

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman
Doç. Dr. Gönül Filoğlu



36-INDELPLEKS PANELİ KULLANILARAK AZERBAYCAN POPÜLASYONUNDA
GEN SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ VE ADLİ PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYTAKİN MAMMADOVA

İSTANBUL, 2022

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

Danışman
Doç. Dr. Gönül Filoğlu

36-INDELPLEKS PANELİ KULLANILARAK AZERBAJYAN POPÜLASYONUNDA
GEN SIKLIKLARININ BELİRLENMESİ VE ADLİ PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYTAKİN MAMMADOVA

İSTANBUL, 2022

Bu tez İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje no: TYL-2021-35516



TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans eğitimimin ders aşamasında bilgi, birikim ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Doç.Dr. Gönül Filoğlu, Prof.Dr. Emel Hülya Yükseloğlu, Doç.Dr. Hüseyin Çakan, Prof. Dr. Bülent Üner, Doç.Dr. Özlem Bülbül Ercan, Doç.Dr. Zeynep Türkmen, Doç.Dr. Selda Mercan, Prof. Dr. Faruk Aşıcıoğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Lisansüstü eğitimim süresince değerli bilgi, birikim ve hoşgörüsü ile bana yol gösterici ve destek olan, çalışmanın her aşamasında güleryüzünü esirgemeyen değerli danışman hocam Doç.Dr. Gönül Filoğlu'na,

Tezin laboratuvar aşamasında her türlü yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Sümeyye Zülal Şimşek, Ulviyye Mustafayeva, Kamran Mammadli ve tüm arkadaşlarıma,

Çalışmanın gerçekleşmesini sağlayan tüm gönüllülere,

Ve son olarak eğitim hayatım boyunca beni maddi ve manevi destekleyen, her kararında arkamda olan babam Nureddin Mammadov, annem İrade Mammadova'ya ve tüm aileme,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Aytakin Mammadova

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEr	1
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	3
1. Giriş ve Amaç	5
2. Genel Bilgiler	7
2.1. Adli Genetiğın Gelişimi.....	7
2.1.1. DNA'nın keşfi ve yapısı.....	7
2.1.2. İnsan genomunun yapısı.....	7
2.1.3. Genomun adli genetikte yeri	8
2.1.4. Genetik polimorfizm	8
2.2. Adli Genetikte İlk Kullanılan Polimorfik Sistemler.....	9
2.3. Adli Bilimlerde DNA Polimorfizmleri.....	10
2.3.1. Değişken sayıda ardışık tekrarlar (VNTR).....	11
2.3.2. Kısa ardışık tekrarlar (STR)	11
2.3.3. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP).....	13
2.3.4. İnsersiyon/delesyon polimorfizmleri (InDel).....	14
2.3.5. InDel'lerin adli genetikte kullanımı	15
2.3.6. 36-InDelpleks paneli	19

2.4.	Popülasyon Genetiği ve İstatistik	21
2.4.1.	Popülasyon genetiğinde temel kavramlar.....	21
2.4.2.	Hardy-Weinberg dengesi.....	22
2.4.3.	Popülasyon genetiğinde ve adli genetikte kullanılan istatistiksel parametreler.	24
2.4.4.	Veri analizinde kullanılan programlar.....	27
2.4.4.1.	<i>Arlequin 3.5</i>	27
2.4.4.2.	<i>PowerStats v.1.12</i>	28
2.4.4.3.	<i>MEGA X v.10.0.5</i>	28
2.4.4.4.	<i>Genetix 4.0.5</i>	28
2.5.	Azerbaycan'dan Türkiye'ye göç.....	28
3.	Gereç ve Yöntem	30
3.1.	Deneyde Kullanılan Gereçler	30
3.1.1.	Cihazlar	30
3.1.2.	Ticari kitler	31
3.1.3.	Kit dışı kimyasallar	31
3.1.4.	Kapiler elektroforez aşamasında kullanılan kimyasallar.....	31
3.2.	Deney Aşaması	32
3.2.1.	DNA örneklerinin toplanması	32
3.2.2.	DNA izolasyonu ve miktar tayini.....	34
3.2.2.1.	<i>E.Z.N.A Tissue DNA Kit ile ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyon talimatı</i>	34
3.2.2.2.	<i>Quant-iT™ dsDNA HS Assay kit ile DNA miktar tayini</i>	35

3.2.3.	PCR aşaması.....	35
3.2.4.	PCR ürünlerinin elektroforezi	38
3.2.4.1.	Örneklerin elektroforeze hazırlanması	38
3.2.4.2.	Örneklerin elektroforezi.....	38
3.2.4.3.	Verilerin analizi	39
3.2.5.	Çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemler.....	40
4.	Bulgular.....	41
4.1.	Otozomal 36 InDel Lokusuna Ait Genotiplerin Belirlenmesi.....	41
4.2.	İstatistiksel Bulgular	43
4.2.1.	InDel lokuslarının alel frekanslarının belirlenmesi	43
4.2.2.	Hardy-Weinberg dengesi.....	45
4.2.3.	Adli istatistiki parametreler	46
4.2.4.	Popülasyonlar arası farklılaşma (F_{ST} değerleri)	48
4.2.5.	Filogenetik ağaç çizimi	50
5.	Tartışma.....	52
6.	Sonuç	58
7.	Kaynaklar	59
EKLER.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	76

TABLolar LİSTESİ

Tablo I. 36- InDelpleks panelini oluşturan lokusların özellikleri (53).....	19
Tablo II. Kullanılan örneklerin bölgelere göre dağılımı.	33
Tablo III. PCR primer mix karışım miktarları.	36
Tablo IV. PCR bileşenleri miktarları.	37
Tablo V. PCR döngü koşulları.	37
Tablo VI. Elektroforez bileşenleri ve miktarları.	38
Tablo VII. Elektroforez koşulları.	39
Tablo VIII. 34 InDel lokusunun Azerbaycan popülasyonuna ait alel frekansları.....	44
Tablo IX. Hardy-Weinberg dengesi tablosu.....	46
Tablo X. Adli istatistiki parametreler.....	47
Tablo XI. Çeşitli popülasyonların 34 InDel lokusuna ait alel frekansları (74).....	49
Tablo XII. 34 InDel lokusunun popülasyonlar arası F_{ST} değerleri.....	50
Tablo XIII. F_{ST} analizi sonucu elde edilen p değerleri.....	50
Tablo XIV. Investigator DIPplex® kiti ile ortak 5 lokusun çeşitli popülasyonlarda rastgele eşleşme olasılıkları (47).....	55
Tablo XV. Çeşitli kimliklendirme panellerinin eşleşme olasılıklarının karşılaştırması.	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. DNA’da dizi polimorfizmleri (a) dizi polimorfizmleri ve (b) uzunluk polimorfizmleri (16).	9
Şekil 2. D8S1179 lokusundaki iki alelin yapısı. Aleller içerdikleri tekrar sayısına göre adlandırılır (10).....	12
Şekil 3. Tek nükleotid polimorfizminin yapısı (SNP).....	13
Şekil 4. İnsersiyon oluşumu (38) Şekil 5. Delesyon oluşumu (39).....	15
Şekil 6. Azerbaycan bölgelerine göre nüfus dağılımı (69).....	33
Şekil 7. 500 LIZ™ Size Standard.....	39
Şekil 8. 36 InDel lokusunun bir kadın örneğine ait elektroforegram görüntüsü.....	42
Şekil 9. 36 InDel lokusunun bir erkek örneğine ait elektroforegram görüntüsü.....	43
Şekil 10. 35 InDel lokusunun alel frekans oranlarının grafiksel görünümü	45
Şekil 11. Komşu birleştirme yöntemiyle çizilmiş filogenetik ağaç.....	51

KISALTMALAR

A: Adenin

ABI: Applied Biosystems, Inc

AMG: Amelogenin

AR-GE: Araştırma-Geliştirme

AW1: Wash buffer 1 (Yıkama tamponu 1)

AW2: Wash buffer 2 (Yıkama tamponu 2)

Bç: Baz çifti

Buffer BL: Lysis buffer (Lizis tamponu)

C: Cytosine (Sitozin)

Del: Delesyon (Çıkarma)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

dsDNA: Double stranded DNA (çift zincirli DNA)

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

F_{ST}: Fixation Index (Fiksasyon indeksi-Popülasyonlar arası genetik uzaklık)

G: Guanin

HBC Buffer: High Salt Wash Buffer (Yüksek Tuzlu Yıkama Tamponu)

HLA: Human Leukocyte Antigens (İnsan lökosit antijeni)

HWD: Hardy-Weinberg Dengesi

Ins: İnsersiyon (Eklenme)

InDel: İnsersiyon-Delesyon (Eklenme-Çıkarma)

Kb: Kilobaz

Kbç: Kilobaz çifti

µl: Microliter (Mikrolitre)

mRNA: Mesajcı RNA

PBS: Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponu çözeltisi)

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PD: Power of Discrimination (Ayrım Gücü)

PE: Power of Exclusion (Dışlama Gücü)

PIC: Polymorphism Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)

Pm: Probability of Match (Eşleşme Olasılığı)

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Sınırlayıcı parça uzunluğu polimorfizmi)

Rfu: Relative Fluorescence Units (Rölatif Floresan Birimi)

Rpm: Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)

Rs: Reference SNP ID number (SNP referans kimlik numarası)

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)

STR: Short Tandem Repeats (Kısa tekrar dizileri)

T: Timin

TPI: Typical Paternity Index (Tipik Babalık İndeksi)

U: Urasil

VNTR: Variable Number of Tandem Repeats (Değişken sayıda ardışık tekrarlar)



ÖZET VE ANAHTAR KELİMELELER

Son yıllarda, adli genetikte olay yerinden gelen az miktarda ve degrade olmuş DNA örneklerinden tam profil elde edilememesinden dolayı ampikon boyutları daha kısa olan genetik markırların arayışına girilmiştir. InDel'ler heterozigotluk oranlarının ve ayırım gücünün yüksek olması, mutasyon oranlarının düşük ve ampikon boyutlarının küçük olmasıyla beraber az maliyetle analiz edilebilmesi gibi avantajlarından dolayı adli bilimlerde tek başına veya diğer markırlara tamamlayıcı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu araştırmada, otozomal kromozomlar üzerinde olan 34 InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusu, Y kromozomu üzerinde bulunan (rs2032678) 1 InDel lokusu ve amelogenin (AMG-XY) lokusunun Azerbaycan popülasyonunda polimorfizminin belirlenmesi ve 36-InDelplex panelinin Türkiye'de ve Azerbaycan'da adli laboratuvarlarda olgu çözümünde kullanımını sağlamak amaçlanmıştır.

Bunun için, ilk aşamada Azerbaycan'ın her bölgesinden homojen şekilde 182 gönüllüden (92 kadın, 90 erkek) ağız içi sürüntü örnekleri toplandıktan sonra, DNA izolasyonu ve miktar tayinleri yapılmıştır. İkinci aşamada, optimizasyonu ve validasyonu yapılan panelin protokolüne uygun şekilde 0.5-2ng/μl DNA ile PCR yapıldı. Üçüncü aşamada, Applied Biosystems™ 3500 genetik analizör cihazında PCR ürünlerinin elektroforezi gerçekleştirildi. Elde edilen veriler GeneMapper v.5.0 programında analiz edilerek 182 kişinin genotipleri belirlendi. En son aşamada, alel frekansları, popülasyonlar arası genetik uzaklık (F_{ST}) ve Hardy-Weinberg dengesi Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak hesaplandı. PowerStats (Promega)

Microsoft® Excel dosyası kullanılarak her bir lokus için adli istatistik parametreler belirlendi ve elde edilen F_{ST} değerleri ile Mega X v.10.0.5 programında filogenetik ağağ çizimi yapıldı.

Tüm lokusların ortalama heterozigotluğu 0.4807, 36 lokus birlikte çalışıldığında ayırım g¼c¼ %99.999999999999375124 olarak bulunmuştur. Çalışmanın bulgularına g¼re, s¼zkonusu panel tek başına çalışıldığında adli kimliklendirme ve nesep tayininde kullanılması için gerekli olan ayırım ve dışlama g¼c¼ne ulaşılabildiği saptanmıştır. Çalışılan 34 InDel lokusunun Azerbaycan ve d¼nyanın çeşitli pop¼lasyonlarına (Afrika, Amerika, G¼ney Asya, Avrupa, Doğu Asya) ait verileri karşılaştırıldığında Azerbaycan pop¼lasyonunun Avrupa pop¼lasyonu ile genetik olarak daha yakın olduğu s¼ylenebilir.

Anahtar Kelimeler: adli genetik, adli bilimler, insersiyon-delesyon polimorfizmi (InDel), pop¼lasyon genetiği, adli kimliklendirme

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

In recent years, genetic markers with shorter amplicon sizes have been sought in forensic genetics due to the inability to obtain a full profile from the small number of degraded DNA samples from the crime scene. InDels have started to be used alone or as a complement to other markers in forensic sciences due to their advantages such as high heterozygosity and discrimination power, low mutation rates, small amplicon sizes, and low-cost analysis. In this study, it was aimed to determine the polymorphism of 34 InDel loci (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) on autosomal chromosomes, 1 InDel locus on Y chromosome (rs2032678) and amelogenin (AMG-XY) locus in Azerbaijan population and to use the 36-InDelplex panel in case resolution in forensic laboratories in Turkey and Azerbaijan.

For this, in the first stage, after collecting homogeneously oral swab samples from 182 volunteers (92 female, 90 male) from every region of Azerbaijan, DNA isolation and quantification were performed. In the second step, PCR was performed with 0.5-1.5ng/ μ l DNA by the protocol of the optimized and validated panel. In the third step, electrophoresis of PCR products was performed on the Applied Biosystems™ 3500 genetic analyzer device. The genotypes of 182 individuals were determined by analyzing the obtained data in GeneMapper v.5.0 program. In the final step, allele frequencies, inter-population genetic distance (FST) and Hardy-Weinberg equilibrium were calculated using the Arlequin v.3.5.1.2 program. Forensic statistical parameters were determined for each locus using PowerStats (Promega) Microsoft® Excel file and the phylogenetic tree was drawn in Mega X v.10.0.5 program with the obtained FST values.

The mean heterozygosity of all loci was 0.4807, and the discrimination power was 99.999999999999375124% when 36 loci were studied together. According to the findings of the study, it was determined that the power of discrimination and power of exclusion required for its use in forensic identification and paternity-kinship test could be achieved when the said panel was studied alone. When the data of 34 InDel loci studied in Azerbaijan and various populations of the world (Turkey, Africa, America, South Asia, Europe, East Asia) are compared, it can be said that the Azerbaijani population is genetically closer to the European populations.

Keywords: forensic genetics, forensic sciences, insertion-deletion polymorphism (InDel), population genetics, forensic identification

1. Giriş ve Amaç

Adli vakaların çözümlenmesinde PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu-Polymerase Chain Reaction) temelli teknikler kullanarak yapılan kimliklendirme, modern adli genetiğin rutin bir parçası haline gelmiştir. Bir sigara izmaritindeki tükürük, direksiyon simidindeki deri hücreleri veya giysilerdeki evcil hayvan tüylerinden şüpheli ile olay yeri ilişkilendirilebilmektedir (1). Adli genetikte DNA (Deoksiribonükleik Asit) analizleri, 1984 yılında Alec Jeffreys tarafından "DNA parmak izi" olarak bilinen minisatellitlerin keşfi ile başladı (2). Polimorfik sistemlerden STR'ler (Kısa ardışık tekrarlar-Short Tandem Repeats), yüksek ayırım gücüne sahip olmaları, genom boyunca sık görülmeleri gibi avantajları ile dünya çapında diğer bütün sistemleri gölgede bırakmıştır (3). Ancak bir çok adli vakada olay yerinden gelen DNA örnekleri bozulmuş halde veya eser miktarda olabilmekte ve STR lokusları yetersiz kalabilmektedir. Bundan dolayı son yıllarda başka markır arayışına gidilmiştir (4). İnsan genomunda en çok görülen polimorfik markırlar olan SNP'ler (Single Nucleotide Polymorphism-Tek nükleotid polimorfizmi), babalık testlerinde, degrade olmuş olay yeri örneklerinin kimliklendirilmesinde ve kısa ampliconlara sahip olmaları gibi özelliklerinden dolayı adli bilimcilerin ilgisini çekmiştir (5).

Son yıllarda adli genetikte, bozulmuş örneklerin amplifikasyonunu iyileştirmek için laboratuvarında var olan teknoloji ile çalışılabilen, ek prosedürlere gerek duyulmayan, az maliyet ile analiz edilebilen markırların geliştirilmesine odaklanılmıştır. İnsersiyon/Delesyon (InDel'ler) polimorfizmi, SNP ve STR'lerin istenen özelliklerini birleştirdiği için adli genetik alanında büyük potansiyel taşıyan genetik markırlardır. Genomda bir veya daha fazla nükleotidin eklenmesi veya çıkarılması sonucunda oluşan InDel'ler son yıllarda olay yerinden gelen bozulmuş örneklerin kimliklendirilmesinde kullanılmaya başlanmıştır (6,7). Bu sistemlerle ilgili birçok araştırmacı tarafından gerek kimliklendirme amaçlı gerekse biyocoğrafik soy belirlemeye yönelik InDel panelleri geliştirilmiştir. Bu panellerin rutin adli

laboratuvarlarda çalışılabilmesi için söz konusu markırların ilgili toplumlara özgü gen sıklıklarının belirlenmiş olması gerekir.

Bu tezin amacı Filoğlu ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve Türkiye popülasyonu için yüksek polimorfizm gösteren otozomal 34 InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusu, Y kromozomu üzerinde bulunan (rs2032678) 1 InDel lokusu ve *amelogenin* (AMG-XY) lokusundan oluşan 36-InDelplex panelinin Azerbaycan popülasyonundaki gen sıklıklarını belirleyerek, hem Türkiye’de, hem de Azerbaycan’da adli laboratuvarlarda kullanımını sağlamaktır.

2. Genel Bilgiler

2.1. Adli Genetiğin Gelişimi

2.1.1. DNA'nın keşfi ve yapısı

Morgan ve arkadaşları, genlerin kromozomlar üzerinde olduğunu, Alfred Hershey ve Martha Chase kalıtım maddesinin DNA olduğunu ve Erwin Chargaff DNA'nın baz kompozisyonunun türler arasında değiştiğini, aynı tür içerisinde adenin ve timin sayısının sitozin ve guanin sayısına eşit olduğunu göstermişlerdir (8). Watson ve Crick, Rosalind Franklin tarafından DNA'nın X-ışını kristallografisi ile çekilmiş görüntüsüyle uyum sağlayan ikili sarmal modelini oluşturduklarını (9). DNA'nın temel yapı taşı nükleotidlerdir. Nükleotidler bir fosfat grubu, bir beş karbonlu deoksiriboz şekeri ve dört bazdan birini içermektedirler. İki azot halkalı purin grubuna ait olanlar adenin ve guanin, tek azot halkalı pirimidin grubuna sahip olanlar ise timin ve sitozindir bazlarıdır (10).

2.1.2. İnsan genomunun yapısı

Çekirdeği olan her hücrede genomun iki kopyası bulunur. İnsan genomu 23 kromozom üzerinde dizilmiş, yaklaşık 3.200.000.000 baz çiftinden (bç) ($3.290 \text{ Mb} = 3.2 \times 10^9$) oluşur. İnsanlar, biri anneden diğeri babadan olmak üzere iki kromozom setine, toplamda 46 kromozoma sahiptir. 1990 yılında, bir çok ülkeden 20 merkezin dahil olduğu İnsan Genom Projesi başlatıldı. Bu projede DNA'nın baz dizisi çıkartıldı (11,12). İnsan genomunun yaklaşık olarak 20.000-25.000 gen içerdiğini ve genomun yalnızca ~% 1.5'nin protein kodlanmasında doğrudan rol oynadığı belirlenmiştir. Genomun %50'sini oluşturan en büyük kısım ise tekrarlayan DNA dizileridir. Bu dizilerin bir bölümü ardışık tekrarlar olup satellitler, minisatellitler ve mikrosatellitler olarak 3 gruba ayrılırlar (10).

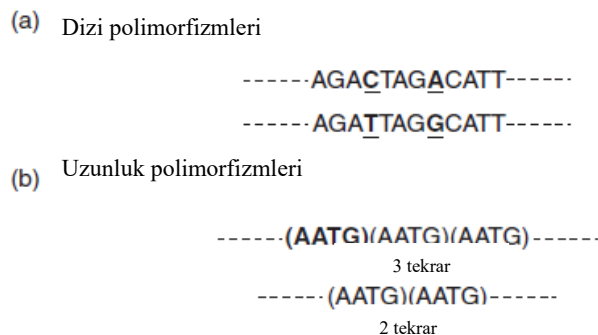
2.1.3. Genomun adli genetikte yeri

Adli vakaların çözümünde, DNA'nın her bir bireye özgü eşsiz olması ve bu nedenle yüksek ayrımcılığa sahip olmasından yararlanılarak, olay yerinde bulunan biyolojik örneklerin kimliklendirilmesi mümkün olabilmektedir. Yüksek ayırt edici DNA profilleri elde etme başarısı, bireylerin genetik düzeyde farklı olmasına bağlıdır ve tek yumurta ikizleri haricinde, hiçbir birey aynı DNA'ya sahip değildir. İnsanlar birbirlerinden ne kadar farklı görünseler de aslında DNA'nın %99,9'u benzerdir. İnsanlar arasında farklılık oluşturan kısım (% 0,1) oldukça düşüktür. Bu farklılıklar; tek nukleotid değişiklikleri, uzunluk polimorfizmleri, insersiyon ve delesyonlar gibi bireyler arasında değişkenlik gösteren iyi karakterize edilmiş polimorfik markırlardır. Bir DNA lokusunun adli genetikte kullanılabilmesi için bazı temel özelliklere sahip olması gerekir. Bu özellikler oldukça polimorfik olması, kolay tanımlanması, ucuz olması, yorumlanması, laboratuvarlar arasında karşılaştırılabilir olması ve düşük mutasyon oranına sahip olmasıdır (10,13,14).

2.1.4. Genetik polimorfizm

Genetik çeşitliliğin altında yatan sebep DNA dizilerindeki farklılıklardır. Bu farklılıklar mutasyonlar sonucu oluşur. Mutasyonlar çok çeşitli düzeylerde meydana gelebilir ve farklı sonuçları olabilir. Bunların çoğunluğu nötrdür ve fenotip üzerinde farkedilebilir bir etkisi yoktur. Oluşan farklılığı genel bir şekilde tanımlamak için mutasyon yerine varyasyon terimi kullanılmaktadır. DNA varyasyonları, hücresel DNA onarım sistemleri tarafından düzeltilmeyen hatalar sonucu ortaya çıkar ve zaman zaman çevremizdeki radyasyon ve kimyasallar tarafından tetiklenir. Ancak, büyük çoğunluğu endojen etkenlerden (rekombinasyon, DNA replikasyonu vb.) kaynaklanır ve genetik çeşitliliğe önemli katkı sağlar. Popülasyonda görülme sıklığı % 1'den yüksek olan DNA varyasyonları polimorfizm olarak tanımlanmıştır (15).

DNA’da dizi polimorfizmleri ve uzunluk polimorfizmleri olmak üzere iki ana varyasyon biçimi gözlenir (Şekil 1) (16).



Şekil 1. DNA’da dizi polimorfizmleri (a) dizi polimorfizmleri ve (b) uzunluk polimorfizmleri (16).

2.2. Adli Genetikte İlk Kullanılan Polimorfik Sistemler

Adli genetiğin gelişimi, bir asırdan fazla bir süre önce Karl Landsteiner'in insan ABO kan grubu varyantlarını keşfi ve bu varyasyonun babalık testi vakalarının çözümünde uygulanabilir olduğunun farkına varmasıyla başlamıştır. ABO sistemine ek olarak MNS, Kell, Duffy, Kidd ve Lutheran gibi birçok kan grubu sistemi kullanıldı (17).

Yirminci yüzyılın ortalarında, polimorfik serum proteinlerinin ve eritrosit enzimlerinin keşfi, özellikle babalık tayini için önemli bir gelişmeydi. Ancak kan dışındaki diğer vücut sıvılarında ve kan lekelerinde kullanımı oldukça sınırlıydı. 1958 yılında Jean Dausset tarafından keşfedilen insan lökosit antijenleri o ana kadar kullanılan diğer tüm genetik markırlardan daha polimorfikti ve babalık tayini için önemli bir gelişmeydi (18).

Bu klasik genetik markırların kullanımı, adli vakalarda yaygın olarak karşılaşılan eser miktarda veya bozulmuş örneklerin analizinde başarısızdı. Ayrıca kan dışındaki diğer biyolojik materyaller analiz edilemediğinden tecavüz vakalarında saç, tükürük ve semenden faile ulaşmak mümkün değildi. Polimorfik proteinlerin ve enzimlerin düşük varyant frekanslarına

sahip olması nedeniyle daha fazla bilgi edinmek için immünolojik yöntemler yerine elektroforetik teknikler tercih edildi ve poliakrilamid jeller kullanılarak kan lekelerinde polimorfik proteinlerin analiz olasılığını arttırdı. 1980'lerin ortalarında Jeffreys ve arkadaşlarının minisatellitlerde çok değişken lokusları keşfetmesi adli tıp tarihindeki en önemli gelişme olarak tarihe geçti (19). DNA analizi geleneksel protein analizlerine göre büyük avantajlar sağlamıştır. Çünkü daha bilgilendirici, proteinlere nispeten fiziksel olarak bozulmaya dayanıklı olduğu için eser miktarda veya bozulmuş örneklerden daha iyi sonuçlar elde edilebiliyordu. Ayrıca, aynı DNA genotipi herhangi bir dokudan (yani kan, tükürük, meni, saç, deri ve kemikler) elde edilebilirken, protein analizi bu proteinlerin sentezlendiği hücrelerle sınırlıydı (17).

2.3. Adli Bilimlerde DNA Polimorfizmleri

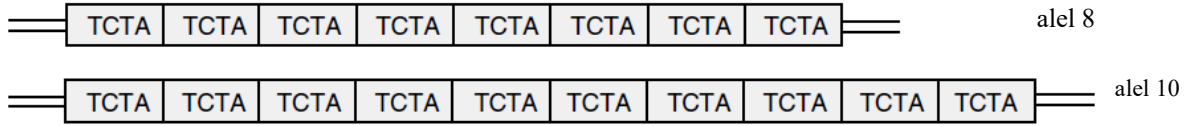
1960-70 yıllarında, restriksiyon enzimlerinin keşfi de dahil olmak üzere moleküler biyolojideki gelişmeler, bilim adamlarının DNA dizilerini incelemeleri üzerine yoğunlaşmasını sağladı. 1985 yılında Alec Jeffreys, RFLP (Sınırlandırılmış parça uzunluk polimorfizmi-Restriction Fragment Length Polymorphism) tekniğini kullanarak VNTR (VNTRs- Değişken sayıda ardışık tekrarlar- Variable Number Tandem Repeats) olarak adlandırılan bu polimorfik bölgelerin ardışık tekrarlanan diziler içerdiğini ve tekrar sayısının kişiden kişiye farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu markırlar, Birleşik Krallık'ta bir göçmenlik davasında ilk defa başarıyla uygulandı. Bunu takiben 1986 yılında ilk defa bir ceza davasının çözümünde kullanıldı ve Colin Pitchfork'ün İngiltere, Leicestershire'daki iki kız çocuğunun katili olduğu kanıtlandı (2)(10). 1985 yılında Kary Mullis tarafından tanımlanan PCR yöntemi sayesinde bir kaç saatte belirli bir DNA dizisinin yüz milyonlarca kopyası oluşturmak mümkün hale gelmişti. RFLP yöntemi yüksek miktarda, kaliteli DNA'ya ihtiyaç duyması, zaman alıcı ve pahalı prosedürler ve sonuçların yorumlanmasındaki zorluklar nedeniyle PCR yöntemi kullanılmaya başlandı (20).

2.3.1. Değişken sayıda ardışık tekrarlar (VNTR)

Ardışık tekrarlar, insan genomunun yaklaşık % 3'ünü oluşturur ve tekrar biriminin boyutuna ve tekrar dizisinin toplam uzunluğuna göre minisatellitler (değişken sayıda ardışık tekrarlar, variable number tandem repeat, VNTR) ve mikrosatellitler (kısa ardışık tekrarlar, Short Tandem repeat, STR) olarak iki gruba ayrılır. VNTR'lerin ve STR'lerin genel yapısı aynıdır (21). VNTR'ler, ağırlıklı olarak kromozomların subtelomerik bölgelerinde bulunur ve 6-100 bp arasında değişen tekrar birimlerine sahiptir (2). Yüksek polimorfizm göstermeleri ve Mendel kurallarına uygun kalıtılmaları bu bölgelerin adli vakalarda ve babalık testlerinde kullanılmasına uygun olduğunu göstermiştir (22). VNTR'ler, daha önce de belirtildiği gibi DNA profillemesinde kullanılan ilk polimorfizmler olup adli vakalarda birkaç yıl kullanılmıştır (23). Buna rağmen, güvenilir bir DNA profili elde etmek için birkaç mikrogram iyi kalitede genomik DNA gerekli olduğundan adli genetikte kullanıma uygun olmadığı kanısına varılmıştır (24).

2.3.2. Kısa ardışık tekrarlar (STR)

Mikrosatellitler 1-6 bp uzunlukluğundaki tekrar birimlerinden oluşan ve genellikle 5-30 kez tekrarlanan DNA dizileridir (Şekil 2). Adli genetikte kullanılan lokusların çoğu, dört baz çifti tekrar motifine sahip tetranükleotid tekrarlardır. Minisatellit lokuslarında olduğu gibi, tekrarlanan birimlerin sayısındaki varyasyon nedeniyle yüksek polimorfizm gösterirler. Ayrıca, genellikle telomere yakın bölgelerde meydana gelen VNTR'lerden farklı olarak, STR'ler bütün genom boyunca dağılmışlardır ve ortalama her 6-10 kb'de bir STR lokusuna rastlanmaktadır (25). Kromozom içindeki dağılımları tam olarak eşit değildir, telomere yakın bölgelerde daha seyrek görülürler. Çoğu STR, kodlamayan bölgelerde bulunurken, yaklaşık %8'i kodlama yapan bölgelerinde bulunur (26).



Şekil 2. D8S1179 lokusundaki iki alelin yapısı. Aleller içerdikleri tekrar sayısına göre adlandırılır (10)

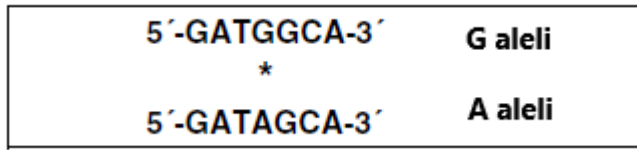
1990'ların sonlarında VNTR lokuslarının yetersizliği STR'lere geçişi kaçınılmaz hale getirdi. VNTR'lerden daha yüksek ayırım gücüne sahip olmasalar da, çok sayıda STR lokusu aynı anda çalışılabildiği için daha avantajlıydı (3). Tüm genomda görülmeleri, polimorfik yapıları, VNTR'lere nazaran daha küçük alel boyutları (genellikle <300 bç) ve PCR ile amplifikasyona yatkınlıkları nedeniyle, STR'lerin adli kimliklendirme için ideal bir markır olduğu görüldü. PCR amplifikasyonuna dayalı STR analizleri olay yerinden gelen eser miktarda örneklerin kimliklendirilmesine olanak sağlaması, analiz yapmak için gereken sürenin büyük ölçüde azalması, kısmi otomasyondan kaynaklanan maliyetlerin azalması nedeniyle dünya çapında geleneksel yöntemlerin yerini aldı (27).

Bir genetik markırın yargı alanında etkili bir şekilde kullanılabilmesi için ortak ve standartlaştırılmış kit kullanılmalıdır. İlk oluşturulan STR kitleri Promega ve Adli Bilimler Servisi (FSS- The Forensic Science Service) tarafından geliştirildi. Sekiz veya daha fazla STR lokusundan oluşan multipleks STR kitleri, adli DNA analizinde devrim yaratmıştır. 1 ng DNA örneğiyle tek bir amplifikasyonda milyarda biri aşan eşleşme olasılığına ulaşmak mümkündür (28,29). 1996'da FBI (Federal Bureau of Investigation - Federal Soruşturma Bürosu), CODIS (Combine DNA Index System - Birleşik DNA İndeks Sistemi) olarak bilinen ulusal DNA veri tabanını kurdu. Bu veri tabanı için çalışılacak 13 çekirdek STR lokusu (CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11)

seçildi. Bu 13 CODIS lokusun tümü analiz edildiğinde, rastgele eşleşme olasılığı (Combined matching probability), akraba olmayan bireyler arasında bir trilyonda birden daha azdır (30).

2.3.3. Tek nükleotid polimorfizmi (SNP)

DNA dizisinde tek baz değişimiyle oluşan SNP'ler genomda en çok bulunan en basit polimorfizm çeşididir. Tipik bir SNP polimorfizminin yapısı Şekil 3'te gösterilmiştir. Bu baz değişiminin popülasyonda görülme sıklığı %1'den yüksekse tek nükleotik polimorfizmi (SNP), %1'den düşükse mutasyon olarak adlandırılır (31). SNP'ler genellikle iki allele sahip olduklarından dolayı çok polimorfik değillerdir. Ancak çok sayıda lokus birlikte çalışıldığında yüksek ayırım gücüne ulaşılabilmektedir. 10 STR lokusu kullanılarak elde edilen ayırım gücüne ulaşmak için 50-80 SNP'nin analiz edilmesi gerekmektedir (32).



Şekil 3. Tek nükleotid polimorfizminin yapısı (SNP).

SNP'lerin ampikon boyutlarının (50 bç) STR'lere (~300 bç) kıyasla daha küçük olması olay yerinden gelen degrade DNA örneklerinin analizine olanak sağlaması, genom boyunca çok miktarda bulunmaları, etnik köken ve belirli fiziksel özellikler ile ilgili bilgilendirici olmaları SNP'leri adli genetik alanında ilgi çekici kıldı. Ayrıca, SNP'lerin mutasyon oranlarının (10^{-3}) STR'lere göre (10^{-8}) düşük olması babalık testlerinde karşılaşılan zorlukları giderme olanağı sağladı (33).

Ancak, ulusal veritabanlarının STR'ler üzerine kurulması, özellikle, karışım örneklerinin analizinde karşılaşılan zorluklar nedeniyle SNP'lerin adli kimliklendirme ve nesep tayini testlerinde STR'lerin yerine geçmesi pek olası değildir (34).

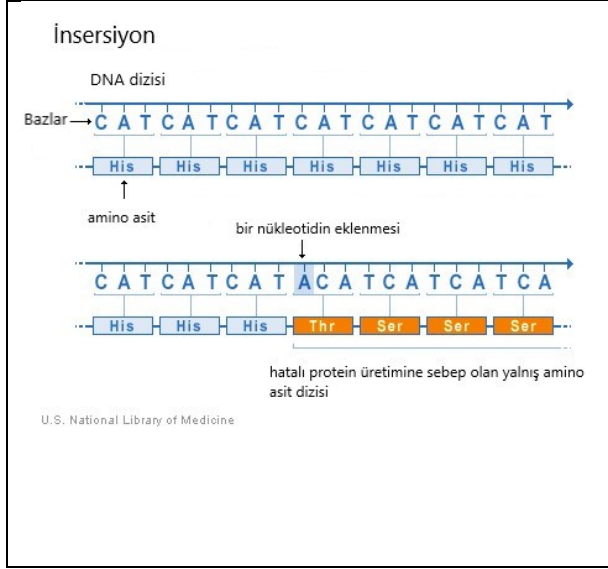
Adli vakaların çözümünde STR'lerin tam olarak yerini almasa da failin etnik kökeni, fenotipik özellikleri hakkında bilgi vererek tamamlayıcı markır olarak kullanımını mümkündür (16).

2.3.4. İnsersiyon/delesyon polimorfizmleri (InDel)

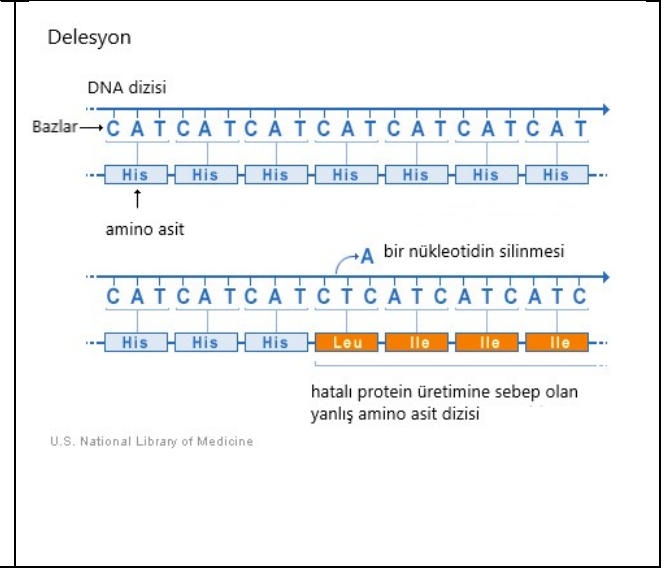
SNP'lerden sonra genomda en çok bulunan polimorfizm olan InDel'ler bir veya daha fazla nükleotidin eklenmesi veya çıkarılmasıyla oluşan bir polimorfizm çeşidi olup tüm insan DNA polimorfizmlerinin yaklaşık olarak %20'ni oluştururlar.

InDel'ler, insan genomundaki, uzunluğu 1-10.000bp arasında değişen genetik varyasyonlardır. İnsersiyon ve delesyonun oluşumu Şekil 4 ve Şekil 5'te gösterilmektedir (16). İnsersiyon ve delesyonlar DNA'nın proteion kodlayan veya kodlamayan bölgelerinde olabilirler ve sonuç olarak mutasyonlar ve polimorfizmler oluşabilir. Nükleotid değişimiyle oluşan nokta mutasyonlarına nispeten InDel'ler, daha çok işlevsiz ve hatalı protein üretimine sebep olurlar. Nükleotidlerin eklenmesi veya yok olması genetik kodun okuma çerçevesinde değişikliğe neden olabilir. Çerçeve kayması mutasyonu olarak adlandırılan böyle bir mutasyon, eklenen veya yok olan nükleotidlerin sayısı 3'ün katı olmadığında ortaya çıkar. Eklenen veya silindikten sonra gelen tüm nükleotidler doğru olmayan bir şekilde kodonlar halinde gruplandırılır ve sonuç olarak genellikle yanlış anlamlı mutasyonlar veya anlamsız mutasyonlar oluşur (35).

InDel'ler, sıklıkla DNA replikasyonu sırasında oluşan hataların sonucunda ortaya çıkarlar ve diallelik (iki alelli) ve multiallelik (çok alelli) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Diallelik InDel'ler, tüm insan polimorfizmlerinin, yaklaşık, % 8'ini oluşturur (36). Diallelik InDel'ler, aleller arasındaki uzunluk farkı açısından büyük çeşitlilik gösterir. Bazı durumlarda, aleller arasındaki uzunluk farkı onlarca, hatta yüzlerce kilobaz çifti olabilir (37).



Şekil 4. İnsersiyon oluşumu (38)



Şekil 5. Delesyon oluşumu (39)

2.3.5. InDel'lerin adli genetikte kullanımı

InDel'ler genomda en çok görülen ikinci varyasyon olmalarına rağmen, başlangıçta SNP'lere göre daha az ilgi çekmiştir. 2001'de insan 22. kromozomu üzerinde yapılan genetik varyasyon çalışması, bu kromozomda bulunan bütün polimorfizmlerin % 18'nin InDel'lerden oluştuğunu gösterdi (40). 2002 yılında, Weber tarafından yapılan bir araştırmada genom boyunca dağılmış 2.000 diallelik InDel tanımlanmış ve Avrupalılar, Afrikalılar, Japonlar ve Yerli Amerikalılarda alel frekansları belirlenmiştir. Bu çalışmayla InDel'lerin genomda oldukça çok sayıda bulunduğu, kolayca analiz edilebildiği ve birçok farklı alanda uygulanabilir olduğu kanıtlanmıştır (7).

Mills ve arkadaşları 2006 yılında 415.436 InDel'den oluşan insan genomunun InDel polimorfizmlerinin ilk haritasını açıkladılar ve InDel'leri, tek baz çiftlerinin insersiyonu veya delesyonu ile oluşan, monomerik baz çifti eklemeleri sonucu oluşan, 2-15 bç'lik tekrar birimlerinin çoklu baz çifti eklemeleri sonucu oluşan, transpozon eklemeleri ile oluşan ve rastgele DNA dizileri olmak üzere beş ana sınıfa ayırdılar. Ayrıca, insan genomunun şempanze genom dizilimine göre neredeyse eşit oranda insersiyon ve delesyonlar içerdiği belirlendi. Buna

dayanarak, insan genomunda DNA insersiyon ve delesyonlarına yol açan temel mekanizmaların son 6 milyon yıl boyunca (bu organizmaların son ortak atasından bu yana) benzer oranlarda işlediğini söylemek mümkündür. Bu çalışmayla InDel'ler, insan genomunda her 7.2 kb'dan bir görüldüğünü ve DNA'nın hem protein kodlayan (ekzon), hem de kodlamayan bölgelerinde olduğunu kanıtladılar (41). Daha sonra insan genlerinde belirgin bir genetik varyasyona neden olduğunu kanıtlayan araştırmalar yapıldı (42).

Günümüzde, adli genetik alanında yüksek ayırım gücüne sahip oldukları için STR'ler en çok tercih edilen markırlardır. Ancak, olay yerinden gelen eser miktarda ve degrade olmuş örneklerin analizinde SNP'lerin avantajları da kanıtlanmıştır. STR'lerin ve SNP'lerin istenen birçok özelliğini taşıyan InDel'lerin şu avantajlarından dolayı bu alandaki boşluğu doldurabileceği düşünülmüştür:

- Genom boyunca geniş bir dağılıma sahip olmaları
- Düşük mutasyon oranına sahip olmaları
- Popülasyon grupları arasında alel frekanslarındaki önemli farklılıklar
- Kısa ampliconlarda analiz edilebilmesi
- Analizinin ucuz ve kolay olması
- Otomasyona uygun olması (7,41,43).

InDel'ler, kısa amplicon boyutlarına sahip olduklarından olay yerinden gelen bozulmuş ve az miktarda DNA örneklerinin kimliklendirilmesine olanak sağlamaları ile birlikte, STR'ler gibi adli genetik laboratuvarlarında kullanılan metodolojiye ek gereksinimlere ihtiyaç duymadan, PCR ve kapiler elektroforez ekipmanları ile analiz edilebilmektedir. Düşük mutasyon oranlarına sahip olduğu için InDel'ler nesep tayini analizlerinde STR'lere göre daha avantajlıdır. InDel'lerin bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda adli kimliklendirme için ideal bir markır olduğu düşünüldü. Bu sebepten, araştırmacılar yüksek ayırım gücü dışlama gücü ve

profilleme başarısı olan birçok (40-50) lokusun birlikte çalışabildiği multipleks InDel panelleri geliştirmeye başladılar. Kimliklendirme amaçlı InDel lokuslarından oluşan bir multipleks panel geliştirildiği zaman seçilen lokusların taşınması gereken bazı önemli kriterler vardır. Bunlar, seçilen lokusun otozomal olması, dünya popülasyonunda minimum alel sıklığının 0.30'dan yüksek olması, ampikon boyutunun 2-10 bç aralığında olması, ortalama heterozigotluk oranının 0.40'ın üzerinde olması ve seçilen lokusun yakınında STR, SNP veya diğer bir InDel lokusunun bulunmaması gibi özelliklerdir (44). 2009 yılında Pereira ve arkadaşları tarafından Afrika, Avrupa ve Asya popülasyonlarında polimorfik olduğu bildirilen 38 biallelik otozomal indel lokusundan oluşan bir multipleks kit geliştirildi. Bu multipleks kit kullanılarak 0.3 ng DNA örnekleriyle tam profil elde edilerek, degrade örneklerde standart STR analizinin başarısız olduğu durumlarda başarılı sonuçlar alındı (43). Ayrıca, InDel'ler, düşük mutasyon oranlarına sahip oldukları için babalık davalarında STR'lerin yetersiz kaldığı durumlarda tamamlayıcı markır olarak kullanılabilceği kanıtlandı (6). Daha sonra, Primenta ve arkadaşları babalık testlerinde kullanılmak üzere 40 kısa InDel lokusundan oluşan bir panel geliştirdiler. 50 anne-çocuk-muhtemel baba üçlüsü genotiplendirildi ve bu panelin ortalama dışlama gücünün 13 CODIS STR lokusunun dışlama gücüne eşdeğer olduğu görüldü. Sonuç olarak, geliştirilen 40 kısa InDel'den oluşan bu panelin, basit ve düşük maliyetli analiz edilebilmesi ve çok düşük mutasyon oranlarına sahip olması nedeniyle babalık testlerinde mükemmel performansa sahip olduğu kanıtlandı (45).

Bozulmuş ve az miktarda DNA örneklerinin analizinde sağladığı avantajlardan dolayı InDel'ler adli genetik alanında büyük ilgi çekti ve kimliklendirme/babalık testlerinde kullanılmak üzere birçok panel geliştirildi;

- Li ve arkadaşlarının geliştirdiği adli kimliklendirme ve babalık testleri için oldukça bilgilendirici 29 Indel lokusundan oluşan panel ile Çin Han popülasyonundan 109 örnek genotiplendirildi ve yüksek ayırım gücüne ulaşıldı (46).

- Pereira ve arkadaşları tarafından X kromozomunda bulunan, adli kimliklendirme ve popülasyon araştırmaları için bilgilendirici olan 32 biallelik InDel lokusu seçilerek bir panel oluşturuldu. Yüksek ayırım gcve kısa ampikon boyutlarından dolayı bozulmuş örneklerin analizinde kullanılabileceği gösterildi (36).
- Satışa sunulmuş ticari kit olan Investigator DIPplex® kiti 30 biallelik InDel lokusu adli kimliklendirmede hem tamamlayıcı, hem de tek başına gcl bir araç olarak kullanılabilmektedir (47).
- Zhang ve arkadaşları tarafından X kromozomu üzerinde bulunan 18 biallelik InDel lokusu ve amelogenin lokusundan oluşan panel geliştirildi. Bu panelin adli uygulamalar için hassas ve güvenilir bir araç olduğu ve otozomal lokusların bilgilendirici olmadığı durumlarda değerli bilgiler sağladığı gösterildi (48).
- SifaInDel 45plex 27 otozomal InDel, 16 X kromozomuna bağlı InDel ve iki Y kromozomuna bağlı InDel lokusunun tek bir PCR'de amplifiye edilebildiği bir multipleks paneldir. Rutin adli örneklerin genotiplendirilmesi ve popülasyon alışmaları SifaInDel 45plex panelinin adli kimliklendirme, özellikle degrade örneklerin analizi ve akrabalık analizi için geçerli bir tamamlayıcı olabileceği gösterildi (49).
- AGCU InDel 50 kiti olarak adlandırılan 47 otozomal InDel, 2 Y kromozomu üzerinde olan InDel ve Amelogenin lokusu içeren bir multipleks panel geliştirildi. Sonuçlar, AGCU InDel 50 kitinin adli soruşturmalarda kullanım için hassas, spesifik, güvenilir ve oldukça bilgilendirici bir araç olduğunu gösterdi. Özellikle, eser miktarda ve bozulmuş DNA rneklerinin incelenmesi için mükemmel bir performansa sahip olduğu kanıtlandı. Popülasyon alışması, AGCU InDel 50 kitinin adli kimliklendirme ve özellikle STR mutasyonlarından dolayı zlemeyen babalık tayini vakalarında tamamlayıcı bir araç olarak kullanılabileceğini gösterdi (50).

- Başka bir çalışmada, 32 InDel ve bir amelogenin lokusundan oluşan bir panel geliştirildi ve sonuçlar bu panelin adli kimliklendirme için, özellikle çok az miktarda ve bozulmuş DNA örneklerinde başarılı profillemeye yapılabileceği belirlendi (51).
- Jin ve arkadaşları 43 InDel lokusunu ve bir Amelogenin lokusunu aynı anda amplifiye edebilen yeni bir kimliklendirme paneli geliştirdiler. Sözkonusu panelin optimizasyon ve validasyon çalışmaları dgerade örneklerde ve karışım örneklerinde yüksek hassasiyete sahip olduğunu ve Çin Hui grubunda yaptıkları popülasyon çalışmasıyla 43-InDel panelinin genetik kimliklendirme için güçlü bir araç olduğunu gösterdiler(52).

2.3.6. 36-InDelpleks paneli

36-Indelpleks paneli, dünya popülasyonlarında dengeli olan, 0.4'ten büyük olan alel frekansına ve 0.5'ten fazla heterozigotluk oranına sahip 34 otozomal InDel lokusu, 1 Y kromozomuna bağlı InDel lokusu ve cinsiyet markırı Amelogenin (AMG-XY) lokusu seçilerek Filoğlu ve ark. tarafından geliştirilmiştir. En az 0,25 ng/µl DNA miktarında tam ve güvenilir profile ulaşılabildiği için az miktarda ve bozulmuş örneklerin kimliklendirilmesinde başarısı, ayırım gücünün ve heterozigotluk oranlarının yüksek, ampikon boyutlarının küçük olması panelin adli kimliklendirmede ve nesep tayini analizlerinde başarılı şekilde kullanılabileceği belirlendi (53)(54)(55)(56). 36- InDelpleks panelini oluşturan lokusların özellikleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. 36- InDelpleks panelini oluşturan lokusların özellikleri (53)

ID	GenBank Erişim	Kromozom	InDel Dizisi	Floresans Boya
ID1	rs4646006	Kr: 1	insTGAG/TGCG	ATTO-550
ID2	rs2307838	Kr: 1	delTGAA	FAM
ID3	rs2307521	Kr: 1	insAG/CG	FAM
ID4	rs28369942	Kr: 2	insAAGTC	ATTO-550
ID5	rs140861207	Kr: 3	delAG	JOE

ID7	rs1160965	Kr: 5	delGT	ATTO-565
ID8	rs2307656	Kr: 5	delTAAGT	FAM
ID9	rs2067304	Kr: 5	delGA	FAM
ID10	rs1610937	Kr: 5	delAGGA	FAM
ID11	rs10590424	Kr: 5	delAATAA	JOE
ID12	rs1160981	Kr: 5	delCAG	ATTO-565
ID13	rs2067191	Kr: 5	insTAGA	ATTO-565
ID14	rs144389514	Kr: 6	delATCT	ATTO-550
ID15	rs2308137	Kr: 6	delGA	JOE
ID16	rs16646	Kr: 7	insTTTC	FAM
ID17	rs16458	Kr: 7	insTTCC	ATTO-550
ID18	rs3062629	Kr: 8	insTACAG/TAGAG	ATTO-565
ID19	rs2308072	Kr: 8	insAAGG	ATTO-550
ID20	rs10623496	Kr: 8	insGAAT	ATTO-565
ID21	rs56168866	Kr: 9	insAA/CA	ATTO-565
ID22	rs2308112	Kr: 9	delGGTGT	ATTO-550
ID23	rs2308135	Kr: 11	insTAA	ATTO-550
ID24	rs33972805	Kr: 11	insCT	JOE
ID25	rs1610919	Kr: 12	delAT	ATTO-565
ID26	rs34660708	Kr: 13	delTG	FAM
ID27	rs2308163	Kr: 14	insTGAT/TAAT	JOE
ID28	rs2067147	Kr: 14	delCAT	ATTO-550
ID29	rs16722	Kr: 17	insTTGT	ATTO-565
ID30	rs25549	Kr: 17	delCATT	ATTO-550
ID31	rs34495360	Kr: 20	insGACTT	JOE
ID32	rs16671	Kr: 20	insGG/GC	FAM
ID33	rs2308101	Kr: 20	delTA	JOE
ID34	rs6480	Kr: 22	insTG	JOE
ID35	rs16363	Kr: 22	insTGTTT	JOE
ID36	rs2032678	Kr.: Y	delTTCTC	FAM
ID37	AMG-XY			FAM

2.4. Popülasyon Genetiği ve İstatistik

2.4.1. Popülasyon genetiğinde temel kavramlar

Alfred Russel Wallace ve Charles Darwin, doğal seçilimi 19. yüzyılın ortalarında adaptif evrim mekanizması olarak ilk kez tanımladıklarında, varyasyon ve kalıttan sorumlu mekanizmaların henüz kesin bir modeli yoktu. Gregor Mendel, özelliklerin kalıtımına ilişkin çalışmasını 1866'da yayınlamış, ancak o zaman çok az ilgi görmüştür. Mendel'in çalışmasının 1900'de yeniden keşfi, Mendel'in gen ve tüm kavramları ile evrim teorisini bağdaştırmak için 30 yıllık bir çalışmayı başlattı. Önemli bir kavrayışla biyologlar, bir popülasyonda fenotipik özelliklerin ortaya çıkma sıklığının, bu özellikleri etkileyen alellerin bağlantılı olduğunu fark ettiler. Bu, popülasyon genetiğinin ortaya çıkmasına, popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin ve bu çeşitliliğin zamanla nasıl değiştiğinin araştırılmasına sebep oldu. Popülasyon genetikçileri, birbirleriyle çiftleşip üreyebilen birey grupları içindeki ve arasındaki genetik varyasyon veya genetik yapı modellerini araştırdılar. Genetik yapıdaki değişiklikler bir popülasyonun evriminin temelini oluşturduğu için popülasyon genetiği, evrim biyolojisinin önemli bir alt disiplini haline geldi. 20. yüzyılın başlarında G. Udny Yule, William Castle, Godfrey Hardy ve Wilhelm Weinberg gibi bir dizi araştırmacı, popülasyon genetiğinin temel ilkelerini oluşturdular (57).

Popülasyon genetiği, dört evrimsel mekanizmanın etkisi altında alel frekanslarının dağılımı ve değişiminin inceleyen bir bilim dalıdır; doğal seçim, genetik sürüklenme, mutasyon ve göç (58). Adli genetik açısından bir popülasyon, ortak ataları paylaşan bir grup insan olarak tanımlanabilir. Adli açıdan, bir ülke içindeki popülasyon genellikle dil, kültür ve din açısından farklılık gösterebilen birçok alt grup bir araya getirilerek (örneğin, Kafkasya, Sahra altı Afrika ve Doğu Asya) sınıflandırılır (14). Biyolojide popülasyon genel olarak, birbirleriyle çiftleşerek üreyebilen, aynı türe ait, aynı bir coğrafi bölgede yaşayan ve ortak bir gen kümesini paylaşan bir grubu ifade eder. Bu popülasyonu oluşturan bireyler tarafından paylaşılan tüm aleller, popülasyonun gen havuzunu oluşturur. Popülasyon genetiğinin önemli bir ilkesi, gen

havuzundaki çeşitli alellerin frekanslarının, popülasyondaki farklı genotiplerin frekanslarının ve bu frekansların bir nesilden diğerine nasıl değiştiğinin hesaplanmasıdır (14,57).

Popülasyon dinamikdir; yani doğum ve ölüm oranlarındaki değişiklikler, göç veya diğer popülasyonlarla temas yoluyla genişler veya daralır. Genellikle, bir popülasyondaki bazı bireyler, diğerlerinden daha fazla döl üreterek ve bir sonraki nesle orantısız miktarda alel katkısında bulunurlar. Bu nedenle, bir popülasyonun dinamik doğası, zamanla popülasyonun gen havuzunda değişikliklere yol açabilir (57).

2.4.2. Hardy-Weinberg dengesi

Popülasyonun gen havuzu bu popülasyonun her bir üyesinin sahip olduğu alellerin toplamını ifade eder, yani üreyebilen tüm bireylerin oluşturduğu gametlerin tamamıdır. Belirli bir alele sahip olan gametlerin popülasyonun gen havuzunda olan toplam gametlere oranı alel frekansı olarak adlandırılır (59). Alel frekansı, bir popülasyondaki genetik çeşitliliği veya gen havuzunun zenginliğini karakterize etmek için kullanılır (60). Popülasyon genetiğinin deneysel yönü popülasyondaki genetik çeşitliliği inceler, teorik yönü bu varyasyonların bir nesilden diğerine nasıl değiştiğini ve bu değişimi hangi faktörlerin etkilediğini araştırır (59).

1908 yılında İngiliz matematikçi Godfrey H. Hardy ve Alman doktor Wilhelm Weinberg geliştirdikleri matematiksel bir modelle gen havuzundaki alel frekansları ile genotip frekansları arasındaki teorik ilişkiyi açıkladılar. Hardy-Weinberg kuralı olarak adlandırılan bu model sonsuz büyüklükte olan ve rastgele çiftleşerek üreyen popülasyonda, mutasyon, göç, doğal seçim veya genetik sürüklenme olmadığı varsayıldığında, alel frekanslarının nesilden nesile aynı kalacağını belirtir. Bu ilke bir popülasyondaki alel frekansındaki değişiklikleri ölçmek için bir standart verdiği için çok önemlidir. Belirtilen bu koşullar altında Hardy-Weinberg modeli iki sonuca varır:

- Gen havuzundaki alellerin frekansları zamanla değişmez.

- Eğer bir lokus yalnız iki alele (A,a) sahipse, rastgele bir çiftleşmeden sonra oluşabilecek genotiplerin (AA,Aa,aa) popülasyondaki frekansları şu şekilde hesaplanabilir:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Burada p = A alelinin frekansını, q = a alelinin frekansını temsil etmektedir.

Bu kriterleri karşılayan bir popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu söylenir. Hardy-Weinberg dengesi, popülasyondaki alel ve genotip frekansları arasındaki ilişkiyi göstermek için Mendel'in bağımsız ayrışım prensibi ve basit olasılık ilkelerini kullanır. Hardy-Weinberg dengesi, popülasyonun evrimleşemeyeceği koşulları tespit ederek, alel frekanslarının değişmesine neden olan faktörleri belirler. Başka bir sözle, Hardy-Weinberg, belirli koşulları sabit tutarak, evrim güçlerini izole eder. Hardy-Weinberg dengesinin uygulanması, bir popülasyonun gen havuzundaki evrim güçleri tarafından çalıştırılmayan "nötr genleri" de ortaya çıkarabilir. Bu dengenin önemli üç sonucu vardır. Birincisi, dominant özellikler mutlaka bir nesilden diğerine artmaz. İkincisi, bir popülasyonda genetik çeşitlilik korunabilir, çünkü ideal bir popülasyon bir kez kurulduktan sonra alel frekanslarının değişmeden kaldığını gösterir. Üçüncüsü, Hardy-Weinberg dengesine uyan bir popülasyonda, sadece bir genotipin frekansını bilmek, o lokustaki diğer tüm genotiplerin frekanslarını hesaplamamızı sağlar (57,59).

Hardy-Weinberg dengesi, DNA profillemesi de dahil olmak üzere genetik çalışmalarda önemli bir rol oynar. Adli DNA analizinin istatistiksel değerlendirmesindeki ana görevlerden biri, bir DNA profilinin eşleşme olasılığını değerlendirmektir. Bu değerlendirme, popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) olduğu durumda yapılabilir. Genetikte, popülasyon Hardy-Weinberg dengesindeyse, belirli bir lokustaki bir genotipin iki aleli istatistiksel olarak birbirinden bağımsızdır ve bu hesaplamaları büyük ölçüde basitleştirir. Hardy-Weinberg dengesi DNA profillemeye yaygın olarak kullanıldığından, belirli bir popülasyon için ne kadar geçerli olduğunu kontrol etmek önemlidir. Hardy-Weinberg dengesini test etmek için bazı

yaygın yöntemler vardır. Bunlardan en yaygın olanları “Exact testi” ve Ki-kare (χ^2) analizidir. Ki-kare testi gözlenen genotip frekanslarını Hardy-Weinberg dengesine göre beklenen genotip frekansları ile karşılaştırır:

$$\chi^2 = \sum_{\text{genotipler}} \frac{(\text{gözlenen genotip frekansı} - \text{beklenen genotip frekansı})^2}{\text{beklenen genotip frekansı}}$$

Bu formülle hesaplanır(59,61).

2.4.3. Popülasyon genetiğinde ve adli genetikte kullanılan istatistiksel parametreler

Bir adli DNA analizinin üç olası sonucu vardır: dışlama, sonuç elde edememe ve dahil etme. Bunlardan yalnız dahil etme için istatistiğe gerek vardır. İstatistiksel parametreler rastgele eşleşme olasılığını, başka bir deyişle belirli bir genotipin (DNA profilinin) popülasyonda görülme sıklığını belirlemeye yardımcı olur. Dünya üzerinde yaşayan tüm insanların DNA profillerine erişme lüksümüz olmadığı için, daha küçük popülasyon grupları kullanılması gerekmektedir. Bunun için çeşitli etnik/ırksal popülasyon gruplarından alel frekansları toplanır. Bir DNA profilinin rastgele eşleşme olasılığı profilde bulunan alellere, kullanılan popülasyon alel frekanslarına ve popülasyon altyapısı veya akrabalık derecesini açıklayan genetik formüllere dayalı olarak belirlenir (61).

Rastgele eşleşme olasılığı (random match probability – RMP) belirli bir popülasyonda rastgele seçilmiş bir bireyin DNA profiline bu birey dışında başka birinin sahip olma olasılığıdır. Bazen popülasyonda bir DNA profilin görülme sıklığı olarak da yorumlanabilir ve bu formülle hesaplanır:

$$p_M = \sum_{k=1}^m p_k^2$$

P_M – eşleşme olasılığı,

P_k – her farklı genotipin frekansı,

m – farklı genotiplerin sayısı.

Birkaç lokus için birleşik eşleşme olasılığı, tüm lokuslar için değerlerin çarpımıdır.

Ayrım gücü (power of discrimination- PD) bir lokusun rastgele seçilmiş iki bireyi bir-birinden ayırt etme gücünü göstermek için kullanılan bir ölçüdür. Başka bir deyişle, rastgele seçilen iki bireyin farklı genotiplere sahip olma olasılığıdır:

$$p_D = 1 - p_M$$

p_D – ayırım gücü,

p_M – eşleşme olasılığı.

Birkaç lokusun birleşik ayırım gücü bu formülle hesaplanır:

$$P_{Dcomb} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_{Di})$$

P_{Dcomb} – birleşik ayırım gücü,

P_{Di} – lokusun bireysel ayırım gücü,

n – çarpım işareti.

Dışlama gücü (power of exclusion - PE) popülasyondan rastgele seçilmiş bir kişiden farklı olan kişilerin oranı olarak bilinir. Aynı zamanda, babalık testlerinde kullanılan genetik belirtecin biyolojik baba olmayan bireyleri dışlama yeteneğini karakterize etmek için kullanılan genel bir ölçüdür. Bu formülle hesaplanır:

$$PE = h^2(1 - 2hH^2)$$

h – lokustaki heterozigotluk,

H – lokustaki homozigotluk.

Birkaç lokus için dışlama olasılığı bu formülle hesaplanır:

$$PE_{comb} = 1 - \prod_{l=1}^L (1 - PE_l)$$

L - lokusların sayısı,

PE_l – l'inci lokus için dışlama gücü,

H – çarpım işareti (10,16,61).

Polimorfik bilgi içeriği (Polymorphic information content – PİC) bir lokusun polimorfik düzeyini gösterir. Bir çocuğun anne ve babadan gelen allellerinin çıkarılabilir olma olasılığı veya bir ebeveynin çocuğa hangi alleli aktardığını çıkarabilme olasılığı olarak yorumlanabilir. Bir ebeveyn homozigot olduğunda veya her iki ebeveyn ve çocuk aynı heterozigot genotipe sahip olduğunda bu çıkarım yapılamaz. Aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4$$

p_i – her bir farklı alelin frekansı,

n – farklı alellerin sayısı (10,62).

Gen çeşitliliğinin (gene diversity – GD) farklı tanımları vardır. Bu parametre, popülasyondan rastgele seçilen iki alelin farklı olma olasılığını tanımlar:

$$GD = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_i p_i^2 \right)$$

n - örneklenen gen kopyalarının sayısı,

p_i – i alelinin popülasyondaki alel frekansısıdır (62).

Wright'ın tanımladığı fiksasyon indeksleri veya F istatistikleri, popülasyon yapısını tanımlamak için en yaygın olarak kullanılan parametrelerdir (63). F_{st} alel frekanslarındaki farklılıkların karşılaştırılmasıyla popülasyonların birbirinden ne kadar "farklı" olduğunu değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Popülasyonların alel frekansları arasında fark olmaması ($F_{st}=0$), popülasyonlar arasında alel frekanslarını eşitleyen yüksek miktarda gen akışı olduğu anlamına gelir. $F_{st}=1$ olması ise popülasyonlar arasında hiçbir alel paylaşılmadığını, yani hiç gen akışı olmadığını gösterir. F_{st} , alt popülasyonlar arasındaki genetik farklılığın ölçüsüdür:

$$F_{st} = 1 - \left(H_s / H_T \right)$$

H_s - alt popülasyonlarda beklenen heterozigotluğun ortalaması,

H_T - tüm popülasyonda beklenen heterozigotluğun ortalaması (64).

2.4.4. Veri analizinde kullanılan programlar

2.4.4.1. Arlequin 3.5.

Arlequin, veri analizi için kullanılan ücretsiz bir popülasyon genetiği yazılımıdır. Fiksasyon indeksi (F_{st}), genetik uzaklık hesaplama, Hardy-Weinberg dengesi, bağlantı dengesizliği ve ikili karşılaştırma testleri dahil olmak üzere çeşitli test ve hesaplama türlerini gerçekleştirir. Arlequin'in amacı, popülasyon genetiğindeki ortalama kullanıcıya, bir popülasyonun genetik ve demografik özellikleri hakkında bilgi elde etmek için oldukça geniş bir dizi temel yöntem ve istatistiksel test sağlamaktır. Arlequin popülasyon içi veri analizi zamanı herhangi popülasyonun kendi genetik özellikleri hakkında bilgiler çıkarır. Popülasyonlar arası veri analizinde ise örneklerin birbirleriyle karşılaştırması yapılır (65).

2.4.4.2. PowerStats v.1.12

Microsoft® Excel çalışma sayfasına sahip olan, genotip verilerini doğrudan çalışma sayfasına yapıştırabilen bir yazılım dosyasıdır. Veriler girildikçe, bu yazılım dosyası otomatik olarak alel frekanslarını hesaplar ve ırk veya alt grup parametre analizini gerçekleştirir (66)

2.4.4.3. MEGA X v.10.0.5

MEGA, evrimsel mesafeleri tahmin etmek, filogenetik ağaçları yapılandırmak ve evrimsel açıdan temel istatistiksel parametreleri hesaplamak için etkileşimli, kullanıcı kolaylıklı bir platform sunar. MEGA, tek bir program paketi kullanarak evrimsel perspektiften çoklu gen dizilerinin veri analizini kolaylaştırmak için tasarlanmıştır (67).

2.4.4.4. Genetix 4.0.5

Genetix F istatistikleri ve bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium – LD) gibi popülasyon genetiğinin birkaç temel parametresini hesaplayan bir program setidir. Bunların her biri için, permütasyonlar kullanılarak sıfır hipotezi altındaki parametre değerlerinin şematik dağılımı oluşturulur. Bu program ile genotip verileri herhangi genetik analiz için uygun formata dönüştürülebilir. Genotip verileri hem elle girilebilir, hem de Microsoft® Excel dosyasından kopyalanarak veya metin sekmeye ayrılmış (.txt) biçiminde açılabilir (68).

2.5. Azerbaycan'dan Türkiye'ye göç

Azerbaycan, Batı Asya ve Doğu Avrupa'nın kesiştiği Kafkasya'da bulunan en büyük ülkedir. 2021 yılı itibarıyla Azerbaycan nüfusu 10.119.100 kişidir. Nüfusun % 91.6'ı Azerbaycanlılardan, % 8.4'ü ise 80'den çok diğer milletlerden oluşmaktadır. Bunların % 2'si lezgiler, % 1.3'ü ermeniler, % 1.3'ü ruslar, % 1.3'ü talışlardır. Azerbaycan nüfusunun geri kalanını ise avarlar, tatarlar, tatlar, udinler, yahudiler, kürtler, saxurlar, xınalıklar ve başka etnik gruplar oluşturmaktadır (69). 1918 yılında Azerbaycan Demokratik Cumhuriyeti kurulmuş ve 2 yıl sonra Sovyetler Birliği tarafından işgal edilmiştir. 1990 sonrasında Sovyetler Birliğinin

parçalanmasıyla Azerbaycan'dan Türkiye'ye göçler başlamış ve 2000 yılında Azerbaycan (9.031 kişi ile), Türkiye'de yaşayan yabancı uyrukluların istatistiğinde ilk 20'ye girmiştir (70). 21.10.2021 tarihi itibarıyla T.C. İçişleri Bakanlığı Göç İdaresi Genel Müdürlüğünün istatistiklerine göre 58.001 Azerbaycanlı ikamet izni ile Türkiye'de yaşamaktadır. Azerbaycan Türkiye'de ikamet izni ile yaşayan ilk 10 uyruk arasında 7'ci sıradadır. Aile ikamet izni ile Türkiye'de bulunan 12.233 Azerbaycanlı vardır ve bu gösterge ile Azerbaycan ilk sıradadır. Öğrenci olarak ikamet eden kişi sayısına (9.405 kişi) göre ise Azerbaycan ikinci sıradadır (71). Bu istatistikler yalnız resmi kayıt yaptıran ve ikamet izni alanlardır. Bununla birlikte düzensiz göç de gerçekleşmektedir. İstatistiklere göre Azerbaycan'dan Türkiye'ye göç genellikle öğrenci ve aile göçü şeklinde olmuştur ve bu göç bir önceki yıla göre artış göstermektedir. Türkiye Cumhuriyeti ve Azerbaycan arasında olan dostluk ve kardeşlik bağının tarih boyunca üst seviyede olması, bu iki ülke arasındaki ikili anlaşmalar, eğitimde ve kültürel alanda işbirlikleri ve yatırımlar göçün artışına sebep olmuştur (72).

3. Gereç ve Yöntem

Bu tez çalışmasında aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, DNA örneklerinin bilimsel çalışmalarda kullanılmasına rıza gösteren sağlıklı bireylerden, Azerbaycan'ın tüm coğrafi bölgelerini yansıtacak şekilde toplanmış 182 ağız içi sürüntü örneği Filoğlu ve ark. tarafından geliştirilen 34 InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusları, Y kromozomu üzerinde bulunan (rs2032678) 1 InDel lokusu ve cinsiyet belirteci olan amelogenin (AMG-XY) lokusundan oluşan 36-InDelplex paneli kullanılarak tiplendirildi.

182 kişinin genotipleri belirlendikten sonra elde edilen verilerin istatistiksel analizi gerçekleştirildi. Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programıyla alel frekansları, popülasyonlararası farklılaşma (Fst) ve Hardy-Weinberg dengesi, PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası programı ile adli istatistiksel parametreler hesaplandı. Filogenetik ağaç çizimi Mega X v.10.0.5 programıyla yapıldı.

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Ar-Ge Genetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir ve deney aşamasında bu laboratuvarında bulunan demirbaş cihazlar ve laboratuvar ekipmanları kullanılmıştır.

3.1. Deneyde Kullanılan Gereçler

3.1.1. Cihazlar

- Eppendorf / Brand otomatik pipetleri (2,5 µl, 20 µl, 100 µl, 200 µl, 1000 µl)
- Vorteks (Weightlab Instruments)

- Kuru ısıtıcı blok (Bio TDB100-Biosan)
- Florometre (Qubit 4-Thermo Fisher)
- Mikrosantrifüj (Unicfuges-5)
- Thermal döngü cihazı (SimpliAmp™ Thermal Cycler-Applied Biosystems™)
- Buzdolabı (Vestel)
- Derin dondurucu (Delta)
- Bilgisayar kontrollü genetik analizör 3500xl (ABI PRISM® 3500xl)
- DNA/RNA UV biyogüvenlik kabini (Kabin UVT/T-MAR-Grand Bio)

3.1.2. Ticari kitler

- E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (Omega Biotek)
- Quant-iT™ dsDNA HS (High Sensitive) Assay (Invitrogen)
- PCR Master Mix (Qiagen)
- Floresan (6-FAM, JOE, ATTO-550, ATTO-565) ile işaretli primerler (Biospring/The Oligo Company)

3.1.3. Kit dışı kimyasallar

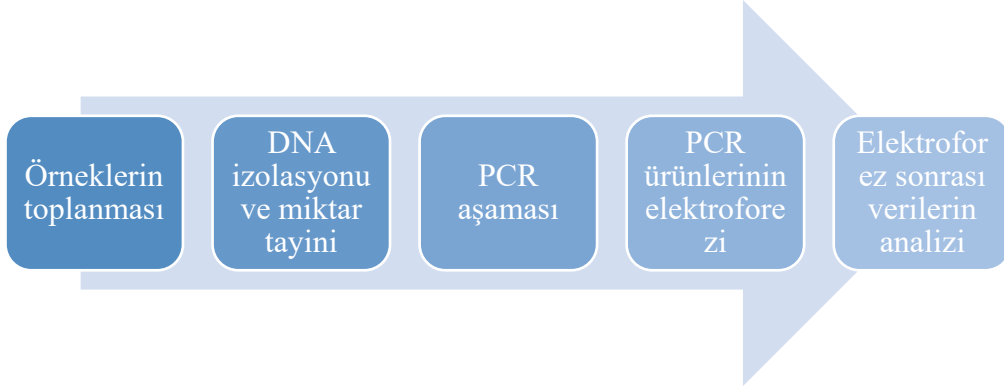
- Etanol (%96'lık)
- PBS (Phosphate Buffered Saline) tamponu

3.1.4. Kapiler elektroforez aşamasında kullanılan kimyasallar

- Hi-Di™ (highly deionized) Formamide (Thermo Fisher Scientific)
- GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard (Thermo Fisher Scientific)
- POP-7 Polimer (Performance Optimized Polymer 7) (Thermo Fisher Scientific)
- 10X EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) tamponu (Thermo Fisher Scientific)

3.2. Deney Aşaması

Deney aşamasındaki süreç aşağıda gösterilmiştir.

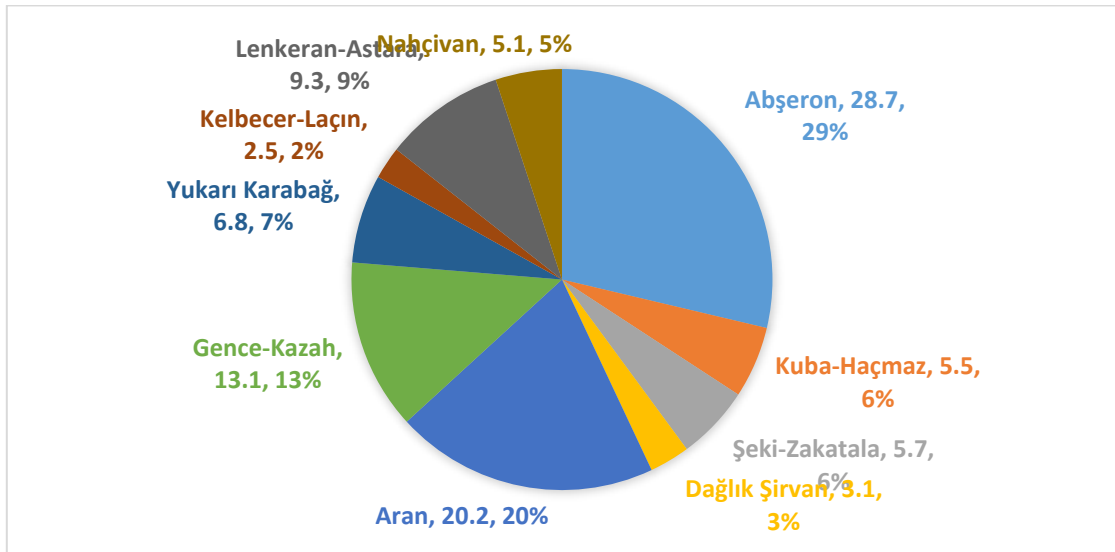


3.2.1. DNA örneklerinin toplanması

Bu çalışmada 22.12.2020 tarihli ve 166408 sayılı İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Etik Kurulu kararı (EK-2) ile “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (EK-1)”nu imzalayarak çalışmaya katılmaya rıza gösteren, Azerbaycan’da doğmuş, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan, Azerbaycan’ın tüm bölgelerini yansıtan, Azerbaycan kökenli 182 sağlıklı kişilerin DNA örnekleri kullanıldı. Bu kişilere Azerbaycan Kültür ve Eğitim derneği vasıtasıyla ulaşıldı ve çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul eden kişilerden ağız içi sürüntü (svap) örnekleri alındı. Azerbaycan’ın tüm bölgelerinden homojen olacak şekilde örnek alınabilmesi için Azerbaycan İstatistik Kurumununun 2019 nüfus verilerinden yararlandı (Şekil 6) (69).

Tablo II. Kullanılan örneklerin bölgelere göre dağılımı.

Bölge	Örnek sayısı		
	Kadın	Erkek	Toplam
Abşeron	27	28	55
Kuba-Haçmaz	7	5	12
Şeki-Zakatala	5	5	10
Dağlık Şirvan	5	3	8
Aran	14	16	30
Gence-Kazah	13	9	22
Yukarı Karabağ	7	7	14
Kelbecer-Laçın	3	3	6
Lenkeran-Astara	6	9	15
Nahçıvan	5	5	10
Azerbaycan geneli	92	90	182

**Şekil 6.** Azerbaycan bölgelerine göre nüfus dağılımı (69)

3.2.2. DNA izolasyonu ve miktar tayini

Ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu için E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (Omega Biotek) kullanıldı. DNA izolasyonundan sonra DNA miktar tayini florometrik yöntemle yapıldı. Bunun için Quant-iT™ dsDNA HS (High Sensetive) Assay Kit ve cihaz olarak Qubit® 4.0 (Thermo Fisher) kullanıldı.

3.2.2.1. E.Z.N.A Tissue DNA Kit ile ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyon talimatı

1. 1.5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne 400 µL PBS eklendi, gönüllülerden alınmış iki tane svap sırasıyla tüpe konuldu ve 20 dakika bekletildi.
2. Svapları çıkardıktan sonra tüpe 25 µL Proteinaz K eklendi.
3. Ardından 250 µL Buffer BL eklendi ve 15 sn. vortekslendi.
4. 70° C'de 10 dk. inkübe edildi.
5. Üzerine 250 µL Etanol (%96-100) eklendi ve 15 sn. vortekslendi.
6. Mikrosantrifüj tüpündeki lizat HiBind® mini spin kolona transfer edildi ve 12.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. (Tüpteki lizat bitene kadar santrifüj aşaması tekrar edildi.)
7. Altındaki filtrat içeren tüp atıldı. Yeni toplama tüpü eklendi.
8. Kolona 500 µL HBC Buffer eklendi.
9. 14.000 rpm'de 30 sn. santrifüj edildi ve altındaki toplama tüpü atılıp yeni toplama tüpü eklendi.
10. Kolona 700 µL DNA Wash Buffer eklendi.
11. 14.000 rpm'de 30 sn. santrifüj edildi. Altındaki filtrat atılıp toplama tüpü tekrar kullanıldı.
12. Kolona 700 µL DNA Wash Buffer eklendi.
13. 14.000 rpm'de 30 sn. santrifüj edildi. Altındaki filtrat atılıp toplama tüpü tekrar kullanıldı.

14. Kolon boş olarak 14.000 rpm'de 2 dk. santrifüj edildi.
15. HiBind® spin kolon 1.5 mL'lik mikrosantrijüj tüpüne alındı.
16. Verimi arttırmak için 70° C'de ısıtılmış 80 µL Elution Buffer eklendi ve 2 dk. oda ısısında (25° C) bekletildi.
17. 14.000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi.
18. Spin kolon atılıp izolatlar parafilmlemlendi ve uzun süreli saklama için -20° C'ye kaldırıldı.

3.2.2.2. Quant-iT™ dsDNA HS Assay kit ile DNA miktar tayini

1. 2 adet standart ve örnek sayısı göz önüne alınarak her bir örnek için 199 µL buffer ve 1 µL kit reagent eklenip çalışma solüsyonu hazırlandı.
2. Cihazın kalibrasyonu için 1. ve 2. tüpe 190 µL buffer-reagent konuldu ve üzerine 10µL Standart 1 ve Standart 2 eklendi.
3. Örnekler için tampon-reagent karışımından cihaza özgü tüpe 199 µL konuldu ve üzerine 1 µL DNA izolatu eklendi. Tüpler birkaç saniye vortekslendi.
4. Oda sıcaklığında (25°C) 2 dakika inkübe edildi.
5. Standart 1 ve Standart 2 sırasıyla okutulurken cihazın kalibrasyonu yapıldı.
6. Kalibrasyonu yapılmış Qubit® cihazına örnek tüpleri yerleştirilerek DNA miktarı ölçüldü.

3.2.3. PCR aşaması

Bu çalışmada çalışma protokolüne uygun çalışıldı. İzolasyonu ve miktar tayini yapılan 182 DNA örneğinde Filoğlu ve arkadaşları tarafından geliştirilen ve optimize edilen 36-InDelplex panelinin amplifikasyonu yapıldı. PCR reaksiyonu optimizasyonu ve validasyonu yapılan panelin protokolüne uygun şekilde yapıldı (53,56,73).

Tablo III. PCR primer mix karışım miktarları.

Kod		Primer stok karışımı (10µM/µl)	Kod	Primer stok karışımı (10µM/µl)	
FAM	ID26	1.2 µl	ATTO-550	ID23	1 µl
	ID3	1 µl		ID22	1,5 µl
	ID16	1,4 µl		ID14	1,5 µl
	ID32	1,4 µl		ID30	1 µl
	ID9	1,5 µl		ID1	1 µl
	ID36	2 µl		ID4	2,2 µl
	ID2	2 µl		ID17	0,5 µl
	ID37	1,5 µl		ID28	1 µl
	ID10	1,4 µl		ID19	2 µl
	ID8	1 µl			
JOE	ID31	1,5 µl	ATTO-565	ID25	2,2 µl
	ID27	2,2 µl		ID21	1,6 µl
	ID15	1,8 µl		ID29	2,2 µl
	ID24	2,2 µl		ID12	1.2 µl
	ID5	1.2 µl		ID18	1.2 µl
	ID34	2,2 µl		ID20	3,3 µl
	ID11	2,2 µl		ID7	3 µl
	ID35	2,2 µl		ID13	9 µl
	ID33	2 µl			

PCR bileşenleri Tablo IV’de gösterilen miktarlarda oluşturuldu. PCR karışımı buz üstünde hazırlandı. DNA örnekleri 0.5-2 ng aralığında olacak şekilde sulandırıldıktan sonra PCR karışımına ilave edildi. Karışımın bulunduğu tüplerde baloncuk olmamasına dikkat edildi.

Tablo IV. PCR bileşenleri miktarları.

PCR Bileşenleri	Miktar (μ l) her bir örnek için	Toplam Hacim
Master Mix	4.2 μ l	10.7 μ l
Primer Mix	3 μ l	
Taq polimeraz	0.5 μ l	
DNA (1 ng/ μ l)	2 μ l	
Distile Su	1 μ l	

PCR, SimpliAmp™ Thermal Cycler-Applied Biosystems™ ısı döngü cihazında gerçekleştirildi. PCR döngü koşulları Tablo V’de gösterildiği şekilde yapıldı.

Tablo V. PCR döngü koşulları.

Sıra	İşlem	Sıcaklık Değeri	Süre	Döngü
1	Denatürasyon	95 °C	11 dakika	
2	Amplifikasyon	94 °C	20 saniye	30 döngü
		62 °C	3 dakika	
3	Uzama	60 °C	60 dakika	
4	Bekletme	4 °C	∞	

3.2.4. PCR ürünlerinin elektroforezi

PCR ürünlerinin elektroforezi örneklerin elektroforeze hazırlanması, cihaza yülenmesi ve verilerin analizi olmak üzere 3 basamaktan oluşmaktadır. PCR ürünlerinin elektroforezi Genetiks Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi ve Laboratuvarları'nda Applied Biosystems™ 3500 genetik analizör cihazında gerçekleştirildi. Elde edilen veriler GeneMapper v.5.0 (Thermo Fisher Scientific) programında analiz edilerek 182 kişinin otozomal kromozomlarındaki 36 InDel lokusuna ait genotipleri belirlenmiştir.

3.2.4.1. Örneklerin elektroforeze hazırlanması

Applied Biosystems™ 3500 genetik analizör cihazında analizi yapılacak, her bir örnek için Tablo VI'da gösterilen karışım hazırlandı. Her bir yürütmeye pozitif kontrol ve negatif kontrol örnekleri de hazırlandı.

Tablo VI. Elektroforez bileşenleri ve miktarları.

Kullanılan malzemeler	Miktar (μ l) (bir örnek için)
Hi-Di™ formadide	10 μ l
GeneScan™ LIZ 500 Size Standard	0.3 μ l
PCR ürünü	1 μ l
Toplam hacim	11.3 μ l

3.2.4.2. Örneklerin elektroforezi

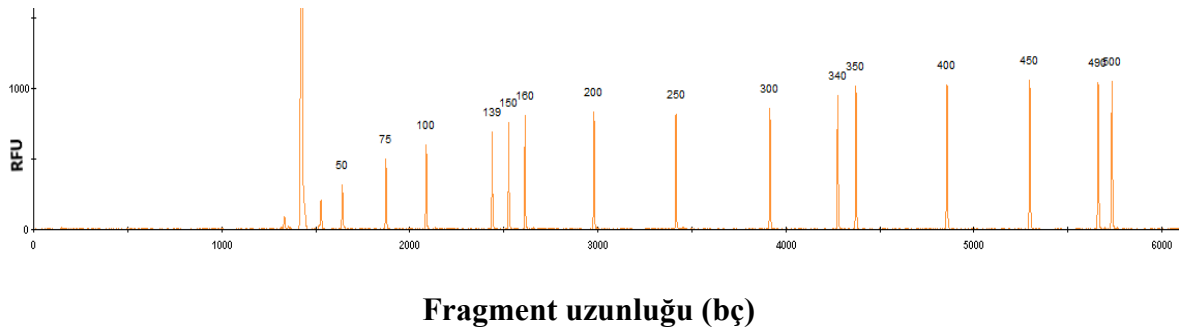
Örnekler 36 cm kapillerle, POP-7 polimeri kullanılarak GS STR POP7 (1 ml) G-5 modülünde; Tablo VII'de verilen parametrelere göre analiz edildi.

Tablo VII. Elektroforez koşulları.

Parametre	GS STR POP7 (1 ml) G-5 Modül
Matriks	InDel matriksi
Injeksiyon zamanı	24 sn.
Injeksiyon voltajı	1.2 kV
Yürütme zamanı	1050 sn.
Yürütme sıcaklığı	60°C

3.2.4.3. Verilerin analizi

Applied Biosystems™ 3500 genetik analizör cihazında elektroforez sonrası elde edilen verilerin yorumlanması GeneMapper v.5.0 (Thermo Fisher Scientific) analiz programı kullanılarak gerçekleştirildi. Önce her örnek için 500 LIZ™ Size Standard (35, 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 250, 300, 340, 350, 400, 450, 490 ve 500) kontrol edildikten sonra analiz yapıldı (Şekil 7). Alel boyutları bilinen ve mavi, yeşil, siyah, kırmızı renklerdeki floresan boyalar (FAM, JOE, ATTO-565, ATTO-550) dikkate alınarak elektroforegramdaki pikler değerlendirildi ve kişilerin InDel genotipleri belirlendi.

**Şekil 7.** 500 LIZ™ Size Standard

3.2.5. Çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemler

182 kişinin 36 InDel lokusuna ait genotipleri belirlendi ve Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3512/>) Azerbaycan popülasyonunun alel frekansları, beklenen (H_e) - gözlenen (H_o) heterozigotluk oranları ve Hardy-Weinberg dengesi (p değeri) hesaplandı. Arlequin için gereken dosya formatını oluşturmak için Genetix v.4.0.5.2 (<https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/>) yazılım programı kullanıldı. Ayrıca, PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak her bir lokus için adli istatistiksel parametreler hesaplandı. Bu parametreler; ayırım gücü (PD), eşleşme olasılığı (Pm), dışlama gücü (PE), polimorfik bilgi içeriği (PIC), tipik babalık indeksi (TPI)'dir. Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak popülasyonlar arasındaki farklılaşma derecesini belirlemek için F_{ST} değerleri hesaplanmıştır. F_{ST} değerlerinden yararlanarak da Mega X v.10.0.5 programı ile filogenetik ağaç çizilmiştir.

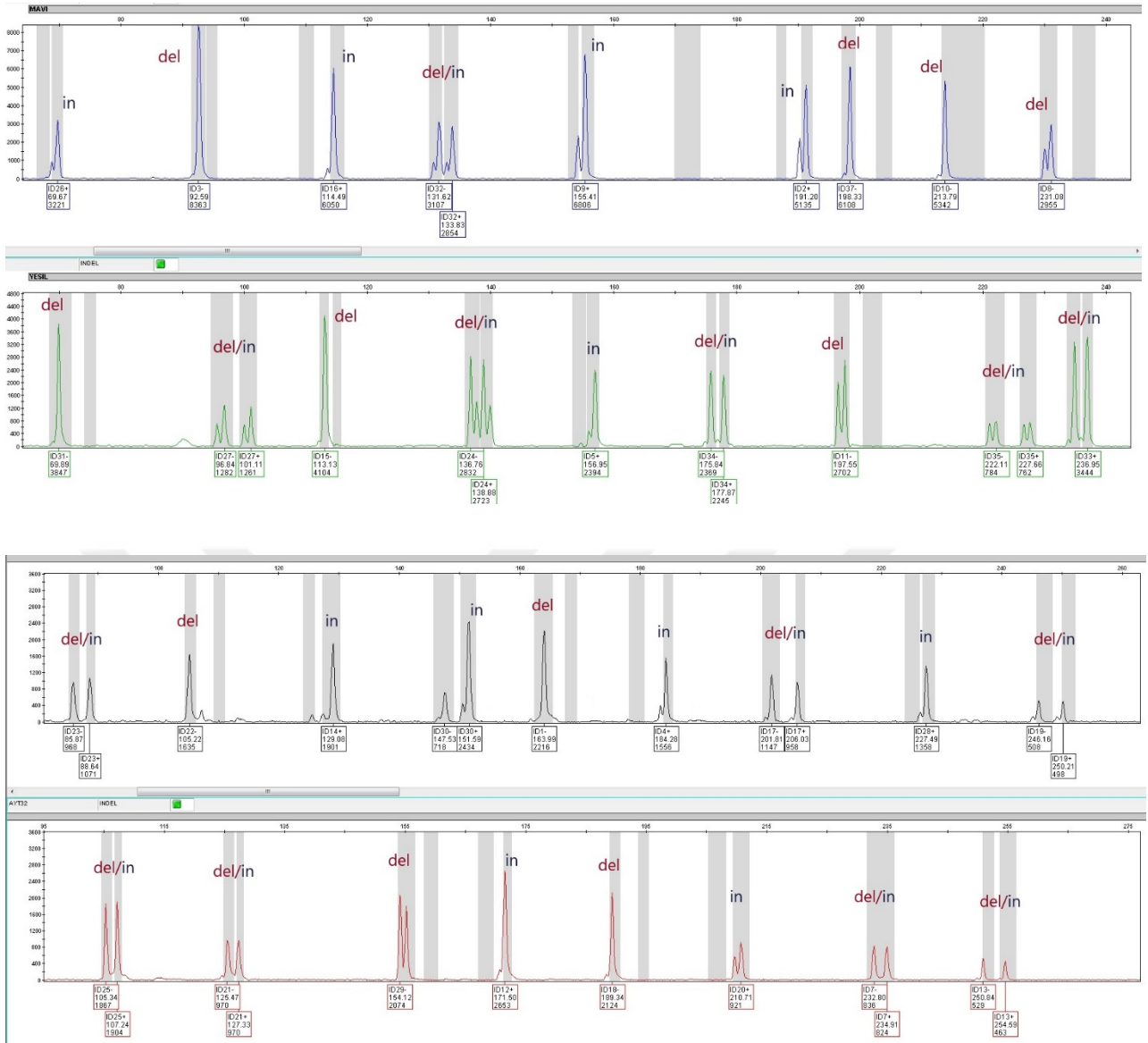
4. Bulgular

Bu çalışmada Filoğlu ve arkadaşları tarafından optimizasyonu ve validasyonu yapılmış otozomal kromozomlar üzerinde olan 34 InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusu, Y kromozomu üzerinde bulunan (rs2032678) 1 InDel lokusu ve amelogenin (AMG-XY) lokusundan oluşan 36-InDelplex paneli kullanılarak Azerbaycan popülasyonundaki genotipleri belirlendi. 182 gönüllüden alınan ağız içi sürüntü örneklerinin genotipleri belirlendikten sonra elde edilen verilerle istatistiksel değerlendirme yapıldı.

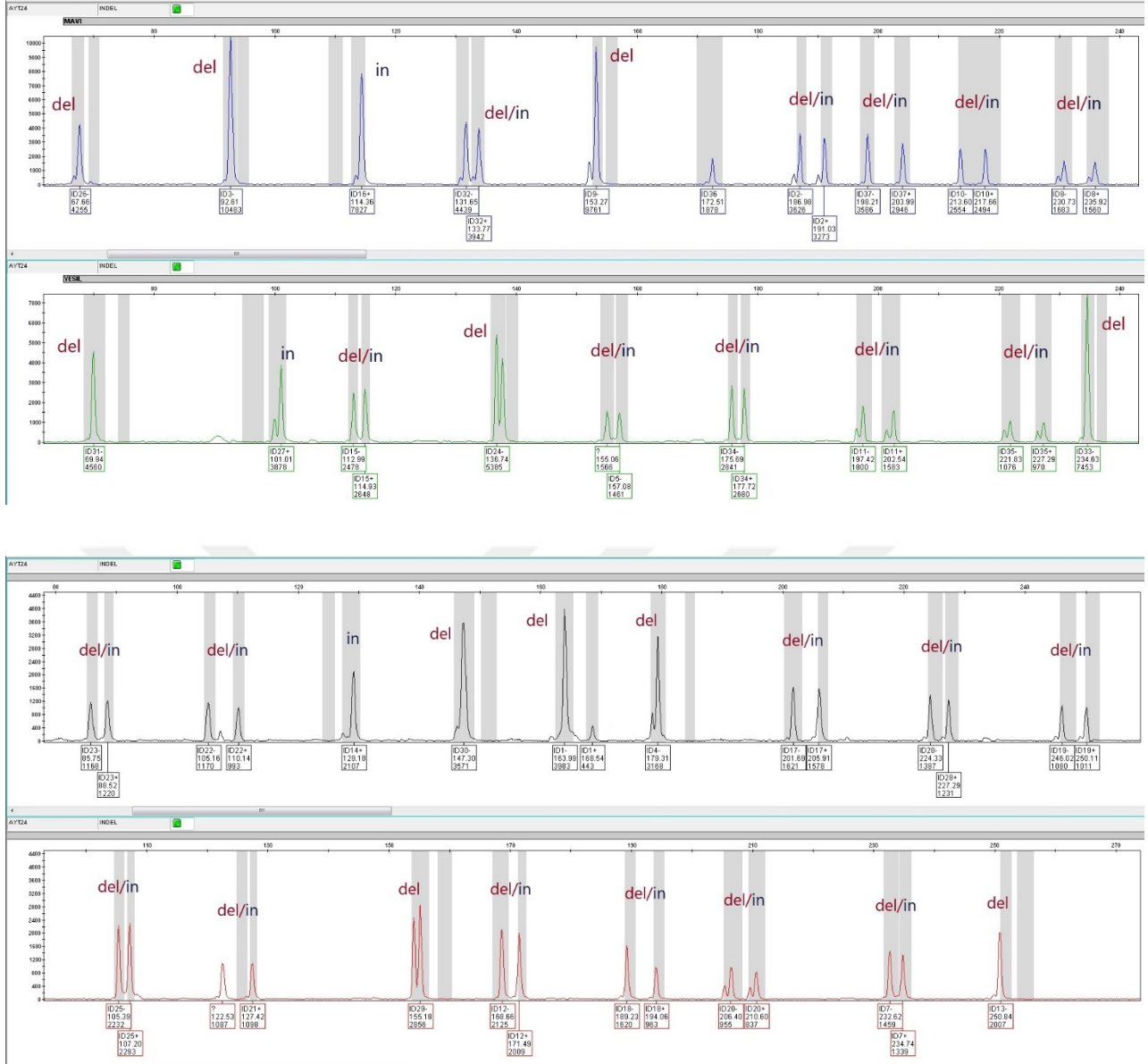
Genotip tayini için GeneMapper v.5.0 (Thermo Fisher Scientific) analiz programı, istatistiksel analizler için Arlequin v.3.5.1.2, Genetix v.4.0.5.2 yazılım programları ve PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası, filogenetik ağaç çizimi için Mega X v.10.0.5 programı kullanıldı.

4.1.Otozomal 36 InDel Lokusuna Ait Genotiplerin Belirlenmesi

Azerbaycanlı 182 gönüllüden toplanan ağız içi sürüntü örneklerinde DNA izolasyonu ve miktar tayini yapıldıktan sonra optimize edilmiş 36 InDel primerleri kullanılarak 0.5-2 ng/ul DNA ile PCR yapıldı. Applied Biosystems™ 3500 genetik analizör cihazında elektroforez yapıldıktan sonra GeneMapper v.5.0 (Thermo Fisher Scientific) analiz programı kullanılarak genotipler belirlendi. 182 kişiye 36 InDel profili Ek-Tablo'da gösterilmektedir. Bir kadına ait genotip elektroforegram görüntüsü Şekil 8'de ve bir erkeğe ait genotip elektroforegram görüntüsü Şekil 9'da gösterilmektedir.



Şekil 8. 36 InDel lokusunun bir kadın örneğine ait elektroforegram görüntüsü



Şekil 9. 36 InDel lokusunun bir erkek örneğine ait elektroforegram görüntüsü

4.2. İstatistiksel Bulgular

4.2.1. InDel lokuslarının alel frekanslarının belirlenmesi

Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak 34 InDel lokusunun Azerbaycan popülasyonunu temsil eden 182 gönüllüye ait alel frekansları hesaplandı. Alel frekansları Tablo VIII'de ve grafiksel görünümü Şekil 10'da gösterilmiştir.

Tablo VIII. 34 InDel lokusunun Azerbaycan popülasyonuna ait alel frekansları.

Lokus	Frekans	Motif	Lokus	Frekans	Motif
ID 1-	0.511	TG/TGAGTG	ID 20-	0.385	-/GAAT
ID 1+	0.489		ID 20+	0.615	
ID 2-	0.439	TGAA/TGAATGAA	ID 21-	0.143	-/AA/CA
ID 2+	0.560		ID 21-	0.442	
ID 3-	0.555	-/AG	ID 21+	0.415	
ID 3+	0.445		ID 22-	0.775	GG/GGTGTGG
ID 4-	0.585	AAGT/AAGTCAAGT	ID 22+	0.225	
ID4+	0.415		ID 23-	0.464	TAA/TAATAA
ID 5-	0.527	-/AG	ID 23+	0.536	
ID5+	0.472		ID 24-	0.439	-/CT
ID 7-	0.613	GTG/GTGTG	ID 24+	0.560	
ID 7+	0.387		ID 25-	0.538	A/ATA
ID 8-	0.415	TAA/TAAGTTAA	ID 25+	0.462	
ID 8+	0.585		ID 26-	0.533	TG/TGTG
ID 9-	0.567	GAGA/GAGAGA	ID 26+	0.467	
ID9+	0.431		ID 27-	0.385	TGATTG/TGATTG ATTG
ID 10-	0.475	AGGAAGG/AGGAAGGAA GG	ID 27+	0.615	
ID 10+	0.525		ID 28-	0.382	CATC/CATCATC
ID 11-	0.483	AATAA/AATAAAATAA	ID 28+	0.618	
ID 11+	0.516		ID 29-	0.701	T/TTGTT
ID 12-	0.302	CAG/CAGCAG	ID 29+	0.299	
ID 12+	0.698		ID 30-	0.613	CATT/CATTCATT
ID 13-	0.472	TAG/TAGATAG	ID 30+	0.387	
ID 13+	0.527		ID 31-	0.648	GACTT/GACTTG ACTT
ID 14-	0.610	-/ATCT	ID 31+	0.352	
ID 14+	0.390		ID 32-	0.445	GGG/GGGGG
ID 15-	0.376	GAGA/GAGAGA	ID 32+	0.555	

Tablo IX. Hardy-Weinberg dengesi tablosu.

Lokuslar	Göz. Het.	Bek. Het.	P değeri	Lokuslar	Göz. Het.	Bek. Het.	P değeri
ID 1	0.53846	0.50114	0.37354	ID 19	0.54396	0.47339	0.05801
ID 2	0.47253	0.49405	0.65197	ID 20	0.56044	0.47468	0.01827
ID 3	0.54945	0.49532	0.17484	ID 21	0.63187	0.61355	0.02153
ID 4	0.53297	0.48683	0.22478	ID 22	0.31868	0.35001	0.28651
ID 5	0.41758	0.49986	0.03669	ID 23	0.53297	0.49882	0.37415
ID 7	0.41209	0.47593	0.08587	ID 24	0.45055	0.49405	0.29569
ID 8	0.47802	0.48683	0.87963	ID 25	0.56044	0.49841	0.10271
ID 9	0.52198	0.49192	0.45181	ID 26	0.49451	0.49920	1.00000
ID 10	0.48901	0.50015	0.76961	ID 27	0.47253	0.47468	1.00000
ID 11	0.49451	0.50083	0.88285	ID 28	0.40110	0.47339	0.04490
ID 12	0.43956	0.42291	0.72426	ID 29	0.45604	0.42072	0.29161
ID 13	0.47253	0.49986	0.54867	ID 30	0.46703	0.47593	0.87588
ID 14	0.46154	0.47716	0.75493	ID 31	0.47253	0.45724	0.74433
ID 15	0.44505	0.47073	0.52673	ID 32	0.53846	0.49532	0.29153
ID 16	0.45604	0.48683	0.44489	ID 33	0.46154	0.50114	0.30426
ID 17	0.44505	0.50064	0.13830	ID 34	0.41758	0.48951	0.04910
ID 18	0.42857	0.50132	0.05554	ID 35	0.51099	0.50100	0.88261

4.2.3. Adli istatistiki parametreler

PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak 34 InDel lokusuna ait ayırım gücü (PD), eşleşme olasılığı (PM), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (PI) gibi adli istatistiki parametreleri hesaplandı. Bu parametreler Tablo X'da verilmiştir.

Tablo X. Adli istatistiki parametreler.

Lokuslar	PM	PD	PIC	PE	TPI
ID 1	0.397	0.603	0.37	0.223	1.08
ID 2	0.373	0.627	0.37	0.169	0.96
ID 3	0.410	0.590	0.37	0.232	1.10
ID 4	0.408	0.592	0.37	0.218	1.07
ID 5	0.345	0.655	0.37	0.125	0.86
ID 7	0.368	0.632	0.36	0.121	0.85
ID 8	0.379	0.621	0.37	0.169	0.96
ID 9	0.396	0.604	0.37	0.207	1.05
ID 10	0.371	0.629	0.37	0.178	0.98
ID 11	0.373	0.627	0.37	0.183	0.99
ID 12	0.429	0.571	0.33	0.140	0.89
ID 13	0.364	0.636	0.37	0.165	0.95
ID 14	0.382	0.618	0.36	0.156	0.93
ID 15	0.383	0.617	0.36	0.144	0.90
ID 16	0.370	0.630	0.37	0.152	0.92
ID 17	0.353	0.647	0.37	0.144	0.90
ID 18	0.347	0.653	0.37	0.132	0.88
ID 19	0.428	0.572	0.36	0.229	1.10
ID 20	0.437	0.563	0.36	0.246	1.14
ID 21	0.241	0.759	0.53	0.331	1.36
ID 22	0.485	0.515	0.29	0.072	0.73
ID 23	0.396	0.604	0.37	0.218	1.07
ID 24	0.361	0.639	0.37	0.148	0.91
ID 25	0.414	0.586	0.37	0.246	1.14
ID 26	0.374	0.626	0.37	0.183	0.99

ID 27	0.389	0.611	0.36	0.165	0.95
ID 28	0.368	0.632	0.36	0.115	0.83
ID 29	0.436	0.564	0.33	0.152	0.92
ID 30	0.386	0.614	0.36	0.160	0.94
ID 31	0.406	0.594	0.35	0.165	0.95
ID 32	0.402	0.598	0.37	0.223	1.08
ID 33	0.358	0.642	0.37	0.156	0.93
ID 34	0.356	0.644	0.37	0.125	0.86
ID 35	0.381	0.619	0.37	0.197	1.02

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

4.2.4. Popülasyonlar arası farklılaşma (F_{ST} değerleri)

Azerbaycan popülasyonu için araştırılan 34 InDel lokusunun dünyada çeşitli popülasyonlar arasında genetik benzerlik veya uzaklığını belirlemek için F_{ST} hesaplandı. Çeşitli popülasyonlara ait 34 InDel lokusunun (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307789, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) alel frekansı bilgilerine 1000 Genome INDELS verilerinin bulunduğu Ensembl (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index) veri tabanından ulaşılmıştır.

Azerbaycan popülasyonu ile Afrika, Amerika, Avrupa, Güney Asya ve Doğu Asya popülasyonlarına ait genotip bilgileri kullanılarak 34 InDel lokusu için Arlequin v.3.5.1.2 programı ile F_{ST} değerleri hesaplandı. Hesaplamalar sonucu elde edilen F_{ST} değerleri Tablo XII'de, analiz sonucu elde edilen p değerleri Tablo XIII'de gösterilmektedir.

Tablo XI. Çeşitli popülasyonların 34 InDel lokusuna ait alel frekansları (74)

Lokus	Azerbaycan N=182		Amerika N=347		Afrika N=661		Avrupa N=503		Doğu Asya N=504		Güney Asya N=489	
	Del	İns	Del	İns	Del	İns	Del	İns	Del	İns	Del	İns
ID1	0.511	0.489	0.501	0.499	0.264	0.736	0.485	0.515	0.346	0.654	0.562	0.438
ID2	0.439	0.560	0.344	0.656	0.841	0.159	0.453	0.547	0.719	0.281	0.613	0.387
ID3	0.555	0.445	0.416	0.571	0.277	0.615	0.368	0.625	0.458	0.542	0.485	0.508
ID4	0.585	0.415	0.300	0.700	0.245	0.755	0.433	0.567	0.638	0.362	0.470	0.530
ID5	0.527	0.472	0.331	0.669	0.660	0.340	0.460	0.540	0.205	0.795	0.334	0.666
ID7	0.613	0.387	0.561	0.439	0.908	0.092	0.416	0.584	0.491	0.509	0.649	0.351
ID 8	0.415	0.585	0.366	0.634	0.435	0.565	0.538	0.462	0.583	0.417	0.511	0.489
ID 9	0.567	0.431	0.390	0.610	0.662	0.338	0.458	0.542	0.084	0.916	0.418	0.582
ID10	0.475	0.525	0.313	0.687	0.139	0.861	0.551	0.449	0.430	0.570	0.364	0.636
ID11	0.483	0.516	0.452	0.548	0.318	0.682	0.448	0.552	0.490	0.510	0.452	0.548
ID12	0.302	0.698	0.641	0.359	0.791	0.209	0.773	0.227	0.488	0.512	0.735	0.265
ID13	0.472	0.527	0.434	0.566	0.404	0.596	0.537	0.463	0.476	0.524	0.501	0.499
ID14	0.610	0.390	0.301	0.699	0.455	0.545	0.370	0.630	0.163	0.837	0.421	0.579
ID15	0.376	0.624	0.715	0.285	0.295	0.705	0.710	0.290	0.557	0.443	0.663	0.337
ID16	0.585	0.415	0.486	0.514	0.133	0.867	0.639	0.361	0.571	0.429	0.624	0.376
ID17	0.519	0.481	0.532	0.468	0.424	0.576	0.603	0.397	0.576	0.424	0.665	0.335
ID18	0.494	0.505	0.476	0.524	0.311	0.689	0.430	0.570	0.650	0.350	0.480	0.520
ID19	0.618	0.382	0.679	0.321	0.372	0.628	0.529	0.471	0.602	0.398	0.740	0.260
ID20	0.385	0.615	0.277	0.723	0.325	0.675	0.395	0.605	0.450	0.450	0.417	0.583
ID21	0.585	0.415	0.467	0.533	0.367	0.633	0.369	0.631	0.572	0.428	0.446	0.554
ID22	0.775	0.225	0.398	0.602	0.454	0.546	0.375	0.625	0.446	0.554	0.352	0.648
ID23	0.464	0.536	0.373	0.627	0.888	0.112	0.487	0.513	0.565	0.435	0.401	0.599
ID24	0.439	0.560	0.483	0.517	0.307	0.693	0.453	0.547	0.108	0.892	0.509	0.491
ID25	0.538	0.462	0.386	0.614	0.445	0.555	0.454	0.546	0.691	0.309	0.498	0.502
ID26	0.533	0.467	0.411	0.589	0.627	0.373	0.491	0.509	0.183	0.817	0.260	0.740
ID27	0.385	0.615	0.484	0.516	0.328	0.672	0.405	0.595	0.123	0.877	0.346	0.654
ID28	0.382	0.618	0.703	0.297	0.457	0.543	0.626	0.374	0.493	0.507	0.489	0.511
ID29	0.701	0.299	0.594	0.406	0.605	0.395	0.673	0.327	0.643	0.357	0.570	0.430
ID30	0.613	0.387	0.500	0.500	0.115	0.885	0.581	0.419	0.424	0.576	0.604	0.396
ID31	0.648	0.352	0.500	0.500	0.627	0.373	0.581	0.419	0.550	0.450	0.421	0.579
ID32	0.445	0.555	0.392	0.608	0.368	0.632	0.412	0.588	0.410	0.590	0.457	0.543
ID33	0.511	0.489	0.585	0.415	0.871	0.129	0.432	0.568	0.782	0.218	0.515	0.485
ID34	0.423	0.577	0.398	0.602	0.845	0.155	0.330	0.670	0.491	0.509	0.400	0.600
ID35	0.486	0.514	0.429	0.571	0.197	0.803	0.445	0.555	0.474	0.526	0.506	0.494

Tablo XII. 34 InDel lokusunun popülasyonlar arası F_{ST} değerleri.

	Azerbaycan	Afrika	Amerika	Doğu Asya	Avrupa	Güney Asya
Azerbaycan	0.00000					
Afrika	0.13556	0.00000				
Amerika	0.02710	0.13384	0.00000			
Doğu Asya	0.05672	0.15650	0.07388	0.00000		
Avrupa	0.00919	0.14145	0.02093	0.07093	0.00000	
Güney Asya	0.02510	0.14639	0.02429	0.06028	0.02312	0.00000

F_{ST} değeri 0-0.05 küçük, 0.05-0.15 orta düzey, 0.15-0.25 büyük, 0.25'ten büyük ise çok büyük bir genetik farklılaşma

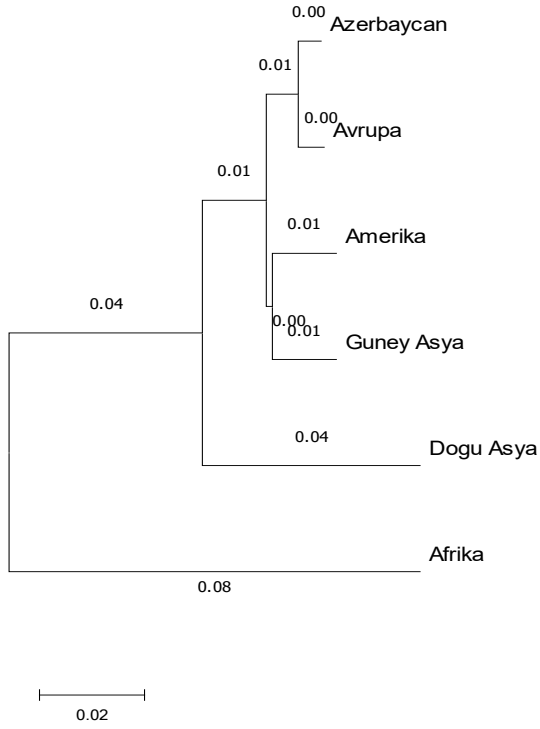
Tablo XIII. F_{ST} analizi sonucu elde edilen p değerleri.

	Azerbaycan	Afrika	Amerika	Doğu Asya	Avrupa	Güney Asya
Azerbaycan						
Afrika	0.0000+-0.0000					
Amerika	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000				
Doğu Asya	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000			
Avrupa	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000		
Güney Asya	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	0.0000+-0.0000	

4.2.5. Filogenetik ağaç çizimi

Azerbaycan popülasyonuna ait elde ettiğimiz verilerle diğer popülasyonlara ait Ensemble veri tabanından ulaştığımız genotip verilerini karşılaştırarak hesapladığımız F_{ST} değerlerini kullanarak Mega X v.10.0.5 programında “komşu birleştirme” (neighbor joining) yöntemi ile

filogenetik ağaç çizildi. 34 InDel lokusuna ait F_{ST} değerleri ile çizilen filogenetik ağaç Şekil 11'de gösterilmektedir.



Şekil 11. Komşu birleştirme yöntemiyle çizilmiş filogenetik ağaç

5. Tartışma

Genetik kimliklendirmede genellikle STR ve SNP polimorfizmlerine dayalı analizler kullanılmaktadır. 15'ten fazla STR lokusunun eşzamanlı amplifikasyonuna izin veren multipleks kitlerin ortaya çıkmasıyla genetik testlerin duyarlılığında ve hızında bir artış sağlanmıştır. Ancak, bozulmuş ve düşük miktarda DNA örneklerinden başarılı sonuç alınmadığından, adli genetikte son araştırmalar, daha kısa ampliconlara sahip polimorfik sistemlerin geliştirilmesine odaklanmıştır. InDel polimorfizmleri, hem STR'lerin, hem de SNP'lerin arzu edilen özelliklerini kendisinde birleştirdiği için adli kimliklendirme alanında önemli potansiyele sahip olduğu görülmüştür. 2002 yılında Weber ve arkadaşları 2.000 diallelik InDel polimorfizmini tanımlamıştır (6,75). Mills ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınladıkları çalışmada InDel'lerin insan genomunda her 7,2 kb'da bir görüldüğü bildirilmiş ve 415.000'den fazla InDel polimorfizminden oluşan insan genomunun ilk InDel haritası oluşturulmuştur (41). Genom boyunca geniş bir dağılıma sahip olmaları, düşük mutasyon oranları, küçük amplicon boyutları, popülasyon grupları arasında alel frekanslarında önemli farklılıklar göstermesi, kapiler elektroforeze dayalı basit ve bilinen yöntemle analiz edilebilmelerinden dolayı InDel'ler son yıllarda adli genetik ve popülasyon genetiğinde önem kazanmış ve bir dizi çalışmalar yapılmıştır (6). Son dönemlerde, adli kimliklendirmede kullanılmak üzere, iki InDel kiti (Investigator DIPplex® kit, InDelplex InDel Polymorphism Detection kit) ve bir çok araştırmacı tarafından çeşitli InDel panelleri geliştirilmiştir (45,49,76–78).

Bu tez çalışmasının amacı Filoğlu ve arkadaşlarının geliştirdiği 36-InDelplex paneline dahil olan 34 otozomal InDel lokusu, bir Y kromozomu üzerinde olan InDel lokusu ve amelogenin lokusunun Azerbaycan popülasyonundaki gen sıklıklarını belirlemek, ülkemizde ve Azerbaycan'da adli laboratuvarlarda kimliklendirme ve nesep tayininde kullanımını sağlamaktır.

Çalışmanın ilk aşamasında Azerbaycan'ın tüm bölgelerinden homojen şekilde toplanmış 182 örneğin (92 kadın, 90 erkek), izolasyon ve miktar tayini yapıldıktan sonra optimizasyonu ve validasyonu yapılan panelin protokolüne uygun şekilde genotiplendirildi. Bir kadın ve bir erkek örneğine ait elektroforegram görüntüsü Şekil 8 ve Şekil 9'da gösterilmektedir. Elde edilen genotip verileri kullanılarak 34 InDel lokusunun Azerbaycan popülasyonundaki alel frekansları Arlequin v.3.5.1.2 programı ile hesaplandı. Elde edilen sonuçlara bakıldığında en düşük alel frekansı 0.143 ile ID21 (rs56168866) lokusunda delesyon için, en yüksek alel frekansı 0.775 ile ID22 (rs2308112) lokusunda delesyon için gözlemlendi (Tablo VIII ve Şekil 10). ID22 ve ID29 lokuslarında alel frekans oranlarının diğer lokuslara göre daha az dengeli olduğu (ID22 - 0.775/0.225, ID29 - 0.701/0.299) ve ID22 lokusunun da heterozigotluk oranının (0.31868) diğer lokuslara göre daha düşük olduğu görüldü.

Popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığını belirlemek için yine Arlequin v.3.5.1.2 programında beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve p değerleri hesaplandı (Tablo IX). 36-InDelplex genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesine göre beklenenden farklı bir sapma göstermemiştir. Bu da çalıştığımız popülasyonun dengede olduğunu ve örneklemin doğru oluşturulduğunu göstermektedir.

36-InDelplex panelinin otozomal 34 InDel lokusunun ayırım gücü (PD), eşleşme olasılığı (Pm), polimorfik bilgi içeriği (PIC), dışlama gücü (PE), tipik babalık indeksi (PI) PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak hesaplandı (Tablo X). Adli istatistiki parametreler her bir lokus için ayrı ayrı ele alındığında en yüksek ayırım gücünün ID21 lokusunda (0.759) ve en düşük ayırım gücünün ID22 lokusunda gözlemlendi (0.515). ID22 lokusunun dışlama gücünün (0.072) diğer lokuslara göre düşük olduğu görüldü. Dışlama gücünün en yüksek olduğu lokus yine ID21 lokusu (0.331) gözlemlendi. Rastgele eşleşme olasılığı ise en yüksek ID22 lokusunda (0.485) ve en düşük ID21 lokusunda (0.241) görüldü.

ID21 lokusunun adli istatistikî değerlerinin daha yüksek olmasının nedeni bu lokusun 3 alellik (multiallelik) varyasyon göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Tüm lokuslarda gözlenen ortalama heterozigotluk oranı 0.4807 olarak hesaplandı. 34 lokus birlikte çalışıldığında ortalama ayırım gücü %99.9999999999999375124, ortalama dışlama gücü 99.87056% olarak saptandı. Çalıştığımız Azerbaycan popülasyonunda panelin ortalama rastgele eşleşme olasılığı (CMP) 6.24×10^{-15} olarak hesaplandı. Sonuç olarak, söz konusu panelin kimliklendirme ve nesep tayininde yeterli ayırım gücüne ve dışlama gücüne sahip olduğu saptanmıştır.

Li ve arkadaşlarının geliştirdiği 29 InDel lokusundan oluşan kimliklendirme paneli çalıştığımız 36-InDplex paneli ile ortak iki lokus (rs1160981 ve rs16671) içermektedir. Çin Han popülasyonunda yapılan araştırmada rs1160981 (ID12) lokusunun ayırım gücü 0.650 iken, Azerbaycan popülasyonunda 0.571, rs16671 (ID32) lokusunun ayırım gücü Çin Han popülasyonunda 0.585 iken, Azerbaycan popülasyonunda 0.598 gözlenmiştir (79).

Pereira ve arkadaşlarının geliştirdiği 38 InDel lokusundan oluşan panelle ortak olan rs2308137 (ID15), rs33972805 (ID24), rs1610919 (ID25) lokuslarının Afrika (0.569, 0.594, 0.624), Avrupa (0.599, 0.624, 0.608) ve Doğu Asya (0.621, 0.307, 0.575) popülasyonlarındaki ayırım güçleri Azerbaycan (0.617, 0.639, 0.586) popülasyonunda gözlemlediğimiz ayırım güçleri Doğu Asya hariç benzerdir (43). 38 InDel panelinin rastgele eşleşme olasılığı çalışılan popülasyonlarda 10^{-14} ile 10^{-15} değişiyor ve bu panelimizin Azerbaycan popülasyonunda eşleşme olasılığı (6.24×10^{-15}) ile benzerdir.

30 InDel lokusu ve 1 amelogenin lokusundan oluşan Investigator DIPplex® kiti (Qiagen) ile çalıştığımız panel arasında ortak 5 lokus (rs28369942, rs1610937, rs2308072, rs2308163, rs16363) bulunmaktadır. Larue ve arkadaşlarının DIPplex® kiti ile yaptıkları popülasyon çalışmasında Afrika-Amerika, Asya, Kafkasya, Güney-Batı Hispanik popülasyonlarında,

Düvenci ve arkadaşlarının yine aynı kitle Türkiye popülasyonunda yaptıkları araştırmada 5 lokusta gözlemlenen rastgele eşleşme olasılıkları benzer oranlardadır (Tablo XIV) (47).

Tablo XIV. Investigator DIPplex® kiti ile ortak 5 lokusun çeşitli popülasyonlarda rastgele eşleşme olasılıkları (47).

	Rastgele Eşleşme Olasılıkları (PM)					
	Afrika- Amerika N=77	Asya N=80	Kafkasya N=75	Güney-Batı Hispanikler N=69	Türkiye N=250	Azerbaycan N=182
rs28369942 (ID4)	0.4468	0.3591	0.3860	0.4371	0.366	0.408
rs1610937 (ID10)	0.5561	0.3909	0.4404	0.4799	0.348	0.371
rs2308072 (ID19)	0.3962	0.3947	0.3472	0.4157	0.365	0.428
rs2308163 (ID27)	0.4427	0.5134	0.3657	0.3989	0.376	0.389
rs16363 (ID36)	0.4967	0.4116	0.4105	0.3716	0.372	0.381

Kimliklendirme ve nesep tayininde kullanılmak üzere geliştirilmiş çeşitli InDel panellerinin rastgele eşleşme olasılıklarını karşılaştırdığımızda, Investigator DIPplex® kitinin eşleşme olasılığı 7.63×10^{-12} (47), Pereira ve ark. nın 38 InDel paneli 3.6×10^{-15} (43), Pimenta ve ark.nın 40 InDel paneli 3.48×10^{-17} (45), Li ve ark.nın 29 InDel panelinin 9.1×10^{-12} (79), çalıştığımız 36-InDelplex panelinin 6.24×10^{-15} olup, benzer oranlarda olduğu ve 16 STR lokusundan oluşan PowerPlex® 16 (80) (5.5×10^{-18}) kitine yakın eşleşme olasılığına sahip olduğu görülmektedir (Tablo XV).

Tablo XV. Çeşitli kimliklendirme panellerinin eşleşme olasılıklarının karşılaştırması.

Multiplex	Lokus sayısı	Popülasyon	Markır	Eşleşme Olasılığı (PM)
Pereira ve ark. (43)	38	Avrupa	InDel	3.6×10^{-15}
Pimenta ve ark. (45)	40	Brazilya	InDel	3.48×10^{-17}
Li ve ark. (79)	29	Çin	InDel	9.1×10^{-12}

Larue ve ark. (47)	30	Asya	InDel	7.63×10^{-12}
36-InDelplex	36	Azerbaycan	InDel	6.24×10^{-15}
PowerPlex® 16 (80)	16	Kafkasya	STR	5.5×10^{-18}

Popülasyonlar arası genetik uzaklığı belirlemek için Ensemble veri tabanından 34 InDel lokusunun Afrika, Amerika, Avrupa, Güney Asya ve Doğu Asya popülasyonlarına ait genotip verilerine ulaşıldı. Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak Azerbaycan popülasyonu ile Afrika, Avrupa, Güney Asya ve Doğu Asya popülasyonları karşılaştırılarak F_{ST} değerleri hesaplandı (Tablo XI). Buna göre, Azerbaycan popülasyonu ile Avrupa popülasyonu arasında 0.00919, Güney Asya popülasyonu ile 0.02510, Amerika popülasyonu ile 0.02710 F_{ST} değeri ile küçük bir genetik farklılaşma görülürken, Doğu Asya popülasyonu ile 0.05672, Afrika popülasyonu ile 0.13556 F_{ST} değeri ile orta düzey bir genetik farklılaşma görülmektedir. Azerbaycan popülasyonu ile en küçük genetik farklılaşmanın Avrupa popülasyonu ile olduğu saptandı.

Azerbaycan popülasyonu ile Avrupa popülasyonu arasında 17 lokusta (ID2, ID4, ID8, ID11, ID12, ID13, ID15, ID16, ID17, ID18, ID19, ID22, ID31, ID32, ID33, ID34, ID35) küçük düzey, 2 lokusta (ID3, ID30) orta düzeyde farklılaşma gözlenirken, Amerika popülasyonu arasında 23 lokusta küçük düzeyde, 5 lokusta orta düzeyde ve 1 lokusta büyük düzeyde farklılaşma gözlemlendi. Azerbaycan ile Güney Asya popülasyonu arasında 21 lokusta küçük düzeyde, 5 lokusta orta düzeyde, farklılaşma, son olarak, Doğu Asya popülasyonu arasında 15 lokusta küçük düzeyde, 6 lokusta orta düzeyde, 4 lokusta büyük düzeyde ve 2 lokusta çok büyük düzeyde farklılaşma, Afrika popülasyonu arasında ise 12 lokusta küçük düzeyde, 8 lokusta orta düzeyde, 5 lokusta büyük düzeyde, 6 lokusta çok büyük düzeyde farklılaşma saptandı.

Elde edilen F_{ST} değerleri ile Mega X v.10.0.5 programı kullanılarak “komşu birleştirme” yöntemiyle filogenetik ağaç çizildi. F_{ST} değerleri arasındaki farklılık bu ağaçla daha net bir

şekilde gözlemlenmektedir. Bu filogenetik ağaçta Azerbaycan popülasyonunun Avrupa popülasyonu ile daha yakın konumda olduğu görüldü.



6. Sonuç

Sonuç olarak, Azerbaycan popülasyonunda yüksek polimorfizm gösteren, 34 otozomal InDel lokusu, 1 Y InDel ve Amelogenin lokuslarından oluşan 36-InDelplex panelinin adli olguların çözümünde kullanılabileceği belirlenerek, alel frekansları, Hardy-Weinberg dengesi ve adli istatistiki parametreleri hesaplanmıştır. Söz konusu panelin, adli kimliklendirme ve babalık-akrabalık testlerinde tek başına çalışıldığında gerekli ayırım gücüne ve dışlama gücüne ulaşıldığı saptanmıştır. Ayrıca Azerbaycan popülasyonunun çeşitli popülasyon verileriyle karşılaştırılarak dünya popülasyonlarıyla ilişkisi belirlenmiştir. Hesaplanan F_{ST} değerlerine bakıldığında Azerbaycan popülasyonunun Avrupa popülasyonuna daha yakın olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın verileri, Türkiye ve Azerbaycan kriminal laboratuvarlarında Azerbaycan kökenli kişilerin kimliklendirilmesi ve nesep tayininde kullanılabilecektir.

InDel'ler degrade örneklerin analizinde yüksek başarı göstermesi ve az maliyetle analiz edilebilmesi gibi adli genetik açısından önemli özelliklere sahip olmalarından dolayı, STR ve SNP sistemlerine alternatif olacağı düşünülmektedir.

7. Kaynaklar

1. Jobling MA, Gill P. Encoded evidence: DNA in forensic analysis. *Nat Rev Genet.* 2004;5(10):739–51.
2. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. *Nature.* 1985;314:67–73.
3. Kimpton CP, Gill P, Walton A, Urquhart A, Millican ES, Adams M. Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci. *Genome Res.* 1993;3(1):13–22.
4. Coble MD, Butler JM. Characterization of New MiniSTR Loci to Aid Analysis of Degraded DNA *. 2005;50(1).
5. Carracedo A, Sobrino B. SNPs in forensic genetics : a review on SNP typing methodologies. 2005;154:181–94.
6. Pereira R, Phillips C, Alves C, Amorim A, Carracedo Á, Gusmão L. Insertion/deletion polymorphisms: A multiplex assay and forensic applications. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser.* 2009;2(1):513–5.
7. Weber JL, David D, Heil J, Fan Y, Zhao C, Marth G. Human Diallelic Insertion / Deletion Polymorphisms. 2002;854–62.
8. Chakraborty A, Ghosh S, Mukhopadhyay P, Dinara SM, Bag A, Mahata MK, et al. Trapping effect analysis of AlGa_N/InGa_N/Ga_N Heterostructure by conductance frequency measurement. In: *MRS Proceedings.* 2014. p. 81–7.
9. Klug A. The discovery of the DNA double helix. *J Mol Biol.* 2004;335(1):3–26.
10. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. Book: An Introduction to Forensic Genetics. Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2011. 214 p.

11. Craig Venter J, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* (80-). 2001;291(5507):1304–51.
12. Abdellah Z, Ahmadi A, Ahmed S, Aimable M, Ainscough R, Almeida J, et al. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431(7011):931–45.
13. Mikkelsen TS, Hillier LW, Eichler EE, Zody MC, Jaffe DB, Yang SP, et al. Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. *Nature*. 2005;437(7055):69–87.
14. Barbujani G, Magagni A, Minch E, Cavalli-Sforza L. An apportionment of human DNA diversity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(9):4516–9.
15. Strachan T RA. Human Molecular Genetics. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2014. p. 7250–7.
16. Butler JM. Basics of DNA Biology and Genetics. *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. 2010. xi–xiii.
17. Geserick G, Wirth I. Genetic kinship investigation from blood groups to DNA markers. Vol. 39, *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012. p. 163–75.
18. Dausset PJ. Iso-leuco-anticorps. *Acta Haematol*. 1958;20(1–4):156–66.
19. Carracedo A. Forensic Genetics: History. In: *Encyclopedia of Forensic Sciences: Second Edition*. Elsevier Inc.; 2013. p. 206–10.
20. Chakraborty R, Stivers DN, Su B, Zhong Y, Budowle B. The utility of short tandem repeat loci beyond human identification: Implications for development of new DNA typing systems. *Electrophoresis*. 1999;20(8):1682–96.

21. Royle NJ, Clarkson RE, Wong Z, Jeffreys AJ. Clustering of hypervariable minisatellites in the proterminal regions of human autosomes. *Genomics*. 1988;3(4):352–60.
22. Hansen HE, Morling N. Paternity testing with VNTR DNA systems. *Int J Legal Med*. 1993;105(4):197–202.
23. Jeffreys AJ, Brookfield JFY, Semeonoff R. Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature*. 1985;317(6040):818–9.
24. Gill P, Werrett DJ. Exclusion of a man charged with murder by DNA fingerprinting. 1987;35:10–3.
25. Beckmann JS, Weber JL. Survey of human and rat microsatellites. *Genomics*. 1992;12(4):627–31.
26. Koreth J, O’Leary JJ, McGee JOD. Microsatellites and PCR genomic analysis. *J Pathol*. 1996;178(3):239–48.
27. Gill P, Kimpton CP, Millican ES, Watson SK, Downes TJ. Automated STR analysis future strategy. 1995;1543–52.
28. Carracedo A, Lareu M V. Development of New STRs for Forensic Casework: Criteria for Selection, Sequencing & Population Data and Forensic Validation. *Proceedings—the Ninth Int Symp Hum Identif*. 2010;(1):89–107.
29. Kimpton CP, Oldroyd NJ, Watson SK, Frazier RRE, Johnson PE, Millican ES, et al. Validation of highly discriminating multiplex short tandem repeat amplification systems for individual identification. *Electrophoresis*. 1996;17(8):1283–93.
30. Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci*. 2006;51(2):253–65.

31. Thorisson GA, Stein LD. The SNP consortium website: Past, present and future. Vol. 31, *Nucleic Acids Research*. 2003. p. 124–7.
32. Krawczak M. Informativity assessment for biallelic single nucleotide polymorphisms. *Electrophoresis*. 1999;20(8):1676–81.
33. Amorim A, Pereira L. Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: A comparative analysis with STRs. *Forensic Sci Int*. 2005;150(1):17–21.
34. Gill P. An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. 2001;204–10.
35. Reece J, Urry LA, Meyers N, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky P V., et al. *Biology: A Global Approach*, 10th edition. Pearson Education Ltd. 2015.
36. Pereira R, Pereira V, Gomes I, Tomas C, Morling N, Amorim A, et al. A method for the analysis of 32 X chromosome insertion deletion polymorphisms in a single PCR. *Int J Legal Med*. 2012;126(1):97–105.
37. Lupski JR, Roth JR, Weinstock GM. Chromosomal duplications in bacteria, fruit flies, and humans. Vol. 58, *American Journal of Human Genetics*. 1996. p. 21–7.
38. <https://www.daviddarling.info/encyclopedia/I/insertion.html> [Son Erişim Tarihi 23.02.2021].
39. <https://www.daviddarling.info/encyclopedia/D/deletion.html> [Son Erişim Tarihi 23.02.2021].
40. Dawson E, Chen Y, Hunt S, Smink LJ, Hunt A, Rice K, et al. A SNP resource for human chromosome 22: Extracting dense clusters of SNPs from the genomic sequence. *Genome Res*. 2001;11(1):170–8.

41. Mills RE, Luttig CT, Larkins CE, Beauchamp A, Tsui C, Pittard WS, et al. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. *Genome Res.* 2006;16(9):1182–90.
42. Mullaney JM, Mills RE, Stephen Pittard W, Devine SE. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. *Hum Mol Genet.* 2010;19(R2).
43. Pereira R, Phillips C, Alves C, Amorim A, Carracedo Á, Gusmao L. A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. *Electrophoresis.* 2009;30(21):3682–90.
44. Filoğlu G, Altunçöl H, Bülbül Ö. *Adli Genetik ve Genetik Kimliklendirme*. 1st ed. Filoğlu G, Altunçöl H, Bülbül Ö, editors. İstanbul; 2021. 440 p.
45. Pimenta JR, Pena SD. Efficient human paternity testing with a panel of 40 short insertion-deletion polymorphisms. *Genet Mol Res.* 2010;9(1):601–7.
46. Li C, Zhang S, Li L, Chen J, Liu Y, Zhao S. Selection of 29 highly informative InDel markers for human identification and paternity analysis in Chinese Han population by the SNPlex genotyping system. *Mol Biol Rep.* 2012;39(3):3143–52.
47. LaRue BL, Ge J, King JL, Budowle B. A validation study of the Qiagen Investigator DIPplex® kit; An INDEL-based assay for human identification. *Int J Legal Med.* 2012 Jul 15;126(4):533–40.
48. Zhang S, Sun K, Bian Y, Zhao Q, Wang Z, Ji C, et al. Developmental validation of an X-Insertion/Deletion polymorphism panel and application in HAN population of China. *Sci Rep.* 2015;5(December):1–7.
49. Tao R, Zhang J, Sheng X, Zhang J, Yang Z, Chen C, et al. Development and validation of a multiplex insertion/deletion marker panel, SifaInDel 45plex system. *Forensic Sci*

- Int Genet. 2019;41(April):128–36.
50. Chen L, Du W, Wu W, Yu A, Pan X, Feng P, et al. Developmental validation of a novel six-dye typing system with 47 A-InDels and 2 Y-InDels. *Forensic Sci Int Genet.* 2019;40(November 2018):64–73.
 51. Huang Y, Liu C, Xiao C, Chen X, Yi S, Huang D. Development of a new 32-plex InDels panel for forensic purpose. *Forensic Sci Int Genet.* 2020;44(July 2019):102171.
 52. Jin R, Cui W, Fang Y, Jin X, Wang H, Lan Q, et al. A Novel Panel of 43 Insertion/Deletion Loci for Human Identifications of Forensic Degraded DNA Samples: Development and Validation. *Front Genet.* 2021;12.
 53. Filoğlu Tüfek G, Düvenci A, Polat S, Karadayı H, Aşıcıoğlu F, Bülbül Ercan Ö. 36-INDELpleks Panel/ Kit Geliştirilmesi.
 54. Filoğlu Tüfek G, Bülbül Ercan Ö, Düvenci A, Taş S, Karadayı H, Ünsal T, et al. Development of the New Indel Identification Panel. In: 10th International IAMLE Conference. Kathmandu, Nepal; 2019. p. sa.5368316.
 55. Filoğlu Tüfek G, Bülbül Ercan Ö, Düvenci A, Taş S, Karadayı H, Ünsal T, et al. İnsersiyon/Delesyon (İndell) Lokuslarına Ait Kimliklendirme Panelinin Geliştirilmesi. In: 16 Adli Bilimler Kongresi. İzmir, Türkiye; 2019. p. ss.379.
 56. Düvenci A. İnsersiyon/delesyon (InDel) lokuslarına ait kimliklendirme panelinin geliştirilmesi ve validasyonu. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa; 2020.
 57. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA, Palladino MA. *Concept of Genetics.* Igarss 2014. 2012.
 58. Foreman LA, Champod C, Evett IW, Lambert JA, Pope S. Interpreting DNA Evidence: A Review. *Int Stat Rev.* 2003;71(3):473–95.

59. Kara U, Yükseloğlu HE. Temel Adli Genetik. İçinde: Temel Adli Genetik. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Tic. Ltd. Şti; 2015.
60. Butler JMJM. Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. Vol. 1, Chemistry & biodiversity. 2005.
61. Fung WK, Hu YQ. Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation. Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation. 2008. 1–239 p.
62. Tillmar A. Populations and Statistics in Forensic Genetics. 2010. 1–55 p.
63. Nagylaki T. Fixation Indices in Subdivided Populations. 1973;159–66.
64. Allendorf FW, Luikart G. Conservation and the Genetics of Populations. Vol. 148. 2007. 148–162 p.
65. <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arlequin> [Son Erişim Tarihi 03.10.2021].
66. <https://worldwide.promega.com/Promega> [Son Erişim Tarihi 03.10.2021].
67. Kumar S, Tamura K. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Manual. Development. 2009.
68. https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/index_3.html#abstract [Son Erişim Tarihi 14.10.2021].
69. <https://www.stat.gov.az/source/demography/Əhali> [Son Erişim Tarihi 19.10.2021].
70. Yakar M, Südaş İ. Türkiye’de Yabancı Nüfusun Yeni Coğrafyaları. Ege Coğrafya Derg. 2019;28(2017):129–64.
71. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Uluslararası-Göç-İstatistikleri-2019-33709TÜİK> [Son Erişim Tarihi 23.10.2021].
72. Naghiyeva L. Azerbaycan`dan Türkiye’ye Göçün Sosyal Medya Üzerinden

- Organizasyonu : Ankara Örneği. *Kadim Akad SBD*. 2019;(2019):65–78.
73. Düvenci A, Filoğlu Tüfek G, Aşıcıoğlu F, And. 36-Indelplex paneli ile degradasyon ve inhibitor çalışması. In: 1Uluslararası 17Adli Bilimler Kongresi. Antalya, Turkey; 2020. p. 70.
74. <https://www.ensembl.org/index.html> [Internet]. [Son Erişim Tarihi 01.03.2022].
75. Weber JL, David D, Heil J, Fan Y, Zhao C, Marth G. Human Diallelic Insertion/Deletion Polymorphisms. Vol. 71, *Am. J. Hum. Genet.* 2002.
76. Li J, Lin L, Jiang B, Wang C, Zeye MMJ, Wen D, et al. An 18 Multi-InDels panel for analysis of highly degraded forensic biological samples. *Electrophoresis*. 2021 Jan 12;42(9–10):1143–52.
77. <https://www.qiagen.com/us/products/human-id-and-forensics/investigator-solutions/investigator-diplex-kit/Investigator> [Son Erişim Tarihi 27.01.2022].
78. <https://genomica.com/indelplex-kit-characteristics/?lang=en> [Son Erişim Tarihi 27.01.2022].
79. Li C, Zhao S, Zhang S, Li L, Liu Y, Chen J, et al. Genetic polymorphism of 29 highly informative InDel markers for forensic use in the Chinese Han population. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(1):5–8.
80. Ensenberger MG, Thompson J, Hill B, Homick K, Kearney V, Mayntz-Press KA, et al. Developmental validation of the PowerPlex® 16 HS System: An improved 16-locus fluorescent STR multiplex. *Forensic Sci Int Genet.* 2010;4(4):257–64.

EKLER

Ek.1 Aydınlatılmış Onam Formu

“Bu form, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi, Aytakin MAMMADOVA tarafından hazırlanan tez çalışması ile ilgilidir. Aşağıda adı geçen araştırma projesinde kullanılmak üzere ağız içi sürüntüsü vermek yoluyla katkıda bulunmak için davet edilmiş bulunmaktasınız. Aşağıdaki bilgileri okuduktan sonra çalışmaya katılmak isterseniz, bu formu imzalayınız. Formu imzalamanız çalışmanın kapsamı ve riskleri hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Bu onay formunun bir kopyası size verilecektir. Bu formda anlamadığınız ifadeler varsa çalışmadaki araştırmacılara sorarak bilgi edininiz.”

1. “36- İndelpleks Paneli Kullanılarak Azerbaycan Popülasyonunda Gen Sıklıklarının Belirlenmesi ve Adli Parametrelerinin Değerlendirilmesi” adlı bu çalışma bir araştırma olup, akademik amaçla yapılmaktadır.

2. Araştırmanın amacı:

Adli genetik alanında yapılan araştırmalar adli vakalardaki faillerin belirlenmesi ve kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde genetik polimorfizmlerden yararlanılır. Bu tez projesinin amacı otozomal kromozomlar üzerinde bulunan 35 InDel lokusu, 1 Y InDel lokusu ve amelogenin (AMG-XY) lokusundan oluşan 36-InDelplex paneli kullanılarak Azerbaycan popülasyonundaki gen sıklıkları belirlenecektir. Bu sayede Türkiyede kriminal olaylara karışan veya doğal afetlerde aranılan Azerbaycan kökenli kişilerin bulunması zamanı yapılacak istatistiksel değerlendirmede bu gen sıklıkları kullanılacak ve Azerbaycan’da adli genetikte, babalık-akrabalık tespitinde ve degede DNA analizlerinde kullanılacaktır.

3. Gönüllünün araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre:

Gönüllüden ağız içi sürüntüörneği alındıktan sonra hiçbir sorumluluğu olmayacaktır. Gönüllünün biyolojik örnekleri çalışma süresince (2 yıl) saklanacak olup, çalışma sonuçlanınca imha edilecektir.

4. Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı:

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı, çalışmaya rıza gösteren yaklaşık 150-200 kişi olacaktır.

5. Araştırmada uygulanacak tedaviler:

Araştırmanın deneysel kısmında, 150-200 gönüllüden alınacak ağız içi sürüntü örneklerinin çalışılması planlanmaktadır. Gönüllülerden ağız içi sürüntü örneği almak dışında hiçbir müdahale yapılmayacak veya tedavide bulunulmayacaktır.

6. Varsa farklı tedaviler için gönüllülerin araştırma gruplarına rastgele atanma olasılığının bulunduğu:

Gönüllülere herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

7. Araştırma sırasında uygulanacak olan invazif yöntemler dahil olmak üzere izlenecek veya gönüllüye uygulanacak yöntemlerin tümü:

Araştırma sırasında gönüllülere invaziv yöntemler uygulanmayacaktır. Ağız içi sürüntü örneği alınacaktır.

8. Araştırmanın deneysel kısımları:

Bu çalışmada, çalışmaya rıza gösteren gönüllülerden oluşan yaklaşık 150-200 kişiden alınan ağız içi sürüntü örnekleri kullanılacaktır. Araştırmanın laboratuvar aşamasında ise DNA analizi yöntemiyle, biyolojik örneklerden DNA profilleri elde edilecektir.

9. Gönüllünün maruz kalacağı öngörülen riskler veya rahatsızlıklar (araştırma hamilelerde veya lohusalarda yapılacak ise embriyo, fetüs veya süt çocuklarının da maruz kalacağı öngörülen riskler veya rahatsızlıklar dahil olmak üzere):

Gönüllüden ağız içi sürüntü örneği alınacaktır. Ağız içi sürüntü örneği alınmasının hiçbir riski yoktur.

10. Araştırmadan makul ölçüde beklenen yararlarla ilgili olarak gönüllü açısından hedeflenen herhangi bir klinik yarar olmadığında gönüllünün bu durum hakkında bilgilendirileceği:

Gönüllü açısından hedeflenen bölgeler ile ilgili herhangi bir klinik yarar yoktur.

11. Gönüllüye uygulanabilecek olan alternatif yöntemler veya tedavi şeması ve bunların olası yarar ve riskleri:

Gönüllüye herhangi bir girişim ya da tedavide bulunulmayacaktır.

12. İlgili mevzuat gereğince gerekiyorsa gönüllüye verilecek tazminat (sigorta) ve / veya sağlanacak tedaviler:

Gönüllülere yapılacak işlem ağız içi sürüntü örneği almak olup bu işlem sırasında katılımcılarda doğabilecek hukuki ve mali riskleri proje yürütücüsü olarak tamamen üstlendiğimi bildiririm.

13. Varsa, gönüllülere yapılacak ulaşım, yemek gibi masraflara ilişkin ödemeler hakkındaki bilgiler:

Gönüllüler için herhangi bir ulaşım, yemek veya başka bir masraf ödenmeyecektir.

14. Gönüllülerin sorumlulukları:

Gönüllülerin bu çalışmayla ilgili ağız içi sürüntü örneği verme dışında hiçbir yükümlülüğü yoktur.

15. Gönüllünün araştırmaya katılımının isteğe bağlı olduğu ve gönüllünün istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebileceği veya araştırmadan çekilebileceği:

Gönüllünün araştırmaya katılımı isteğe bağlı olup, istediği zaman herhangi bir yaptırıma maruz kalmaksızın araştırmadan çekilebilecektir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcı araştırma dışı bırakılabilir.

16. Gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanamayacağı; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliğinin gizli kalacağı:

İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğiyle ilgili kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanamayacağı; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır.

17. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimlerinin bulunabileceği, ancak bu bilgilerin

gizli tutulacağı, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya kanuni temsilcisinin söz konusu erişime izin vermiş olacağı:

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri olacaktır. Ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır.

18. Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllünün veya kanuni temsilcisinin zamanında bilgilendirileceği:

Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllünün veya yasal temsilcisinin zamanında bilgilendirileceğini taahhüt ederim.

19. Gönüllünün; araştırma, kendi hakları veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için temasa geçebileceği kişiler ile bu kişilere ait günün 24 saatinde erişebileceği telefon numaraları:

Gönüllünün araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir bilgi temin edebilmesi için proje yürütücüsü Doç Dr. Gönül FİLOĞLU'na ait günün 24 saatinde ulaşabileceği telefon numarası 0532 226 08 28'dir.

20. Gönüllünün araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler:

Gönüllünün biyolojik örneğinden herhangi bir nedenle DNA elde edilememesi durumunda katılım sona erdirilir.

21. Çalışma sonrası araştırma ürünlerine erişim:

İstenildiği takdirde 36-InDelplex'e ait oluşturulacak DNA profilleri kişilere verilebilecektir.

22. Gönüllülerden alınacak biyolojik materyallerin ne olduğu, hangi amaçla alındığı ve analizlerinin nerede yapılacağına dair bilgiler (analizlerin yurtdışında yapılması durumunda biyolojik materyallerin nereye gönderileceğinin açıklanması):

Gönüllülerden elde edilecek olan ağız içi sürüntü örneklerinden 36-InDelplexin Azerbaycan popülasyonunda gen sıklıkları belirlenecektir. Araştırmacı tarafından gönüllülerden tıbbi personel yönetiminde ve denetiminde gerekli örnekler alınacaktır. Çalışma, İ.Ü Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Genetik Ar-Ge laboratuvarında yapılacaktır. Biyolojik materyallerin analizleri kesinlikle yurtdışında yapılmayacak olup; çalışma, İ.Ü.C. Adli Tıp Enstitüsü laboratuvarlarında yapılacaktır.

BGOF'nin imza bölümünde;

23. “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırmacı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.” İfadesi gönüllünün kendi el yazısı ile yazılacaktır.,

24. “Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.” İfadesi gönüllünün kendi el yazısı ile yazılacaktır.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen görevli

tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilirim veya kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından da araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

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

““36- İndelpleks Paneli Kullanılarak Azerbaycan Popülasyonunda Gen Sıklıklarının Belirlenmesi ve Adli Parametrelerinin Değerlendirilmesi”” adlı araştırma kapsamında alınan kan ve ağız içi sürüntünün (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

Gönüllünün Adı:

Yetkin Araştırmacının Adı: Doç. Dr. Gönül

Gönüllünün Soyadı:

Yetkin Araştırmacının Soyadı: FİLOĞLU

Gönüllünün Doğum Tarihi:
doğum tarihi:

Yetkin Araştırmacının İmzası: Gönüllünün

Gönüllünün doğum yeri:

Gönüllünün İmzası:

Tarih:

Tarih:

Ek.2 Etik Kurul Onayı

İÜC Tarih ve Sayı: 07.01.2021-3052



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı :E-59491012-604.01.02-3052
Konu :Yüksek Lisans Öğrencisi Aytakin
MAMMADOVA'nın etik kurul kararı
A-45

ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi : 22.12.2020 tarihli, 166408 sayılı yazı

Enstitünüz Fen Bilimleri öğretim üyesi **Doç.Dr.Gönül FİLOĞLU'nun** danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Aytakin MAMMADOVA'nın** yürütücülüğünde "**36-İndelpleks Paneli Kullanılarak Azerbaycan Popülasyonunda Gen Sıklıklarının Belirlenmesi ve Adli Parametrelerinin Değerlendirilmesi** " başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **05 Ocak 2021** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

Prof. Dr. Ali Metin KAFADAR
Dekan a.
Dekan Yardımcısı

Ek:

- 1- 1 dosya elden teslim edilecektir.
- 2- NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BE8VFYPTT Pin Kodu :49302

http://dogrulama.istanbul.edu.tr/en/Vision_sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BE84FYS95

Adres:İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Telefon:0 (212) 414 30 00 Faks:(212) 632 00 25

e-Posta:ctfpersonel@istanbul.edu.tr Web:www.istanbul.edu.tr

Keş Adresi:istanbul@hs01.kep.tr

Bilgi için: Güler SOYDANER

Unvanı: Memur

Tel No: 60130



ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Aytakin MAMMADOVA

Doğum Tarihi ve Yeri:

Akademik unvan/pozisyon: Yüksek Lisans öğrencisi

Telefon numarası:

E-posta adresi:

Eğitim Bilgileri

Azerbaycan Tıp Üniversitesi

2012-2016

Eczacılık (Lisans programı)

Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Fen Bilimleri Anabilim Dalı (Yüksek Lisans) 2019- devam ediyor

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa