



T.C.

ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ

BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ ASİTLERE MARUZ BIRAKILMIŞ İNSAN DIŞLERİNDEN DNA GERİ
KAZANIMININ BELİRLENMESİ

Nejla KARABOĞA

Danışman

Dr. Öğretim Üyesi Tuğba ÜNSAL SAPAN

İSTANBUL – 2024

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
BAĞIMLILIK VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ ASİTLERE MARUZ BIRAKILMIŞ İNSAN DİŞLERİNDEN DNA GERİ
KAZANIMININ BELİRLENMESİ

Nejla KARABOĞA

Danışman

Dr. Öğretim Üyesi Tuğba ÜNSAL SAPAN

İSTANBUL

EK-1 ETİK KURUL ONAY BELGESİ



www.uskudar.edu.tr

Altunizade Mahallesi Üniversite Sokak No:14 34662 Üsküdar/İSTANBUL
T: 0216 400 22 22 F: 0216 474 12 56 bilgi@uskudar.edu.tr

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU BAŞKANLIĞI

SAYI: 61351342/ EKİM 2023-39

31/10/2023

Sayın; Dr.Öğr.Üyesi Tuğba ÜNSAL SAPAN
(Nejla KARABOĞA)

Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunun 27/10/2023 tarihinde yapılan 10 No.lu toplantısında “Çeşitli Asitlere Maruz Bırakılmış İnsan Dişlerinden DNA Geri Kazanımının Belirlenmesi” adlı araştırma projenizin etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Cumhuri TAŞ
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ Çeşitli Asitlere Maruz Bırakılmış İnsan Dişlerinden DNA Geri Kazanımı Belirlenmesi” adlı çalışmanın, tarafımdan bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını, intihal yapmadığımı ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

31.08.2024

Nejla Karaboğa

ÖNSÖZ

Bizlere Adli Bilimler bölümünü kazandıran, bu alanda gelişmemize olanak sağlayan bölümümüzün kurucusu saygıdeğer hocamız,

Prof. Dr. Sevil ATASOY'a,

Lisans hayatımdan yüksek lisans eğitimimin sonuna kadar her koşulda desteğini gördüğüm, tez çalışması süresince sevgisini ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli danışman hocam,

Dr. Öğretim Üyesi Tuğba Ünsal Sapan'a

Tez dönemim boyunca çalışmama yardımcı olan tüm dönem arkadaşlarıma,

Çalışmamda en büyük materyal desteğini sağlayan diş hekimi arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan başta anneannem olmak üzere sevgili aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamın bundan sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutması dileğiyle.

İÇİNDEKİLER

EK-1 ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....	i
YEMİN METNİ.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
GRAFİK DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Adli Bilimleri Tarihçesi.....	3
2.2 Adli Bilimler ve Uygulama Alanları	4
2.2.1 Adli Bilimler ve Olay Yeri İnceleme.....	4
2.3 Adli Bilimlerde Kimliklendirme	4
2.4 Adli Genetik ve DNA Analizleri	5
2.4.1 Temel Adli Genetik Uygulama alanları	5
2.4.2 DNA	6
2.4.3 DNA İzolasyonu	7
2.4.4 DNA Miktar Ölçümü.....	7
2.4.5 DNA Amplifikasyonu (PCR)	8
2.4.6 Elektroforez	9
2.4.7 Kapiller Elektroforez	9
2.5 Adli Bilimlerde Biyolojik Örnekler	11
2.5.1. Diş Örnekleri	11
2.5.1.1 Diş ve Kemik Örneklerinde DNA Analizi	13
2.6 Biyolojik Örneklerden DNA Analizini Etkileyen Faktörler	15
2.6.1 Kontaminasyon.....	15
2.6.2 Degradasyon	16
2.6.3 Kemik Dokularda DNA Degradasyonu.....	16

2.7 Diş Örnekleri ve Asit Maruziyeti	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler.....	20
3.2 Kullanılan Kitler	21
3.3 Kullanılan Cihazlar	21
3.4 Örneklerin Hazırlanması.....	22
3.5 Örneklerin Temizlenmesi.....	23
3.6 Örneklerin DNA izolasyonu	24
3.7 DNA Miktarının Ölçülmesi	27
3.8 PCR.....	28
3.9 Elektroforez	29
4. BULGULAR.....	31
4.1 Nitrik Asite Maruz Kalan Örnekler	31
4.2 Hidroklorik Aside Maruz Kalan Örnekler	34
4.3 Sülfirik Aside Maruz Kalan Örnekler.....	37
4.4 DNA Miktar Ölçümünün Değerlendirilmesi	41
4.5 Kimliklendirme.....	46
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ.....	61
7. KAYNAKLAR.....	63
8. ÖZGEÇMİŞ.....	66

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1 : PCR Bileşenleri ve Hacimleri	29
Tablo 2: Elektroforez Bileşenleri ve Hacimleri	29
Tablo 3: Applied Biosystems'in 3500 Genetik Analizör İçin Standart Boya Setleri	30
Tablo 4: Nitrik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları.....	41
Tablo 5: Hidroklorik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları	42
Tablo 6. Referans Örneklerin (Kimyasala maruz kalmayan) DNA Miktarı	42
Tablo 7. Sülfirik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları.....	43
Tablo 8. 24 Saat Nitrik Aside Maruz Kalmış Dış Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili	47
Tablo 9. 24 Saat Hidroklorik Aside Maruz Kalmış Dış Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili	48
Tablo 10. 24 Saat Sülfirik Aside Maruz Kalmış Dış Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili	49



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Diş Örneklerinin Sodyum Hipoklorit ile Temizliği ve Kuruması.....	24
Şekil 2. Nitrik Asit Maruziyeti Öncesi İlk Halleri	32
Şekil 3. 8 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası	32
Şekil 4. 24 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası.....	33
Şekil 5. 24 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası Sıvı Hale Gelmiş Örnek.....	33
Şekil 6. Hidroklorik Asit Maruziyeti Öncesi.....	35
Şekil 7. 8 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası	35
Şekil 8. 24 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası Sıvı Örnek.....	36
Şekil 9. 24 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası.....	36
Şekil 10. Maruziyet Sonrası Jel Katman Görüntüsü.....	37
Şekil 11. Sülfirik Asit Maruziyeti Öncesi.....	39
Şekil 12. 8 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası	39
Şekil 13. 24 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası.....	39
Şekil 14. 120 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası	40
Şekil 15. 120 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası Katmanları.....	40
Şekil 16. Örneklerin Sodyum Hipoklorit ile Temizlik Aşaması sonrası Oluşan Beyaz Katmanın Görüntüsü	40
Şekil 17. 24 Saat Nitrik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde Edilen Elektroforez Görüntüsü.....	50
Şekil 18. 24 Saat Hidroklorik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde edilen Elektroforez Görüntüsü.....	51
Şekil 19. 24 Saat Sülfirik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde edilen Elektroforez Görüntüsü.....	52

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. Nitrik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği.....	44
Grafik 2. Hidroklorik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği.....	45
Grafik 3. Sülfirik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği	45
Grafik 4. Tüm Örneklerin Ortalama DNA Miktar Grafiği.....	46



SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA: Deoksiribonükleik Asit

H₂SO₄: Sülfirik Asit

HCL: Hidroklorik Asit

HNO₃: Nitrik Asit

NaOCl: Sodyum Hipoklorit

PCR: Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyon)

DVI: Disaster Victim Identification

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

RNA: Ribonükleik Asit

DTT: Dithiothreitol

CE: Capillary Electrophoresis (Kapiller Elektroforez)

STR: Short Tandem Repeats (Kısa ardışık tekrar dizileri)

MtDNA: Mitokondriyal DNA

g: Gram

mg: Miligram

mm: Milimetre

PH: Power of Hydrogen

UV: Ultraviyole (Morötesi)

°C: Derece

µl : Mikrolitre

Rpm: Revolutions per Minute (Dakikadaki devir sayısı)

ng: Nanogram

kV: Kilovat

(KARABOĞA, Nejla, Master, İstanbul, 2024)

Çeşitli Asitlere Maruz Bırakılmış İnsan Dişlerinden DNA Geri Kazanımının Belirlenmesi

ÖZET

Adli bilimler suçun aydınlatılmasında, farklı birçok bilim dalının bir araya gelip çalıştığı uygulamaların bir bütün halidir. Eski dönemlerden beri adli vakaların araştırılmasında öncelikle fiziksel bulguların incelenmesi ve yorumlanması yapılmıştır. Gelişen teknoloji ile bulguların çalışılma sistemleri değişse de binlerce yıldır adli vakalarda öncelikli olarak yapılan işlem kimliklendirmedir. İlk olarak dış görünüş ile fiziksel kimliklendirme yapılması hedeflenir fakat suçun çeşitliliğinden dolayı genellikle bu şekilde kimliklendirmede güçlük yaşanmaktadır. Diğer birçok adli bilimler alanının bir arada çalışmasıyla toplanan bulgular ile tam bir kimliklendirme profili oluşturulabilir. Canlıların bütün dokularından DNA elde edilebiliyor oluşu ve bu molekülün kişiye özgü bilgiler taşıyor olması kimliklendirmede DNA analizlerinin en sık kullanılan ve en güvenilir yöntemlerden biri haline gelmesine neden olmuştur. Çevresel, fiziksel ve kimyasal etmenlere maruz kalmasına rağmen uzun yıllar boyunca bozulma oranı az olduğu saptanan ve DNA materyalini çok güvenli bir şekilde saklayan dişler DNA analizlerinde en çok kullanılan örneklerden olmuştur. Suçun gelişimiyle suçun saklanması ile ilgili yöntemlerde gelişmiştir. Bedenden kimlik tespitini zorlaştırmak amacıyla kasti olarak yapılan vücut bütünlüğünü bozacak eylemler örnek olarak aside maruz bırakma işlemleri failer tarafından oldukça kullanılmaktadır. Bu şekilde felaket olarak sayılan olaylarda da oluşan fiziksel ve kimyasal etmenler sonucunda kimlik tespitleri aynı şekilde zorlaşmaktadır. Ancak yapılan bazı araştırmalarda belli sürelerde farklı kimyasallara maruz kalan diş örneklerinden de DNA elde edilebildiği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada, kuvvetli asitlere maruz bırakılmış diş örneklerinden DNA geri kazanımı amaçlanmıştır. Çalışmaya gönüllü kişilerden alınan diş örnekleri HCL, HNO₃, H₂SO₄ kuvvetli asitlerinde 8 saat, 12 saat ve 120 saat olmak üzere her süre parametresi ayrı ayrı olacak şekilde bekletilmiş olup sonrasında DNA izolasyonu miktar

taini ve kimliklendirmeye elverişli olanları PCR ve elektroforez yapılarak DNA profilleri elde edilmiştir. Sonuç olarak kuvvetli asitlere 24 saate kadar maruz bırakılmış diş örneklerinden DNA izolasyonun başarılı olduğu ve DNA profili elde edilebildiği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Adli Bilimler, Adli Genetik, Diş Örneklerinden Genetik Kimliklendirme, Asit Maruziyeti, Hidroklorik Asit (HCl), Nitrik Asit (HNO₃), Sülfirik Asit (H₂SO₄)



(KARABOĞA, Nejla, Master, İstanbul, 2024)

Determination of DNA Recovery from Human Teeth Exposed to Various Acids

ABSTRACT

Forensic Science involves the application of various scientific disciplines working together to elucidate crimes. Historically, forensic investigations have primarily focused on examining and interpreting physical evidence. Despite advancements in technology altering the methodologies for analyzing evidence, identification has consistently been a primary focus in forensic cases over thousands of years. Initially, physical identification through external appearance is aimed for, but due to the diversity of crimes, such identification often proves challenging. A comprehensive identification profile can be established by integrating findings from various forensic fields. The ability to extract DNA from all tissues and the fact that DNA carries unique individual information have made DNA analysis one of the most commonly used and reliable methods in identification. Teeth have become one of the most utilized specimens in DNA analysis due to their ability to securely preserve DNA over long periods despite environmental, physical, and chemical factors. With the evolution of criminal techniques to hinder body identification, such as deliberately exposing bodies to damaging actions like acid exposure, identifying individuals has become increasingly difficult. However, numerous studies have demonstrated that DNA can still be recovered from teeth exposed to various chemicals for certain periods. This study aimed to recover DNA from teeth exposed to strong acids. Teeth samples from volunteers were exposed to hydrochloric acid (HCl), nitric acid (HNO₃), and sulfuric acid (H₂SO₄) for periods of 8 hours, 12 hours, and 120 hours, with each time parameter assessed separately. Subsequently, DNA isolation was performed, and samples suitable for profiling were analyzed using PCR and electrophoresis to obtain DNA profiles. The results indicate that DNA isolation was successful, and DNA profiles could be obtained from teeth exposed to strong acids for up to 24 hours.

Keywords: Forensic Science, Forensic Genetics, Human Identification from Tooth Samples, Acid Exposure, Hydrochloric Acid (HCl), Nitric Acid (HNO₃), Sulfuric Acid (H₂SO₄)



1. GİRİŞ AMAÇ

Adli Bilimler; multidisipliner çalışmaların bütünüdür. Adli ve idari soruşturmalar boyunca elde edilen delillerin incelenmesi ve değerlendirilmesi, suç ve suçlunun saptanması ve kanıtlanmasında kullanılan tüm yöntem ve çalışmaların bütünleşmiş halidir. Adli bilimler alanları, olayların çözümlenmesinde birbirlerine katkı sağlar (1). Bir alanın diğer alan ile bağlantısı ile olay çözümlenmesi için yarar sağlamaktadır. Adli vakalarda mağdur- şüpheli- olay yeri bağlantısının kurulması gerekmektedir. Çoğu ölümlü vakada olay yeri bağlantısı kurulabilmesi için cesede ve cesedin kimliğine ulaşılır. Ulaşılamadığı durumlarda adli bilimlerin çeşitli alanları bir bütün halinde çözüm sağlar.

İnsan kalıntılarının kimliklendirilmesi için, kalıntıların içinde bulunduğu koşullara ve bu koşullara maruz kalma sürelerine bağlı olarak çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Adli vakalarda öncelikle kolay ve hızlı yöntemler tercih edilmektedir. Bu yöntemler ölen kişinin yakınları, akrabaları tarafından teşhisi olsa da cesedin ileri derece çürüdüğü zarar dolayısıyla vücut bütünlüğünün bozulduğu durumlarda teşhis mümkün olmadığından adli bilimler alanlarının dahil olduğu disiplinler arası kimliklendirme çalışmaları yapılmaktadır (2).

Adli Genetik ve Adli Antropoloji adli bilimlerinin alt dalları arasında yer almakta. Adli vakaların çözümlenmesinde, suçlu ya da kayıp kişilerin belirlenmesindeki, maktul ve mağdur olay yeri arasındaki ilişkinin kurulmasında bu bilim dallarından genellikle yararlanılmıştır. Adli Antropoloji bunu iskelet kalıntılarının, yumuşak doku ile kişisel veriler üzerinden çalışma yaparken Adli Genetik ise DNA materyallerinin PCR tabanlı analizi ile yapılmaktadır (3).

1984'te Alec Jeffreys'in her bir bireyin genetik olarak diğer kişilerden ayırt edilebilmesinin teknik olarak mümkün olduğunu kanıtlanmasından sonra DNA analizleri adli bilimlerde kullanılan en ön yöntemlerden biri haline gelmiştir. Adli genetikte analiz edilen örneklerden elde edilen her bireye özgü olan DNA profilleri istatistiksel metotlar ile değerlendirilir. Söz

konusu bireyin kimliklendirilmesi, diğer bireyler ile biyolojik akrabalık ilişkilerinin saptanmasına veya bir olay yeri ile ilişkilendirilmesine olanak sağlar (2).

Dişler insan iskeletinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Tüm kemikler arasında dişler, kimyasal ve fiziksel dayanıklılığı en fazla olan ve en fazla korunan yapılardır. Diğer iskelet kemiklerinden farklı olarak dişlerin kron bölümü sadece travma, aşınma, tedaviler ve mineralizasyon bozukluklarından etkilenebilir. Dişler bireye ait pek çok bilgiyi içerir. Cinsiyet, yaş, sağlık durumu, tükettiği besinler, hastalıkları, mesleği gibi bilgileri edinmemizi sağlayabilirler. Dişlerin sağlam yapısı genetik materyalleri koruduğundan DNA analizlerinde profil eldesinde sıkça kullanılmaktadır (4).

Bu tez çalışmasında amaç kişilerin kimliklendirilmesinde diş örneklerinin kullanıldığı durumlarda karşılaşılabilecek zorluklar ve bu durumlara göre DNA'nın geri kazanılıp kazanılmadığının belirlenmesidir. Bu çalışmada gerek felaket kurbanı gerekse adli bir vakada delil karartmak amacıyla cesedin, ceset kalıntılarının yok edilmeye çalışıldığı durumlarda, çeşitli kuvvetli asitlere maruz bırakılan örneklerle kişiye dair DNA bilgilerin saklandığı en korunaklı ve sağlam yapılar olan dişler çalışılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda belirli asitlere maruz bırakılmış diş örneklerinde DNA elde edilebildiği görülmüş olup, bu çalışmada çeşitli kuvvetli asitlere maruz bırakılmış farklı diş örneklerinden DNA geri kazanımı hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Adli bilimler; suç ile ilgili tüm unsurları olay yeri başta olmak üzere şüpheli ve mağdur ağını en doğru şekilde değerlendirerek, adaleti en kısa zamanda sağlamak için multidisipliner sistem üzerine kurulu bir bilim dalıdır.

2.1 Adli Bilimleri Tarihçesi

Adli bilimler, ilk suç varlığından itibaren gelişmeye başlamıştır. Suçun varlığı ve çeşitlilikleriyle değişime ve gelişime uğramıştır. 16. yüzyıl ile 18. yüzyılları arasında ölüm sebepleri olarak zehirlenme tespitleri üzerine adli tıp kitaplarındaki zehirler ile ilgili bilgiler yer almıştır. 18. yüzyıl sonrasında adli toksikoloji alanı gelişimine devam edilmiştir. Sanayinin giderek geliştiği dönemlerde, 18. Yüzyıl dönem sonlarında ve 19. yüzyılın başlarında adli bilimler bölümünde gelişmeler olmuş; mikroskopi, fotoğrafı ile radyolojiden yararlanılmaya başlanılmıştır. Gerçekleşen her olayın sonucunda ve giderek gelişen teknolojinin ardından adli bilimler alanlarında gelişmeler yaşanmıştır.19. yüzyılda mahkemelerde profesyonel tanıklar görülmeye başlanmıştır. İlk özel tanıklar tıp doktorları ve operatörler olmuştur. 19. yüzyılın sonlarında diğer alanlardan uzmanlar da mahkemede tanıklık yapmaya başlamışlardır. Böylelikle adli bilimler alanlara ayrılmaya başlamıştır.

Adli bilimlerde öncelik bireyin tanımlanması olmuştur. Bunun için iki yaklaşım yapılmıştır.

Birincisi 1800'li yılların sonlarında Henry Faulds tarafından düşünülen ve Francis Galton ile pratik kullanıma alınan parmak izi kıyaslaması olmuştur. Diğer yöntem ise Alphonse Bertillon'un Bertillonaj olarak bilinen, bireyin vücudunun çeşitli kısımlarının ölçümlerine dayanan kimliklendirme yöntemidir. 20. Yüzyılın başlarında fotografik ve mikroskobik işlemlerin artmasıyla el yazı, balistik, alet izleri gibi adli bilimler alanları gelişmeye başlamıştır.

Adli bilimlerde en büyük gelişmeler gelişen aletli analizler ile ikinci dünya savaşından sonra olmuştur. 1990'lı yıllardan itibaren genetik alanındaki gelişmelerle birlikte kan, kıl, tükürük,

sperm, kemikler suç olaylarında kişilerle ilişkilendirmede kesin unsurlar olarak kullanılmaya başlanmıştır. Dünya üzerinde bitmeyen suçlar, oluşan felaketler ile adli bilimler giderek gelişmiş ve daha fazla alanlara ayrılmıştır. Tüm bu disiplinler bir bütün halinde adli bilimleri oluşturmaktadır (5).

2.2 Adli Bilimler ve Uygulama Alanları

Adli bilimler multidisipliner bir bilim dalı olarak birçok uzmanlıkla birlikte bir bütün halindedir. Suçun kavram olarak var olmasıyla birlikte başlayan ve suçun sonucundan itibaren devam eden tüm aşamaları içermektedir. Suçun tipine bağlı olarak yardım alınan bilim dalları çeşitlenmektedir. Adli bilimler içerisinde adli genetik, adli kimya, balistik, adli antropoloji, olay yeri inceleme gibi çeşitli alanları içermektedir. Uygulama alanları suçun çeşidine göre değişmekle birlikte aynı zamanda alanların ortak çalışmalarıyla da suçun aydınlatılmasında faaliyet göstermektedir (1).

2.2.1 Adli Bilimler ve Olay Yeri İnceleme

Suçun varlığının tespitinin ardından ilk incelemeler olay yerinde başlar. Tüm parçaların bulunduğu yer olan olay yerinde doğru teknikler kullanılırsa çoğu sorunu cevabı bulunabilir.

Olay yeri incelemesi, olayın meydana geldiği yerde yapılan incelemeler ile olayın faili, mağduru ve olay yeri ile arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla çeşitli teknik, yöntem ve metotları kullanarak yapılan adli inceleme ve delil toplama işlemi olarak tanımlanmaktadır (6).

2.3 Adli Bilimlerde Kimliklendirme

Adli bilimlerde bireyin kimlik tespiti ilk ve en önemli aşamadır. Bireyin diğer kişilerden ayrılması ve vaka ile ilgili çözüm için kimliklendirme süreci büyük önem taşımaktadır. Her ne kadar kimlik tespitlerinde aileler ve yakınlar kullanılsa da çoğu vakada çevre koşulları ve

olayların niteliğine bakılarak, vücut bütünlüğünde oluşan bozulmalardan sebep kimlik tespitleri zor bir hal almaktadır.

Pozitif kimliklendirmelerde kullanılan birincil yöntemler olarak; parmak izi incelemeleri, dental analizler ve DNA analizleri kullanılmaktadır. Kimliklendirmede çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. İkincil yöntemler olarak kullanılan aile ve yakınlar dışında; vücut üzerinde olan bireyi diğer kişilerden ayıracak dövme ve yara izleri kimliklendirme sürecine yardımcı olmaktadır (5).

2.4 Adli Genetik ve DNA Analizleri

1980'lerin ortalarında Alec Jeffrey'in, her bir bireyin genetik olarak diğerlerinden ayırt edebilmenin teknik olarak mümkün olduğunu kanıtlamasının ardından DNA analizleri adli bilimlerde kullanılan en önemli araçlardan biri haline gelmiştir. Olay yerinden gelen örneklerin kimliklendirilmesi DNA analizleri ile yapılmaktadır (3).

2.4.1 Temel Adli Genetik Uygulama alanları

1. Olay yeri/ adli delil incelemeleri: Olay yerinde bulunan fiziksel deliller ile olaya karışan kişiler arasında DNA bazlı bağlantı kurulması. Olay yerinde bulunan kurbanların kimliklendirilmesi.
2. Felaket kurbanlarının kimliklendirilmesi (DVI): Savaş veya doğal afetler sebebiyle kaybolan kişilerin bulunması
3. Diğer akrabalık testleri: Akrabalık ilişkilerinin teyidi (babalık testleri gibi)
4. İnsan-dışında diğer canlı/hayvanlarda ilgili adli uygulamaları: Olay yeri incelemelerinde evcil hayvanlarla ilgili delillerin ve ayrıca yasal olmayan hayvan ticareti/ihracatı ve hırsızlığı dosyalarının DNA-bazlı çözümü.
5. Mikrobiyal adli genetik uygulamalar: Biyo-terörizm, biyo-suç ve biyoloji etkenlerin kazara salınımı dosyaların çözümü (2).

2.4.2 DNA

Nükleer genetik materyal, her insan bulunan toplamda 46 kromozomdan oluşan bir yapıya sahiptir. 46 kromozoma sahip her bireyin kalıtsal olarak 23'ü babadan, 23'ü ise anneden gelmektedir. Bu kromozomlar içerisinde bireyin cinsiyetini belirleyen X ve Y kromozomlarıdır. Böylelikle bir kadın 22 adet annesinden otomozomal kromozomu + X kromozomu ve babasından 22 adet otomozomal kromozomu + X kromozomu vardır. Erkek bireylerde 22 adet otomozomal kromozomu annesinden + X kromozomu ve babasından 22 adet otomozomal kromozomu+ Y kromozomu vardır. Y kromozomu sadece babadan erkek çocuklarına aktarılmaktadır. Baba ve oğullarının Y kromozomları tamamen aynıdır. Aynı durumda insan hücrelerinde bulunan mitokondriyal DNA ise anneden cinsiyet ayrımı olmadan tüm çocuklara aktarılmaktadır. Anne ile tüm çocuklarının mitokondriyal genetik materyalleri tamamen aynıdır. Bu durumlara göre her bir nesil diğerine tüm genetik özellikleri nesiller boyunca aktarmaktadır. Bu şekilde adli genetik metotları ile çalışmalar yapılmasına olanak sağlanmaktadır.

DNA dört farklı nükleobazın ile oluşmaktadır. Bu dört farklı nükleobazın birbirinden farklı bazları vardır ve bu bazlar iki ayrı dizin şeklinde kendi aralarında karşılıklı olarak Adenin Timin veya Guanin Sitozin birbirini eşleyerek DNA çift sarmalını oluştururlar. Bu şekilde dizilen bazlar genleri ve diğer DNA yapılarını kodlar. Genler de belli bir sıra ile her üç baz dizisi seviyesinde kodlanmış bulunan amino asitler aracılığıyla hücrelerin temel taşları olan proteinleri kodlar.

Bireysel bakımda bir insandan alınan her hücre teorik olarak tamamen aynı çekirdek ve mitokondriyal kaynaklı genetik materyale sahiptir. Farklı genetik kodlamalar bireylerin birbirinden ayıran karakteristik özelliklere sahip olmalarını sağlar.

Vücuttaki diğer moleküllere oranla DNA daha dayanıklı bir yapı olsa da çeşitli çevresel faktörlere, çeşitli kimyasallara, güneş ışınlarına, mor ötesi ışınlara ve insan vücudunda bulunan

protein ve enzimlere maruz kaldığında degrade olabilmektedir. Bu sebeple DNA örnekleri diğer biyolojik materyallerde olduğu gibi uygun koşullarda koruma altına alınması gerekmektedir. DNA içeren bir örnek kuru veya soğuk ortamda saklanmalıdır. Kısa sürede 1-2 gün içerisinde buzdolabında +4°C, uzun sürede -20°C ile -80°C arasında saklanmalıdır (2,8).

2.4.3 DNA İzolasyonu

Hücre ve çekirdek zarı içerisindeki DNA'nın fiziksel ve kimyasal yöntemler yardımıyla çıkarılması ve hücresel yapı artıklarından arındırılmasıdır. Saf bir DNA elde etmek amacıyla bu işlem gerçekleştirilir. Hücre zarının bütünlüğünü bozmak amacıyla kimyasal olarak tuz, deterjan, SDS, EDTA, etanol, sodyum sülfat, proteinaz K, Rnaz gibi tamponlar kullanılır. Böylelikle hücre zarı ve çekirdek zarı parçalanır.

DNA izolasyonu üç aşamadan oluşmaktadır; parçalama(liziz), ayırma(denatürasyon), saflaştırma(pürifikasyon). Liziz hücrenin parçalanmasıyla yüksek molekül ağırlıklı DNA'nın açığa çıkması aşamasıdır. Denatürasyon DNA'nın protein kompleksinin ayrılması ve DNA'nın çözünür hale getirilmesidir. Pürifikasyon ise DNA'nın basit enzimatik veya kimyasal yöntemlerle proteinler, RNA ve makromoleküllerden ayrılması işlemidir. Böylelikle analiz için saf bir DNA elde edilir (17).

2.4.4 DNA Miktar Ölçümü

İzolasyon basamaklarının ardından DNA'nın kimliklendirme çalışmalarında kullanılabilmesi için belli bir miktarının üzerinde olması gerekmektedir. Bu sebeple DNA'nın miktar ve saflığı kantitatif ölçüm ile belirlenmektedir. Yüksek maliyeti düşürmek ve elde edilen örneğin güvenilirliğini arttırmak amacıyla saflık derecesi ve miktar ölçümü oldukça önemlidir. DNA miktar ölçümünde spektrofotometre cihazları kullanılır. Bu cihazların çalışma prensibi, sıvı örneklerle belli dalga boyunda ışık gönderdikten sonra gönderilen ışığın ne kadarının absorbe edilmeden geçtiğini ölçer. Sıvı örneğin içindeki madde ne kadar yoğun miktardaysa absorbe

edilen ışık miktarı o kadar fazla olur. Gönderilen ve geçen ışık miktarının birbirlerine oranı absorbans adı verilen optik yoğunluk değeri ölçülür. Her bir madde kendi kimyasal yapısına göre farklı dalga boylarındaki ışığı soğurur. DNA ve proteinler soğurmayı kendi kimyasal yapılarındaki halkalarla gerçekleştirir. Işık kaynağından gelen foton halkasal yapıdaki pi orbitallerini uyarır gelen foton soğurularak enerjiye dönüştürülür. Nükleotitlerde soğurma aşaması azotlu bazların üzerinde bulunan halkasal yapılarla gerçekleşir. Genellikle 260nanometre dalga boyundaki ışığı soğurur. DNA miktar ölçümlerinde bu dalga boyu baz alınmaktadır. Spektrofotometrelerde 260/280 oranı çoğunlukla örneklerdeki protein kontaminasyonunun göstergesidir. Protein kontaminasyonunun artmasıyla 260/280 oranı azalır (1).

2.4.5 DNA Amplifikasyonu (PCR)

DNA içerisinde yer alan baz dizisi bilinen DNA bölgesinin in vitro koşullarda çoğaltılmasını sağlayan tekniğe PCR denir. PCR DNA molekülünün milyarlarca kopyasının oluşmasını sağlar. Isı ile çalışan PCR yönteminde ısıya dayanıklı *Thermus aquaticus* bakterisinden elde edilen Taq polimeraz enzim proteini kullanılır. PCR aşamasının kaç döngü olacağını başlangıçta bulunan DNA molekül sayısı belirler. PCR tekniği denatürasyon, hibridizasyon ve polimerizasyon olarak 3 basamakta gerçekleşir. Denatürasyon, yüksek sıcaklıkta (90-95°C) DNA'nın iki zincirinin birbirinden ayrıldığı basamaktır. Primerlerin hedef DNA'ya bağlandığı ortalama 50°C ile 70°C arasında gerçekleştiği aşamaya hibridizasyon denilir. Polimerizasyon ise 70°C ile 75°C arasında DNA zincirinin uzayıp belirli sayıda tekrarlandığı aşamadır. Döngüler halinde kopyalama gerçekleşir ve her bir döngüde iki katı kadar kopya oluşturur (9).

2.4.6 Elektroforez

DNA izolasyon işleminin sonuçlarının değerlendirildiği son basamağıdır. DNA konsantrasyonunu, DNA saflığını ve DNA miktarını belirler.

Elektroforez işleminde moleküllerin içerdiği elektrik yükleri farklı hızlarda hareket ederek yapısındaki moleküllerin ayrımını sağlar. Elektrik yükü, kimyasal içeriği ve matriks yoğunluğu fazla olan moleküller yavaş ilerleyerek geride kalır böylelikle yükü ve yoğunluğu az olan moleküller hızlı ilerleyerek öne geçer. Adli genetikte 3 tür elektroforez kullanılmaktadır (10).

Bunlar;

- Agaroz Jel Elektroforezi
- Poliakrilamid Jel Elektroforezi
- Kapiller Elektroforezdir

2.4.7 Kapiller Elektroforez

Kapiller elektroforez (CE), genellikle 25-75 µm çapında ve 100 cm uzunluğunda silika kapiller borular kullanılarak yapılan bir analiz yöntemidir. Bu yöntemin farklı modelleri mevcuttur, ancak genel olarak bir ince silika kapiller boru, iki elektrolit tampon haznesi, bir yüksek voltaj güç kaynağı ve bir veri değerlendirme dedektörü içerir. Isı dağılımı, genellikle 25-30 kV aralığında bir voltaj uygulamasına izin verir. Bu yüksek voltaj, kısa sürede daha kaliteli ayırım yapılmasını ve daha fazla fraksiyonun elde edilmesini sağlar. Kapillerin bir ucundan uygulanan yüksek voltaj, örnek moleküllerinin, kapillerin iç yüzeyindeki pozitif iyonların katoda doğru hareketi sonucu oluşan elektroozmotik akış yardımıyla ayrılmasına yol açar. Elektroozmotik akış, genellikle tüm iyonları katoda doğru taşımak için yeterince güçlüdür, bu yüzden örnekler kapillere anodik uçtan verilir. Bu sistemde net hareket katoda doğrudur ve ayırım, anoda doğru geri geçiş hızlarındaki farklılıklara dayanır. Termal etkiler nedeniyle kapiller duvarı ile merkez

arasında viskozite farklılıkları oluşabilir. Pozitif yüklü iyonlar, elektroozmotik akış ve iyon hareketinin aynı yönde olması nedeniyle kapiller çıkışa daha erken ulaşır. Maddelerin tespiti ise çeşitli dedektörler kullanılarak gerçekleştirilir. Yüksek hassasiyetli dedektörler lazer desteklidir ve aynı anda birkaç farklı boyayı çözebilir ve kapiller elektroforez (CE) aygıtlarının çoklu reaksiyonlar çalıştırmasına izin vererek verime katkıda bulunabilir. Yüksek voltajın uygulanması boyut farklılıklarının hızlı bir şekilde çözülmesini sağlar ve hidroksietil selüloz ve polivinil pirolidon gibi maddelerle emprenye edilmiş kılcallar, 600 baz çiftine kadar uzun STR'lerden bir ila üç baz çifti tutarsızlıklarını çözebilir (22) .

Adli bilimlerde kapiller elektroforez, birçok farklı alanda etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu teknoloji, özellikle adli toksikoloji, adli biyoloji ve adli biyokimya gibi disiplinlerde önemli bir rol oynamaktadır. İlaç ve zehir analizlerinde, kapiller zon elektroforezi (CZE) ve misellar elektrokinetik kapiller kromatografi (MEKC) gibi yöntemler sıkça tercih edilmektedir. Ateşli silah artıklarının incelenmesinde MEKC metodolojisi kullanılarak organik katkı parçaları analiz edilebilirken, CZE yöntemi inorganik anyon ve katyonlara odaklanma imkanı sunar. CZE, mürekkep kalıntıları, toksik maddeler içerebilecek küçük iyonlar, biyopolimerler ve proteinler gibi çeşitli bileşenlerin analizinde etkili bir yöntem olarak bilinir. Adli genetikte ise DNA ve RNA analizleri için kullanılan kapiller jel elektroforez (CGE) yöntemi, özellikle STR (kısa tandem tekrarları) kimliklendirme uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kapiller elektroforez, DNA analizlerinde yüksek çözünürlük ve güvenilirlik sağladığı için tercih edilir (23).

Kapiller elektroforez uygulamaları, otomasyon açısından uygun olması nedeniyle hızlı ve güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlar. Günümüzde, kimliklendirme çalışmalarında birçok genetik marker (otozomal-STR, Y-STR, X-STR, indel, mtSNP, otozomal SNP, X-SNP, Y-SNP, soy belirleme için Ancestry Informative Markers; AIMS, fenotipik markerlar ve mRNA)

kapiller elektroforez yöntemi kullanılarak analiz edilmektedir. Bu yöntem, adli bilimlerde genetik analizler için etkili ve kapsamlı bir çözüm sunar (24).

2.5 Adli Bilimlerde Biyolojik Örnekler

Olay yerlerinde bulunan en net ve güvenilir örnekler olarak biyolojik deliller bizlere kimliklendirme açısından en verimli sonucu vermektedir. Bir canlıya ait olan her delil biyolojik örnek olarak nitelendirilmektedir. Adli bilimlerde en sık kullanılan biyolojik örnekler; saç, kıl, seminal sıvı, tükürük, idrar, kan, doku parçası, kemik ve diş olarak sıralanabilir. Bu biyolojik örnekler ile DNA analizleri neticesinde kimliklendirmeler yapılabilmektedir. Böylelikle mağdur, fail ve olay yeri arasındaki bağlantı kurulabilmekte ve masum kişiler saptanabilmektedir (7).

2.5.1. Diş Örnekleri

Yapısal olarak diş, mine, dentin, sement, kök ve pulpadan oluşan vücuttaki en sert yapıdır. En dıştaki tabaka, pulpanın altında bulunduğu dentini döşeyen sementi koruyan minedir. Emaye nedeniyle dişler, insan vücudundaki kuru (açıkta kalan beyaz kısım) ve dentini kaplayan en sert organlardır. Diş minesini nedeniyle dişler neme, yüksek sıcaklığa travma gibi aşırı koşullara uzun süre maruz kalarak hayatta kalmasını sağlar (13).

Mine mikrobiyal etkiye karşı dayanıklıdır hidroksiapatit mineralleri (HA), kolajen ve sudan oluşan iç içe geçmiş bir matriksten oluşur. Diş kronunun en dış tabakası olan mine, %97 HA ve %3 sudan oluşur ve bu da onu vücuttaki en mineralli yapı haline getirir ancak DNA içermeyen hücresel olmayan bir kısımdır (14).

Kök, dişin dentin, sement, pulpadan oluşan hücresel kısımdır ve daha fazla DNA verdiği gösterilmiştir. dentin/pulpa kompleksi dişin büyük kısmını oluşturur ve minenin aksine oldukça hücrelidir. Pulpa, çok sayıda hücre tipi içeren, zengin damarlı ve innerve olmuş bir bağ dokusudur. Bunlar arasında odontoblastlar (dentin oluşturan hücreler), fibroblastlar, savunma

hücreleri (örneğin histositler ve makrofajlar), plazma hücreleri, sinir hücreleri ve farklılaşmamış mezenkimal hücreler bulunur. Odontoblastlar, hücre gövdeleri pulpa sınırı boyunca ve dentin boyunca uzanan uzun doku süreçleri ile yönlendirilir. Pulpa sında en fazla sayıda bulunan hücreler, mm'de yaklaşık 11.000 adet olan odontoblastlardır ve mm başına 1000 olarak tahmin edilen fibroblastlardır. Bu nedenle, yaklaşık 80 diploid hücre, STR tiplemesi için gereken minimum DNA miktarını verebildiğinden, pulpa değerli bir DNA kaynağıdır. Pulpa, kök ucu ve kan damarlarının geçtiği aksesuar kanallar aracılığıyla periodontal dokularla (dişi alveol kemiğine bağlayan dokular) birbirine bağlanır. Aksesuar kanallar ağırlıklı olarak kökün alt yarısı boyunca ve azı dişlerinde pulpa odasının tabanından furkasyon alanına (kökler arasındaki alan) kadar meydana gelir. Pulpanın nispeten yüksek hücreliliği göz önüne alındığında, bu doku dişlerdeki en zengin DNA kaynağını sağlar (15). Bununla birlikte, pulpa sınırlı miktarda olabilir veya yaşlı ve/veya hastalıklı dişlerde bile olmayabilir. Özetle, pulpa ve sement açıkça dişteki en değerli nükleer DNA kaynaklarıdır ve hem bu dokular hem de dentin iyi mtDNA kaynaklarıdır. Diş minesini, dentin ve pulpanın korunmasında önemlidir ancak DNA'dan yoksundur. Bu nedenle, diş minesini diğer diş dokuları ile örneklenirse, muhtemelen bir seyreltme etkisine sahip olacaktır ve kalsiyum da dahil olmak üzere yüksek mineral konsantrasyonları ekstraksiyon işlemini karmaşıktırabilir ve PCR amplifikasyonunu engelleyebilir (13,14,15).

Dişten DNA ekstraksiyonu için iki yöntem vardır: tahribatlı ve tahribatsız. Pudrasız yöntem olarak da adlandırılan tahribatsız yöntem, dişin tüm kısımları, yani mine, dentin, sement ve pulpa DNA ekstraksiyonunda yer aldığından iyi miktarda DNA verir. Destruktif yöntemde, dişin öğütücü veya doku parçalayıcı ile zorla mekanik olarak yok edilmesi, çıkarılan DNA'nın kalitesini ve miktarını tehlikeye atabilir. Tam diş taşıma ve toz haline getirme tekniklerini kullanan büyük ölçekli çalışmalar daha önce dişlerden yüksek DNA tipleme başarı oranları

bildirmiştir bununla birlikte, DNA ekstraksiyonundan önce optimal diş seçimi ve dişlerin alt örneklenmesinin DNA profileme başarı oranlarını daha da iyileştirmesi muhtemeldir (13,14,15).

2.5.1.1 Diş ve Kemik Örneklerinde DNA Analizi

Diş ve kemik dokulardaki DNA analizlerinde çeşitli DNA kitleri ve yöntemler kullanılmaktadır. 2023 yılında Anika C. Rancourt ve arkadaşlarının çalışmasında domuz kemik ve diş örneklerinden DNA analizinde, 50 mg kemik veya diş tozu 1 mL demineralizasyon tamponunda inkübe edilmiştir. Demineralizasyondan sonra, DNA çıkarma işlemi PrepFiler Express BTA™ Forensic DNA Extraction Kit ve AutoMate Express™ Forensic DNA Extraction System kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA ekstraktlarının miktarına göre demineralizasyon sonrası DNA miktarının demineralizasyon aşaması olsun veya olmasın ekstraksiyon için istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p değeri <0.05) sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışmada karşılaştırılması yapılan diş ve kemik örneklerini toz haline getirme işlemlerinden; kahve öğütücü ve havan -tokmak yöntemlerinin bu amaç için uygun olduğu kabul edilirken, neşter ve döner alet yöntemlerinin bu tür uygulamalar için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. (16)

2021 yılında Kumar ve arkadaşları ölü bedenlerdeki diş örneklerinden DNA ekstraksiyonu için organik ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, Sambrook ve Russell'in klasik organik ekstraksiyon protokolüne dayanmaktadır. Yöntemde dişleri kırmak için tozsuz yaklaşım kullanılmıştır. Mikrobiyal kontaminasyonu önlemek için dişler sterilize edilmiş bıçaklarla kazınarak parçalar haline getirilmiştir. Mevcut çalışmada toplam 95 diş analiz edilmiş ve 83 tam DNA profili elde edilirken 10 profil için parçalı profiller elde edilmiştir. 2 profil ise sonuç vermemiştir. Çalışmada diş örnekleri çevresel koşullara maruz kalan ölü bedenlerden alınması

sebebiyle en iyi sonucun iskeletleşmiş ve kısmen yanmış ancak tamamen yanmamış ölü bedenlerden elde edilen dişlerden tam DNA profilleri elde edilebileceği sonucuna varılmıştır (13).

2021 yılında Heatfield ve ark tarafından yapılan çalışmada, diş örneklerinin ekstraksiyonunda QIAamp® DNA Investigator Kiti kullanılarak ayrı bir modifikasyon yapmışlardır. Ekstraksiyon işlemi, üreticinin protokolüne uygun olarak yapılmış ancak inkübasyon süresi 20 saate uzatılmıştır. Diğer bir yöntem olarak diş örneklerinden DNA, fenol-kloroform yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Protokol optimizasyonu kapsamında, pH 8.0'de fenol kullanılmış ve örnekler 56°C'de bir gece boyunca fırında inkübe edilmiştir. Fenol-kloroform yöntemi, QIAamp® yöntemine göre önemli ölçüde daha yüksek DNA konsantrasyonları ve daha fazla bozulmamış DNA üretmiştir. Ancak fenol-kloroform yönteminden elde edilen iyileştirilmiş DNA bütünlüğü ve konsantrasyonu, önemli ölçüde daha yüksek DNA profillemeye başarısına dönüşmemiştir. DNA profili başarısı fenol-kloroform ve QIAamp® Kit arasında önemli ölçüde fark oluşturmadığı sonucuna varılmıştır (17).

2015 yılında Stam ve arkadaşları çevresel çeşitli etkenlere maruz bırakılmış diş örneklerinden yaptıkları DNA izolasyonunda, dişleri toz haline getirme işlemini klasik yöntem olarak tüm dişin öğütülmesi ile Ters-Kök-Kanal yöntemi olarak adlandırılan köklerin apikal forameninden pulpa boşluğundaki dentine erişim sağlanarak dentinin çıkarılıp toz haline getirildiği yöntemin karşılaştırılma çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada, tüm diş kökünü öğütmektense ters kök kanal yöntemi kullanılarak daha fazla DNA verimi elde edilmiş ve bunu sonucunda daha iyi STR profilleri elde edilmiştir (18).

2023 yılında Tamara Lescovar yetişkin ve çocuk dişlerinden DNA miktarını karşılaştırmak amacıyla diş örnekleri için Zupanič Pajnič'in protokolü uygulanmıştır. Yöntemin ana mantığı örneklerin temizliğini ve hazırlanmasını optimize ederek, yüksek kalitede ve yüksek miktarda DNA elde edilmesini hedeflemektedir. Özellikle bozulmuş veya eski örneklerde başarılı DNA analizleri yapmak için kritik öneme sahiptir. Protokol kontaminasyon riskini minimize eder ve DNA'nın ekstraksiyon sürecinde en iyi şekilde korunmasını sağlamaktadır. Çalışmada EZ1&EZ2 DNA Investigator kit (Qiagen) robotize DNA ekstraksiyon sistemi kullanarak DNA'lar geri kazanılmıştır. Çalışma, yetişkin olmayan dişlerin genellikle yetişkin dişlere kıyasla daha düşük DNA miktarları sağladığını ortaya koymuştur (19).

2.6 Biyolojik Örneklerden DNA Analizini Etkileyen Faktörler

Olay yerindeki biyolojik örneklerden DNA materyali elde etmek, incelemelerdeki en önemli noktadır. Maddi delillerde en fazla niteliği taşıyan DNA uygun şartlar altında saklanırsa olay hakkında güvenilir ve kesin sonuçlar vermektedir. Olay yerlerinin farklı özellikleri ve hava koşulları sebebiyle veya laboratuvara ulaştırılırken yapılan hatalardan sebep DNA örnekleri bozulmaya uğrayabilir. Bu sebeple DNA analizi mümkün olmayabilir. Biyolojik örnekler örnek miktarının az olması, kontaminasyon ve degradasyon faktörlerinden etkilenebilir (1).

2.6.1 Kontaminasyon

DNA içeren delile farklı bir DNA kaynağının transfer olması kontaminasyon anlamına gelmektedir. Kontaminasyon DNA materyali olay yerinden toplanırken uygun şekilde toplanmamasından sebep veya olay yeri ekibinin özen göstermemesi, gerekli önlemleri almaması ile oluşur. Laboratuvarda materyaller analize hazırlanırken ya da analiz esnasında diğer örnekler ile karışmasıyla, laboratuvar personelinin kendi DNA'sıyla, bir önceki PCR işleminin ardından bir sonraki örnek ile karışması durumlarında kontaminasyon oluşur.

Kontaminasyona uğramış delillerden DNA analizi yapılma oranı düşüktür ayrıca yapılan analizin güvenilirliği azdır. Bu sebeple elde edilen sonuçlar suçsuz bir kişinin suçlanmasını sağlayabilir (11).

2.6.2 Degradasyon

Çevresel koşullar (sıcaklık, nem,pH, toprak yapısı radyasyon) ve kimyasallar bağlı olarak DNA'nın fizikokimyasal özellikleri değişmesine degradasyon denilmektedir. Oksidatif veya hidrolitik olarak iki çeşit zarara uğrar. Oksidatif reaksiyonlar, DNA üzerinde baz değişimlerine neden olur. DNA analizlerindeyse bazların hatalı birleşmesi ve DNA ipliğinin uzayamaması şeklinde olur. Hidrolik reaksiyonlarda, DNA'nın fosfodiester bağlarının kırılmasıyla DNA'nın parçalanması ve N-glikozil bağlarının kırılması ya da deaminasyon ile bazların yanlış birleşmesine neden olur. (11)

2.6.3 Kemik Dokularda DNA Degradasyonu

DNA molekülünün kemik doku içerisinde hangi zaman aralıklarında nasıl bozulduğuna dair araştırmalar yapılmasına rağmen biyokimyasal ve çevresel etmenlerin örnekleri ne kadar etkilediği tam olarak bilinmemektedir. DNA molekülünün örneğin beklediği zamandan çok maruz kaldığı faktörlere bağlı olarak değiştiğine dair çalışmalar yapılmıştır. Özellikle soğuk ve kurak koşullarda materyallerin iyi korunduğu, nemli ve sıcak bölgelerde daha fazla bozulmaya uğramıştır. Toprak pH'ı ve tuz DNA bozunma sürecini etkilemektedir. Islak ya da nemli örnekler kurutularak saklandığında hidrolik hasarlardan korunmaktadır.

DNA analizleri için önceki çalışmalarda yumuşak doku tercih edilmiş fakat sonradan uzun kemikler DNA analizleri için uygun bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda farklı iskelet parçaları çalışılmış ve en iyi DNA kaynağı olarak dişler belirlenmiştir. Diş pulpası ve sementumun özellikle çekirdek DNA ve hem de mtDNA eldesi için, dişin dentin kısmının ise mitokondriyal DNA elde etmede verimli olduğu bulunmuştur. Ayrıca sementumdan elde edilen

mitokondri DNA'sı dentinden elde edilen mtDNA miktarından beş kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebi olarak sementumdaki hücre yoğunluğunun fazla olmasıdır (12).

2.7 Diş Örnekleri ve Asit Maruziyeti

Dişlerin çeşitli asitleri içeren ortamlara maruz kalmasının DNA üzerindeki etkilerini anlamak hem adli vakalarda hem de çeşitli felaket durumları veya arkeolojik çalışmaların doğruluğunda kritik öneme sahiptir.

Yapılan çalışmalarda asit maruziyetlerinde dişlerin etkilenmesi incelenmiş bir konu olup:

Bir çalışmada çeşitli kuvvetli asitlerin dişlerin morfolojik yapısı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Hidroklorik Asit (HCl) %37, Nitrik Asit (HNO₃) %65 ve Sülfirik Asit (H₂SO₄) %96 derişimlerinde, 8 saat süreyle bekletilen ön kesici diş örneklerinin etkileri değerlendirilmiştir. Hidroklorik asidin dişler üzerindeki etkileri, kısa süreli maruziyette bile belirgin morfolojik değişikliklere yol açmaktadır. İlk 15 dakikada dişlerde hafif çatlaklar oluşmuş, 30 dakika içinde çatlakların ilerlediği ve 1 saat sonunda dişlerin morfolojisinin tamamen bozulduğu gözlemlenmiştir. 8 saatlik maruziyet süresinde dişler tamamen çözülmüştür. Nitrik asidin dişler üzerindeki etkileri ise köklerde renk değişiklikleri ve çatlak oluşumları ile kendini göstermiştir. 15 dakika içinde kök kısmında sarımsı renk değişiklikleri gözlenmiş, 1 saat içinde çatlaklar ortaya çıkmış ve 8 saatlik maruziyette dişlerin tamamen eridiği rapor edilmiştir. Sülfirik asit dişler üzerinde 30 dakikada belirgin bir değişiklik yaratmazken, 3 saat sonunda mine tabakasının çözünmesi ve tebeşir benzeri bir görünüm oluşturduğu gözlemlenmiştir. 8 saatlik süre sonunda dişlerin morfolojisi korunmuş olarak kalmıştır (20).

Bir diğer çalışmada, diş örneklerinin farklı kimyasal maddelere maruziyetinin DNA üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada diş örnekleri 4 gün boyunca %37 hidroklorik asit (HCl), %10

formaldehit ve %2,5 sodyum hipoklorit (NaOCl) kimyasallarına maruz bırakılmıştır. Bu kimyasalların diş dokusu üzerindeki etkileri ve DNA'nın bozulma derecesi ile DNA ekstraksiyonunun başarısı önemli ölçüde değerlendirilmiştir. Hidroklorik aside maruz kalan dişlerin tamamen eridiği gözlemlenmiştir. HCl'nin dişler üzerindeki etkisi, kalsiyum iyonları ile reaksiyona girerek kalsiyum klorür ve hidrojen gazı oluşumuna yol açmasıyla açıklanmıştır. Bu reaksiyon sonucunda diş dokusunun tamamen çözülmesi, DNA geri kazanımının imkânsız hale geldiği belirtilmiştir. Formaldehit uygulamasında ise dişlerin morfolojik yapısında belirgin bir değişim gözlenmemiş ve DNA geri kazanımı başarıyla yapılmıştır. Ancak formaldehitin DNA üzerindeki bozucu etkileri vurgulanmıştır. Formaldehitin genetik materyalin bozulmasına neden olduğu ve bu durumun DNA'nın kalite ve miktarını etkilediği tespit edilmiştir. Sodyum hipoklorit uygulamasında dişlerin morfolojik yapısında belirgin bir değişim gözlemlenmemiş DNA geri kazanımı başarılı olmuştur. Buna rağmen klorlu bileşiklerin nükleotid bazları ve aminoasitleri bozma konusunda zararlı etkileri belirtilmiştir (21).

Genel olarak, yapılan çalışmalar kuvvetli kimyasalların dişlerde hızlı ve belirgin morfolojik değişimlere neden olduğunu, bu durumun DNA'nın bozulmasını da hızlandırdığını göstermektedir. Düşük konsantrasyonlu ve daha az kuvvetli kimyasalların diş morfolojisini daha az etkileyebileceği ancak DNA üzerindeki etkilerinin yine de önemli olduğu vurgulanmıştır (21).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; 18 yaş üstü çalışmaya gönüllü ve aydınlatılmış onam formu imzalatılmış sağlıklı bireylerden diş hekimi yardımıyla diş örneği toplandı. Kâğıt zarflara toplanan diş örnekleri farklı ortamlara maruz bırakılmak için hazırlandı. Bu çalışmada diş örnekleri kuvvetli asitlere 8, 12 ve 120 saat maruz bırakılmıştır.

- İlk kategoride 8'er adet diş örnekleri HCL, HNO₃, H₂SO₄ kuvvetli asitlerine maruz bırakılarak 8 saat aside maruz bırakılmış diş elde edilmiştir.
- İkinci kategoride 8'er adet diş 12 saat HCL, HNO₃, H₂SO₄ asitlerine maruz bırakılmıştır.
- Üçüncü kategoride 2 adet diş 120 saat H₂SO₄ asidine maruz bırakılarak genel toplamda 50 adet aside maruz bırakılmış diş elde edilmiştir.
- Hiçbir maruziyete bırakılmadan elde edilecek DNA miktarını görmek üzere 2 adet diş DNA izolasyonu, miktar tayini yapılarak referans örnek olarak kabul edilmiştir.

Hazırlanan örnekler tek bir DNA izolasyon yöntemi kullanılarak DNA izolasyonu yapılmış ve izolatlardan DNA miktarı ölçülmüştür. DNA miktarları yeterli olanlar insan kimliklendirme kiti kullanılarak PCR ve elektroforeze tabi tutulup DNA profilleri elde edilmiştir.

Tüm bu işlemler; Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığının 31.10.2023 tarih ve 61351342/ EKİM 2023-39 sayılı etik kurul kararına uygun olarak yapılmıştır. Bu tez Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü bünyesinde bulunan Adli Bilimler laboratuvarındaki cihaz, araç ve gereçler kullanılarak yapılan deneysel bir çalışmadır.

3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Malzemeler

- Kağıt zarf
- Cam kavanozlar
- Steril Pens
- Steril Kurutma Kağıtları
- Piset ve cam pipetler
- Cam Huni
- %5'lik Çamaşır suyu NaClO
- Etanol
- Filtre Kağıdı (UV ışıktta bekletilmiş)
- Otoklavlanmış Distile su
- Tek kullanımlık steril edilmiş törpü
- Metal Blender
- Sıvı Nitrojen
- Çelik kaplar
- Spatül
- Eppendorf tüpleri
- %37 HCL
- %65 HNO₃
- %95-98 H₂SO₄
- Proteinaz K (QIAGEN)

3.2 Kullanılan Kitler

- QIAamp® DNA Investigator Kit (QIAGEN)
- Qubit dsDNA HS Assay Kit
- GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific)

3.3 Kullanılan Cihazlar

- Buzdolabı (Arçelik)
- Mikropipet Seti (Eppendorf, Isolab)
- Metal Blender (Sinbo, Awox)
- Vorteks (Velp)
- Santrifüj (Nüve)
- İnkübatör (Four E's Scientific)
- Çeker Ocak
- Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific)
- UV Kabini (Biosan)
- Hassas Terazı
- Otoklav
- Thermal Cyclers (Thermo Fisher Scientific)
- 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific)

3.4 Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada; DNA kontaminasyonunu engellemek için cam ve metal tüm malzemeler otoklavda, plastik ve kâğıt malzemeler UV kabininde steril edildi. Tüm aşamalarda kontaminasyonu engellemek amacıyla eldiven, maske, bone kullanıldı.

Örnekler gruplara ayrıldı ve isimler verildi. Gruplar A, B ve C olarak saatlere göre ayrıldı. A grubu 8 saati, B grubu 24 saati, C grubu 120 saati temsil etmektedir. Numaralandırmada ikinci konumdaki harfler ise asitlerin Türkçe karşılığındaki baş harfleri olarak; N nitrik asidi, H hidroklorik asidi, S sülfirik asidi temsil edecek şekilde ayrıldı. Örnek olarak 24 saatlik nitrik aside maruz kalan diş örnekleri için BN1 ile BN8 arasında numaralandırma yapıldı. Referans örnekler için REF1 ve REF 2 şeklinde gruplandırma yapıldı.

- 16 adet diş örneği 8 ve 24 saat olmak üzere 2 grup halinde nitrik asit HNO₃' e maruz bırakıldı.
- 16 adet diş örneği 8 ve 24 saat olmak üzere 2 grup halinde hidroklorik asit HCL' e maruz bırakıldı.
- 18 adet diş örneği 8, 24, 120 saat olmak üzere 3 grup halinde sülfirik asit H₂SO₄' e maruz bırakıldı.
- 1 adet kesici 1 adet azı dişi referans örnek olarak hiçbir maruziyete uğramadan temizlik aşamasına geçmiştir.

Kullanılan tüm malzemeler tekrar kullanılmadan önce kontaminasyon riskini engellemek amacıyla cam ve metal malzemeler otoklavda, plastik ve kâğıt malzemeler UV kabinde 3 saat boyunca steril edildi.

3.5 Örneklerin Temizlenmesi

Asit maruziyetinin ardından diş örnekleri steril pens yardımıyla %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 20 dakika bekletildi. Sodyum hipoklorit içerisinde diş örneklerini dış yüzeylerinde bulunan fazlalık doku parçalarının çözündüğü genel bir gözlem olarak görüldü. Bunun yanında dişlerin dış yüzeyinde hafif beyaz katman bıraktığı gözlemlendi.

Diş örnekleri sodyum hipoklorit içerisinde steril pens yardımıyla bir kurutma kâğıdı üzerine bırakıldı. Steril kağıt törpü ile dış yüzeyindeki fazla katmandan ayrılacak şekilde mekanik temizleme işlemi yapıldı.

Zımpara ile temizleme işleminin ardından sırasıyla %100'lük etil alkol ve saf su ile huni içerisinde temizlendi. Tüm temizleme işlemlerinin ardından kurutma kağıtları üzerinde parçalama işlemine hazır olacak şekilde kurumaya bırakıldı (Şekil 1).

Koruyucu eldiven yardımıyla sıvı azot tankından sıvı nitrojen çelik kap içerisindeki diş örneğine döküldü. Üzerine metal blender yerleştirildikten sonra folyo ile sarılıp meta blender diş örnekleri yeterli miktarda toz haline gelene kadar çalıştırıldı.

2. Parçalanmış diş örnekleri $< 100\text{mg}$ olacak şekilde ölçüldü.

İstisnai olarak ölçümleri farklı olan diş örnekleri miktarları kaydedildi.

Diş örnekleri tartım sonucunda 2ml mikrosantrifüj tüplerine alındı. 360 μl Buffer ATL ve 20 μl Proteinaz K eklendi ve 1 gece boyunca 56°C de inkübe edildi.

3. İnkübasyon işleminin ardından tüp kapaklarındaki buhar baloncuklarının tüpe indirmek için kısa santrifüj yapıldı.
4. 300 Buffer AL μl , 1 μg Taşıyıcı RNA eklendi ve 10-15 saniye kadar vortekslendi.

Taşıyıcı RNA hesaplaması;

Liyofilize halinde 310 μg kutuda haline 310 μl ATE eklendi

Konstransyonu 310 μg / 310 μl , 1 μg / 1 μl

1 μg almak için 1 μl çekildi.

5. Örnekler 70 °C alınan termomikserde 900rpm'de 10 dakika inkübe edildi.
6. Tüpler 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlemenin ardından tüpün içinde kalan sıvı kısım başka bir 2 ml mikrosantrifüj tüpüne mikro pipetle aktarıldı.
7. 150 μl etanol (96-%100) eklendi ve 15 saniye kadar vortekslenmiştir.
8. 8000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüjlendi.
9. Lizat, 2ml QIAamp MinElute tüplerine mikro pipet yardımıyla aktarıldı.
10. Tüpler 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.

11. QIAamp MinElute tüplerine 600 µl Buffer AW1 eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi.
Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
12. QIAamp MinElute tüplerine 700 µl Buffer AW2 eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi.
Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
13. QIAamp MinElute tüplerine 700 µl etanol (96-%100) eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
14. Tüpler tam hızda 14.000 rpm'de 4 dakika santrifüjlendi.
15. QIAamp MinElute tüpleri 2 ml mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi. Tüplerin kapakları açıldı ve 56°C 3 dakika inkübasyona bırakıldı.
16. 27 µl Buffer ATE QIAamp MinElute tüpünün filtre merkezine eklendi.
17. Tüpler 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tam hızda 14.000rpm'de 3 dakika santrifüjlendi.

Asit içerisinde erimiş diş örnekleri için QIAamp® DNA Investigator Kit vücut sıvıları prosedürüne uygun olarak izolasyon yapıldı.

1. Erimiş diş örneğinin içerisinde mikropipet yardımıyla sıvı 2 ml santrifüj tüpüne çekildi.
2. 300 µl Buffet Atl ve 20 µl Proteinaz K eklendi.
3. Tüp termomikserde 56°C 900rpm'de en az 1 saat inkübe edildi.
4. İnkübasyon işleminin ardından tüp kapaklarındaki buhar baloncuklarının tüpe indirmek için kısa santrifüj yapıldı.
5. 300 Buffer ALµl, 1 µg Taşıyıcı RNA eklendi ve 10-15 saniye kadar vortekslendi.
Taşıyıcı RNA hesaplaması;
Liyofilize halinde 310 µg kutuda haline 310 µl ATE eklendi
Konstrasyonu 310 µg/ 310 µl, 1 µg/ 1 µl
1 µg almak için 1 µl çekildi.

6. Örnekler 70 °C alınan termomikserde 900rpm'de 10 dakika inkübe edildi.
7. 8000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüjlemenin ardından tüpün içerisinde kalan sıvı kısım başka bir 2ml'lik santrifüj tüpüne mikro pipet ile aktarıldı.
8. 150 µl etanol (96-%100) eklendi ve 15 saniye kadar vortekslendi.
9. 8000 rpm'de 2 dakika boyunca santrifüjlendi.
10. Lizat, 2ml QIAamp MinElute tüplerine mikro pipet yardımıyla aktarıldı.
11. Tüpler 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
12. QIAamp MinElute tüplerine 500 µl Buffer AW1 eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
13. QIAamp MinElute tüplerine 700 µl Buffer AW2 eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
14. QIAamp MinElute tüplerine 700 µl etanol (96-%100) eklendi. 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi. Tüpe çöken sıvı atıldı yeni tüp yerleştirildi.
15. Tüpler tam hızda 14.000 rpm'de 4 dakika santrifüjlendi.
16. QIAamp MinElute tüpleri 2 ml mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi. Tüplerin kapakları açıldı ve 56°C 3 dakika inkübasyona bırakıldı.
17. 27 µl Buffer ATE QIAamp MinElute tüpünün filtre merkezine eklendi.
18. Tüpler 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Tam hızda 14.000rpm'de 3 dakika santrifüjlendi.

3.7 DNA Miktarının Ölçülmesi

DNA miktar ölçümleri Qubit 4.0 Fluorometer cihazında, Qubit dsDNA HS Assay Kit kullanılarak yapıldı. DNA izolasyonunun ardından, örneklerin miktarları Qubit 4.0 Fluorometer cihazı kullanılarak ölçüldü. Bu ölçüm, Qubit dsDNA HS Assay Kit ile gerçekleştirildi. Fluorometre cihazları, örneklerdeki özel floresan boyaları algılayarak DNA, RNA ve protein

miktarlarını belirler. Bu floresan boyalar, düşük konsantrasyonlarda bile hedef moleküllerle bağlanarak sinyal üretir ve cihaz bu sinyali algılayarak 3 saniye gibi kısa bir süre içinde miktarı ng/ μ L cinsinden raporlar (25).

Ölçümler için 0.5 ml mikrosantrifüj tüpleri örnek sayısı kadar hazırlandı. Örnek tüpleri numaralandırıldı. Ölçüm için Qubit solüsyonu 190 μ L, örnek miktarı 10 μ L olacak şekilde ayarlandı. (Düşük veya yüksek miktardaki örnekler için 1-20 μ L arasında değişebilecek şekilde ölçüm için miktarlar ayarlanabilir. Total hacim 200 μ L üzerinde olmamalıdır.)

Solüsyon için örnek başına 190 μ L buffer ve örnek başına 1 μ L boya eklendi. Oluşturulan solüsyon 0.5 ml mikrosantrifüj tüpüne 190 μ L olacak şekilde eklendi ve üzerine izolattan 10 μ L eklenerek kısa süre vortekslendi.

Kit içerisinde çıkan standartlar cihazın kuyucuğuna yerleştirildi ve miktarı ölçüldü. Standart okumasının ardından cihaz örneklerin okunması için hazır duruma getirildi. Örnek okutulması sırasında cihazda örnek miktarı seçimi 1-20 μ L arasında seçildi. Örnek kuyucuğun içine yerleştirilip 3sn beklendi ve okundu. Tüp okuma işlemleri her örnek için 3 defa yapıldı ve kaydedildi.

3.8 PCR

PCR aşamasında GlobalFiler™ PCR Amplification Kit kullanıldı ve kitin talimatları doğrultusunda işlem yapıldı. Kit içerisindeki Master Mix ve Primer Set, kullanımdan önce 3 saniye boyunca vortekslendi ve ardından kısa süreli bir santrifüj işlemine tabi tutuldu. PCR işlemi için gerekli DNA karışımı, uygun miktarlarda belirtilen bileşenleri içerecek şekilde PCR tüplerine aktarıldı (Tablo 1). Her bir örnek için 7.5 μ L Master Mix, 2.5 μ L Primer Set ve 15 μ L DNA örneği kullanılarak toplamda 25 μ L hacminde PCR karışımları hazırlandı ve bu işlem 3 örnek için uygulandı (26).

Tablo 1 : PCR Bileşenleri ve Hacimleri

Reaksiyon Bileşeni	Reaksiyon Hacmi
Master Mix	7.5 µl
Primer Set	2.5 µl
DNA	15 µl
Toplam Hacim	25 µl

Hazırlanan PCR karışımları, Veriti™ 96-Well Thermal Cycler cihazına yerleştirildi ve cihazın GlobalFiler™ PCR Amplification Kit için önerilen döngü koşullarına göre çalıştırıldı. PCR işlemi, ilk olarak, 95°C'de 1 dakika ısıdıktan sonra, 94°C'de 10 saniye süren 32 döngü uygulandı. Ardından, 59°C'de 90 saniye süren 32 döngü yapıldı. PCR döngüsü, 60°C'de 10 dakika süreyle tamamlandı ve ardından 4°C'de saklandı (27).

3.9 Elektroforez

PCR aşamasından çıkan örneklerin elektroforez aşamasına hazırlığı sağlandı. Negatif ve pozitif kontroller ile alellik lader göz önünde bulundurularak, her örnek için 10 µL Hi Di™ Formamide ve 0.5 µL GeneScan™ 600 LIZ™ Size Standard v2.0 karışımı hazırlandı ve vortekslendi (Tablo 2) Bu karışım, her bir plate kuyucuğuna 10 µL olarak eklendi ve üzerine 1 µL PCR ürünü ilave edildi. (28)

Tablo 2: Elektroforez Bileşenleri ve Hacimleri

Reaksiyon Bileşeni	Reaksiyon Hacmi
Hi Di™ Formamide	10 µL
GeneScan™ 600 LIZ™ Size Standard v2.0	0.5 µL
DNA	1 µL

Çoğaltılmış PCR ürünleri, 3500 Genetik Analizör cihazına sırasıyla yerleştirildi. Analiz için 36 cm uzunluğunda kapiller ve POP-4 (Performance-Optimized Polymers) polimer kullanıldı. Boyama işlemi için J6 (Dye Set J6) seçilerek, enjeksiyon süresi 3 kV ve 5 saniye olarak belirlendi. Çalışma koşulları 15 kV ve 1500 saniye, yürütme süresi ise 30 dakika olarak ayarlandı (Tablo 3).

Tablo 3: Applied Biosystems'in 3500 Genetik Analizör İçin Standart Boya Setleri

Boya	Renk	Etiket
6-FAM™	Mavi	Örnekler, kontroller, allelik ladder
VIC™	Yeşil	
NED™	Sarı	
TAZ™	Kırmızı	
SID™	Mor	
LIZ™	Turuncu	GeneScan 600 LIZ Size Standard v2.0

Elde edilen veriler, GeneMapper™ ID-X Software kullanılarak analiz edildi. PCR ürünlerinin tam uzunluklarının belirlenmesi, cihazın elektroforez koşullarına ve kullanılan Size Standart'ına bağlı olarak gerçekleştirildi. Bu çalışmada, GeneScan™ 600 LIZ™ Size Standard v2.0 kullanılarak her örneğin fragman uzunlukları kontrol edildi. DNA profilleri elde edildi.

4. BULGULAR

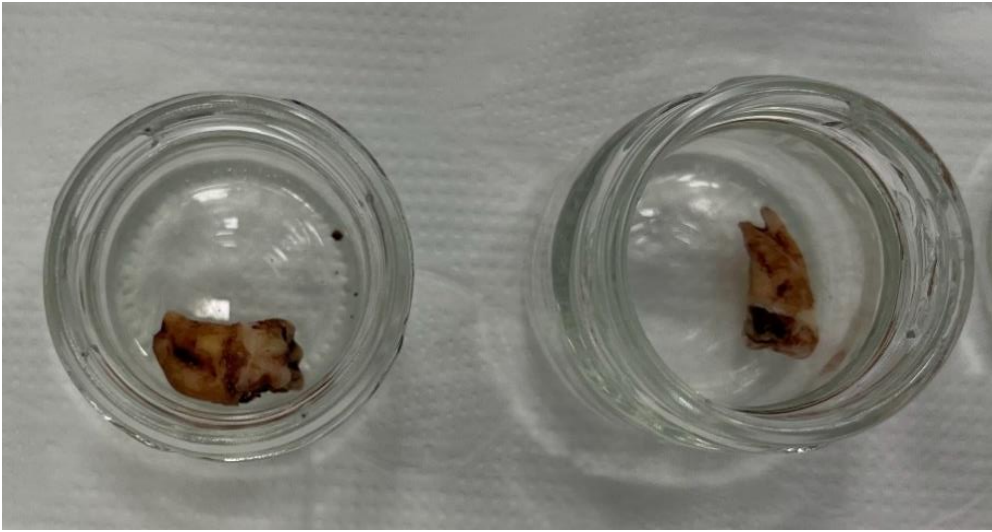
Aydınlatılmış onam formu imzalatılan çalışmaya gönüllü 50 kişiden diş hekimi yardımıyla alınan diş örneklerinden oluşan çalışma grubunda, dişler maruziyet için steril cam kaplara aktarılıp belirlenen asitlere maruz bırakılmış DNA izolasyonu, DNA miktar ölçümleri, kimliklendirme için uygun miktarda örneklere PCR ve elektroforez işlemleri yapılarak sonuçlar elde edilmiştir.

4.1 Nitrik Asite Maruz Kalan Örnekler

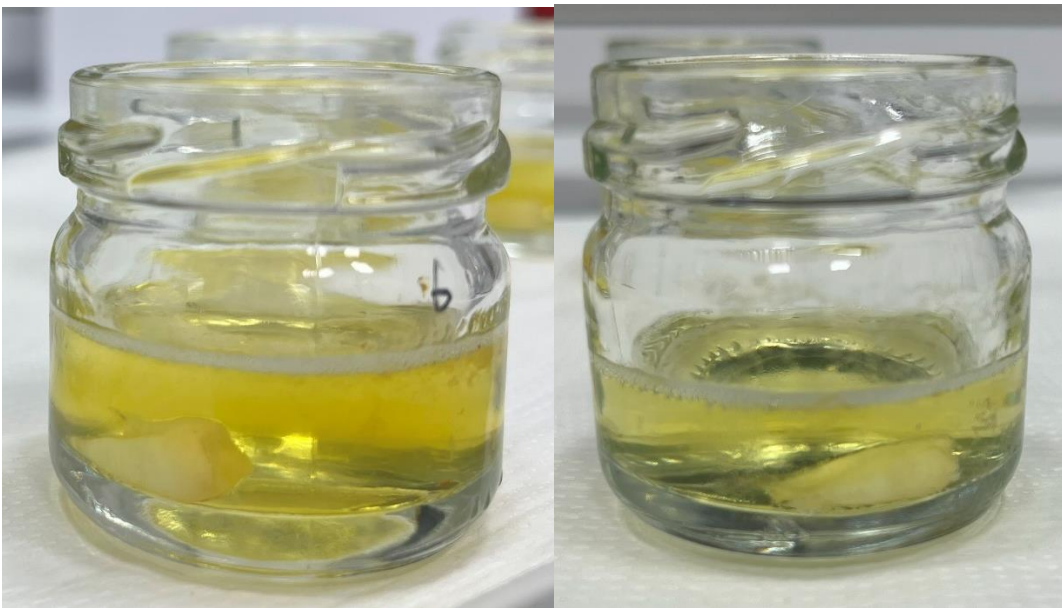
8 saat nitrik aside maruz kalmış diş örneklerinde tamamen çözünme gözlenmemiştir (Şekil 2-3). Maruz bırakıldıkları ilk halleri gösterilmektedir. Dişlerin yapısında dış çeperlerinde bir katman azaldığı gözlenmiştir. Asitli sıvının rengi sarı olarak görülmüştür. Diş örneklerinin dış yüzeyinde bulunan kan ve doku parçaları nitrik asit içerisinde eridiği görülmüştür. Örneklerin bulunduğu asitli sıvıların renklerinde çok belirgin farklara rastlanmamıştır. Temizlik aşamasında herhangi bir zorlukla karşılaşmamıştır. Parçalama öğütme işlemi örneklerin tümünde metal blender ve sıvı nitrojen yardımıyla gerçekleşmiştir.

24 saat nitrik asitte bekleyen dişler önemli morfolojik değişimlere uğramıştır. Dişlerin çekimiyle birlikte dış yüzeylerinde bulunan kan ve doku parçaları nitrik asit içerisinde tamamen erimiş ve çalışmanın sonucunda gözlenmemiştir. 24 saatin sonunda örneklerin bulunduğu cam kabın içerisindeki sıvının rengi sarı olarak gözlenmiştir (Şekil 4). Diş örneklerinin çözünmesinin ilerlemesine göre sıvının renginin değiştiği gözlenmiştir. Dişin varlığını kaybettiği durumda sıvının rengi daha açık sarı olarak gözlenmiştir. Diş örneği sıvının içerisinde alınırken pens ile alımında zorluk yaşanmış fakat kaygan bir yapı gözlenmemiştir. Temizlik aşamasında iken bu gruptaki örneklerin morfolojik varlığını yitirmek üzere olmasından sebep zorluk yaşanmıştır. Temizlik aşamasından geçmiş diş örneklerinden boyutları çok ufak hale gelmiş örneklerde toz haline getirme aşamasında zorlanılmıştır. Çok

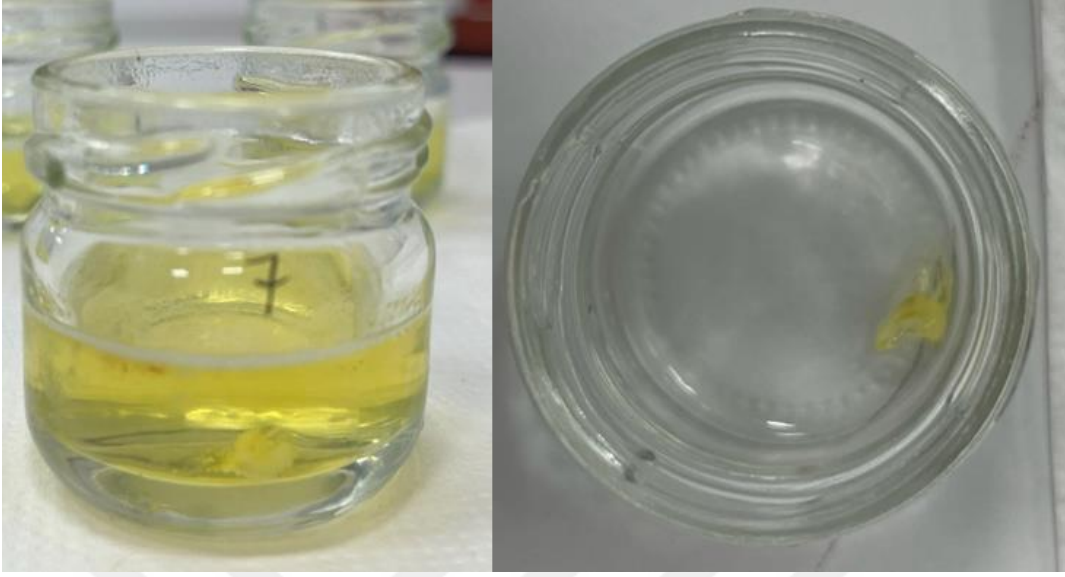
ufak parça halinde olan BN1 ve BN6 numaralı örneklerin toz haline getirilme işleminde sıvı nitrojen seramik havana aktarılmış ve bastırılmak suretiyle parçalanıp öğütülmüştür. Diğer örneklerde metal blender ve sıvı nitrojen yardımıyla öğütme gerçekleştirilmiştir. BN8 kodlu örnek sıvı içerisinde tamamen eridiği için temizlik ve kurutma aşamalarında bulunulmayıp cam kabın içerisindeki örnek sıvısı eppendorf tüpüne aktarılmıştır (Şekil 5).



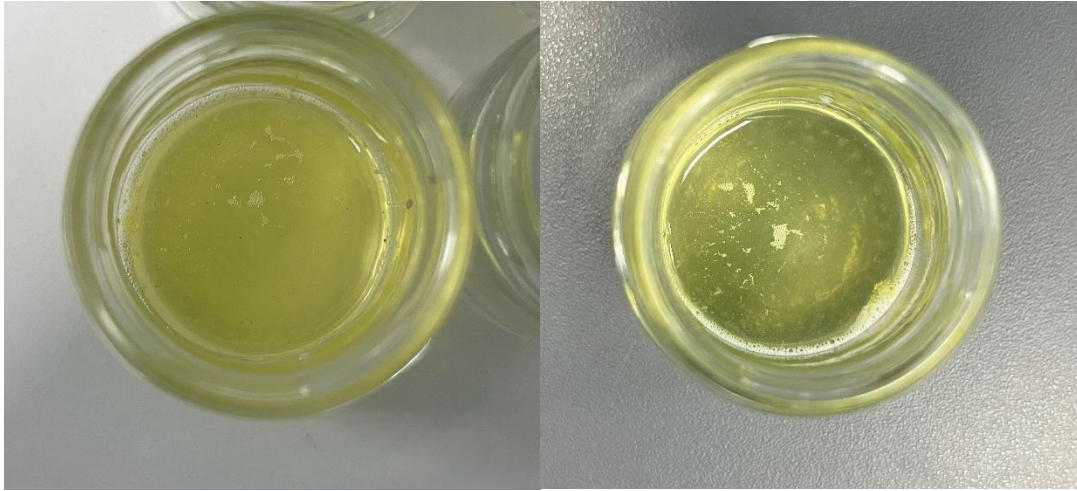
Şekil 2. Nitrik Asit Maruziyeti Öncesi İlk Halleri



Şekil 3. 8 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 4. 24 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 5. 24 Saat Nitrik Asit Maruziyeti Sonrası Sıvı Hale Gelmiş Örnek

4.2 Hidroklorik Aside Maruz Kalan Örnekler

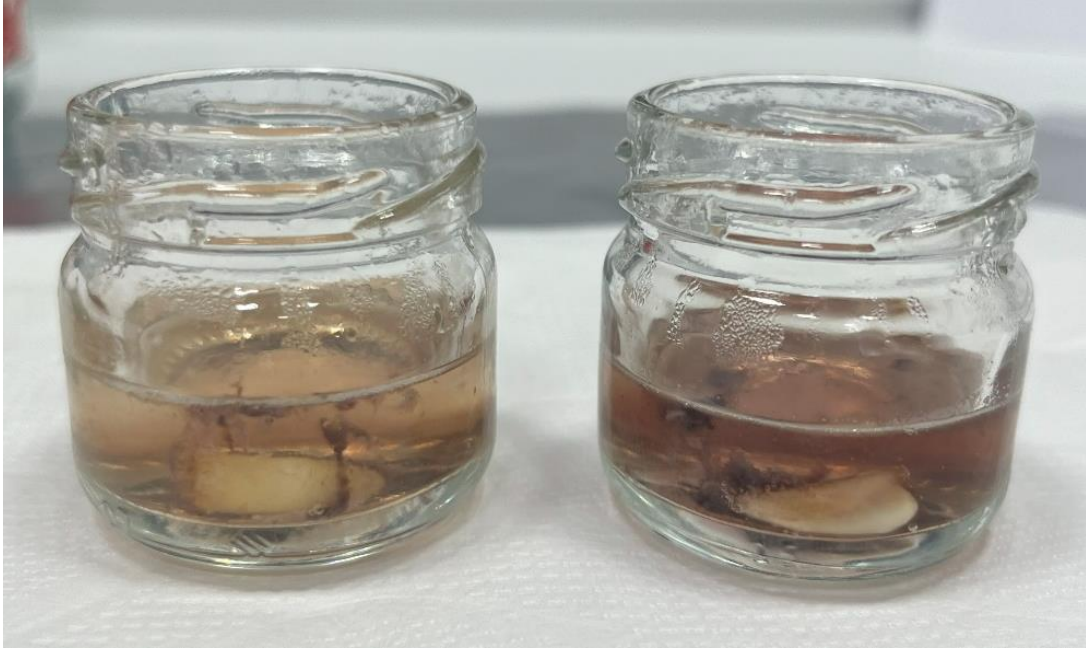
8 saat hidroklorik aside maruz kalmış diş örneklerinde tamamen çözünme gözlenmemiştir (Şekil 6-7). Diş örneklerinin dış yüzeylerinde bulunan kan ve doku parçaları hidroklorik asit bulunan sıvının içerisinde varlığını sürdürmeye devam etmiştir. Kan ve doku parçaları bazı örneklerde dişlere yapışık halde bulunurken bazılarında sıvının içerisinde yüzer halde gözlenmiştir. Asitli sıvıların renginde farklılıklar belirgin haldedir. Bu farklılıklar dişlerin dış yüzeyindeki kan ve doku miktarının fazla olduğu örneklerde koyu, az olduğu örneklerde açık olarak gözlenmiştir. Dişlerin temizlik aşamasında sodyum hipoklorit ile dişler dış yüzeyindeki fazla dokulardan arınmıştır. Parçalama öğütme işlemi örneklerin tümünde metal blender ve sıvı nitrojen yardımıyla gerçekleşmiştir.

24 saat hidroklorik asitte bekleyen diş örnekleri önemli morfolojik değişimlere uğramıştır. Buna rağmen dişlerin çekimiyle birlikte dış yüzeylerinde bulunan kan ve doku kalıntıları varlığını yitirmemiştir. Sıvının içerisinde bazı örneklerde dişlere yapışık halde bazılarında ise ayrı bir biçimde asit sıvısının içerisinde varlığına devam etmektedir. Dişin varlığını kaybetmeye daha yakın olduğu örneklerde asit sıvısının renginin daha açık olduğu gözlenmiştir. Diş örneğinin asitli sıvının içerisinde temizlik aşaması için diğer kaplara aktarılacağı sırada zorluk yaşanmıştır. Diş örneklerinin dış yüzeyleri hafif jelimsi saydam bir yapıda olup kayganlık göstermiştir (Şekil 8,9,10). Sodyum hipokloritte temizlenmesinin ardından jelimsi saydam katman varlığını yitirmiştir. Temizlik aşamasında iken bu gruptaki bazı örneklerin morfolojik varlığını yitirmek üzere olmasından sebep zorluk yaşanmıştır. Temizlik aşamasından geçmiş diş örneklerinden boyutları çok ufak hale gelmiş örneklerde toz haline getirme aşamasında zorlanılmıştır. Çok ufak parça halinde olan BH3 ve BH4 numaralı örneklerin toz haline getirilme işleminde sıvı nitrojen seramik havana aktarılmış ve bastırılmak suretiyle parçalanıp öğütülmüştür. BH5 kodlu örnek sıvı içerisinde tamamen eridiği için temizlik ve kurutma

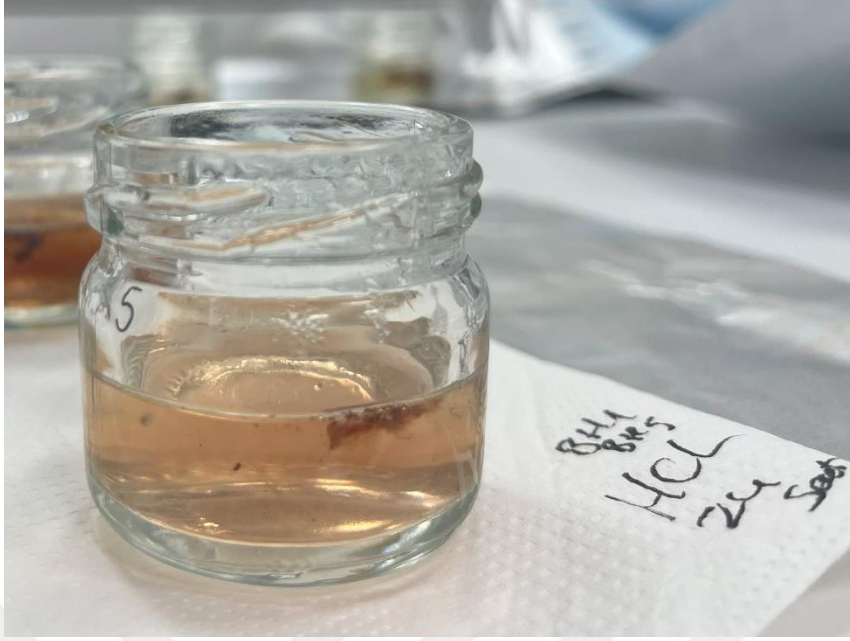
aşamalarında bulunulmayıp cam kabın içerisindeki örnek sıvısı eppendorf tüpüne aktarılmıştır (Şekil 8).



Şekil 6. Hidroklorik Asit Maruziyeti Öncesi



Şekil 7. 8 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 8. 24 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası Sıvı Örnek



Şekil 9. 24 Saat Hidroklorik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 10. Maruziyet Sonrası Jel Katman Görüntüsü

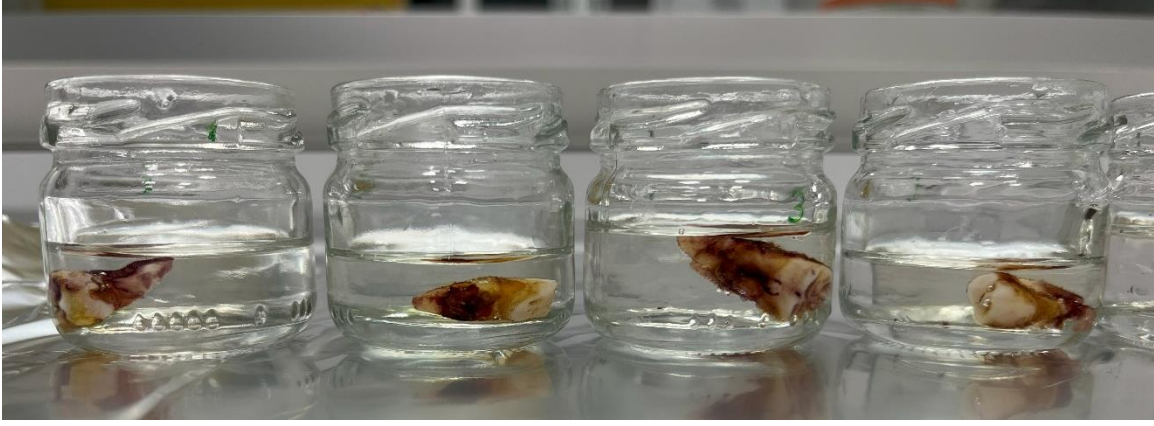
4.3 Sülfirik Aside Maruz Kalan Örnekler

8 saat sülfirik aside maruz bırakılan örneklerde morfolojik değişim gözlenmemiştir. Diş örnekleri dışarıdan ve yukarıdan bakıldığında net bir şekilde görülmektedir. Maruz bırakılmadan önceki duruma benzer şekilde sıvının netliği bozulmamıştır (Şekil 11). Dişlerin dış yüzeyindeki kan ve doku kalıntıları dişlerin üzerinde bulunmaya devam etmiş çözünmemiştir. Asitli sıvıların renginde ilk haline oranla ufak farklılar görülmüştür. Fakat bu renk değişimleri sıvının rengini ve netliğini fazla bozmamıştır. Sodyum hipoklorit ile temizleme aşamasında diş örneklerinin çoğunlukla taç (kron) bölgesinde bir beyaz katman oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 12). Oluşan bu beyaz katman yumuşak halde olması sebebiyle diş örneklerinden zımparalama işleminde kolayca ayrılmıştır.

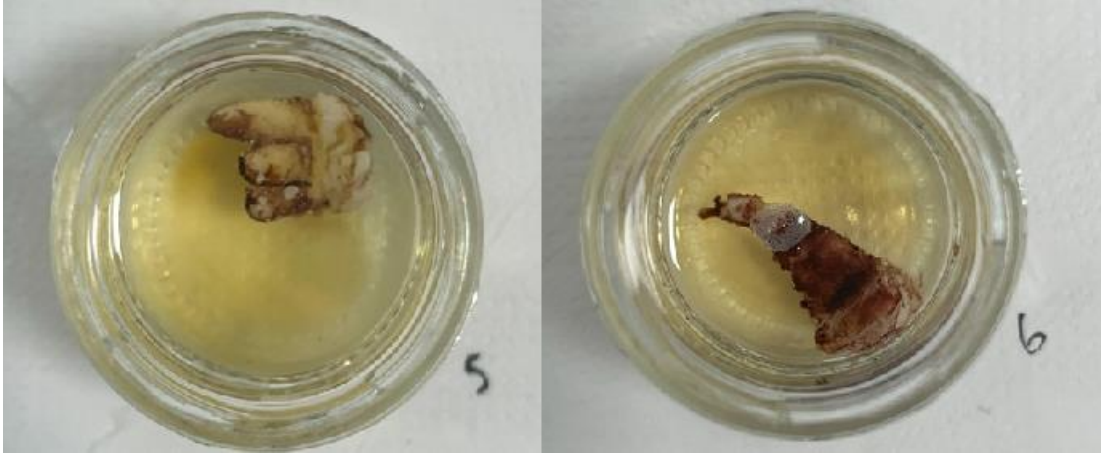
24 saat sülfirik asitte bekleyen diş örneklerinde önemli morfolojik değişimler olmamıştır. Dişlerin dış yüzeyinde bulunan kan ve doku parçaları varlığını sürdürmeye devam etmiştir. Kan ve doku parçaları asitli sıvının içerisinde ve bazı örneklerde diş yüzeyine yapışık halde

gözlenmiştir (Şekil 13). Örnek sıvısının rengi kan ve doku kalıntıları sebebiyle koyulaşarak değişime uğramıştır. Kalıntılar dişlerden tamamen ayrılmamış şekilde gözlenmiştir. Diş örneklerinin dış yüzeylerinde kremi erimiş bir katman oluşmuştur. Bu katman örneğin pens ile aktarımında zorluk oluşturmuştur. Sodyum hipoklorit ile temizliğin ardından kan ve doku parçalarından arınırken erimiş kremi katman da varlığını kaybetmiştir. Sodyum hipoklorit ile temizleme aşamasında diş örneklerin dış yüzeyinde beyaz bir katman oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 14). Sodyum hipokloritin oluşturduğu beyaz katman ile zımparalama işlemi kolaylaşmış, dişler fazla dokudan tamamen arınmıştır. Parçalama öğütme işlemi örneklerin tümünde metal blender ve sıvı nitrojen yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

120 saat sülfirik asitte bekleyen örneklerde dış yüzeylerinde kremi katman oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 15). Pens ile tutulduğunda sert dokusu hissedilebilir halde iken dış yüzeyi kremi bir katman ile erimiştir. Bu katman kayganlığı sebebiyle aktarılma işlemlerini zorlaştırmıştır (Şekil 20). Daha önce yapılan 8 ve 24 saat sülfirik aside maruz kalan örneklerin asitli sıvılarından farklı olarak sıvı, koyu ve içeriğinin anlaşılması güç halde gözlenmiştir. Dişlerin doku ve kan kalıntıları asitli sıvının içerisine tamamen ayrılmış ve çözülmüş halde görülmüştür. Sodyum hipoklorit ile dış yüzeyinde bulunan kremi erimiş katmandan ayrılmış sert bir hale geldiği gözlemlenmiştir (Şekil 16). Sodyum hipoklorit maruziyeti ve zımparalama temizlik işleminde bir zorlukla karşılaşılmaştır. Örnekler sıvı nitrojen ve blender yardımıyla toz haline getirilmiştir.



Şekil 11. Sülfirik Asit Maruziyeti Öncesi



Şekil 12. 8 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 13. 24 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 14. 120 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası



Şekil 15. 120 Saat Sülfirik Asit Maruziyeti Sonrası Katmanları



Şekil 16. Örneklerin Sodyum Hipoklorit ile Temizlik Aşaması sonrası Oluşan Beyaz Katmanın Görüntüsü

4.4 DNA Miktar Ölçümünün Değerlendirilmesi

Çalışmada toz haline gelmiş 50 diş örneği ile sıvı haldeki 2 örneğin DNA geri kazanımı çalışması yapıldı. Örnekler, QIAGEN marka QIAamp® DNA Investigator Kit kullanılarak diş kemik ve vücut sıvılarına uygun prosedürlerle spin kolon yöntemi ile DNA'ları izole edilmiştir. İzolasyon işlemi tamamlandıktan sonra, DNA miktarları Qubit 4.0 Fluorometer cihazında, Qubit dsDNA HS Assay Kit kullanılarak ölçülmüştür. Her örneğin miktarı, üç kez ölçülüp aritmetik ortalaması alınarak kaydedilmiştir. Çalışma öncesinde, kit içeriğindeki solüsyon ve boyalarla hazırlanan 2 adet standart cihazda test edilmiş ve cihazın kalibrasyon işlemleri tamamlanmıştır. 1 örnek hariç 51 adet örnekte DNA geri kazanımı olmuştur. Değerler Tablo 4,5,6,7'de gösterilmiştir.

Tablo 4: Nitrik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları

Nitrik Aside Maruz Bırakma				
Örnek No	8 saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	8 saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)	24 saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	24 saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)
1	4,50	4,339	0,244	0,113
2	0,592		0,167	
3	4,12		0,0260	
4	0,194		0,0768	
5	16,3		0,208	
6	0,772		0,0652	
7	2,50		0,0888	
8	5,74		0,0302	

Tablo 5: Hidroklorik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları

Hidroklorik Aside Maruz Bırakma				
Örnek No	8 Saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	8 Saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)	24 Saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	24 Saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)
1	2,99	2,885	0,171	0,0817
2	5,18		0,154	
3	3,15		0,0324	
4	1,84		-	
5	7,92		0,0398	
6	1,05		0,0328	
7	0,905		0,112	
8	0,0426		0,0301	

Tablo 6. Referans Örneklerin (Kimyasala maruz kalmayan) DNA Miktarı

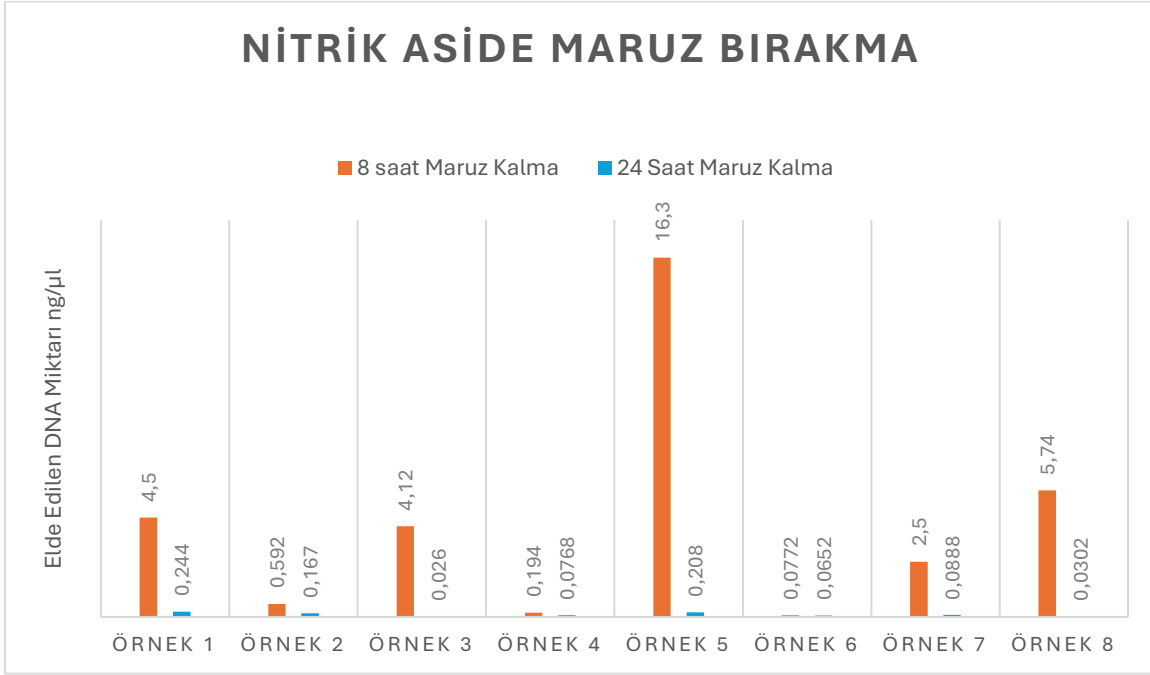
Örnek No	Referans Örneklerin (Kimyasala maruz kalmayan) DNA Miktarı (ng/ µl)	Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)
1	1,72	4,73
2	7,74	

Tablo 7. Sülfirik Aside Maruz Kalan Örneklerin DNA Miktarları

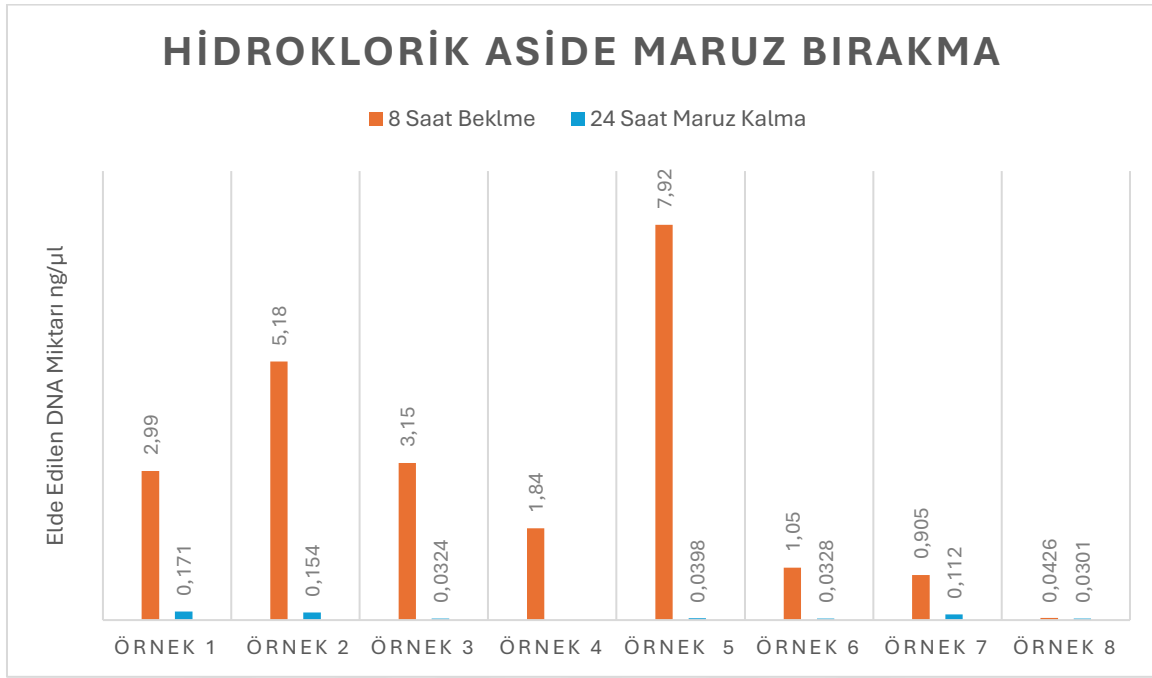
Sülfirik Aside Maruz Bırakma						
Örnek No	8 Saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	8 Saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)	24 saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	24 saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)	120 Saat Bekleme Sonrası DNA Miktarı (ng/ µl)	120 Saat Bekleme Sonrası Ortalama DNA Miktarı (ng/ µl)
1	0,0355	1,870	0,255	0,0828	0,0456	0,0387
2	2,45		0,0586		0,0318	
3	0,0233		0,0338			
4	3,06		0,0210			
5	0,0860		0,0760			
6	1,35		0,0310			
7	0,310		0,0274			
8	7,65		0,160			

Her bir kuvvetli asit ve artan maruziyet süresi ile DNA miktarının eldesinde azalma olduğu saptanmıştır. 8 saatlik maruziyetlerde DNA miktarları 0,0233 ng/µl ile 16,4 ng/µl arasında 24 saatlik örneklerde 0,0210 ng/µl ile 0,255 ng/µl arasında elde edilebilmiştir.

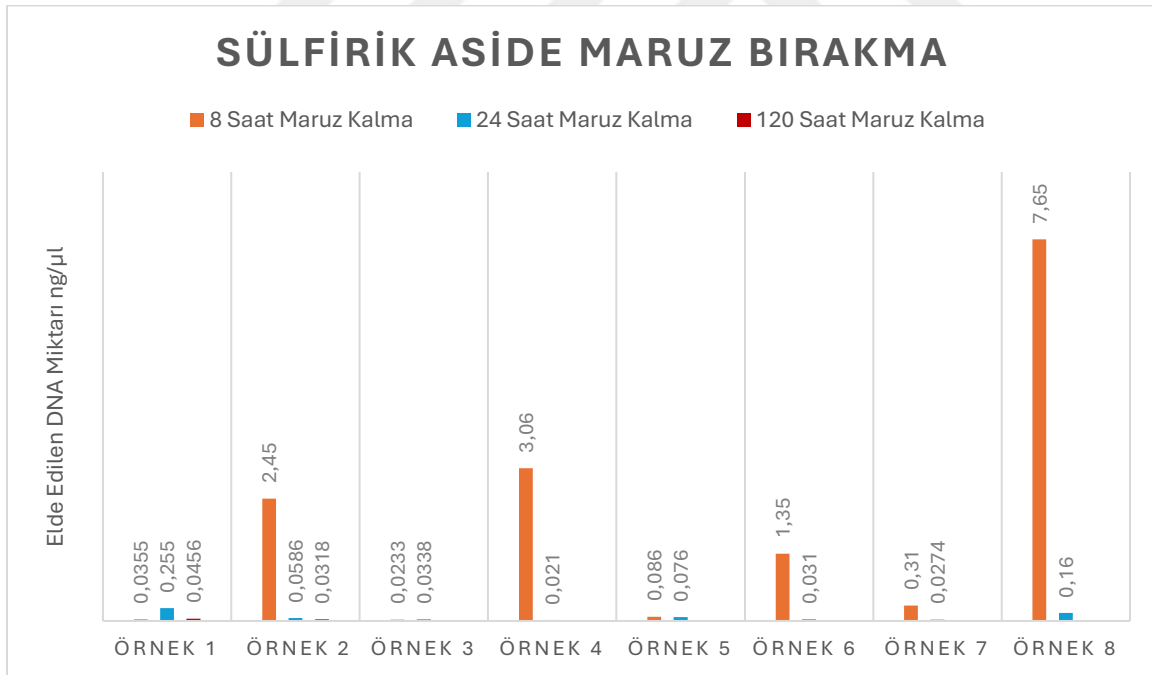
Nitrik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği



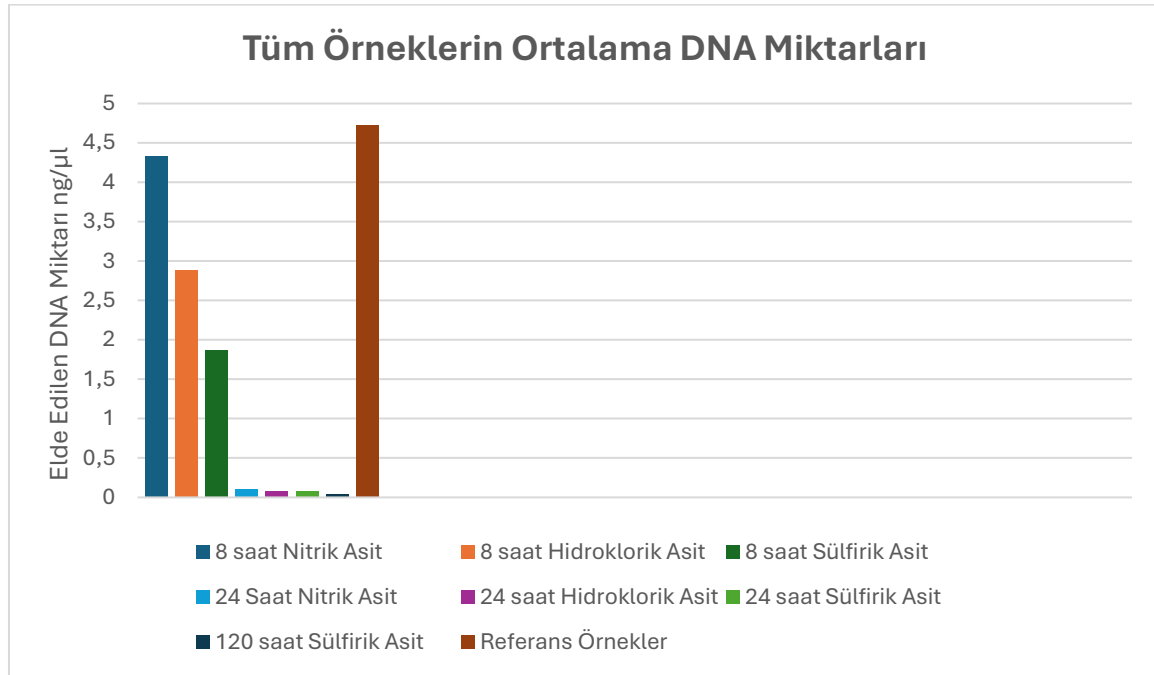
Grafik 1. Nitrik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği



Grafik 2. Hidroklorik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği



Grafik 3. Sülfirik Aside Maruz Bırakılan Örneklerin Grafiği



Grafik 4. Tüm Örneklerin Ortalama DNA Miktar Grafiği

4.5 Kimliklendirme

GlobalFiler kitin manuelinde yer alan optimizasyon çalışmalarına göre minimum 0,125 ng / µl DNA'dan tam profil elde edilebilir olduğu bilinmektedir (13). 0,125 ng / µl üzerinde elde edilen DNA miktarlarından kimliklendirme için uygun görülen 24 saat nitrik aside maruz kalan 1, 24 saat hidroklorik aside maruz kalan 1 ve 24 saat sülfirik aside maruz kalan 1 örnek olmak üzere toplam 3 örnekten kimliklendirme çalışması yapılmıştır. Kimliklendirme çalışmasında kimliklendirme için GlobalFiler™ PCR Amplification Kiti kullanılmıştır.

Elde edilen elektroforez sonuçlarına göre en başarılı profil eldesi nitrik asitte gerçekleşmiştir. Nitrik asit örneğinde 24 STR bölgesinin 17 bölgesinden alel elde edilmiştir (Şekil 17, Tablo 8). Hidroklorik asit örneğinde ise 24 STR bölgesinin 5 bölgesinden alel elde edilmiştir (Şekil 18, Tablo 9). Sülfirik asit ile yapılan çalışmadan sonuç elde edilememiştir (Şekil 19, Tablo 10). Bazı bölgelerde birden fazla pik elde edildiğinden kontaminasyon ihtimali göz önünde bulundurulmuştur.

Tablo 8.24 Saat Nitrik Aside Maruz Kalmış Diş Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili

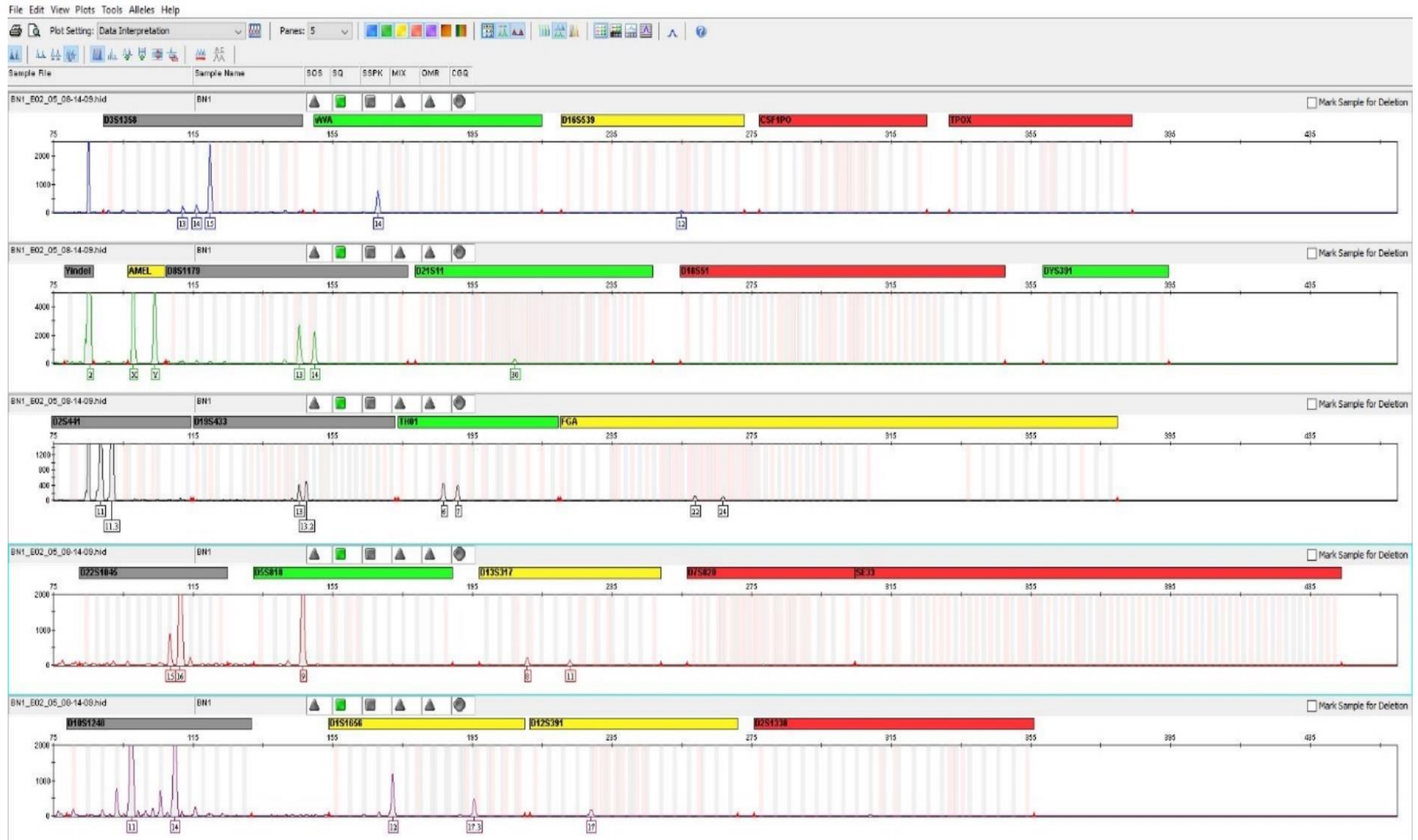
Çalışılan STR Lokusları	Elde edilen Aleller
D3S1358	14,15
vWA	14
D16S639	12
CSF1PO	-
TPOX	-
Y İNDEL	2
AMEL	X,Y
D8S1179	13,14
D21S11	30
D18S51	-
DYS391	-
D2S441	11,11.3
D19S433	13,13.2
TH01	6,7
FGA	22,24
D22S1045	15,16
D5S818	9
D13S317	8,11
D7S820	-
SE33	-
D10S1248	11, 14
D1S1656	12,17,3
D12S391	17
D2S1338	-

Tablo 9.24 Saat Hidroklorik Aside Maruz Kalmış Diş Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili

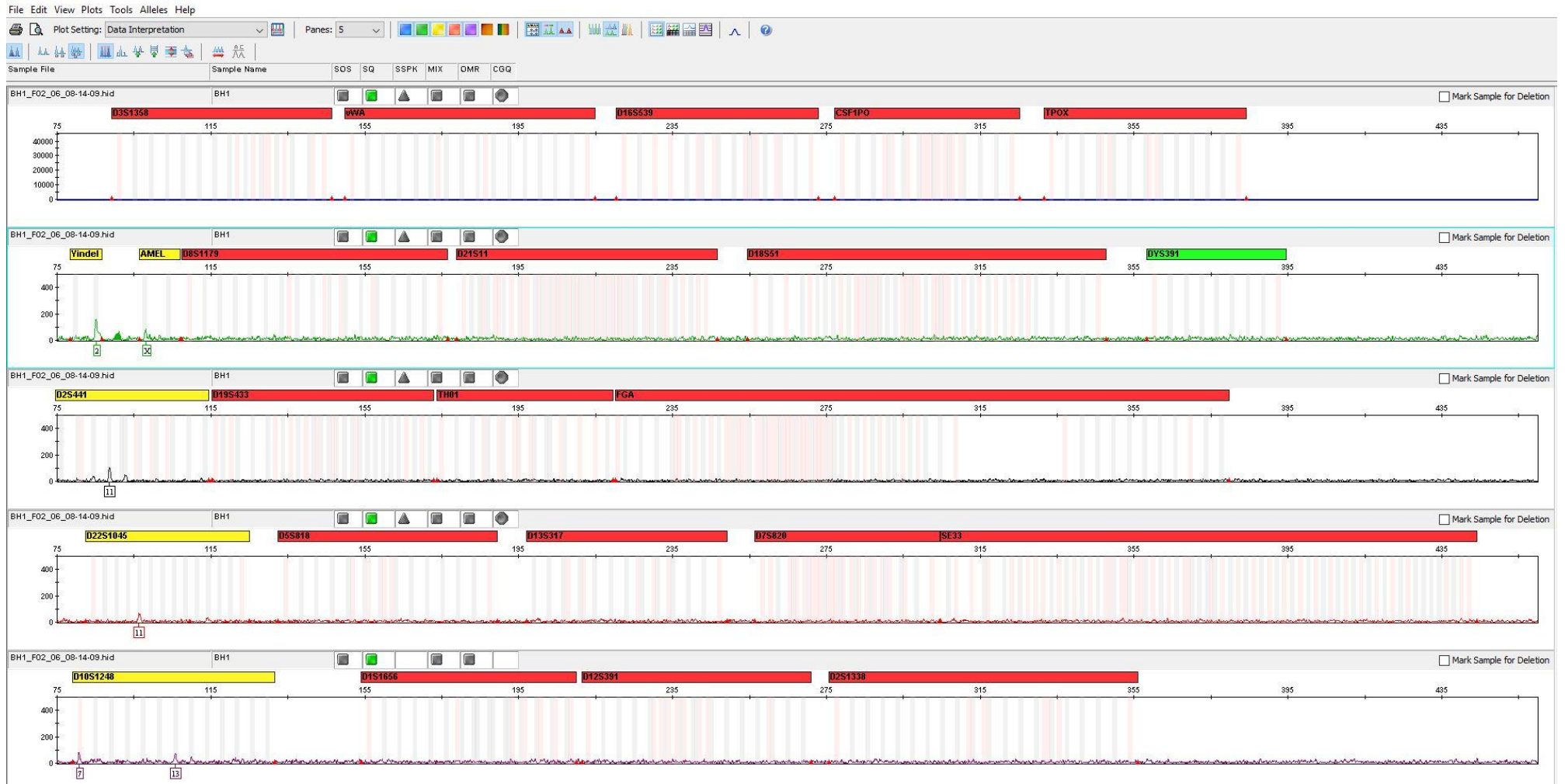
Çalışılan STR Lokusları	Elde edilen Aleller
D3S1358	-
vWA	-
D16S639	-
CSF1PO	-
TPOX	-
Y İNDEL	2
AMEL	X-X
D8S1179	-
D21S11	-
D18S51	-
DYS391	-
D2S441	11
D19S433	-
TH01	-
FGA	-
D22S1045	-
D5S818	-
D13S317	-
D7S820	-
SE33	-
D10S1248	7,13
D1S1656	-
D12S391	-
D2S1338	-

Tablo 10.24 Saat Sülfirik Aside Maruz Kalmış Diş Örneklerinde Elde Edilen DNA Profili

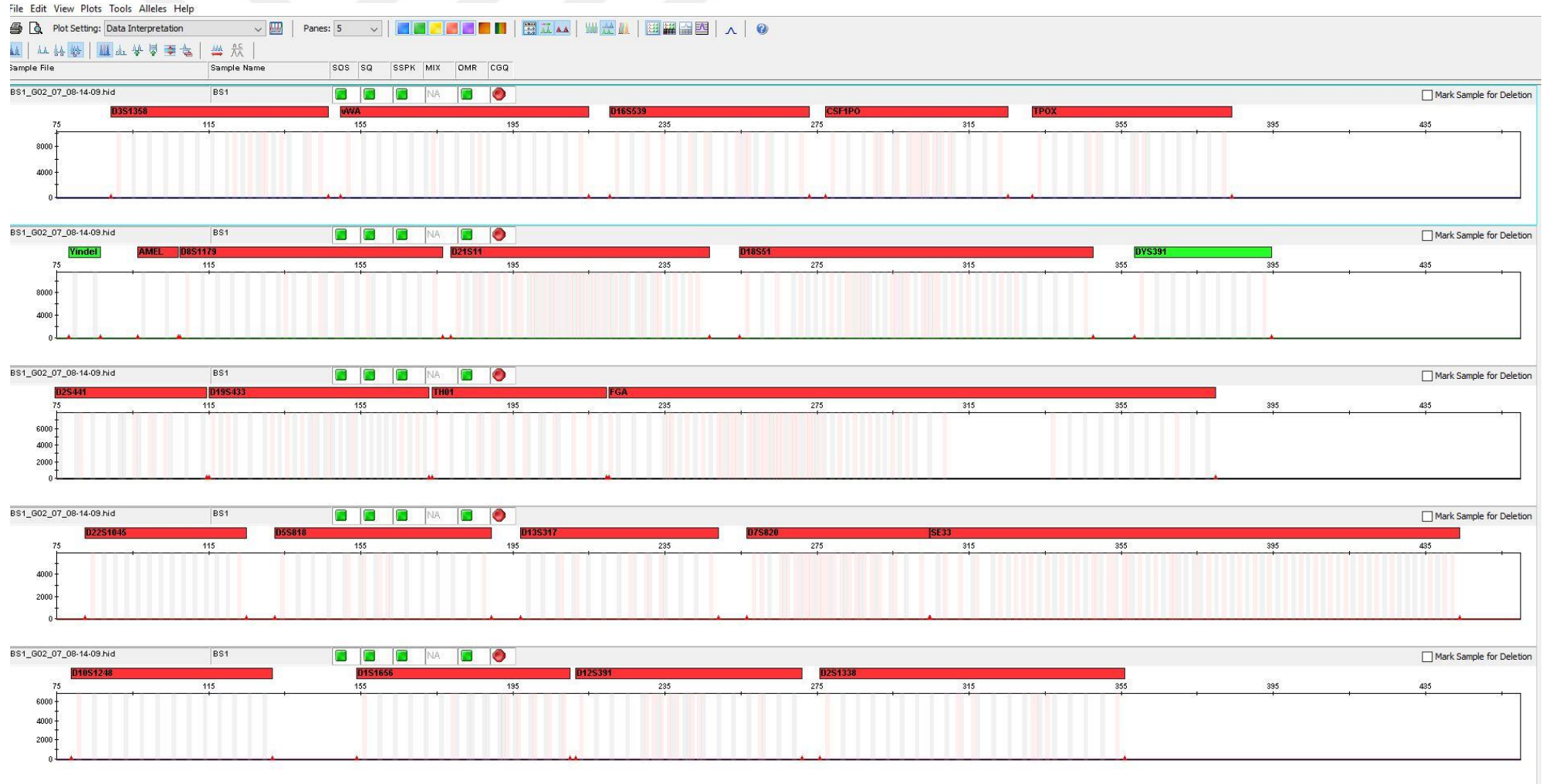
Çalışılan STR Lokusları	Elde edilen Aleller
D3S1358	-
vWA	-
D16S639	-
CSF1PO	-
TPOX	-
Y İNDEL	-
AMEL	-
D8S1179	-
D21S11	-
D18S51	-
DYS391	-
D2S441	-
D19S433	-
TH01	-
FGA	-
D22S1045	-
D5S818	-
D13S317	-
D7S820	-
SE33	-
D10S1248	-
D1S1656	-
D12S391	-
D2S1338	-



Şekil 17. 24 Saat Nitrik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde Edilen Elektroferez Görüntüsü



Şekil 18.24 Saat Hidroklorik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde edilen Elektroforez Görüntüsü



Şekil 19. 24 Saat Sülfirik Aside Maruz Bırakılmış Örneklerin Elde edilen Elektroforez Görüntüsü

5. TARTIŞMA

Dişler insan iskeletinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Tüm kemikler arasında dişler, kimyasal ve fiziksel dayanıklılığı en fazla olan ve en fazla korunan yapılardır. Bu yapıları sayesinde diş örnekleri DNA'yı muhafaza etme konusunda çok başarılıdır. Günümüzde çeşitlenen adli vakalarla birlikte adli bilimlerde analizler de çeşitlenmektedir. Toplu felaketler veya kayıp vakalarında, buluntu cesetlerden yapılan kimliklendirme çalışmalarında diş örnekleri hem morfolojik değerlendirmeler hem de DNA analizleri ile kimliklendirilmede en çok bilgi elde edilen materyal olarak kullanılmaktadır. Diş örneklerinin çene içerisinde korunaklı bir yapıda bulunması sebebiyle diş faktörlerden daha az etkilenmektedir. Ayrıca dişlerin mineral yapısı DNA'nın uzun süre korunmasını ve analiz edilmesini mümkün kılar, bu da özellikle uzun süre önce meydana gelmiş suçların çözülmesinde büyük bir avantaj sağlar.

Değişen suç tipleriyle birlikte ortadan suç unsurlarını kaldırmak adına yapılan çalışmalar da çeşitlenmektedir. Suçun örtbas edilmesi için başvuru yollar arasında cesetleri yok etmek adına çeşitli yöntemler akla gelmektedir. Kuvvetli asitler ile cesedi yok etmek suçluların başvurduğu yöntemler arasına girmektedir. Bu yöntemi kullandığı tespit edilen kişilerin çoğunlukla suç çetesi olduğu hakkında görüşler sunulmuştur. Fakat bu konuda tam olarak bir örüntü belirlenememiştir. Bu konuda kuvvetli asitlerin bir bedeni tamamen yok edebilmesi hakkında bir çalışma yapabilmek için en dayanıklı yapı olan diş örnekleri tercih edilmiştir. Asitlerin diş örneklerini tahrip etmesi hususunda zaman ve asitlerin kuvvetleri olarak parametreler bulunmaktadır. Süre ve asidin kuvveti arttıkça çözünme artmaktadır. Kuvvetli asitlere maruz bırakılan diş örnekleri hakkında yapılan çalışmalarda dişlerin tamamen eridiği durumlarda DNA analizinin kesin olarak yapılamayacağı sonucuna varılmıştır (21).

Bu tez çalışmasında da buradan hareketle, (%65 HNO₃) nitrik asit, (%37 HCL) hidroklorik asit, (%95-98 H₂SO₄) sülfirik asit kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan asitler elde edilebilir en kuvvetli derişimlerinde kullanılarak en etkili DNA geri kazanımı elde etmek amaçlanmıştır. Belirlenen saatler arasında 8 saat, tahribatın etkisinin belirlenmesi ve DNA analizindeki sonuçlar arasında karşılaştırma amacıyla seçilmiştir. 24 saat olarak belirlenen süre ise ortalama olarak diş örneklerinin eriyeyeceği tahmin edilen DNA tahribatının daha etkili olacağı düşünülerek belirlenmiştir. Sülfirik asit için oluşturulan 120 saatlik süre, sülfirik asidin oluşturması hedeflenen morfolojik değişim için belirlenmiştir. Referans örneklerinde ise tüm örnekler ile karşılaştırılma yapılması adına çalışılmıştır.

Elde edilen verilerin deęerlendirilmesinde;

Nitrik asit maruziyeti

Diş örneklerinin nitrik asit maruziyeti sırasında yaşadığı fiziksel değişimlerin süreye bağlı olarak belirginleştğini göstermektedir. 8 saatlik maruziyette dişlerin yapısal bütünlüğü az miktarda kaybetmişken, 24 saatlik maruziyette dişler büyük ölçüde erimiş ve diş yüzeydeki kan ve doku kalıntıları tamamen çözülmüştür. Nitrik asidin diş örnekleri üzerindeki etkisinin maruziyet süresi ile orantılı olarak arttığını ve uzun süreli maruziyetin daha etkili bir çözünme sağladığını göstermektedir. Asidin sıvı rengi ve dişlerin morfolojik değişimleri, diş materyalinin asit karşısındaki tepkisini ve çözünme sürecindeki ilerlemeyi işaret etmektedir. Sıvının rengindeki değişimin diş materyalinin ve çevresindeki dokunun çözünme derecesi ile ilişkilidir ve bu da asidin etkisini dolaylı yoldan gözlenmesine yol açmıştır.

Örneklerin DNA izolasyonlarında 8 saatlik grup ile 24 saatlik grup arasında DNA miktarları açısından daha başarılı grup tahmin edildiği üzere 8 saatlik bekleyen örnekler olmuştur. 8 saatlik beklemede örneklerde 0,194 ng/μl ile 16,3 ng/μl DNA miktarı elde edilmiştir. 24 saatlik örneklerde diş morfolojisinin çoğunlukla kaybolmuş olması dişin yapısında DNA'yı sakladığı

kısımları büyük ölçüde tahrip ettiği düşünülmektedir. Buna karşın nitrik asit içerisinde tamamen çözünme göstermiş sıvı örnek ile yapılan DNA izolasyonunda 0,0302 ng/µl DNA miktarı elde edilebilmiştir. 24 saatlik grupta elde edilen DNA miktarı sonuçları 0,244 ng/µl ile 0,0260 ng/µl arasında değiştiği saptanmıştır. Nitrik asitte bekleyen örneklerden 8 saat bekleyenlerde ortalama 4,339 ng/µl, 24 saat bekleyenlerde ortalama 0,113 ng/µl DNA geri kazanımı tespit edilmiştir. Kimliklendirmeye gitme açısından; tüm dünyada ortak kullanılan 24 STR lokuslu kimliklendirme kiti olan GlobalFiler™ PCR Amplification Kit (Thermo Fisher Scientific) maneline göre tam DNA profili elde etmek için yeterli olan DNA miktarı 0,125 ng µl'dir. nitrik asitte 8 saat bekleyen dişlerden 8'de 8 kimliklendirme için yeterli miktarda DNA geri kazanılmıştır.

0,244 ng/µl DNA miktarı elde edilen 24 saat nitrik asitte bekleyen örneklerle kimliklendirmeye gidildiğinde sonuçta 24 STR lokusunun 17'sinde alel elde edilerek %70,83 oranında başarılı bir sonuca ulaşılmıştır. 24 STR lokusunun tamamının allelerinin elde edilmemesi ve sonucun parçalı profil olmasına rağmen; bir önceki jenerasyon kimliklendirme kitlerinin 16 STR kullanması ve bu sayı ile %99,999 kimliklendirme yapılacağı bilinmektedir (29). Bu sebeple 17 STR lokusunda alel tespit edilen DNA profilinin kime ait olduğu belirlenebileceği kanaatine varılmıştır. Bu sonuç Nitrik aside 24 saate kadar maruz kalan diş örneklerinden kimliklendirme yapılabileceğini göstermiştir.

Hidroklorik asit maruziyeti

Hidroklorik asidin diş materyali üzerindeki etkileri, maruziyet süresiyle doğru orantılı olarak artmaktadır. 8 saatlik maruziyette, dişlerin yapısal bütünlüğü büyük ölçüde korunmuş ve diş yüzeydeki kan ve doku kalıntıları asitli sıvıda bulunmasına rağmen, tamamen çözünme gerçekleşmemiştir. Bu durum, hidroklorik asidin diş materyalinin çözünmesini kısmen sağladığını ancak tam çözünmeye neden olmadığını göstermektedir. 24 saatlik maruziyet ise

dişlerin morfolojik yapısında belirgin değişikliklere yol açmış ve dişlerin dış yüzeyindeki kan ve doku kalıntılarının varlığı, asidin etkisiyle azalmıştır. Asidik sıvının rengindeki değişiklikler dişlerin çözünme derecesiyle ilişkilidir; dişin daha fazla çözünmesi, sıvının renginin daha açık hale gelmesiyle sonuçlanmıştır. Temizlik aşamasında yaşanan zorluklar, dişlerin jelimsi yapısı ve kayganlık göstermesi asidin uzun süreli etkisinin morfolojik bütünlük üzerinde önemli bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Örneklerin DNA izolasyonunda 8 saatlik örnekler 24 saatlik örneklerle göre daha başarılı DNA miktarları vermiştir. 8 saat maruz kalan örneklerde DNA miktarı 0,0426 ng/μl ile 7,92 ng/μl arasında elde edilmiştir. 24 saatlik örneklerde ise 0,0301 ng/μl ile 0,171 ng/μl arasında DNA miktarı elde edilirken 1 örnekte DNA miktarı elde edilememiştir. Hidroklorik asitte 8 saat bekleyen örneklerden ortalama 2,885 ng/μl 24 saat bekleyenlerde ortalama 0,0817 ng/μl DNA geri kazanımı tespit edilmiştir.

24 saatlik örneklerde dişlerin dış yüzeyinde bulunan kan ve doku kalıntılarının tamamen çözünmemiş olmasına rağmen diş örneklerinde büyük ölçüde morfolojik değişim çözünme gözlenmiş 1 örnek tamamen sıvı hale gelmiştir. Sıvı hale gelen bu örnekten dahi 0,0398 ng/μl DNA geri kazanılabilmektedir. Kimliklendirmeye gitme açısından; 0,171 ng/μl DNA miktarı elde edilen örnek ile kimliklendirmede 24 STR bölgesinden 5'inde alel elde edilmiştir. Bu sonuç ile tam profil elde edilememiş olsa da 24 saate kadar hidroklorik aside maruz kalan örneklerde parçalı DNA profili elde edilebileceği ve kimliklendirmedeki başarı oranının %20,83 olduğu belirlenmiştir.

Sülfirik asit maruziyeti

Sülfirik aside maruz kalan örneklerde tüm etkilerin süreye bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. 8 saatlik örneklerde morfolojik değişim görülmemesiyle birlikte asitli sıvının netliği de değişmemiştir. Dış yüzeyde bulunan kan doku kalıntıları varlığını sürdürmüş etkili bir çözünme olmadığı saptanmıştır. 24 saatlik örneklerde ise çok az miktarda değişimler yaşanmış fakat

önemli ölçüde olmadığı görülmüştür. 8 saatlik örneklerle benzer şekilde dış yüzeydeki kan ve doku kalıntıları varlığını sürdürmeye devam ederek tam bir çözünme olmadığı sonucunu gözle görülür kılmıştır. 8 saatten farklı olarak 24 saatlik örneklerde sıvının rengi daha koyu görülmüş bu da çözünmenin daha ileride olduğu konusunda gözlem yapmamızı sağlamıştır. 24 saatlik örneklerde az olarak belirlenen morfolojik değişim dişin dış katmanının kremi katman oluşturması şeklinde bir çözünme oluşturduğunu göstermiştir. 120 saatlik örneklerde durum biraz daha farklı olarak 24 saate oranla daha fazla çözünme yaşanan dış doku ve gözle görülemeyecek kadar koyu renk oluşmuş asitli sıvı olarak görülmüştür. Sıvı içerisinde kan doku kalıntıları tamamen çözünmüştür. Genel olarak sülfirik asidin her maruz kalma aşamasından sonra sodyum hipoklorit ile maruziyetinde dişin yüzeyinde beyaz katman oluşturması genel bir etkileşime işaret etmektedir.

Örneklerin DNA izolasyonunda 8 saatlik örnekler, 24 ve 120 saatlik örneklerle göre daha başarılı DNA miktarı sonuçları vermiştir. 8 saat maruz kalan örneklerde DNA miktarı 0,0233 ng/µl ile 7,65 ng/µl arasında elde edilmiştir. 24 saatlik örneklerde ise 0,0210 ng/µl ile 0,255 ng/µl arasında DNA miktarı elde edilmiştir. 120 saat sülfirik aside maruz kalan örneklerde ise 0,0318 ng/µl ve 0,0456 ng/µl DNA miktarı elde edilmiştir. Hidroklorik asitte 8 saat bekleyen örneklerden ortalama 1,870 ng/µl 24 saat bekleyenlerde ortalama 0,0828 ng/µl 120 saat bekleyen örneklerde ortalama 0,0387 ng/µl DNA geri kazanımı tespit edilmiştir.

Bu grupta kimliklendirmeye gidildiğinde için 0,255 ng/µl DNA miktarı olan örnekte 24 STR lokusunun hiçbir bölgesinden alel elde edilememiştir. Bu durum sülfirik asidin dişlerin dış yüzeyinde önemli morfolojik değişimler oluşturmamasına rağmen dişin materyal yapısını etkileyerek DNA'yı bozduğunu düşündürmektedir.

Referans Örnekler

Hiçbir kimyasala maruz kalmadan aynı DNA izolasyon yöntemleri ile dişten geri kazanılabilecek DNA miktarının gözlenmesi için azı ve kesici diş seçilmiştir. Farklı diş seçiminde diş tipleri arasındaki DNA geri kazanımındaki farklılığın değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Sonuç olarak geniş pulpaya sahip azı dişlerinden DNA geri kazanımının daha yüksek miktarlarda elde edilme durumu gözlemlenmiştir. Azı dişinden 7,74 ng/μl DNA elde edilmiştir; bu kesici dişten elde edilen 1,72 ng/μl DNA'dan belirgin şekilde yüksektir. Bu sonuç, azı dişlerinden daha verimli DNA geri kazanımı sağlandığını bir kez daha göstermiştir.

Tüm asitler değerlendirildiğinde

Nitrik asit ve hidroklorik asit genel olarak diş morfolojisinde en çok değişim gösteren asitler olmuştur. İkisi arasında değerlendirme yapılacak olursa dış yüzeydeki kalıntıları yok etmesi göz önüne alındığında en etkili olan asit nitrik asit olarak belirlenmiştir. Sülfirik asit daha az morfolojik değişim elde edilen asit olmasına karşın tüm gruplarda en az DNA miktarı sülfirik aside maruz kalan örneklerden elde edilmiştir (Grafik 3). Bununla birlikte kimliklendirme yapılan örneklerde ise en yüksek DNA miktarı sülfirik asitte olmasına rağmen kimliklendirmede başarı elde edilememiştir.

GlobalFiler™ PCR Amplification Kit manuelinde yer alan optimizasyon çalışmalarına göre kimliklendirme çalışmasında bulunmak için minimum 0,125 ng / μl DNA'dan tam profil elde edilebilir olduğu bilinmektedir. Bu bilgi dahilinde çalışmamızda 51 örnekten Nitrik aside maruz kalan 16 örnekte toplamda elde edilen DNA miktarları hesaplandığında %68,75 kimliklendirme başarısı, Hidroklorik aside maruz kalan 16 örnekte toplamda elde edilen DNA miktarları hesaplandığında %56,25 kimliklendirme başarısı, Sülfirik aside maruz kalan 18 örnekte toplamda elde edilen DNA miktarları hesaplandığında %38,89 kimliklendirme başarısı elde

edilmiştir. 24 saate kadar (%65 HNO₃) nitrik aside ve (%37 HCL) hidroklorik aside maruz kalan örneklerde kimliklendirme çalışmalarının mümkün olduğu belirlenmiştir.

Literatürdeki benzer çalışmalar

Raj ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları çalışmada nitrik asit, hidroklorik asit ve sülfirik asidin diş örneklerinde oluşturdukları morfolojik değişimini incelemişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde aynı derişimlerde asitler kullanılmışlardır (20). Çalışmada diş örnekleri (%37 HCl) hidroklorik aside maruz bırakıldığında 15 dakika içerisinde hafif çatlaklar gözlemlenmiştir. 30 dakika sonunda çatlakların ilerlemesi ve bir saat sonunda dişin morfolojisinin kaybolduğu görülmüştür. Dişin tamamen çözünmesi ise 8 saat sürmüştür. Bu tezde ise 8 saatlik maruziyette tamamen çözünme gözlenmemiştir.

(%65 HNO₃) nitrik asit ile yapılan deneylerde, 15 dakikada kök kısmında hafif sarımsı bir renk değişimi gözlenmiştir. Bir saat içerisinde çatlak oluşumu belirginleşmiş ve çözünme süreci 8 saatte tamamlanmıştır. Bu sonuç bu tez verileri ile örtüşmemektedir.

(%96 H₂SO₄) ile yapılan deneylerde, 3 saat sonunda dişin mine tabakasında beyazımsı bir görünüm ve çözünme gözlemlenmiş, ancak dişin morfolojisi 8 saat sonunda bile büyük ölçüde korunmuştur. Bu bulgu, bu tez ile benzerlik göstermektedir. Sülfirik asidin 8 saatlik örneklerdeki diş yüzeyinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı, ancak zamanla yüzeyde beyazımsı bir katman oluşturarak minede çözünmeye neden olduğu çalışmamızla paralel olarak uyum göstermiştir.

Damascena ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, diş örneklerinin çeşitli kimyasal maddelere maruziyeti sonucunda kimliklendirme çalışması ve asitlerin DNA üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada diş örnekleri, 4 gün boyunca %37 hidroklorik asit (HCl), %10

formaldehit ve %2,5 sodyum hipoklorit (NaOCl) gibi kimyasal maddelere maruz bırakılmıştır (21). Bu kimyasalların diş dokusu üzerindeki etkileri ile DNA'nın bozulma derecesi ve DNA ekstraksiyonunun başarısı detaylı olarak incelenmiştir. Hidroklorik asit maruziyeti sonucunda dişlerin tamamen eridiği gözlemlenmiştir. HCl'nin dişler üzerindeki etkisi, kalsiyum iyonlarıyla reaksiyona girerek kalsiyum klorür ve hidrojen gazı oluşumuna yol açmasıyla açıklanmıştır. Bu reaksiyon sonucunda diş dokusunun tamamen çözülmesi, DNA'nın geri kazanımını imkânsız hale getirmiştir. Bu bulgular, hidroklorik asidin diş dokusu üzerinde etkili bir çözünme sağladığını ve DNA'nın bozulmasına neden olduğunu göstermektedir. Bu tezde ise en fazla maruz bırakılan süre 24 saat olduğundan bu çalışmaya benzer olarak tüm örneklerde tamamen çözünme gözlenmemiştir. Bunun yanı sıra bu tezde çalışılan tamamen çözünme göstermiş 24 saatlik maruziyet ile sıvı hale gelmiş olan 2 örnekten de DNA geri kazanılabilmektedir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında; (%65 HNO₃) nitrik aside 8 ve 24 saat, (%37 HCL) hidroklorik aside 8 ve 24 saat, (%95-98 H₂SO₄) sülfirik aside 8, 24 ve 120 saat maruz kalan örnekler ve 2 referans örnek ile toplamda 52 diş örneği incelenmiştir. Bu örneklerden 24 saat nitrik aside ve hidroklorik aside maruz kalmış 1'er örnek tamamen çözünme gösterip sıvı hale gelmiştir.

Nitrik asidin diş ve çevresindeki tüm organik yapıları gözle görülür şekilde tamamen tahrip etmesi morfolojik değişimde en etkili sonucu gösteren asit olduğunu göstermiştir. Hidroklorik asidin diş yapısını eritmesine rağmen diş yüzeydeki materyalleri tamamen eritmemesi ayrı bir durum olarak gözlenmiştir. Sülfirik asidin diş yüzeyini görünür şekilde eritmemesine rağmen, diş dokusuna artan maruziyetle daha fazla gözlenecek şekilde kremi diş yüzey oluşturması dikkat edilmesi gereken etkiler arasında gözlenmiştir.

Bu tezde gerçekleştirilen DNA izolasyonlarında, 52 örnekten 51'inde başarılı bir şekilde DNA geri kazanılmıştır. DNA eldesinde kullanılan QIAGEN marka QIAamp DNA Investigator kit ile DNA geri kazanımı mümkün gözükmektedir. Genel olarak nitrik aside maruz kalan örneklerde 0,0260 ng / μ l ile 16,3 ng / μ l arasında, hidroklorik aside maruz kalan örneklerde 0,0301 ng / μ l ile 7,92 ng / μ l arasında, sülfirik aside maruz kalan örneklerde 0,0210 ng / μ l ile 7,65 ng / μ l arasında DNA geri kazanılabilmektedir. Nitrik asidin morfolojik tahribat etkisinin çok daha fazla olmasına rağmen DNA geri kazanımında daha yüksek sonuçlar veren asit olduğu gözlenmiştir. Tüm çalışmada **en başarılı DNA geri kazanımı ortalama 4,339 ng / μ l olarak 8 saatlik nitrik asitte bekleyen** örneklerde gerçekleşmiştir. En az DNA miktarı elde edilen grup ise 0,0387 ng/ μ l ortalama ile 120 saat sülfirik asitte bekleyen örneklerde olmuştur.

0,125 ng/µl üzerinde elde edilen DNA'lar göz önüne alınarak **24 saate kadar (%65 HNO₃) nitrik aside ve (%37 HCL) hidroklorik aside maruz kalan örneklerde kimliklendirme yapılabileceği kanaatine varılmıştır.** 24 saat asitlere maruz kalan örneklerin DNA'ları ile kimliklendirmeye gidildiğinde; Nitrik asitte bekleyen dişlerden 24 STR lokusunun 17'sinde alel elde edilerek %70,83 oranında başarılı kimliklendirme yapılabileceğine, Hidroklrik asitte bekleyen dişlerden 24 STR lokusundan 5'inde alel elde edilerek %20,83 oranında başarılı kimliklendirme yapılabileceğine, Sülfirik asitte bekleyen dişlerden 24 STR lokusunun hiç birinde alel elde edilemeyerek kimliklendirme yapılamayacağı sonucuna varılmıştır. Nitrik asitte 24 saate bekleyen dişlerden 24 STR lokusunun tamamının allelerinin elde edilmemesi ve sonucun parçalı profil olmasına rağmen; 16 STR kullanılarak dahi %99,999 kimliklendirme yapılacağı bilindiğinden **Nitrik aside 24 saate kadar maruz kalan diş örneklerinden başarılı kimliklendirme yapılabileceği kanaatine varılmıştır.**

Asitte **tamamen yok olan sıvı hale geçen diş numunelerinden dahi DNA geri kazanabildiği** bu miktarlarla tam kimliklendirme olmasa da **parçalı profil elde edilebileceği kanaatine** varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Güngör A. Yıkanmış semen lekelerinden DNA elde edilmesi. [Yüksek lisans tezi, Üsküdar Üniversitesi]. 2019
2. Zorba G, Doğan Y, & Gürkan C. Adli genetik: İnsan kemiklerinden kimliklendirmede DNA analizlerinin rolü. Adli antropoloji ve kimliklendirme. [Akademisyen Yayımevi]. 2021
3. Çetli E, Tatar D, Özkoçak V, Akın, G, & Gültekin, T. Adli bilimlerde DNA parmak izine adli genetik ve adli antropolojik bakış. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2019; 8: 1545-1556.
4. Bilecenoğlu B, & Ocak M. Diş anatomisi. Adli antropoloji ve kimliklendirme (ss. 77). [Akademisyen Yayımevi]. 2021
5. Seven E. (2014). Adli bilimlerin tarihsel gelişimi. Erişim tarihi 1 Haziran 2024, <https://adlibilimler.net/2014/04/adli-bilimlerin-tarihsel-gelisimi/>
6. Hersekli İ. Cinsel saldırı sonrası elde edilen karışık haldeki biyolojik örneklerin FTR ile kimliklendirilmesi [Yüksek lisans tezi, Üsküdar Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü]. 2022
7. Gök E. D.Seyreltilmiş sodyum hipoklorid (çamaşır suyu) maruz bırakılmış kan ve seminal sıvı lekelerinden DNA geri kazanımı, [Yüksek lisans tezi, Üsküdar Üniversitesi Adli Bilimler Enstitüsü]. 2021
8. Yeşildağ Ö. Adli tıpta kullanılan moleküler genetik yöntemler ve uygulamaları [Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi]. 2009
9. Doğan Alakoç Y. Adli bilimlerde DNA analizleri. Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi, 9:(2), 1-8. 2010

10. Heller C. Principles of DNA separation with capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 22:(4), 629-643. 2001
11. Dönmez Ö. DNA analizinde laboratuvar kaynaklı kontaminasyonun tespiti ve adli bilimler açısından değerlendirilmesi [Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi]. 2008
12. Yediay F. Farklı dönemlere ait insan kalıntılarında DNA hasar (degradasyon) modellerinin yeni nesil dizileme (YND) teknolojisi ile belirlenmesi [Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi]. 2018
13. Kumar N, Aparna R, & Sharma S. Effect of postmortem interval and conditions of teeth on STR based DNA profiling from unidentified dead bodies. *Journal of Forensic Leg Medicine*, 83: 102246. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2021.102246> 2021
14. Rahmat R. A, Humphries M. A, Linacre A. MT, Malik A, Saedon, N, & Austin, J. J. Freeze-drying improves DNA yield from teeth. *Forensic Science International*, 326: 110938. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2021.110938> 2021
15. Higgins D & Austin J. J. Teeth as a source of DNA for forensic identification of human remains: A review. *Science & Justice*, 53:4, 433-441. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2013.06.001> 2013
16. Rancourt A. C, Sainte-Marie S, Blackmore V, & Currie K. A. Evaluation of low-cost bone and teeth processing methods for automated DNA extraction. *Forensic Science International: Reports* 2023
17. Heathfield L. J, Haikney T. E, Mole C. G, Finaughty C, Zachou A. M, & Gibbon V. E. Forensic human identification: Investigation into tooth morphotype and DNA extraction methods from teeth. *Science & Justice*, 61:4, 339-344. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2021.05.005> 2021

18. Hughes-Stamm S, Warnke F, & van Daal A. An alternate method for extracting DNA from environmentally challenged teeth for improved DNA analysis. *Legal Medicine*, 18: 31-36. 2016
19. Leskovar T, & Pajnič, I. Z. Comparative analysis of DNA preservation in permanent and deciduous teeth of adults and non-adults: Implications for archaeological and forensic research. *Forensic Science International*, 353:111882. 2023
20. Raj M, Boaz K, & Srikant N. Are teeth evidence in acid environment? *Journal of Forensic Dental Sciences*, 5:1, 7-10. 2013
21. Damascena N, Filho S, Souza B, Silva F, Estevam S, Franco A, Paranhos R, & Musse O. Testing the extraction of DNA from human teeth exposed to different chemical solutions. *International Journal of Odontostomatology*, 11:2, 173-177. 2017
22. Karataş Ö. Türk toplumunda mitokondriyal DNA'da (8389-8865 baz çifti) mutasyon taraması [Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü]. 2012
23. Tatlıcı G & Kibaroglu A. Adli bilimlerde kapiler elektroforez uygulamalarında son gelişmeler. *Türkiye Klinikleri Adli Tıp ve Adli Bilimler Dergisi*, 3:2, 65-71. 2006
24. Filoğlu G, Sah D, Doğan A, Nalcaoğlu H, Tavacı A, Bulbul A, & Ünsal M. Uygulaması yeni nesil dizilemenin adli bilimlerde uygulanması. *Turkish Journal of Vascular Surgery*, 6:1, 157-162. 2017
25. Thermo Fisher. User guide: Qubit dsDNA HS assay kits. 2015
26. GlobalFiler and GlobalFiler IQC PCR Amplification Kits. Massachusetts, Waltham, USA.
27. Applied Biosystems. Veriti™ user guide (1-124) 2010
28. Applied Biosystems. 3500/3500xL Genetic Analyzer user guide (1-369) 2010
29. Applied Biosystems. AmpFlSTR™ Identifiler™ Plus PCR Amplification Kit user guide. 2010

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı Soyadı: Nejla Karaboğa

Eğitim

Yüksek Lisans: Üsküdar Üniversitesi Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Bilimler Anabilim Dalı (2022-2024)

Lisans: Üsküdar Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

Adli Bilimler Bölümü (2017- 2021)

Bildiriler: Özçelik, H., Erdoğan, G., Soluk, M., **Karaboğa, N.**, Çeker, D., Deniz, İ., İstisnai Bir Erken Mumyalaşma Olgusu, 1. Uluslararası 17. Ulusal Adli Bilimler Kongresi, Adli Tıp Uzmanları Derneği, 2020, İstanbul.