmelikleri doğrultusunda seçimini yapmaktadır. (National Research council 1996).

Bu nedenle seçilecek yöntemin ve incelenecek genetik sistemlerin başvuru sahibi ile uzlaşılarak belirlenmesi ve sonuçlara ne ölçüde güvenileceğinin *ve uluslar arası kabul göreceğinin* laboratuvar tarafından açıkça ifade edilmesi şarttır.

“5.6.3.4. Nakil ve depolama”

ISO 17025 standardının Nakil ve depolama ile ilgili 5.6.3.4 maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar, kirlenme ve niteliğini kaybetmesini önlemek ve doğruluklarını korumak amacı ile referans standartların ve referans malzemelerin nakledilmeleri, taşınmaları, depolanmaları ve kullanılmaları işlemlerinin emniyetle yapılması için prosedürlere sahip olmalıdır.

Not: Referans standardlar ve referans malzemeler, deneyler, kalibrasyonlar veya numune almak için, laboratuvarın dışında kullanılacaklarsa ilave prosedürler gerekli olabilir.”

5.1.13. “5.6.3.4 Nakil ve depolama” maddesi için önerilen ek”:

Bir soy bağı inceleme laboratuvarının numune almak için laboratuvar dışında başka kişi ve mekanları kullanması halinde ilave prosedürlerinin olması kaçınılmazdır. Bu nedenle anılan maddede bir olasılık şeklinde gösterilen bu koşul soy bağı laboratuvarı için bir zorunluluğa dönüştürülmelidir. (National Research Council 1996).

5.2. Soybağı analizleri için örnek alma

Numune alımı soy bağı analizi yapan laboratuvarlar açısından çok büyük önem taşır. (Bing D.H. ve Bieber F.R. 2001). Bu çerçevede her ne kadar 17025 in 5.7 numune alma ile ilgili bölümleri oldukça ayrıntılı önlemleri sıralamakta ise de yeterli değildir (Troyer D. 2008).

“5.7.1. Numune alma”

ISO 17025 standardının Numune alma ilgili 5.7.1 maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar, yapacağı deney veya kalibrasyon için maddelerden, malzemelerden veya ürünlerden numune alıyorsa, numune alma ile ilgili bir plana ve prosedürlere sahip olmalıdır. Numune alma planı ve numune alma prosedürü, numune almanın gerçekleştirildiği yerde, kolayca ulaşılabilir durumda bulundurulmalıdır. Numune alma planları, deney metodunda yer alması veya gerekli görülmesi halinde uygun istatistiksel metotlara dayandırılmalıdır. Numune alma işlemi, deney ve/veya kalibrasyonların geçerliliğini sağlamak için kontrol edilecek etkenleri ele almalıdır.

Not 1 - Numune alma, bütünü temsil eden bir numunenin deneyinin veya kalibrasyonunun yapılması için bir maddenin, malzemenin veya ürünün bir bölümünün sağlanmasını tarif eden tanımlanmış bir prosedürdür. Numune alma işlemi, deneyini veya kalibrasyonu yapılacak maddenin malzemenin veya ürünün

şartnamesinde belirtilmiş olabilir. Bazı durumlarda (mesela adli konularla ilgili analizlerde) numune, bütünü temsil edecek durumda olmayabilir. Bu durumda mevcut numuneler kullanılır.

***Not 2** - Numune alma prosedürleri, gerekli olan bilgiyi elde etmek için bir maddeden, malzemedan veya üründen bir numunenin veya numunelerin seçilmesini, numune alma planını, geri çekilmesini ve hazırlanmasını açıklamalıdır.”*

5.2.1. “5.7.1 maddesi için önerilen ek:”

Numune alımı soy bağı analizi yapan laboratuvarlar açısından çok büyük önem taşır. Bu çerçevede her ne kadar 17025 in 5.7.1 numune alma ile ilgili bölümleri oldukça ayrıntılı önlemleri sıralamakta ise de yeterli değildir. Soy bağı analizi için örnek alındığında, kişinin kimliğinin tam ve doğru olarak belirlenebilmesine yönelik prosedürlerin (fotoğraf, parmak izi) bulunması ve örneğin laboratuvar içinde değil de farklı bir mekânda alınması durumunda delil teslim zincirine uyulacak biçimde belgelenebilmesi şarttır. Kimlik tespitinin yeterli olmadığı, delil teslim zincirinin izlenemediği durumlarda verilen raporun, yargı makamları açısından geçerliliği olamaz. (Tomlinson J.J ve ark. 2006).

“5.8.1 Deney numunelerine ve kalibrasyona gelen cihazlara uygulanan işlemler”

ISO 17025 standardının Numune alma ilgili 5.8.1 maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvar, deney veya kalibrasyon numunesinin doğruluğunun ve laboratuvarın ve müşterinin çıkarlarının korunması için gereken bütün önlemleri de içeren, deney ve/veya kalibrasyon numunesinin nakli, laboratuvara kabul edilmesi, işaretlenmesi, korunması, muhafazası ve/veya atılması için prosedürlere sahip olmalıdır.”

5.2.2. “5.8.1 maddesi için önerilen ek:”

Başvuru sahibinden alınan örneğin referans materyali ya da bilimsel amaçlarla kullanılmak istenmesi durumunda, bir başka deyişle örneğin alınma nedeninden farklı bir amaçla değerlendirilmesi istendiğinde, örnek sahibi ile laboratuvar arasında özel bir anlaşmanın bulunması gerekir. 5.8.1 maddesine bu ekin yapılması ile soy bağı analiz laboratuvarlarında kullanılmaya uygun hale gelecektir.

“5.9.1 Deney ve kalibrasyon sonuçlarının kalitesinin güvencesi”

ISO 17025 standardının Numune alma ilgili 5.9.1 maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“Laboratuvarın, üstlenilen deneylerin ve kalibrasyonların geçerliliğinin izlenmesi için kalite kontrolü prosedürleri olmalıdır. Sonuç olarak elde edilen veriler eğilimlerin tespit edilmesine imkan verecek şekilde kaydedilmeli ve uygulanabilir olduğunda, sonuçların gözden geçirilmesi ne istatistiksel teknikler uygulanmalıdır. Bu izleme, planlanmalı ve gözden geçirilmelidir; bunlarla sınırlı olmamakla birlikte izleme, aşağıda belirtilenleri içerebilir: Düzenli olarak sertifikalı referans malzemelerin kullanılması ve/veya ikincil referans malzemeleri kullanılarak iç kalite kontrolün yapılması, Laboratuvarlar arası karşılaştırma veya yeterlik deney programlarına iştirak edilmesi, Aynı veya farklı metotları kullanarak deneylerin ve kalibrasyonların tekrar yapılması, Muhafaza edilen malzemenin yeniden deneye veya yeniden kalibrasyona tabi tutulması, Bir malzemenin farklı özelliklerine sonuçlarının birbiriyle ilişkisinin araştırılması.

Not - Seçilen metotlar, üstlenilen işin tip ve hacmine uygun olmalıdır.”

5.2.3. “5.9.1 maddesi için önerilen ek:”

Deney ve kalibrasyon sonuçlarının kalite güvencesinin nasıl sağlanacağını düzenleyen 17025 standardının 5.9 maddesi, iç ve dış kalite kontrollerinin yapılmasını önermekle birlikte bunları şart koşmaz. Hâlbuki bir soy bağı analiz laboratuvarının kalite güvencesi bu tür kontrollere sıkıca bağlıdır. Bir laboratuvarın her yıl en az iki kez laboratuvarlar arası yeterlik deney programına katılması, ayrıca

çalışan uzmanların düzenli olarak iç ve dış kalite kontrollerinden geçirilmesi vazgeçilmezdir.

Gerek analiz sonuçlarının gerekse uzmanların katıldığı kalite kontrollerindeki verimlerinin derecelendirilmesi ve tolerans alt sınırının belirlenmesi şarttır. Böylesi önlemler 17025 standardında yer almamaktadır.

“5.10 Sonuçların rapor haline getirilmesi”

ISO 17025 standardının sonuçların rapor haline getirilmesi ile ilgili 5.10.1 maddesi aşağıda belirtildiği gibidir:

“5.10.1: Laboratuvar tarafından yapılan her bir deneyin, kalibrasyonun veya deney veya kalibrasyon serilerinin sonuçları, doğru, açık, kesin ve tarafsız olarak ve deney veya kalibrasyon metotlarının bütün özel talimatlarına uygun bir şekilde rapor haline getirilmelidir.

Sonuçlar, normalde bir deney raporu veya bir kalibrasyon sertifikası şeklinde verilir (Not 1) ve müşteri tarafından talep edilen ve deney ve/veya kalibrasyon sonuçlarının yorumlanması için gereken bütün bilgileri ve kullanılan metodun gerektirdiği bütün bilgileri içermelidir. Bu bilgiler, normal olarak Madde 5.10.2, Madde 5.10.3 ve Madde 5.0.4'ün gerektirdiği bilgilerdir.

Kuruluş içindeki müşteriler için yapılan deneyler veya kalibrasyonlarda ve müşteri ile yazılı bir mutabakat olması durumunda, sonuçlar basitleştirilmiş bir yolla rapor haline getirilebilir. Deneyleri ve/veya kalibrasyonları yapan laboratuvarında, Madde 5.10.2'den Madde 5.10A'e kadar olan maddelerde bulunan ve müşteriye verilen raporda belirtilmeyen herhangi bir bilgiye doğrudan ulaşılabilmelidir.

Not 1 - Deney raporları ve kalibrasyon sertifikaları, bazen deney sertifikaları ve kalibrasyon raporları olarak da adlandırılır.

Not 2 - Deney raporları veya kalibrasyon sertifikaları, bu standardın şartlarını sağlayacak şekilde kopya olarak veya elektronik ortamda veri aktarımı yardımıyla yayınlanabilir.

5.10.2 Deney raporları ve kalibrasyon sertifikaları: Laboratuvarın aksini yapmak için geçerli bir sebebi olmadıkça, her deney raporu veya kalibrasyon sertifikası en azından aşağıdaki bilgileri içermelidir:

- a) Başlık (mesela "Deney raporu" veya "Kalibrasyon sertifikası" gibi),
- b) Laboratuvarın adı ve adresi, deney ve/veya kalibrasyon laboratuvarın adresinden farklı bir yerde yapıldıysa yeri,
- c) Deney raporunun veya kalibrasyon sertifikasının özgün bir tanımlaması (mesela seri numarası gibi) ve sayfaların deney raporu veya kalibrasyon sertifikasının bir kısmı olduğunun anlaşılmasını sağlamak için her sayfanın üzerine bir tanımlama işaretinin konulması ve deney raporu veya kalibrasyon sertifikasının son kısmının açık bir şekilde tanımlanması,
- d) Müşterinin adı ve adresi,
- e) Kullanılan metodun tanıtımı,
- f) Deneyi veya kalibrasyonu yapılan malzemelerin tarifi, durumu ve açık kimliği,
- g) Deney sonuçlarının geçerliliği ve uygulanması ile ilgili olmaları durumunda, deneyi veya kalibrasyonu yapılan malzemelerin laboratuvara kabul edilme tarihi ve deneyin veya kalibrasyonun yapılma tarihleri,
- h) Deney sonuçlarının geçerliliği ve uygulanması ile ilgili olmaları durumunda, laboratuvar veya diğer kuruluşlar tarafından kullanılan numune alma plan ve prosedürlerine yapılan atıf,
- i) Deney veya kalibrasyon sonuçları, uygun olduğunda ölçü birimleriyle birlikte
- j) Deney raporunu veya kalibrasyon sertifikasını imzalayan elemanların adları, görevleri ve imzaları veya eş değer tanıtımları,
- k) Duruma göre, sonuçların sadece deneyi ve kalibrasyonu yapılan malzemelerle ilgili olduğunu belirten bir beyana yer verilmesi.

Not 1 - Deney raporlarının ve kalibrasyon sertifikalarının basılı kopyalarında, sayfa numarası ve toplam sayfa sayısı yer almalıdır.

Not 2- Laboratuvarların verdikleri raporlarda veya sertifikalarda, deney raporunun veya kalibrasyon sertifikasının tamamının kopyalanması haricinde, laboratuvarın yazılı onayı olmadan kısmen kopyalanamayacağını belirten bir beyanın yer alması önerilir.”

5.2.4. "5.10. maddesi için önerilen ek:"

5.10.2 deney raporları ve kalibrasyon sertifikaları başlığı altında sıralanan ve her deney raporu veya kalibrasyon sertifikasında mutlaka bulunması gereken 11 bilgi, bir soy bağı analiz laboratuvarına yeterli değildir. Bu sorunu aşmak üzere, Uluslar arası adli genetik derneği, 2002 yılında yayınladığı babalık incelemeleri komisyon raporunda, anılan maddeye: "*Elde edilen verinin mümkün olduğu takdirde babalık yada akrabalık indeksi (paternity index PI) ile belirtilen bir benzerlik oranına dayalı hesabının da yapılması ve verilecek raporda yer alması şart koşulmalıdır.*" şeklinde bir eklemenin yapılmasını ve Babalık İndeksinin bu bilgiler ışığında yeniden hesaplanması gerekir. Böylesi genel bir yaklaşımın, laboratuvarların kalite güvencesini sağlamakta yeterli olamayacağı açıktır.

5.3. Biyolojik babaya ulaşamama durumunda dolaylı soybağı analizi

Babalık ve akrabalık analizlerine ilişkin bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde, bu tez çerçevesinde önerilen düzenlemenin ayrıntılarına geçmeden önce, bu konu ile ilgili araştırmaların tarihsel gelişimine değinmekte fayda görülmüştür.

1938 yılında E. Essen-Möller'in yayınlamış olduğu, babalığın kanıtlanmasının teorik temellerine ilişkin yayını yaklaşık 20 yıl göz ardı edildikten sonra, 1960'lardan itibaren anne çocuk ve baba olup olmadığı araştırılmak istenen erkeğin yer aldığı standart babalık davalarında elde edilen serolojik fenotiplerden yola çıkarak babalığın olasılığının hesabında kullanılmaya başlanmıştır (Essen-Möller E. 1938, Essen-Möller E.1939).

Essen-Möller in matematikçi meslektaşı Quensel ile birlikte önerdiği ilişki $W= X/(X+Y)$ şeklinde idi ki, X terimi incelenen erkeğin"baba olduğu" hipotezini ve Y "baba olmadığını" tanımlamakta idi. Bu formül belirli bir popülasyona uygulandığında incelenen anne ve çocuğun fenotiplerinin aynısını gösteren anne-çocuk çiftlerinin var olduğunun kabulüne ve bunlardan x ile tanımlanan bir

bölümünün baba olup olmadığı araştırılan erkekle aynı fenotipi taşıyan bir babaları olduğunu kabul eder (Abacı E. 1996).

Ayrıca genel popülasyonda baba olup olmadığı araştırılan erkekle aynı fenotipi taşıyan bir bölüm erkek olduğunu kabul eder ve bunları Y ile tanımlar. W, baba olup olmadığı incelenen erkeğin Y'ler arasında bulunma olasılığını gösterir.

Essen Möller in bu formülü yayınlamasından 23 yıl önce Ihm, ardından Gürtler tarafından geliştirilen bu formül, DNA analizlerinin henüz uygulanmadığı tarihlerde kan grubu verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Ihm P. 1961, Gürtler H. 1956).

Essen Möller formülünden farklı bir yaklaşımla Winner, baba olup olmadığı incelenen erkeğin dışlanma olasılığını hesaplamış ise de bu yaklaşım fazla rağbet görmemiştir. 1985 ten itibaren Essen Möller bağlantısını savunan yada eleştiren çok sayıda araştırma bulunur (Wiener 1976).

Orijinal bağlantıda W ile gösterilen terim bu süreçte, günümüzde de kullanılmakta olan PI (babalık indeksi) ile değiştirilmiştir. Esasen PI karmaşık hesaplamaları gerektirir. Bir yandan Hardy - Weinberg dengesini diğer yandan çarpanlar kuralını kullanarak geliştirilen algoritmalar, başta Brenner olmak üzere değişik araştırmacıların istatistik hesaplamalarda kullanılabilecek ticari yazılımlar geliştirmesini sağlamıştır (Brenner C. 1997).

Zaman içerisinde, Hardy - Weinberg yasasına uymayan durumlarda, örneğin aile içi evlenmelerin sık olduğu topluluklarda ayrıca etnik gruplar içerisinde yapılacak hesaplamalarda bazı düzeltme faktörleri de göz önüne alınmış olsa da, böylesi düzeltmelerin Pi değeri üzerinde fazlaca bir etkisi bulunmadığı ileri sürülmektedir (Devlin B. 1990).

Bulgular bölümünde sunulan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 10 aileye mensup kişilerin oluşturduğu kümelerin her birinde, erkeğin, çocuğun biyolojik babası olduğunun kabulüne dayalı olarak yapılan hesaplamalar incelendiğinde, anne, baba ve çocuk üçlülerinin her birinde, en az % 99.73 oranında

bir olasılıkla, erkeğin çocuğun biyolojik babası olabileceği sonucuna varılmıştır. (Tablo VI-XV) Hesaplamalarda her bir sistemin Türk toplumundaki frekansları bu konuda çalışan araştırmacıların verilerinin bir araya getirilmesi ile oluşturulmuş sıklıklar kullanılmıştır (Erkol Z. ve ark. 2007, Cakir H. .2001, Cakir H. 2002a, Cakir H. 2002b, Cakir H. 2003, Cakir H. 2004)

Erkeğin, anne olmaksızın bir çocuğun biyolojik babası olup olmadığını belirleyen laboratuvarların giderek arttığı ve bu laboratuvarlara internet üzerinden dahi ulaşılabildiğini göz önüne alarak, tez kapsamında incelenen ailelerde, anne olmaksızın babalık olasılıkları ayrıca hesaplanmış ve Tablo XVI'te belirtildiği gibi, hiç birinde % 99.73'lük alt sınıra ulaşamadığı görülmüştür.

Erkeğe ulaşılamayan durumlarda, birinci kuşak kan akrabaları aracılığı ile dolaylı olarak babalık olasılığının belirlendiği, ayrıca, bir kadın ya da erkeğin bir çocuğun babaanne ya da dedesi olma iddiasında, yine dolaylı incelemelere başvurulduğu bilinmektedir.

Bu tez çerçevesinde oluşturulan aile kümelerinde, resmi makamlar ya da özel başvuruların bu yöndeki talebini dolaylı yollarla karşılamayı kabul eden laboratuvarların % 99.73 doğruluk oranına ne ölçüde yaklaşabilecekleri hesaplanmış ve Tablo XVI'da birarada sunulduğu gibi, hiç birinde yasaların öngördüğü alt sınıra ulaşamadığı belirlenmiştir.

Meydana getirebileceği adli sonuçlar açısından çok büyük önem taşıyan bu durumun, ISO 17025 standardında ele alınması ve başvuru sahiplerinin sonuçların güvenilirliği açısından aydınlatılması vazgeçilmezdir.

6. ÖZET

Ceza ve hukuk davalarını karara bağlamada dayanak teşkil edecek ve soybağı incelemelerini kapsayacak DNA analizlerinin, uluslar arası kalite güvencesini sağlamak amacıyla, deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar adı ile bilinen TS EN ISO/IEC 17025 standardı, DNA analizlerini gerçekleştirecek laboratuvarlara uygun şekilde geliştirilmeyi amaçlayan bu çalışma, anılan standarda bir dizi ek önerilerinde bulunmaktadır. Ayrıca, soybağı ilişkilerinin aydınlatılmasında kullanılan olasılık hesaplarının yapılmasında işe yarayan en uygun model belirlenmeye çalışılmıştır.

Birbiriyle akrabalık ilişkileri bulunmayan on aileye mensup anne, biyolojik baba olduğu kabul edilen erkek, 18 yaşından büyük çocukları ve erkeğin birinci kuşak kan akrabaları (annesi, babası, kardeşleri) D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA ve amelogenin lokusları için tiplenmiş ve gerek babanın bulunduğu, gerekse bulunmadığı koşullarda, PI babalık indeksi hesaplanmıştır. Tüm ailelerde erkeğin bulunduğu koşullarda babalık indeksi, % 99.73 doğruluğun üzerine çıktığı halde, bulunmadığı hallede bu sayıya ulaşamadığı gösterilmiş, dolaylı babalık sonucu veren laboratuvarların, bu durumu başvuru sahiplerine bildirim zorunluluğu tartışılmıştır.

7. SUMMARY

Criminal cases and lawsuits may depend on DNA kinship analysis which requires certain standardized protocols. TS EN ISO/IEC 17025 is the international standard used for this purpose by the laboratories worldwide. This study aimed to provide a series of suggestions that would be complementary to the general conditions provided in the standard in order to create quality assurance for the experiments and calibrations of DNA laboratories. Additionally the most fit model for the statistical evaluation of kinship analysis was specified.

Ten unrelated families were chosen. Mothers, males accepted to be biological fathers, children older than 18 years old, first generation relatives of the fathers (their mothers, fathers, sisters and brothers) were typed for D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S3317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, FGA and amelogenin loci and paternity index (PI) was calculated both for the options with and without the father. In case the father was included PI was over the %99.73 limit for all the families whilst it was below in the absence of the father.

8. KAYNAKLAR

Abacı E., D- Vitamini bağlayıcı protein ile transferrinin gen frekanslarının saptanması ve uygulama alanları, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul (1996).

AmpFISTR Identifiler PCR Amplification Kit User's Manual, Applied Biosystems, USA 2001.

Arsebük E. Türk Medeni Hukuku, C:2, 2. Kitap, Aile Hukuku, Ankara, 1940, sayfa 370, Okunduğu yer: N. Kırkbeşoğlu, Soybağı alanında Biyoetik ve Hukuk Sorunları, Vedat Kitapçılık, İstanbul, 2006

Atasoy S. kişisel görüşme 2008.

Atasoy S., Abacı kalfıoğlu E., Polat O., "Postgraduate Forensic Science Education in Turkey" Journal of Forensic Sciences 41:2 2006-208 (1996).

Balding D.J. When can a DNA profile be regarded as unique? *Sci Justice*. Oct-Dec;39(4):257-60, 1999.

Bär W., A. Kratzer M., Maechler and W. Schmid, Postmortem stability of DNA, *Forensic Sci. Int.* 39 (1988), pp. 59–70.

Baur M., Elston R., Gürtler H., Henningsen K., Hummel K., H. Matsumoto H. , Mayr W., Morris J., Niejenhuis L., Polesky H., Salmon D., Valentin J., Walker R, No fallacies in the formulation of the paternity index, *Am. J. Hum. Genet.* 39 (1986) 528–536.

Beltran S., Galinier R., Allienne J., Boissier J., Cheap, rapid and efficient DNA extraction method to perform multilocus microsatellite genotyping on all *Schistosoma mansoni* stages. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008 Aug;103(5):501-3.

Bieber F.R. Overview of human identity testing and forensic genetics. *Curr Protoc Hum Genet*. 2001 May;Chapter 14:Unit 14.1.

Biesecker L.G., Bailey-Wilson J.E., Ballantyne J., Baum H., Bieber F.R., Brenner C., Budowle B., Butler J.M., Carmody G., Conneally P.M., Duceman B., Eisenberg A., Forman L., Kidd K.K., Leclair B., Niezgodka S., Parsons T.J., Pugh E., Shaler R., Sherry S.T., Sozer A., Walsh A., Epidemiology. DNA identifications after the 9/11 World Trade Center attack. *Science*. 2005 Nov 18;310(5751):1122-3.

Bing D.H., Bieber F.R. Collecting and handling samples for parentage and forensics DNA-based genetic testing. *Curr Protoc Hum Genet*. 2001 May; Chapter 14:Unit 14.2.

Bing D.H., Bieber F.R. RFLP analysis of forensic DNA samples with single-locus VNTR genetic markers. *Curr Protoc Hum Genet*. 2001 May; Chapter 14:Unit 14.5.

Borst P. Ethidium DNA agarose gel electrophoresis: how it started. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology IUBMB Life* 2005 Nov;57(11):745-7

Brenner C., Symbolic kinship program, *Genetics* 145 (1997) 535–542

Brinkmann B. Overview of PCR-based systems in identity testing. *Methods Mol Biol*. 1998;98:105-19.

Budowle B., Bieber F.R., Eisenberg A.J. Forensic aspects of mass disasters: strategic considerations for DNA-based human identification. *Leg Med (Tokyo)*. 2005 Jul;7(4):230-43.

Butler J.M. *Forensic DNA Typing*, Second Edition, Elsevier USA 2005.

Butler J.M. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques*. 2007 Oct;43(4):ii-v.

Cakir H.A. , Simsek F., Altunbas S., Tasdelen B., Distribution of TH01, TPOX, CSF1PO, vWA, D13S317, D7S820 and D16S539 alleles in a Turkish population sample, *Forensic Science International* Volume 124, Issues 2-3, , 27 December 2001, 224-225.

Cakir H.A., Celebioglu A., Yardimci E., Y-STR haplotypes in Central Anatolia region of Turkey, *Forensic Science International* Volume 144, Issue 1, , 11 August 2004, 59-64.

Cakir H.A., Celebioglu A., Simsek F., STR data for the AmpFISTR SGM Plus from Aegean region of Turkey, *Forensic Science International* Volume 129, Issue 2, , 26 September 2002, 137-139. a

Cakir H.A., Celebioglu A., Altunbas S., STR data for the AmpFISTR SGM Plus from Marmara region of Turkey, *Forensic Science International* Volume 127, Issue 3, , 17 July 2002, 240-242.b

Cakir H.A., Celebioglu A., Altunbas S., Yardimci E., Allele frequencies for 15 STR loci in Van-Agri districts of the Eastern Anatolia region of Turkey, *Forensic Science International* Volume 135, Issue 1, , 29 July 2003, 60-63.

Castella V., Dimo-Simonin N., Brandt C., Casadevall and Mangin P., *Forensic Science International* Volume 156, Issue 1, 6 January 2006, Pages 70-73

Chakraborty R., Kidd K., The utility of DNA typing in forensic work, *Science* 254 (1991) 1735–1739.

Cólica M. V., Rodríguez Cardozo M. B., Abovich M. A., Szöcs A., Di Lonardo A. M. Paternity cases when the alleged father is missing *International Congress Series*, Volume 1261, April 2004, Pages520-522

Crespillo M, Paredes MR, Prieto L, Montesino M, Salas A, Albarran C, Alvarez-Iglesias V, Amorin A, Berniell-Lee G, Brehm A, Carril JC, Corach D, Cuevas N, Di Lonardo AM, Doutremepuich C, Espinheira RM, Espinoza M, Gómez F, González A, Hernández A, Hidalgo M, Jimenez M, Leite FP, López AM, López-Soto M, Lorente JA, Pagano S, Palacio AM, Pestano JJ, Pinheiro MF, Raimondi E, Ramón MM, Tovar F, Vidal-Rioja L, Vide MC, Whittle MR, Yunis JJ, Garcia-Hirschfel J. Results of the 2003-2004 GEP-ISFG collaborative study on mitochondrial DNA: focus on the mtDNA profile of a mixed semen-saliva stain. *Forensic Sci Int.* 2006 Jul 13;160(2-3):157-67.

Deney ve kalibrasyon laboratuvarlarının yeterliliği için genel şartlar, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar Ankara 2005.

Devlin B., Risch N., Roeder K., No excess of homozygosity at loci used for DNA fingerprinting, *Science* 249 (1990) 1416–1420.

Dixon L.A., Dobbins A.E., Pulker H.K., Butler J.M., Vallone P.M., Coble M.D., Parson W., Berger B., Grubwieser P., Mogensen H.S., Morling N., Nielsen K., Sanchez J.J., Petkovski E., Carracedo A., Sanchez-Diz P., Ramos-Luis E., Brión M., Irwin J.A., Just R.S., Loreille O., Parsons T.J., Syndercombe-Court D., Schmitter H., Stradmann-Bellinghausen B., Bender K., Gill P. Analysis of artificially degraded DNA using STRs and SNPs--results of a collaborative European (EDNAP) exercise. *Forensic Sci Int.* (2006 Dec 1);164(1):33-44.

Elston R., Probability and paternity testing, *Am. J. Hum. Genet.* 39 (1986)112–122.

Elston R.C., J. Steward A, general model for the genetic analysis of pedigree data, *Hum. Hered.* 21 (1971) 523–542.

EPICENTRE. BuccalAmp™ DNA Extraction Kit. Product insert. Lit. #150.

Erkol Z., Tug A, Yesim D. A., Elma C., Buken B, Cetinyurek A., Erkol H, STR data for the AmpFISTR identifier loci from an old settlement in northwestern

Turkey, *Forensic Science International* Volume 173, Issues 2-3, , (20 December 2007), Pages 238-240.

Essen-Möller E., Quensel C.E., Zur Theorie des Vaterschaftsnachweises auf Grund von Aehnlichkeitsbefunden, *Dt. Z. ges. gerichtl. Med.* 31 (1939) 70.

Essen-Möller E., Die Beweiskraft der Ahnlichkeit im Vaterschaftsnachweisen - theoretische Grundlagen, *Mitt. Anthropol. Ges. (Wien)* 68 (1938) 9–53.

Fahle G.A., Fischer S.H., Comparison of six commercial DNA extraction kits for recovery of cytomegalovirus DNA from spiked human specimens, *J. Clin. Microbiol.* 38 (2000), pp. 3860–3863.

Fimmers R., Henke L., Henke J., Baur M.P., How to deal with mutations in DNA-testing, *Adv. Forensic Haemogenet.* 4 (1992) 265–267.

Foreman L.A., Evett I.W. Statistical analyses to support forensic interpretation for a new ten-locus STR profiling system. *Int J Legal Med.* 2001;114(3):147-55.

Fregeau C.J., Bowen K.L. and. Fournery R.M , Validation of highly polymorphic fluorescent multiplex short tandem repeat systems using two generations of DNA sequencers, *J. Forensic Sci.* 44 (1999), pp. 133–166.

Fung W.K., Hu Y.Q. Evaluating mixed stains with contributors of different ethnic groups under the NRC-II Recommendation 4.1. *Stat Med.* 2002 Dec 15;21(23):3583-93.

Gençcan, Ö.U. Soybağının kurulması, reddi, düzeltilmesi, itiraz davaları ve soybağının hükümleri, Yetkin Yayınevi, Ankara 2002, sayfa 32 Okunduğu yer: N. Kırkbeşoğlu, Soybağı alanında Biyoetik ve Hukuk Sorunları, Vedat Kitapçılık, İstanbul, 2006

Glasel J. (1995). "Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios". *BioTechniques* 18: 62–63.

Greenspoon S.A., Scarpetta M.A. , Drayton M.L. and. Turek S.A, QIAamp spin columns as a method of DNA isolation for forensic casework, *J. Forensic Sci.* 43 (1998), pp. 1024–1030.

Gürtler H., Principles of blood group statistical evaluation of paternity cases at the University Institute of Forensic Medicine Copenhagen, *Acta. Med. Leg. Soc. (Liege)* 9 (1956) 83–94.

Huang Q, Fu W.L. Comparative analysis of the DNA staining efficiencies of different fluorescent dyes in preparative agarose gel electrophoresis. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(8):841-2.

Hughes B.A, Nottingham K.E., Suggs J.A. Accreditation at the US EPA-NEIC. National Enforcement Investigations Center. *Qual Assur.* 2001 Jan-2002 Mar;9(1):31-41.

Ihm P., Die mathematischen Grundlagen, vor allem für die statistische Auswertung des serologischen und anthropologischen Gutachtens, in: K. Hummel (Ed.), *Die medizinische Vaterschaftsbegutachtung mit biostatistischem Beweis*, Fischer, Stuttgart, 1961, 128–145.

Jeffreys A.J., Neumann R. Factors influencing recombination frequency and distribution in a human meiotic crossover hotspot. *Hum Mol Genet.* 2005 Aug 1;14(15):2277-87.

Jung J.M., Comey C.T., Baer D.B. and Budowle B., Extraction strategy for obtaining DNA from bloodstains for PCR amplification and typing of the HLA-DQ-alpha-gene, *Int. J. Legal. Med.* 104 (1991), . 145–148.

Kenefic L.J, Beaudry J., Trim C., Daly R., Parmar R., Zanecki S., Huynh L., Van Ert M.N., Wagner D.M., Graham T., Keim P. High resolution genotyping of *Bacillus anthracis* outbreak strains using four highly mutable single nucleotide repeat markers. *Lett Appl Microbiol.* 2008 May;46(5):600-3.

Kırkbeşoğlu N. Soybağı alanında Biyoetik ve Hukuk Sorunları, Vedat Kitapçılık, İstanbul, 2006

Kızıllarlan H. Ceza Muhakemesi Adli Tıp ve Adli Bilimlerde Vücutun Muayenesi ve Örnek Alma, Kızıllarlan Serisi.I Ankara 2007, s.143-144

Kramvis S., Bukofzer and Kew M.C., Comparison of Hepatitis B virus DNA extractions from serum by the QIAamp blood kit, GeneReleaser and the Phenol–Chloroform method, *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996), pp. 2731–2733.

Kunter N., Yenisey F., Nuhoglu A. Muhakeme Hukuku Dalı Olarak Ceza Muhakemesi Kanunu, Beta Basım Yayım dağıtım A.Ş. (2008) s. 939

Lahiri D.K., Bye S., Nurnberger J.I., Hodes M.E. and Crisp M., A non-organic and non-enzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than do nine other methods tested, *J. Biochem. Bioph. Methods* 25 (1992), pp. 193–205.

Lander E.S., DNA fingerprinting on trial, *Nature* 339 (1989) 501–505.

Leclair B., Scholl T. Application of automation and information systems to forensic genetic specimen processing. *Expert Rev Mol Diagn.* 2005 Mar;5(2):241-50

Legendre M., Pochet N., Pak T., Verstrepen K.J. Sequence-based estimation of minisatellite and microsatellite repeat variability. *Genome Res.* 2007 Dec;17(12):1787-96.

Li. C., Chakraborti A., Basic fallacies in the formulation of the paternity index, *Am. J. Hum. Genet.* 37 (1985) 807–818.

Malkoc E., Neuteboom W. The current status of forensic science laboratory accreditation in Europe. *Forensic Sci Int.* 2007 Apr 11;167(2-3):121-6.

Mickey M., Gjertson D., Terasaki P., Empirical validation of the Essen- Möller probability of paternity, *Am. J. Hum. Genet.* 39 (1986) 123–132.

Morling N., Allen R., Carracedo A., Gada H., Guidet F., Hallenberg C., Martin W., Mayr W., Olaisen B., Pascali V., Schneider P.M., Paternity Testing Commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on genetic investigations in paternity cases, *Forensic Sci. Int.* 129 (2002) 148–157.

Morris J., Gjertson D., The paternity index, population heterogeneity, and the product rule, in: W. Bar, A. Fiori, U. Rossi (Eds.), *Advances in Forensic Haemogenetics*, vol. 5, Springer-Verlag, Berlin, 1993, . 435–437.

Morton N., Genetic structure of forensic populations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 2556–2560.

Mullis K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction, *Scientific American*, 262 : 56-55 1990.

National Research Council, *The Evaluation of Forensic DNA Evidence*, National Academy Press Washington, D.C. 1996.

Niewoehner L., Andrasko J., Biegstraaten J., Gunaratnam L., Steffen S., Uhlig S., Antoni S. GSR2005--continuity of the ENFSI proficiency test on identification of GSR by SEM/EDX. *J Forensic Sci.* 2008 Jan;53(1):162-7.

Pretty I.A., Hildebrand D.P. The forensic and investigative significance of reverse paternity testing with absent maternal sample. *Am J Forensic Med Pathol.* 2005 Dec;26(4):340-2.

Primorac D., Schanfield M.S. Application of forensic DNA testing in the legal system. *Croat Med J.* 2000 Mar;41(1):32-46.

Published Population Data From a Variety of STR Systems - <http://www.cstl.nist.gov/strbase/populationdata.htm> - erişim tarihi 15-07-2008.

Raina A., Dogra T.D. Application of DNA fingerprinting in medicolegal practice. *J Indian Med Assoc.* 2002 Dec;100(12):688-94.

Sambrook and Russell (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Saymen, F.H. ve Elbir, H.K. Türk Medeni Hukuku, Cilt 3, Aile Hukuku, 2.b.s, İstanbul, 1960, sayfa 290 Okunduğu yer: N. Kırkbeşoğlu, Soybağı alanında Biyoetik ve Hukuk Sorunları, Vedat Kitapçılık, İstanbul, 2006

Schneider P.M. Scientific standards for studies in forensic genetics. *Forensic Sci Int.* 2007 Jan 17;165(2-3):238-43.

Sensabough G., et al. (Eds.), *Progress in Forensic Genetics*, vol. 8, 1999

Serra A., Bento A.M. , Carvalho M., Andrade L., Batista L., Oliveira M.C., Lopes V., Balsa F. , Corte-Real F. , Anjos M.J. X-chromosome STR typing in deficiency paternity cases *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, Volume 1, Issue 1, August 2008, 162-163

Sinclair K. and McKechnie V.M., DNA extraction from stamps and envelope flaps using QIAamp and QIAshredder, *J. Forensic Sci.* 45 (2004), pp. 229–230.

Singer-Sam J., Tanguay R.L. and Riggs A.D., Use of Chelex to improve the PCR signal from a small number of cells. *Amplifications* 11 3 (1989),

Sorensen K. J., Turteltaub K., Vrankovich G., Williams J. and Christian A. T., Whole-genome amplification of DNA from residual cells left by incidental contact *Analytical Biochemistry*, Volume 324, Issue 2, 15 January 2004, 312-314

Stivers D., Chakraborty R., A test of allelic independence based on distributions of allele size differences at microsatellite loci, *Hum. Hered.* 47 (1997) 66–75.

Sweet D., Lorente M., Valenzuela A., Lorente J.A. and Alvarez J.C, Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method, *Forensic Sci. Int.* 83 (1996), pp. 167–177.

Tamaki K., Jeffreys A.J. Human tandem repeat sequences in forensic DNA typing. *Leg Med (Tokyo)*. 2005 Jul;7(4):244-50.

Thomson J. Southern blotting of genomic DNA for DNA profiling *Methods Mol Biol.* 1998;98:49-56.

Tomlinson J.J., Elliott-Smith W., Radosta T. Laboratory information management system chain of custody: reliability and security. *J Autom Methods Manag Chem.* (2006) ;2006:74907.

Troyer D. Biorepository standards and protocols for collecting, processing, and storing human tissues. *Methods Mol Biol.* (2008) ;441:193-220.

Varsha. DNA fingerprinting in the criminal justice system: an overview. *DNA Cell Biol.* 2006 Mar;25(3):181-8

Velidedeoğlu, H.V. Türk Medeni Hukuku Cilt 2, Aile Hukuku, 5. B.S. İstanbul, 1965 sayfa 312, Okunduğu yer: N. Kırkbeşoğlu, Soybağı alanında Biyoetik ve Hukuk Sorunları, Vedat Kitapçılık, İstanbul, 2006

Walker R.H. (Ed.), Inclusion Probabilities in Parentage Testing, American Association of Blood Banks, Arlington, Virginia, USA, 1983.

Walsh P.S., Metzger D.A. and Higuchi R., Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material, *Biotechniques* 10 (1991), pp. 506–513.

Wehner H., Rittner C., Das Bayessche Theorem und die Überprüfung seiner Anwendung zur Berechnung der Vaterschaftsplaussibilitat, *Z. Rechtsmedizin* 69 (1971) 125–131.

Weir B.S. Laurie C. Dependency effects in multi-locus match probabilities. *Theor Popul Biol.* 2003 May;63(3):207-19.

Wenk R.E., et al., Determination of sibship in any two persons, *Transfusion* 36 (1996) 259–262.

Whittall H. The forensic use of DNA: Scientific success story, ethical minefield. *Biotechnol J.* 2008 Mar;3(3):303-5.

Wiener, Likelihood of parentage, in: L. Sussman (Ed.), *Paternity Testing by Blood Grouping*, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1976, pp. 124–131.

Yavuz İ., Türk Popülasyonunda 15 Farklı Dörtlü Tekrarlanan Dizi Lokusunun (STR) Allel Frekans Dağılımının Araştırılması, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, 2003.

Yenerer-Çakmut Ö. Soybağının belirlenmesi ve Ceza Hukukunda Çocuğun Soybağını Değiştirme Suçu, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş. 2008, s. 159.

9. ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI : Yani Koçias

ÜNVANI : Biyolog

DOĞUM TARİHİ : 17.06.1976

DOĞUM YERİ : İstanbul

EĞİTİM DURUMU :

2002- İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı
DOKTORA (tez aşamasında)

1999 – 2001 İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Yüksek Lisans

1994 - 1998 İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

1988 – 1994 Zoğrafyon Lisesi

AKADEMİK ETKİNLİKLER

Uluslar arası bilimsel toplantılarda sözlü sunulan ve tam metni ya da özeti yayınlanan bildiri veya konuşmalar:

1. **Kocias Y.**, Kalfoglu E A., Yükseloğlu H., Atasoy S. "The Fact of Chimerism Following Allogeneic Blood Marrow Transplantation (BMT) and Its Forensic Evaluation by the Use of 6 STR's" 16th Meeting of the International Association of Forensic Sciences Montpellier, France 2-7 September 2002 Vol 45 p 20
2. **Y. Kocias**, G. Petridis, S. Ozcan, H. Yukseloglu, E. Kalfoglou, M. Michalodimitrakis, S. Atasoy. "DNA finds the driver: A case report". 20th Congress of International Academy of Legal Medicine (IALM), 23-26 Ağustos 2006, Budapeşte, Macaristan.

Uluslar arası bilimsel toplantılarda sunulan tam metni veya özeti yayınlanan posterler:

1. Ersi Abaci Kalfoglou PhD 1,2, **Yani Kocias 2**, S. Sebnem Özcan MS 1, Gavril Petridis MS 1, E. Hülya Yükseloglu PhD 1, Sevil Atasoy PhD 1,2, "A Decade for Searching the Father". 22nd Congress of the International Society of Forensics Genetics, 22-25 Ağustos 2007, Kopenhag, Danimarka.

10. EKLER

Yargıtay Hukuk Genel Kurulu Kararı

KARAR İLİŞKİLERİ (Kanun-Madde-Konu)
743 TÜRK KANUNU MEDENİSİ (Madde 295)
- AKRABALIK/ NESEBİN TASHİHİ

4721 TÜRK MEDENİ KANUNU (Madde 301)
- AKRABALIK/ NESEBİN TASHİHİ

Esas No : 1994 / 671
Karar No : 1995 / 162
Merci : Yargıtay Hukuk Genel Kurulu
Tarih : 08/03/1995

Özü : 1- BABALIK DAVASININ KABULÜ İÇİN ÖNCELİKLE, DOĞUMDAN ÖNCE ÜÇYÜZÜNCÜ GÜN İLE YÜZ SEKSENİNCİ GÜN ARASINDA BABA ADAYI İLE ANNENİN CİNSEL İLİŞKİDE BULUNDUĞUNUN GERÇEKLEŞMESİ GEREKİR. 2- BABALIK DAVASINDA, DAVALININ KURTULUŞ BEYYİNESİ OLAN HER TÜRLÜ BENZEMEZLİK TESTLERİNİN YAPILMASI İCAP EDER.

5119

DAVA : Taraflar arasındaki "babalık" davasından dolayı yapılan yargılama sonunda; İstanbul Asliye 10. Hukuk Mahkemesi'nce davanın kabulüne dair verilen 3.7.1992 gün ve 1992/189-284 sayılı kararın incelenmesi davalı vekili tarafından istenilmesi üzerine,

Yargıtay 2. Hukuk Dairesi'nin 22.6.1993 gün ve 5004-6399 sayılı ilâmı; (... Doğumdan önceki üçyüzüncü gün ile yüzsekseninci gün arasında baba adayı ile annenin cinsel ilişkide bulunduğunun gerçekleşmesi gerekir. Tarafların ortaya koyduğu deliller döllemeye tekabül eden günlerde davalının çocuğun annesi davacıyla ilişkisinin varlığını kabule yeterli bulunmamaktadır. Davalının davacıya yazdığı mektuplarda da gebeliğe başlangıcında cinsel ilişkide bulduklarını belirlemeye yeterli bir söz ve dolaylı bir anlatımda bulunmaktadır. Cinsel ilişki kanıtlanmadığına göre davanın reddi yerine kabulüyle yazılı olduğu gibi hüküm kurulması doğru bulunmamıştır..) gerekçesiyle bozularak dosya yerine geri çevrilmekle yeniden yapılan yargılama sonunda; mahkemece önceki kararda direnilmiştir.

Hukuk Genel Kurulu'nca incelenerek direnme kararının süresinde temyiz edildiği anlaşıldıktan ve dosyadaki kağıtlar okunduktan sonra gereği görüldü:

KARAR : Dava, babalığın tesbiti istemine ilişkindir. Davacı kayden Alman uyruklu bir kişi ile evli iken davalı ile bir süre birlikte olmaları neticesi 26.3.1986 doğumlu küçük Cenk'in dünyaya geldiğini ileri sürerek davalının babalığına karar verilmesini istemiştir.

Gerçekten babalık davası, irs ve nesep ilişkisinin kuşkuya yer bırakmayacak biçimde açığa çıkarılması halinde kabul edilebilir. Yapılan rutin kan tahlili babalık hususunda ancak olumsuz bir delil sağlayarak çocuğun davalı babadan olmadığını belirleyebilir. Yoksa çocuğun babasının davalı olduğunu kesin olarak saptamayız. Ne varki, babanın kim olduğunu tayin ve tesbitte tıbda büyük bilimsel gelişmeler

gerçekleşmiştir. Bilimin sağladığı olanaklardan yararlanılması gerektiği kuşkusuzdur. Bu çerçevede davalının kurtuluş beyyinesi olan her türlü benzemezlik testlerinin yapılmasının icap ettiği de aşikardır. Olayda, davacı, çocuk ve baba olduğu iddia olunan davalının kan grupları belirlenerek Adli Tıp Kurumun'ca bir inceleme yapılmamışsa da bu yeterli değildir. O itibarla davada sağlıklı bir hukuksal bir çözüme ulaşılabilmesi için öncelikle davacı, çocuk ve davalının Alyuvar (Eritrosit) ANTİJENLERİ (ABO, Rh (CDE, c de) UNSS, Dffy (Fya Fyb) Kidd (jka, jkb) Keli (Kk); LOKOSİT ANTİJENLERİ (HA-A),(HLA-B), (HLA-C), (HLA-DR), (HLA-DQ); ALYUVAR (ERİTROSİT) ENZİMLERİ (Adenozin Dezaminaz, Esteraz D. Fosforoğlu Komutaz, gliyok salaz (I), Adanilat Kinaz, Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz, Alanin Transaminaz, Eritrosit asit Fosfataz (LAP); SERİM PROTEİNLERİ (Heptoglobin, Hemaglobin ve Transiferin) testleri mutlaka yapılmalı, baba olduğu iddia olunan kişinin % 99,73 oranından daha az ihtimalle baba olabileceği belirlenmiş ise, karbonik Anhidraz (Ca II) Peptidoz A, Gm. levis araştırması ve karşılaştırılması ile sonuca gidilmelidir. Yine de aynı oranda bir sonuç elde edilemiyor ise bu kez (DNA) tiplemesi yapılması imkanı araştırılmalı, davalının baba olamayacağı ihtimali tamamen kaldırılıp deliller hep birlikte değerlendirilerek takdir edilmelidir.

Bu yön düşünülmezsizin eksik inceleme ile yetinilen önceki kararda direnilmesi doğru değildir. O halde usul ve yasaya uygun bulunmayan direnme kararı BOZULMALIDIR.

SONUÇ : Davalı vekilinin temyiz itirazlarının kabulü ile, direnme kararının yukarıda gösterilen nedenlerden dolayı (BOZULMASINA) ikinci görüşmesinde oyçokluğu ile karar verildi.

İstatistik hesaplarda kullanılan sıklıklar

Türkiye geneli için D3S1358 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
13	0.003
14	0.065
15	0.266
16	0.257
17	0.233
18	0.162
19	0.014

Türkiye geneli için HUMvWA lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
13	0.013
14	0.109
15	0.101
16	0.202
17	0.286
18	0.196
19	0.081
20	0.012

Türkiye geneli için D16S539 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
8	0.033
9	0.159
10	0.079
11	0.314
12	0.243
13	0.150
14	0.022

Türkiye geneli için D2S1338 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
16	0.042
17	0.203
18	0.134
19	0.126
20	0.151
21	0.032
22	0.047
23	0.117
24	0.072
25	0.064
26	0.009
27	0.003

Türkiye geneli için D8S1179 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
8	0.012
9	0.010
10	0.071
11	0.065
12	0.103
13	0.306
14	0.222
15	0.163
16	0.043
17	0.005

Türkiye geneli için D21S11 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
25	0.001
27	0.023
28	0.133
29	0.232
29.2	0.001
30	0.222
30.2	0.033
31	0.055
31.2	0.115
32	0.006
32.2	0.131
33	0.001
33.2	0.043
34.2	0.004

Türkiye geneli için **D18S51** lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
9	0.001
10	0.005
11	0.013
12	0.128
13	0.139
14	0.210
15	0.150
16	0.139
17	0.079
18	0.055
19	0.042
20	0.021
21	0.012
22	0.006

Türkiye geneli için **D19S433** lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
11	0.006
12	0.095
13	0.274
13.2	0.025
14	0.287
14.2	0.034
15	0.116
15.2	0.080
16	0.043
16.2	0.028
17	0.011
17.2	0.001

Türkiye geneli için THO1 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
6	0.300
7	0.168
8	0.119
9	0.214
9.3	0.177
10	0.022

Türkiye geneli için FGA lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
17	0.001
18	0.014
19	0.071
20	0.105
21	0.185
22	0.175
22.2	0.001
23	0.175
24	0.164
25	0.078
26	0.028
27	0.003

Türkiye geneli için TPOX lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
8	0.523
9	0.110
10	0.076
11	0.255
12	0.036

Türkiye geneli için CSF1PO lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
8	0.002
9	0.024
10	0.266
11	0.300
12	0.340
13	0.060
14	0.008

Türkiye geneli için D5S818 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
7	0.001
8	0.005
9	0.061
10	0.082
11	0.316
12	0.362
13	0.156
14	0.017

Türkiye geneli için D13S317 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
8	0.151
9	0.084
10	0.083
11	0.308
12	0.264
13	0.082
14	0.028

Türkiye geneli için D7S820 lokusuna ait allel frekansları

Allel	Türkiye frekansı
7	0.023
8	0.176
9	0.101
10	0.251
11	0.243
12	0.178
13	0.025
14	0.003

RIZA FORMU



*T.C.
İstanbul Üniversitesi
Adli Tıp Enstitüsü*

DNA DÜZEYİNDE SOYBAĞI BELİRTİMİ YAPILAN LABORATUARLARDA ULUSLARARASI KALİTE GÜVENCESİ

adlı proje için

AYDINLATILMIŞ RIZA FORMU

Projenin Amacı

Gerek ceza gerekse hukuk davalarında kimi zaman genetik özellikleri belirlenmesi gereken kişiye bir nedenle ulaşılamaz. Bu takdirde kan akrabalarından yola çıkarak dolaylı biçimde hedef kişi kimliklendirilir. Bu çalışma ile kimliklendirmenin olabildiğince gerçeğe yakınlığını sağlamak üzere oluşturulacak aile kümelerinin mensupları arasından kimin ya da kimlerin seçileceğine ve soybağı ilişkilerinin aydınlatılmasında kullanılan olasılık hesaplarının yapılmasında işe yarayan en uygun modelin belirlenmesine çalışılacaktır.

Bu uygulamada elde edilecek olan bulgular, tümü ile anonim kullanılacaklardır.

Bu proje İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 31 Ocak 2005 tarihli ve 2 sayılı toplantısının oluru ile uygulanmaktadır.

Katkılarınız için teşekkür ederiz.

Çalışmaya katılmayı kabul ediyorum

Adı, soyadı :

İmza :