

T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
DANIŞMAN: Yard. Doç. Dr. GÖNÜL FİLOĞLU

6 MİNİ STR LOKUSU' NUN
(D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441,
D1S1677) ADLİ İDENTİFİKASYONDAKİ ÖNEMİ
VE TÜRKİYE' DEKİ GEN SIKLIĞI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif Sipahi
Moleküler Biyolog

İstanbul 2012

Bu Tez alışması İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje Kodu: 4040

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın ortaya çıkmasındaki katkılarından dolayı İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsü müdürü

Prof. Dr. İmdat Elmas'a

ve

Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Salih Cengiz'e,

Emeğini ve vaktini benim için harcayan tez danışmanım değerli hocam

Yard. Doç. Dr. Gönül Filoğlu'na,

Çalıőmalarım süresince desteğini esirgemeyen

Yard. Doç. Dr. Havva Altunçul'a

Laboratuvar çalıőmasındaki yardımlarından ötürü

laborant Gülten Rayimoğlu'na,

Bu tezin ortaya çıkmasında her zaman yanımda olan çok değerli arkadaşım

Tuğba Ünsal'a

Gösterdikleri destek ve anlayıőtan dolayı başta Duygu Koyuncu Irmak olmak üzere

MEK Consulting Türkiye ekibine,

Maddi ve manevi desteklerinden dolayı başta annem Nilgün Radiye ağa olmak üzere

aileme ve arkadaşlarıma

çok teşekkür ederim.

KISALTMALAR

AMPFLP	Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (Amplified fragment length polymorphism - AMPFLP)
bç	Baz çifti
CNV	Kopya Sayısı Varyantları (Copy Number Variant)
CODIS	Combined DNA Index System
dNTP	Deoksinükleotit trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
f	Frekans
F	Fiksasyon İndeksi
FAM	6-karboksifluorescein
FBI	Federal Soruşturma Bürosu (Federal Bureau of Investigation)
FST	Alt popülasyonlarda heterozigotluğun değişiminin toplam popülasyona göre ifadesi
FSS	Adli Bilimler Servisi (Forensic Science Service)
HapMap Project	İnsan Genomunun Haplotip Haritasını çıkarma projesi (HapMap Project)
HET	Beklenen heterozigotluk (Expected Heterozygosity)
HLA	İnsan lökosit antijeni (Human Leukocyte Antigens)
ISFH	Uluslararası Adli Hemogenetik Derneği (International Society of Forensic Hemogenetics)
LD	Bağlantı dengesizliği (Linkage Disequilibrium)
MEGA	Moleküler Evrimsel Genetik Analiz (Molecular Evolutionary Genetics Analysis)
MP	Eşleşme Olasılığı (Matching Probability)

PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
PD	Ayırt etme gücü (Power of Discrimination)
PE	Dışlama gücü (Power of Exclusion)
PIC	Polimorfik bilgi içeriği (Polymorphism Information Content)
RFLP	Sınırlandırılmış fragman uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)
rpm	Dakikadaki devir sayısı (revolutions per minute)
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polimorphism)
STRs	Kısa ardışık tekrarlar (Short Tandem Repeats)
TPI	Tipik babalık indeksi (Typical Paternity Index)
VNTRs	Değişken sayıda ardışık tekrarlar (Variable Number of Tandem Repeats)

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: İnsan kromozomları üzerinde CODIS STR dağılımı ve gen bankası numarası

Tablo 2: Popülasyon genetiği araştırmalarında kullanılan programlar

Tablo 3: PCR'da kullanılan floresan işaretli primer baz dizileri

Tablo 4: NC01 ve NC02'nin primer konsantrasyonları

Tablo 5: Lokusların büyüklük (size) ve alel aralığı

Tablo 6: D1S1677 Lokusunun Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 7: D1S1677 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 8: Türkiye Geneli D1S1677 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya Popülasyonları ile Karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 9: D2S441 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 10: D2S441 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 11: Türkiye Geneli D2S441 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya Popülasyonları ile Karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 12: D4S2364 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 13: D4S2364 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 14: Türkiye Geneli D4S2364 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya Popülasyonları ile Karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 15: D10S1248 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 16: D10S1248 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 17: Türkiye Geneli D10S1248 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya Popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 18: D14S1434 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 19: D14S1434 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 20: Türkiye Geneli D14S1434 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya Popülasyonları İle Karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 21: D22S1045 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 22: D22S1045 Lokusu İstatistiksel Verileri

Tablo 23: Türkiye Geneli D14S1434 Lokusu Alel sıklıklarının Dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

Tablo 24: NC01 Minipleks Lokuslarının (D10S1248, D14S1434,D22S1045) Alel Sıklıkları

Tablo 25: NC02 Minipleks (D1S1677, D2S441,D4S2364) Alel Sıklıkları

Tablo 26: NC01 ve NC02 Minipleksleri'nin Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Tablo 27: NCO1 Minipleksinin Adli Yararlılıklarına Ait İstatistiksel Bilgileri

Tablo 28: NCO2 Minipleksinin Adli Yararlılıklarına Ait İstatistiksel Verileri

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1:** Adli DNA tiplemesinde majör olayların zaman skalaları (solda) ve farklı tekniklerin çözünürlük güçleri (sağda).
- Şekil 2:** Mini STR lokuslarının kromozomlar üzerindeki yerleşimi
- Şekil 3:** Mini STR primerlerinin bağlanma şekilleri
- Şekil 4:**STR alel cetvelinin oluşturulma temeli
- Şekil 5:** STR analizleri sırasında görülen tekrar kaymasına bir örnek
- Şekil 6:** Hedef dışı nükleotid eklenmesi
- Şekil 7:** Genetik Drift Özet Anlatım
- Şekil 8:** Popülasyon darboğazı alel frekanslarında değişime yol açar
- Şekil 9:** Powerstats V1.12 genotip çalışma sayfası görüntüsü
- Şekil 10:** Powerstats V1.12 hesaplama çalışma sayfası görüntüsü
- Şekil 11:** Powerstats V1.12 Beyaz popülasyonu için kullanılan çalışma sayfası görüntüsü
- Şekil 12:**Powerstats V1.12 grafik çalışma sayfası görüntüsü
- Şekil 13:**Powerstats V1.12 özet çalışma sayfası görüntüsü
- Şekil 14:**Pozitif kontrol DNA genotipleri
- Şekil 15:** NC01 multipleksinin çalışma sonucuna ait elektroforegram
- Şekil 16:** NC02 multipleksinin çalışma sonucuna ait elektroforegram.

GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 1:** D1S1677 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 2:** D1S1677 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 3:** D1S1677 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 4:** D1S1677 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 5:** D1S1677 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 6:** D1S1677 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 7:** D1S1677 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 8:** D1S1677 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik 9:** D1S1677 lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması
- Grafik 10:** D2S441 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 11:** D2S441 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 12:** D2S441 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 13:** D2S441 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 14:** D4S441 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 15:** D2S441 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 16:** D2S441 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 17:** D2S441 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik 18:** D2S441 lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla karşılaştırılması
- Grafik 19:** D4S2364 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 20:** D4S2364 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 21:** D4S2364 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 22:** D4S2364 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 23:** D4S2364 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 24:** D4S2364 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 25:** D4S2364 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 26:** D4S2364 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik 27:** D4S2364 lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması
- Grafik 28:** D10S1248 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 29:** D10S1248 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları

- Grafik 30:** D10S1248 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 31:** D10S1248 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 32:** D10S1248 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 33:** D10S1248 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 34:** D10S1248 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 35:** D10S1248 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik 36:** D10S1248 Lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması
- Grafik 37:** D14S1434 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 38:** D14S1434 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 39:** D14S1434 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 40:** D14S1434 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 41:** D14S1434 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 42:** D14S1434 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 43:** D14S1434 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 44:** D14S1434 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik45:**D14S143 Lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması
- Grafik 46:** D22S1045 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 47:** D22S1045 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 48:** D22S1045 lokusu Karadeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 49:** D22S1045 lokusu Ege Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 50:** D22S1045 lokusu İç Anadolu Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 51:** D22S1045 lokusu Akdeniz Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 52:** D22S1045 lokusu Marmara Bölgesi Alel Sıklıkları
- Grafik 53:** D22S1045 lokusu Türkiye Alel Sıklıkları
- Grafik 54:**D22S1045 lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Adli Bilimlerde Dna Analizlerinin Temelleri Ve Biyoinformatik	3
2.2. VNTR (Değişken Sayıda Ardışık Tekrar) Sistemleri	5
2.3. STR Sistemleri ve Codis	5
2.4. Çoklu STR Sistemleri	7
2.5. Mini STR Sistemleri	8
2.6. Alellik Ladder	10
2.7. STR Piklerinin Yorumlanmasını Güçleştiren Faktörler	11
2.7.1. Tekrar Kayması	11
2.7.2. Hedef Dışı Çoğalma	12
2.7.3. Mikrovariant Aleller	13
2.7.4. Alellik Ladder Dışında Çoğalan Pikler ve Üçüncü Oluşumu	13
2.7.5. Alel Kaybı ve Boş (Null) Aleller	13
2.7.6. Düşük Miktarda ve Degrade (Bozulmuş) DNA	14
2.8. DNA Profili ve İstatistiksel Yaklaşımlar	15
2.8.1. Hardy Weinberg Eşitliği	15
2.8.2. Hardy Weinberg Eşitliği İle İlgili Bazı Kavramlar	16
2.8.2.1. Gen Oranın Değişmesi	16
2.8.2.2. Mutasyonlar	16
2.8.2.3. Seleksiyon	17
2.8.2.4. Gen Akımı	17
2.8.2.5. İzolasyon	17
2.8.2.6. Rastgele Olmayan Evlilikler	18
2.8.2.7. Genetik Drift	18
2.8.2.8. Founder Etkisi	19

2.8.2.9 Popülasyon Darboğazı	19
2.8.2.10 F İstatistiği ve Fiksasyon İndeksi	20
2.8.2.11 Wahlund Etkisi	21
2.9 Adli Bilimlerde İstatistiksel Parametreler	21
2.9.1 Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium, Ld)	21
2.9.2 Genetik Mesafe	22
2.10 Popülasyon Genetiği Veri Analizleri	22
2.10.1 Arlequin 3.11	25
2.10.2 DnaSP	26
2.10.3 FSTAT	26
2.10.4 GDA	26
2.10.5 Genepop 4.0.10	27
2.10.6 Genetix 4.05	27
2.10.7 MEGA	27
2.10.8 MSA	28
2.10.9 Cervus 3.0	28
2.10.10 Lamarc V2.1.3	28
2.10.11 Migrate	28
2.10.12 Structure	29
2.10.13 Batwing	29
2.10.14. MSVAR	29
2.10.15. Convert	29
2.10.16. FDIST2	30
2.10.17. PHYLIP	30
2.10.18 Colonise	30
2.10.19. IM	30
2.10.20 Powerstat V1.12	30

2.10.20.1.Giriş Çalışma Sayfası	31
2.10.20.2.Genotip Çalışma Sayfası	31
2.10.20.3.Hesaplama Çalışma Sayfası	32
2.10.20.4Grafik Çalışma Sayfası	33
2.10.20.5.Özet Çalışma Sayfası	34
3. MATERYAL VE METOD	35
3.1. DNA Örneklerinin Kaynağı	35
3.2. Kullanılan Kit ve Kimyasallar	35
3.3. Kullanılan Cihazlar	36
3.4. Metodun Uygulanması	37
3.5 Kan ve Kan Lekelerinden DNA İzolasyonu	37
3.5.1. QIAamp® DNA Mini Kit İle Kurumuş Kan Lekelerinden DNA İzolasyonu	37
3.6 DNA Miktar Tayini	38
3.6.1. The Quant-İT™ dsdna Hs Assay Kit İle DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	38
3.7 PCR Aşaması	39
3.7.1. PCR Primerlerin Sulandırılması	39
3.7.2. Primer Konsantrasyonları	40
3.7.3. Primer Karışımının Hazırlanması	40
3.7.4. PCR Programı	41
3.8. PCRÜrünlerinin ABI 310 Genetik Analizör Cihazında Analizi	41
3.8.1 Örnek Hazırlanması	41
3.8.2. Örneklerin Elektroforezi	42
3.8.3 Örneklerin Analizi	42
3.8.4 Örneklerin İstatistiksel Analizi	43

4. BULGULAR	45
4.1. NC01 ve NC02 Multiplekslerinde Kullanılan Primer Konsatrasyonları	45
4.2. Yeni Mini STR Lokuslarına Ait Alel Sıklıkları' nın ve İstatistiksel Verileri'nin Bölgesel ve Türkiye Sonuçları	47
4.2.1. D1S1677 Lokusuna Ait Bulgular	47
4.2.2. D2S441 Lokusuna Ait Bulgular	53
4.2.3. D4S2364 Lokusuna Ait Bulgular	59
4.2.4. D10S1248 Lokusuna Ait Bulgular	66
4.2.5. D14S1434 Lokusuna Ait Bulgular	73
4.2.6. D22S1045 Lokusuna Ait Bulgular	80
4.3. Türkiye Geneli NC01 (D10S1248, D14S1434, D22S1045) ve NC02 (D1S1677, D2S441, D4S2364) Minipleks Lokuslarının Alel Sıklıkları, İstatistik Verileri ve Hardy Weinberg Uyumlarının Karşılaştırılması	86
4.3.1. NC01 ve NC02 Minipleks Lokuslarının Alel Sıklıklarının Karşılaştırılması	86
4.3.2. NC01 ve NC02 Minipleksleri'nin Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları'nın ve P Değerleri Karşılaştırılması	87
4.3.3. NC01 ve NC02 Minipleks Lokuslarının Adli Yararlıklarına Ait İstatistik Bilgilerinin Karşılaştırılması	87
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	89
6. ÖZET	102
7. SUMMARY	103
8. KAYNAKLAR	104
9. EKLER	114
10. ÖZGEÇMİŞ	115

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adli bilimler alanındaki DNA analizleri; kimliklendirmede, babalık tayininde ve olay yerinde mağdur ile fail arasındaki ilişkilerin saptanması amacıyla yapılmaktadır (Chan L. 1992) (Robertson J. ve ark. 1990). DNA analizi temel olarak iki aşamadan oluşur. Birinci adım biyolojik örneklerden DNA profilinin belirlenmesi, ikinci adım ise DNA'dan elde edilen kanıtların yorumlanmasıdır. DNA molekülünden elde edilen kanıtların doğru olarak yorumlanabilmesi için, genetik işaretlerin ilgili toplumda hangi sıklıkla görüldüğünü bilmek gerekir.

STR lokusları son yirmi senedir adli bilimlerde kişi profillemesinde kullanılmaktadır. STR lokuslarının alel büyüklüklerinin 350 baz çiftinden küçük olması, analiz sürelerinin kısa oluşu, eski ve iyi korunmamış biyolojik örneklerde tiplene yapılabilmesi, pahalı donanım gerektirmemesi ayrıca otomasyon ve çoklu analize imkan vermesinden dolayı bu lokuslar tercih edilmektedir (Weber J.L., May P.E. 1989) (Edwards A. ve ark. 1992) (Filoğlu G. 1999). Ancak olay yerinden miktar ve kalite olarak daha az oranda elde edilmiş veya çevresel inhibitörlerden etkilenip aşırı derecede bozulmuş DNA örneklerinin analizinde standart STR analizleri genellikle yetersiz kalmaktadır. Bu durumda özel olarak dizayn edilen primerler sayesinde beklenmiş veya eser miktardaki DNA örneklerden daha iyi sonuç almayı sağlayan yeni Mini-STR lokusları kullanılabilir. Bu lokusların analizi genel olarak mevcut STR sistemlerine benzese de klasik STR primerleri, ilgili STR lokusunu içeren daha uzun dizileri hedef alırken, mini STR primerleri hedef DNA dizisine daha yakın noktalardan bağlanacak şekilde oluşturulmuş olup elde edilen PCR ürünleri daha küçüktür.

Özellikle 6 lokusun çeşitli populasyonlarda validasyonu, optimizasyonu yapıldı adli laboratuvarlarda kişi idantifikasyonları için kullanılan STR'lere eklenmiştir. Ancak bu lokusların Türkiye kriminal laboratuvarlarda kullanılabilmesi için Türkiye popülasyonundaki gen sıklıklarının belirlenmiş olması gerekir.

2005 yılında Coble M.D. ve arkadaşları DNA üzerinde daha az yer kaplayan, eser miktarda ve bozulmuş örneklerde dahi kolayca tiplene yapabilen yeni mini STR lokuslarını araştırmışlardır. Bu çalışmalar ışığında; CODIS içerisinde yer almayan, National Institute of Standards and Technology (NIST) tarafından 26 yeni mini STR lokusu geliştirilmiştir.

Seçilen 26 bölge, 13 CODIS lokusu ile aynı kromozom üzerinde ve bu lokuslara en az ~50 MB uzaklıkta ya da farklı kromozomlar üzerinde yerleşmiş bölgelerdir.

Bu lokusların PCR ürünleri 150 baz çiftinden küçüktür. Özellikle de D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 lokuslarının PCR ürünleri 125 baz çiftinden küçüktür. Bu adli laboratuvarlarda kişi tayini için kullanılan STR lokuslarına eklenmiştir (Coble M.D. ve ark. 2005) (Hill C.R. ve ark. 2006).

STR lokuslarının alel frekansları (sıklıkları) toplumdan topluma değişiklik göstermektedir (Urquhart,1994) (Martinez ve ark. 2003). Bu nedenle adli bilimlerde kullanılan genetik işaretlerin her popülasyon için gen sıklıklarının belirlenmesi ve bir veri tabanı oluşturulması gerekir. DNA analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde yapılan istatistiksel hesaplamalarda, hangi toplumun veri tabanlarının kullanılacağı önemlidir.

Bu Mini STR lokuslarının Türkiye'deki adli laboratuvarlarda çalışılabilmesi için, validasyon ve optimizasyonlarının yapıp aynı zamanda Türkiye genelinde bu lokusların görülme şekillerinin ve sıklıklarının belirlenmiş olması gerekir. Bu tez çalışmasının amacı, Ünsal T. ve ark. tarafından optimizasyonu ve validasyonu yapılmış (Ünsal T. ve ark. 2011) olan D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 mini STR lokuslarının Türkiye genelinde gen sıklıkları belirlenerek ülkemizdeki adli laboratuvarlarda kullanımını sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

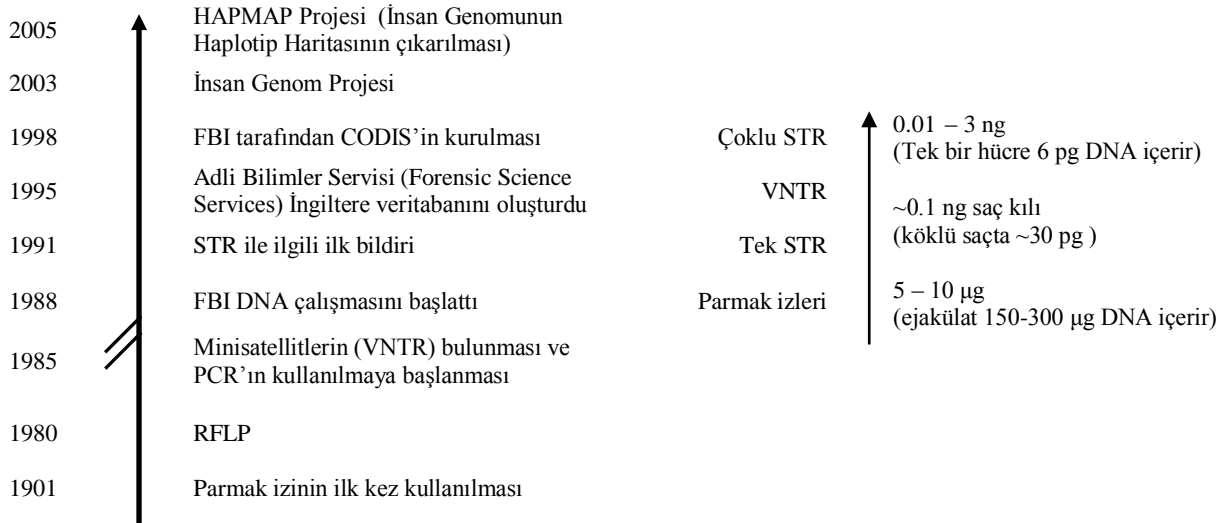
2.1. ADLİ BİLİMLERDE DNA ANALİZLERİNİN TEMELLERİ VE BİYOİNFORMATİK

Kimliklendirme ve babalık araştırmalarında 1900'lü yılların başından itibaren öncelikle kan grupları (eritrosit antijenleri) ardından eritrosit enzimleri, serum proteinleri, hemoglobin ve lökosit antijenlerinin (Human Leukocyte Antigens - HLA) varyasyonlarından yararlanılmıştır. Bunların inceleme yöntemleri, proteinlerin elektroforetik ayırımına ve antijenlerin immünolojik reaksiyonlarına dayanmaktadır. Genetik alanında 1980'li yıllarda gerçekteştirilen ilerlemeler, polimorfik özelliklerin direkt olarak DNA düzeyinde incelenmesine olanak tanımıştır. İnsan genomunda bulunan yaklaşık 3 milyar baz çifti, her biri farklı lokuslarda yer alan 50,000-100,000 geni kodlamaktadır. Genlerin çoğu ayrıca "alel" olarak adlandırılan birkaç farklı formda bulunabilmektedir. Bu şekilde polimorfizm gösteren bir gen için her birey, biri anneden diğeri babadan aktarılan iki farklı alel taşıyabilirken, bir popülasyon aynı gen için çok sayıda alele sahip olabilmektedir. Bu durum adli amaçlı DNA analizlerinin temelini oluşturmuştur (Robertson J. ve ark. 1990). Adli bilimlerde, tek baz değişiklikleri ve farklı sayıda art arda tekrar eden diziler (variable number of tandem repeats VNTR's) olmak üzere iki çeşit DNA polimorfizmi çalışılmıştır (Robertson J. ve ark. 1990) (Bringmann B. 1992) (Jeffreys A.J. ve ark. 1985).

Günümüze kadar adli amaçlarla rutinde kullanılan DNA teknolojisinin gelişimini temel olarak dört kısımda incelemek mümkündür (Lee H.C. ve ark. 1994) (Şekil 1) :

- Çoklu-lokus (multi-locus) problemlerinin kullanıldığı DNA parmak izi yöntemi (DNA fingerprinting),
- Tekli-lokus (single-locus) problemlerinin kullanıldığı DNA profillemesi (DNA profiling) ,
- Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizminin (Amplified Fragment Length Polymorphism - AMPFLP) analizi,
- Kısa ardışık tekrar eden dizilerinin (Short Tandem Repeats - STR) analizi.

Çoklu-lokus probalar kullanılarak, genomdaki çeşitli minisatellit lokuslarının (Jeffreys A.J. ve ark. 1985) aynı anda incelendiği DNA parmak izi yönteminin adli bilimlerdeki ilk uygulamaları 1986'da başlamıştır (Gill P., Werrett D.J. 1987). Bu yöntem ile bireye özgü DNA profili elde edilmektedir. Popülasyondan rast gele seçilen iki kişinin (tek yumurta ikizleri hariç) aynı DNA profiline sahip olma olasılığının teorik olarak 1/30 milyar olduğu bildirilmiştir (Lee H.C. ve ark. 1994). Ancak yöntemin karmaşık, uzun zaman gerektirmesi ve 30'dan fazla DNA bantının değerlendirilmesindeki güçlükler nedeniyle çoklu-lokus içeren problemleri rutinde kısa bir süre için kullanılmış ve yerini tek-lokuslu problemlerinin kullanıldığı DNA profillemeye bırakmıştır. Bir tek minisatellit lokusunun incelendiği bu yöntemde, sonuçta sadece iki DNA bantı oluştuğu için değerlendirme çok daha kolay yapılabilmektedir. Çalışılan lokus sayısı artırılarak biyolojik örneğin kişiye ait olma olasılığı da yükselmektedir. Yöntemin dezavantajı ise, iyi kalitede (parçalanmamış) ve fazla miktarda (300-500 ng) DNA'ya ihtiyaç duymasındadır. Ancak adli örnekler her zaman analiz için yeterli miktarda ve kalitede DNA içermeyebilirler (Robertson J. ve ark. 1990) (Lee H.C. ve ark. 1994) (Jeffreys A.J. ve ark. 1985). Saiki ve ark. tarafından 1985 yılında nükleik asit dizilerini çoğaltabilen polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) tanımlanmasıyla, çok küçük miktarlardaki materyallerden dahi DNA analizi mümkün hale gelmiştir. PCR'ye dayalı yöntemlerin (AMPFLP) 1990'larda kullanılmaya başlanmasıyla, daha önce çalışılmayan tek bir kıl, sperm ve epitel hücresi içeren örnekler analiz edilebilmiştir (Robertson J. ve ark. 1990) (Sensabaugh G.F. 1994).



Şekil 1: Adli DNA tiplemesinde majör olayların zaman skalaları (solda) ve farklı tekniklerin çözünürlük güçleri (sağda). (<http://bib.oxfordjournals.org/content/8/2/117.abstract>)

Olay yerinde bulunan eski ve bozulmuş biyolojik örneklerin DNA tiplemesine imkân veren ve çeşitli ülkelerde popülasyon çalışmaları, validasyonu ve optimizasyonu yapılarak adli laboratuvarların rutin kullanımına sunulmuş olan mini-STR lokusları kullanılmaktadır. DNA'da kimliklendirme için, ister ifade edilen DNA bölgeleri (genler), ister kodlama yapmayan DNA bölgeleri olsun, bireyler arasında çeşitliliğe neden olan bütün genetik belirteçler kullanılabilir. Genetik varyasyonların en önemli kaynağı; kopya sayısı varyantları (CNV) ve SNP- tek nükleotid polimorfizmleridir (Redon R. ve ark. 2006).

2.2. VNTR (DEĞİŞKEN SAYIDA ARDIŞIK TEKRAR) SİSTEMLERİ

Adli DNA analizinde, genellikle kısa tekrarlı lokuslar kullanılmaktadır. Bu tür lokuslar üç, dört veya beş nükleotid uzunluğundaki tekrar birimlerinden oluşur ve aynı tekrar birimleri bireyler arasında farklı sayıda tekrar eder. Birkaç yıl öncesine kadar değişken sayıda ardışık tekrar eden (Variable Number Tandem Repeat- VNTR) polimorfizm kullanılmıştır. Bu lokuslar, çok sayıda farklı uzunlukta alele sahip olduklarından bireyleri birbirinden ayırt etme güçleri yüksektir. VNTR, genomda 9-80 baz çiftinin 70 - 450 kez arasında tekrar etmesiyle oluşmuş DNA dizileridir (Bianchi L ve ark. 2007) VNTR lokuslarının uzunluğu 1190 ile 7650 bp arasında değişir. VNTR lokusları geçmişte adli örneklerin analizinde yaygın olarak kullanılmış olup, PCR tekniğinden önce RFLP ile analiz ediliyordu. STR lokuslarının keşfinden sonra VNTR sistemlerinin yerini STR lokusları almıştır (Robertson J. ve ark. 1990) (Bringmann B. 1992) (Jeffreys A.J. ve ark. 1985).

2.3. STR SİSTEMLERİ VE CODIS

PCR tekniği, tek bir hücreden bile DNA analizi yapmaya olanak verir. Böylece sigara izmaritlerinden, iskelet kalıntılarında, idrardan, namlu ağız ve mermilerdeki kalıntılardan, iple boğulmada kullanılan ipten, sakızdan, toplu ölümlerde ele geçen vücut parçaları gibi çok çeşitli materyallerden STR'ler ile DNA tiplemesi yapılabilir.

STR lokuslarında, tekrarlanan ünite sayısının ve baz çiftinin uzunluğundan kaynaklanan değişimlerin yanı sıra bazen aynı tekrar ünitelerinde nokta mutasyonları veya insersiyon/delesyonlardan kaynaklanan baz dizisine ait farklılıklar da görülmektedir.

Bu açıdan STR'ler basit, bileşik ve karmaşık STR'ler şeklinde üç gruba ayrılabilir (Urquhart A. ve ark. 1994) (Möller A. ve ark. 1994) (Bar W. ve ark. 1994). **Basit STR'ler;** Tekrar eden baz dizisinin sayısı ve sırası aynı olan STR lokuslarıdır. Ör: CD4 (yüzey antijen geni), FES/FPS (c-fes/fpsproto-onkogen), THO1 (tirozin hidroksilaz), F13A01 (Pıhtılaşma faktörü XIIIa alt ünitesi) F13B (Pıhtılaşma faktörü XIIIb alt ünitesi) **Bileşik STR'ler;** İki ya da daha fazla sayıda tekrar ünitelerine sahip olup baz dizileri sırası birbirinden farklı olan STR lokuslarıdır. Ör: vWFA31 (von Willebrand faktör) **Karmaşık STR'ler;** Tekrar eden baz dizisi ve sayısı farklı olan birkaç tekrar ünitesine sahip lokuslardır. Ör: D21S11.

ABD'de 1997 yılında CODIS (Birleşik DNA İndeks Sistemi- Combined DNA Index System) adıyla bir DNA veri bankası kurulmuştur. Değişik laboratuvarlarda aynı sayıda ve aynı gen bölgeleri (lokus) çalışılarak, bu veri bankaları oluşturulmuştur. CODIS sistemi içinde FBI tarafından belirlenen 13 STR lokusu yer almaktadır (Tablo1). STR lokuslarının alel büyüklüklerinin 350 bp'den küçük olması, eski ve iyi korunmamış biyolojik örneklerde çalışılabilmesi, otomasyon ve çoklu analize imkan vermesinden dolayı adli bilimler için ideal genetik işaretler haline gelmiştir. Bu lokuslar; D3S1358, VWA, FGA, D8S11179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, THO1 ve CSF1PO'dır. ABD'de 50 eyaletten elde edilen DNA profilleri ulusal veri bankasında toplanmaktadır. Bu sistemde barkodlanmış örneklerin DNA profilleri bilgisayar ortamında karşılaştırılır ve değerlendirilir. Bu veri tabanı tecavüz, cinayet veya çocuk istismarı gibi suçlardan hüküm giymiş suçluların verileri ve olay yerinde bulunan, kime ait olduğu bilinmeyen örneklerin verilerinden oluşmaktadır (Budowle B., Moretti T.R. 1999). CODIS sistemi sayesinde elektronik olarak eyalet, yerel ve federal polis laboratuvarları arasındaki entegrasyon sonucunda, suçluların olay yerinde bıraktıkları delillerin DNA profilleri karşılaştırılarak hem failer tespit edilir hem de seri suçlar arasında bağlantı kurulmuş olur.

ABD ve Kanada'da kullanılan Birleşik DNA İndeks Sistemi (Combined DNA Index System-CODIS) 13 STR'lik bir sistemden oluşurken, birçok Avrupa ülkesinde kendi sistemleri ve veri tabanları bulunmaktadır (Bianchi L. ve ark. 2007). CODIS sistemi ABD ve Kanada'ya ait suçlu örnekleri ve adli örnekler veritabanını bulundursa da, kimi zaman ABD dışındaki kitlesel felaketlerde olasılık eşleştirmesi için bu veriler kullanılmaktadır (Bianchi L ve ark 2007).

Tablo 1’de yer alan lokuslar halen kullanılmakla birlikte, olay yerinden gelen iyi korunmamış- bozulmuş biyolojik örneklerde tiplleme sorunları yaşanabilmektedir. Bu sorunları ortadan kaldırmaya yönelik yeni mini STR lokusları geliştirilmiştir.

Tablo 1: İnsan kromozomları üzerinde CODIS STR dağılımı ve gen bankası numarası

Birleşik DNA İndeksi Sistemi (CODIS)

D3S1358 3p21 (11449919)
vWA 12p12- (M25858)
FGA 4q28; insan alfa fibrinojen geninin (M64982) 3. intronu
D8S1179 8q24.1-24.2; (GO8710)
D21S11 21q21.1 (M84567)
D18S5118q21.3 (X91254)
D5S818 5q21-q31 (G08446)
D13S317 13q22-q31 (G09017)
D7S820 7q (G08616)
D16S539 16q22-24 (G07925)
THO111p15-15.5; Tirozin Hidroksilaz geninin (D00269) 1. intronu
TPOX 2p23-2pter; tiroid peroksidaz geninin (M68651) 10. intronu
CSF1PO 5q33.3-34; CSF-1 reseptör genin (X14720) 6. intronunda bulunan c-fms proto-onkogen
AMEL X Xp22.3-p22 (M86932)
AMEL Y Yp11 (M86933)

2.4. ÇOKLU STR SİSTEMLERİ

Çoklu PCR reaksiyonunda tek tüpte birçok primer kullanılarak aynı reaksiyonda genom içerisinde birçok hedef bölge çoğaltılır. Çoklu STR teknolojisi zaman ve maliyetten tasarruf sağlar, çok az DNA örneğinden aynı anda birkaç STR lokusunun amplifikasyonu yapılabilir ve elektroforezde tek yükleme ile birçok lokus aynı anda incelenebilir. Her bir lokusun tek başına ayırt etme gücü sınırlı iken üç ya da dört lokusun birleştirilmesi sonucunda ayırt etme gücü yüksek, tek bir sistem oluşturulur. Ancak lokusları eşzamanlı çoğaltırken bazı problemler çıkabilir. Primer dizileri hatalı olursa bir lokusun primeri, başka bir lokusa ait

primerin yerine bağlanabilir ve çoğalma tamamen engellenebilir. Bu etki, bir STR lokusunun sistemden düşmesi (alellik droup-out) ile kendini gösterebilir.

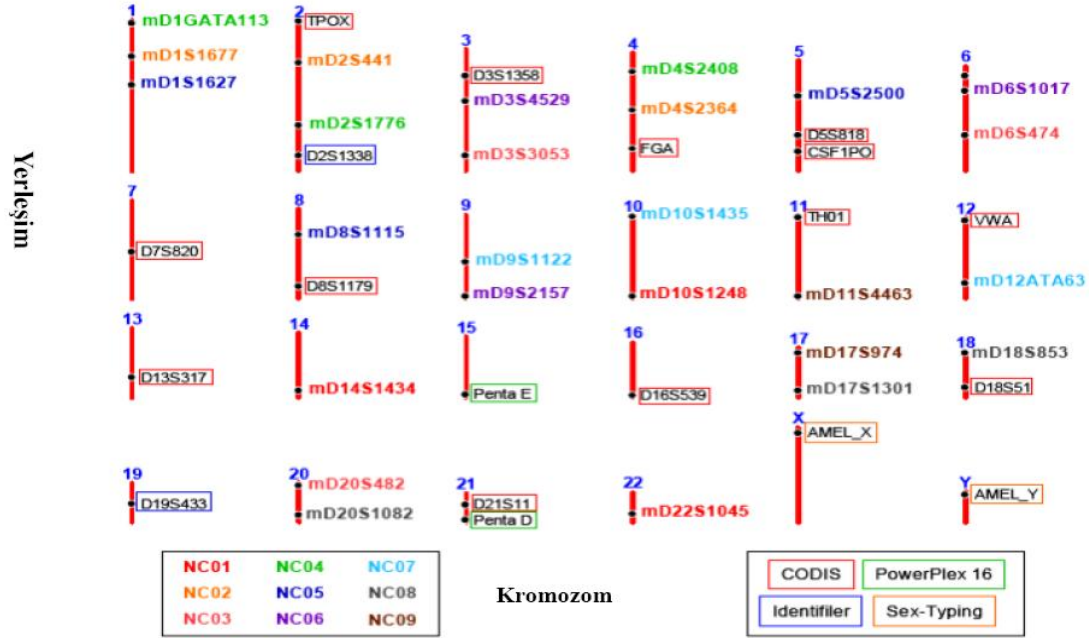
Bunun için çoklu PCR reaksiyonlarında PCR koşulları çok iyi optimize edilmelidir. Şiddetli bozulmaya uğramış DNA örnekleri çok kısa DNA parçacıkları (150 bp altında) içerir. Hasarlı DNA (çok eski kemikler, saç kılları v.b) örneklerinde yok denecek kadar az sayıda hücre bulunur. Bu tür örneklerde klasik STR (150-400 bp) analizinin başarısı düşüktür. PCR'de tek bir alel veya daha hasarlı vakalarda bütün aleller çoğalamayabilir.

2.5. MİNİ STR SİSTEMLERİ

Olay yerinden miktar ve kalite olarak daha az oranda elde edilmiş veya çevresel inhibitörlerden etkilenip aşırı derecede bozulmuş DNA örneklerinin analizinde standart STR analizleri genellikle yetersiz kalmaktadır. Bu tip örneklerin analizinde standart STR lokuslarının kullanılması sonucunda büyük boyuttaki STR lokuslarının PCR'da çoğalmamasına sebep olur. Dolayısıyla DNA profili tam olarak elde edilemez. Profil için gerekli sayıda STR lokusu elde edilemediğinden yeterli ayırtılma gücüne ulaşamayacak ve dahil etme- dışlamada sorunlar yaşanacaktır (<http://www.forensicdnacenter.com/dna-ministr.html>).

Bu sorunların çözümü için yenilikçi bir yaklaşım olan ve CODIS içerisinde yer almayan, National Institute of Standards and Technology (NIST) tarafından geliştirilmiş 26 yeni miniSTR lokusu kullanılabilir. Seçilen 26 bölge, 13 CODIS lokusu ile aynı kromozom üzerinde ve en az ~50 Mb uzaklıkta ya da farklı kromozomlar üzerinde bulunan bölgelerdir (Şekil 2). Bu yeni mini STR'ler ile özel olarak dizayn edilen primerler sayesinde beklemiş veya eser miktardaki DNA örneklerinden daha iyi sonuçlar almak mümkündür. Mini-STR analizleri genel anlamda mevcut STR lokuslarının analiz yöntemlerine benzese de klasik STR primerleri, daha uzun dizileri hedef alırken mini STR primerleri tekrar dizisine daha yakın noktalardan bağlanacak şekilde oluşturulmuş olup, elde edilen PCR ürünleri daha küçüktür (Şekil 3). Yeni oluşturulan bu primerler sayesinde büyük boyuttaki CODIS lokuslarının amplifikasyon başarısı artmış olur. PCR ürünleri genellikle 150 bp'den küçüktür (Hill C.R. ve ark. 2006). Hem yeni mini STR'ler hem de yeni oluşturulan mini

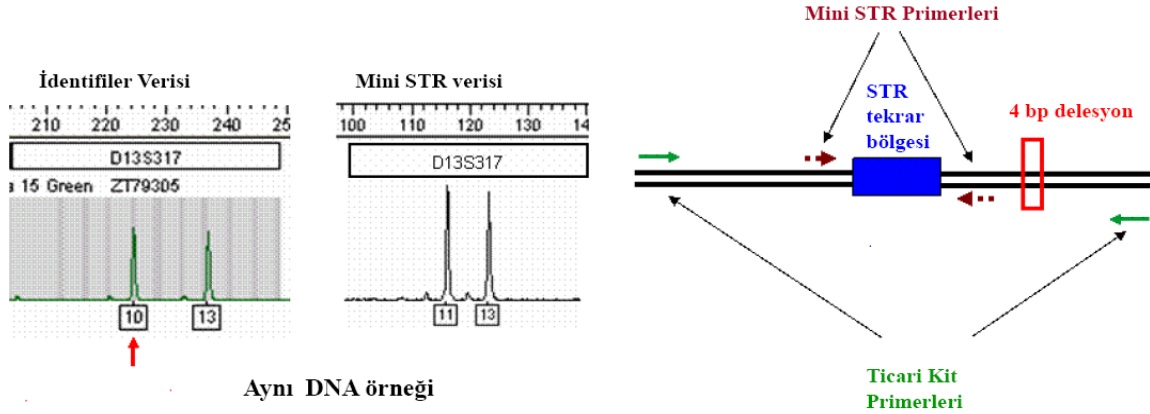
primerlere sahip klasik STR'ler ile olay yerinden gelmiş ileri derecede bozulmuş biyolojik örneklerin (100 pg DNA) tiplendirilmesi mümkün hale gelmiştir.



Şekil 2: Mini STR lokuslarının kromozomlar üzerindeki yerleşimi

(<http://www.academicjournals.org/ajb/PDF/pdf2011/30DecSpecial%20Review/Abrahams%20and%20Benjeddou.pdf>)

26 yeni mini STR D1GATA113E02, D1S1627, D1S1677, D2S441, D2S1776, D3S3053, D3S4529, D4S2364, D4S2408, D5S2500, D6S474, D6S1017, D8S1115, D9S1122, D9S2157, D10S1248, D10S1435, D11S4463, D12ATA63A05, D14S1434, D17S974, D17S1301, D18S853, D20S482, D20S1082 ve D22S1045 lokuslarından oluşmaktadır (Şekil 3) (Hill C.R. ve ark. 2006). Özellikle 6 lokusun (NC01 ve NC02) çeşitli popülasyonlarda validasyonu ve optimizasyonu yapılmıştır. Bu 6 lokusun (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) PCR ürünleri 125 bp'den küçüktür. Bu lokuslardan D10S1248, D2S441 ve D22S1045 Avrupa'daki adli laboratuvarlarda kişi identifikasyonunda kullanılan STR'lere eklenmiştir (Coble M.D. ve ark. 2005) (Hill C.R. ve ark. 2006).

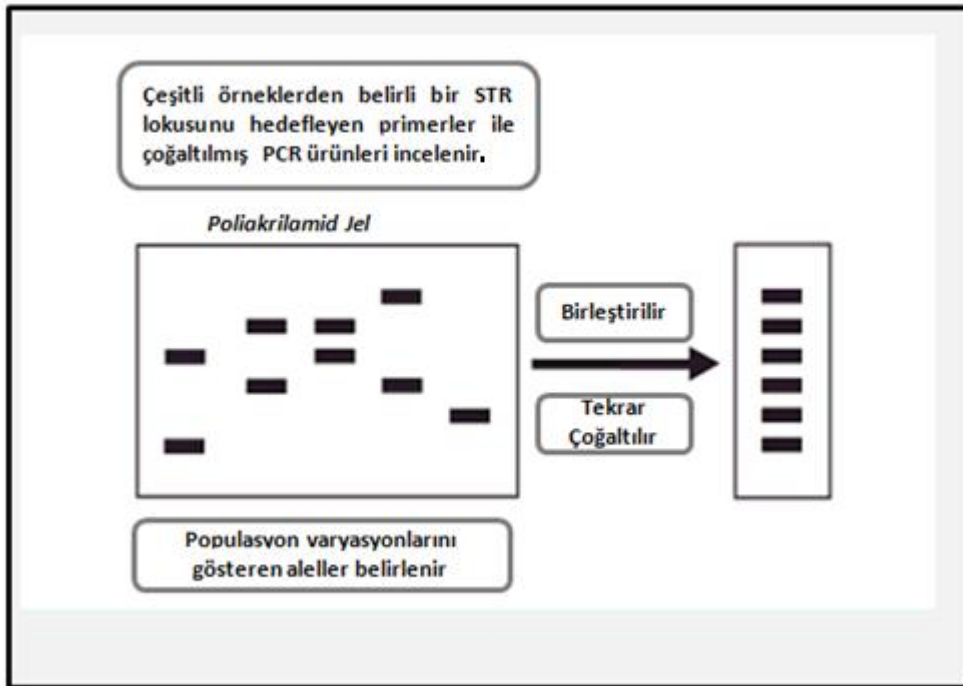


“11 tekrar- 4 bp”

Şekil 3: MiniSTR primerlerinin bağlanma şekilleri
(<http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR.htm>)

2.6.ALELLİK LADDER (ALELLİK CETVEL)

Alellik Ladder, belirli bir STR lokusu için bir popülasyonda mevcut olan tüm alelleri içeren yapay olarak oluşturulmuş bir DNA karışımıdır (Sajantila A. ve ark., 1992). Bir STR lokusuna ait tüm aleller birlikte çoğaltılır (Şekil 4). Alel miktarları, alellik cetvelde tüm alelleri eşit şekilde temsil edecek biçimde dengelenmektedir (Sajantila A.ve ark. 1992), (Baechtel F.S ve ark. 1993).



Şekil 4: STR alel cetvelinin oluşturulma temeli (Butler J.M. 2005).

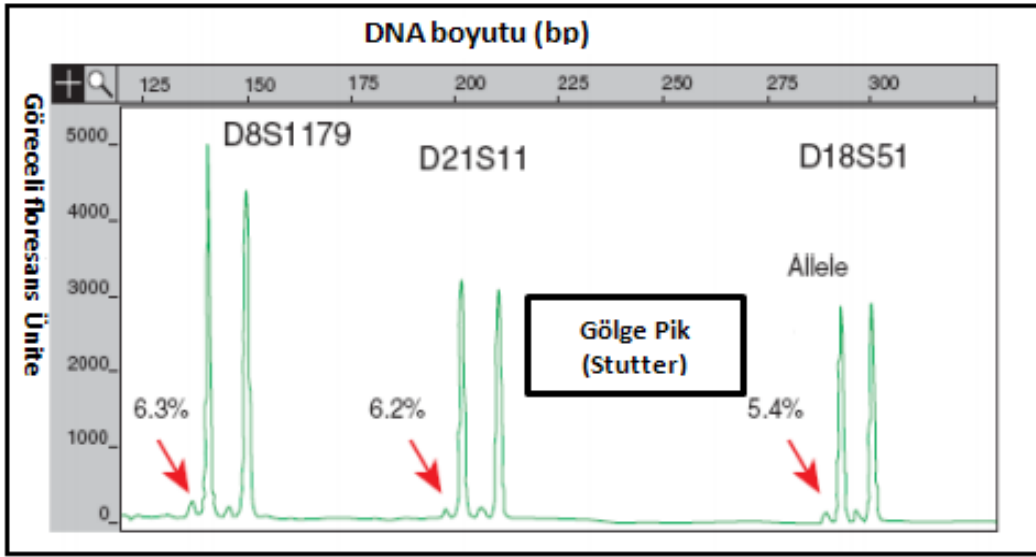
Ladder, analizi yapılan örneklerle aynı primerlerden oluşturulduğu için cetvelde yer alan her alel için bir referans DNA boyutu sağlar ve her STR lokusu için cetvel gibi bir standart işlevi görür. Bunlar, çeşitli laboratuvarlar tarafından farklı cihazlarla ve farklı koşullarda yapılmış analizlerin standardı açısından gereklidir (Smith R.N ve ark. 1995).

2.7 STR PİKLERİNİN YORUMLANMASINI GÜÇLEŞTİREN FAKTÖRLER

Elektroforez sonucu elde edilen STR lokus alellerinin hatasız yorumlanması gerekir ki doğru genotipleme yapılabilin. Ancak alel piklerinin doğru bir şekilde değerlendirilmesini engelleyebilecek bir dizi artefakt (hata) ortaya çıkabilir.

2.7.1 Tekrar kayması

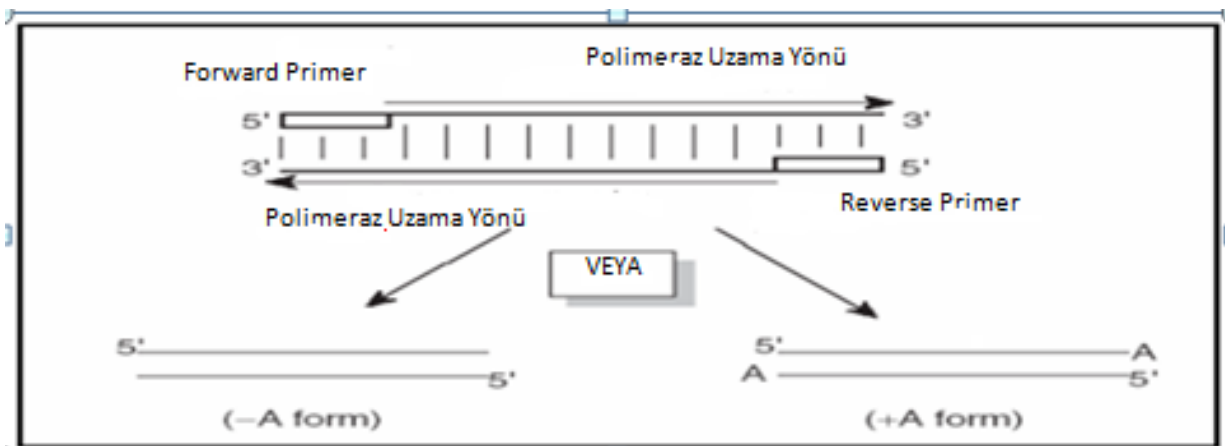
Gölge (stutter) pikler olarak da adlandırılan tekrar kayması (Şekil 5) DNA amplifikasyonu sırasında bir tekrar biriminin kaybolmasından, somatik varyasyondan ya da bunların her ikisinden kaynaklanabilir (Levinson G. ve ark.1987) (Schlotterer C. ve ark. 1992). Bu istenmeyen piklerin miktarı esas olarak amplifiye edilen DNA dizisine ve lokusuna bağlıdır. Gölge piklerin boyları genellikle PCR ürünlerinin boylarıyla benzer olduğundan küçük bir pikin gerçek bir alel mi yoksa bitişik bir alelin gölge piki mi olduğunu anlamak güç olabilmektedir (Butler J.M., 2005). Penta D ve Penta E gibi daha uzun tekrar birimlerine sahip STR lokusları, daha hızlı etki gücüne sahip DNA polimeraz enzimi kullanıldığında tekrar kayması oluşumu azaltılabilir (Bacher J.W. ve ark. 1999). Standart tetranükleotid tekrar lokuslarında (13 CODIS STR lokusu) gölge pik yüzdesi, standart amplifikasyon koşullarında %15'ten düşüktür (Butler J.M. 2005).



Şekil 5: STR analizi sırasında görülen tekrar kaymasına bir örnek (Butler J.M. 2005)

2.7.2 Hedef dışı çoğalma

Hedef dışı çoğalma (Smith ve ark. 1995) Taq DNA polimeraz enziminin hedef bölgeden bağımsız bir şekilde DNA zincirinin 3' ucuna bir nükleotid (çoğunlukla adenin) eklenmesiyle meydana gelir. Bu durum genellikle primer dizilerinden kaynaklanmaktadır. Zincir sonundaki nükleotidin tamamlanması için 30–45 dakika 60°C ya da 72°C'de son uzatma basamağının ilave edilmesi ile hedef dışı çoğalma azaltılabilir (Şekil 6).



Şekil 6: Hedef dışı nükleotid eklenmesi (Butler J.M. 2005)

2.7.3. Mikrovaryant aleller

Mikrovaryant (değişik tekrar uzunlukları) alellerin tanımlanması ve yorumlanması güçtür. Mikrovaryant alellerin görülme sıklığı yüksek polimorfizm derecesine ve mutasyon oranına bağlıdır (Moller ve ark. 1994) (Brinkmann ve ark. 1995). FGA ve D21S11 lokuslarında çok sayıda mikrovaryant aleller bulunmaktadır.

2.7.4. Alellik Ladder (cetvel) Dışında Çoğalan Pikler ve Üçüncü Oluşumu

Bazen yeni aleller, lokusun alellik cetvelin kapsadığı alel aralığının dışında kalabilir ve pikin hangi lokusa ait olduğunu anlamak güç olabilir. Bu piklerin bir multipleks sette iki STR lokusu arasında kalması durumunda, ya her bir lokusa özgü primer setleri ile ya da farklı bir sıraya sahip olduğu bilinen ayrı bir multipleks kullanılarak tekrar amplifiye edilebilir (Butler J.M., 2005).

Bir multipleks STR profilinde bazen tek bir lokusta (tri-alelik) üç pik gözlemlenmektedir. Bu ekstra pikler karışım sonucu değil, örneğe ait artefaktlardır. Kromozom dışı durumların ya da primer nokta mutasyonlarının üç pike neden olduğu bilinmektedir. Belirli bir lokusta görülen bu üçlü pikler ya da bantlar yoğunluk olarak aynı ya da farklı olabilir (Crouse ve ark. 1999).

13 CODIS STR lokusunda 50'den fazla farklı tri-alelik pik bildirilmiş olup bunların çoğu TPOX ve FGA'da görülmektedir. STRBase web sitesinde tri-alelik piklere ilişkin sıklıkla güncellenen bir liste bulunmaktadır (http://www.cstl.nist.gov/strbase/var_tab.htm).

2.7.5 Alel Kaybı ve Boş (Null) Aleller

STR lokusları çoğaltılırken alel kaybı meydana gelebilir. Dizi polimorfizimleri, STR tekrar bölgelerinin içinde ya da etrafında meydana geldiği bilinmektedir. Bu varyasyonlar, tekrar bölgesinin içinde, uç bölgesinde ya da primer bağlanma bölgesinde olmak üzere üç konumda meydana gelebilir. Primer bağlanma bölgesinde bir baz çiftinin değişmesi sonucunda, primer hibridizasyonunda bozulma meydana gelebilir. Bu durum amplifikasyon

başarısızlığına ve dolayısıyla kalıp DNA'da mevcut olan bir alelin çoğalmamasına (null allele) yol açabilir. STR tekrar bölgelerinin etrafındaki diziler oldukça karardır ve örnekler arasında tutarlılık gösterir. Bu sebeple null alel oluşumu nadir olarak görülür. Alel kaybı bir primerin 3' ucunda ya da bu uca yakın yerdeki mutasyonlar nedeniyle meydana gelebilir. Dolayısıyla PCR sırasında çok az zincir uzaması olur ya da hiç olmaz (Walsh 1998) .

Alel kaybindan kaynaklanan potansiyel null aleller, STR verilerinin istatistiksel analiziyle öngörülebilir. Gözlemlenen homozigot sayısı Hardy-Weinberg eşitliğinde beklenen homozigot sayısı ile karşılaştırılabilir (Butler J.M. 2005). Anormal şekilde yüksek homozigot seviyesi, olası bir null alel varlığını işaret edecektir. Dolayısıyla, bir adli DNA laboratuvarında yeni STR lokusu test edildiğinde her popülasyon verisi dikkatli bir şekilde incelenmelidir.

Bir STR lokusunda bir null alel tespit edildiğinde, bunun için bir dizi olası çözüm mevcuttur. İlk çözüm, sorunlu PCR primerini yeniden tasarlamaktır (Butler J.M. 2005). Ancak yeni primer için, yeniden PCR optimizasyonu gerekebilir. Ayrıca bu yeni primer, multipleks primer setindeki diğer bir primerin çalışmasını engelleyebilir. İkinci çözüm, null alel içeren STR lokusunun multipleks setten çıkarılmasıdır. Üçüncü çözüm ise, bilinen bir dizi polimorfizmini içeren bir primerin eklenmesidir. Bu primer problemler primer bağlanma bölgesini içeren alelleri amplifiye edecektir. Bu yaklaşım daha önce D16S539 mutasyonu için AmpF/STR® kitinde kullanılmıştır (Holt ve ark. 2002).

2.7.6 Düşük Miktarda ve Degrade (bozulmuş) DNA

Adli örneklerde, düşük DNA miktarlarıyla çalışıldığından, PCR amplifikasyonunun ilk döngülerinde stokastik etkilerle karşılaşılır. PCR için yeterli miktarda primer olmasına rağmen, sınırlı sayıda hedef DNA molekülü bulunduğundan etkin bir amplifikasyon meydana gelmez. Düşük kopya sayısına sahip örneklerden standart STR yöntemleriyle genetik profillerin elde edilmesi güçtür ve bu gibi durumlar genellikle kısmi profillerin elde edilmesiyle sonuçlanır. Çünkü; ticari STR kitleri ile 1 ng DNA ve 28-30 PCR döngüsü ile iyi kalitede, dengeli profiller elde etmek üzere optimize edilmişlerdir. Bunun sonucu olarak, eser miktardaki örnekten profil elde etmek için, PCR döngü sayısının artırılmasına yönelik özel yöntemler geliştirilmiştir (Kloosterman A. D. ve ark. 2003). Mini STR lokuslarının CODIS lokuslarına göre daha küçük olması, dolayısıyla PCR ürünlerinin de küçük olması

ve olay yerinden gelmiş, ileri derecede bozulmuş biyolojik örneklerin (100 pg DNA) tiplendirilmesine imkân vermesinden dolayı kriminal araştırmalarda alternatif lokuslar olarak kullanılmaya başlanmıştır (Butler J.M., 2005).

2.8 DNA PROFİLİ VE İSTATİSTİKSEL YAKLAŞIMLAR

Olay yerinden elde edilen DNA profili şüphelinin profili ile uyumlu değilse kişi dışlanmış olur. Ancak, şüphelinin profili ile uyumlu ise, söz konusu profilin popülasyonda hangi sıklıkta bulunduğunu bilmek gerekir. Bir başka deyişle aynı popülasyonda aynı DNA profiline sahip bir başka bireyin bulunma olasılığını bilmek gerekir (Foreman L. A. ve ark. 2000). Bu bilgiye DNA profilinin ilgili popülasyonundaki genetik veri tabanı ile kıyaslanmasıyla ulaşılabilir. DNA profilini oluşturan genetik işaretlerin görülme sıklığı ne kadar yüksekse dışlama gücü o oranda düşüktür. Aynı şekilde bir genetik işaretin görülme sıklığı azaldıkça dışlama gücü de yükselir. DNA kanıtlarını kullanarak adli olaylarla ilgili soruları yanıtlamak için farklı istatistiksel yaklaşımlar uygulanabilir (Bianchi L ve ark. 2007) .

2.8.1. HARDY WEINBERG EŞİTLİĞİ

G.H. Hardy (İngiliz matematikçi) ve W. Weinberg (Alman fizikçi) 1908’de birbirlerinden bağımsız olarak popülasyon genetiğinin matematiksel temelini keşfetmişlerdir. Geliştirdikleri formül, bir popülasyondaki alel sıklıklarını kullanarak beklenen genotip sıklıklarını öngörmektedir. Hardy ve Weinberg, “zaman içerisinde bir popülasyondaki alellerin sıklığının değişip değişmediği, bu alellerin zaman içerisinde yok olup olmadığı gibi sorularla ilgilenmişlerdir. Popülasyonun çok büyük olması ve evlenmelerin rastgele gerçekleşmesi halinde, diğer bazı faktörlerin müdahalesi olmadıkça zaman içerisinde alel sıklıklarının değişmeden kaldığını şu yolla göstermişlerdir. İki alele sahip bir lokusun, alel A ve a sıklıkları p ve q ise $(p + q) = 1$ ’dir. Bu $(p + q)^2 = 1$ olduğu anlamına da gelmektedir. Aynı zamanda $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$ dir. Bu formülde p^2 ve q^2 homozigot genotipi (AA), (aa) ve $2pq$ heterozigot genotipi (Aa)’yı temsil eder. “AA, Aa, aa” iki alelli lokus için üç olası genotip olduğundan bunların sıklıklarının toplamı da 1 olmalıdır (Crow JF 1999).

HWE varsayımları

1. Popülasyon yeteri kadar büyük ve sonsuzdur.
2. Evlenmeler popülasyon içerisinde rastgeledir.
3. Erkeklerin ve dişilerin alel sıklıkları benzerdir ve lokus otozomaldir.
4. Popülasyondaki alel sıklıklarını etkileyen hiçbir mutasyon ve göç yoktur.
5. Bir lokustaki alellerin görülme şansı eşittir yani seleksiyon yoktur.

Hardy-Weinberg yasası, yukarıdaki varsayımların geçerli olması halinde, bir popülasyonda birbirini izleyen jenerasyonlarda alel ve genotip sıklıklarının değişmeyeceğini ileri sürer. Alel sıklıkları dölden dölle sabit kalır değişmez. Denge, ancak bir veya daha fazla varsayımın ihlal edilmesi ile alel sıklıklarında sapmalar görülebilir.

HW dengesinin ihlali çoğunlukla yanlış örnekleme ve genotipleme hatalarından kaynaklanmaktadır (Gomes, 1999; Hosking, 2004). Bir diğer hata ise genotiplemede göz ardı edilen ve bilinmeyen bir alelin varlığında ortaya çıkar. Bu durum daha çok çoklu alelik lokuslarda ortaya çıkar (Dorak M.T. ve ark. 2004).

2.8.2. HARDY WEINBERG EŞİTLİĞİ İLE İLGİLİ BAZI KAVRAMLAR

2.8.2.1. Gen oranının değişmesi

Bir popülasyondaki genlerin sıklığını etkileyen faktörler yoksa popülasyon dengededir. Bu durumda gen frekansları ve birey oranları sabittir. Popülasyondaki denge uzun süremez. Mutasyon, seleksiyon, gen akımı, izolasyon, rastgele olmayan eşleşmeler, genetik kayma, founder etkisi ve popülasyon dar boğazı gen frekanslarını etkileyen faktörlerden bazılarıdır (Dorak M.T. ve ark. 2004).

2.8.2.2. Mutasyonlar

Bir popülasyonda her kuşakta az miktarda da olsa mutasyonlar meydana gelebilir. Bir genin aleli mutasyona uğradığı zaman, bu mutasyon yararlı ise popülasyonda devam eder. Dolayısıyla gen havuzundaki sıklığı da değişmiş olur. Ancak bir süre sonra gen havuzu tekrar dengeli hale gelir. Eğer zararlı bir mutasyon meydana gelmişse, kişilerin

ölümüne neden olacağı için bu gen kaybolacaktır. Bu durumda da gen frekansı yine değişecektir (Dorak M.T. ve ark. 2004).

2.8.2.3. Seleksiyon (seçim)

Seleksiyon çevreye uygun varyasyonlara sahip bireylerin seçilip, diğerlerinin elenmesidir. Mutasyonlar, toplumun gen havuzuna yeni genleri dolayısıyla yeni fenotipleri sokma eğilimindedir. Mutasyonla ortaya çıkan nitelikler kişi için zararlı, yararlı ya da ne zararlı ne de yararlı olabilir. Etkileri ne olursa olsun gen havuzuna yeni giren mutasyonlar bir süzgeçten geçirilir. Bunların bir kısmı bir sonraki kuşağa geçmeden elimine edilirler. Bir kısmı ise bir sonraki kuşakta etkilerini gösterebilir. Bu nedenle bazı genlerin frekansı artar bazısının azalır. Örneğin hemofili hastalarının, toplumda yaşama ve çocuk sahibi olma ihtimalleri azdır. O halde hemofili geni popülasyonda seleksiyona uğramaktadır. Ancak hemofili alellerinin frekansı hiç bir zaman sıfır olmaz. Çünkü mutasyonun etkisiyle normal aleller hemofili aleline dönüşebilmektedir (Allendorf F.W. 2008).

2.8.2.4. Gen akımı

Bir popülasyondaki belirli karakteri taşıyan bireyler bazı durumlarda diğer bir popülasyona göç edebilirler. Böylece bir popülasyonun gen havuzundaki bir genin frekansı azalırken diğer bir popülasyonun gen havuzundaki genlerin frekansında artış meydana gelebilir (Allendorf F.W. 2008).

2.8.2.5. İzolasyon

Popülasyonlar arasında genetik, fizyolojik, ekolojik ve davranışla ilgili çeşitli izolasyon mekanizmaları vardır. Ancak bunların arasında en önemlisi coğrafik izolasyondur. Popülasyonlar coğrafik olarak ayrıldıkları zaman buldukları çevrede yaşamlarını sürdürebilmeleri için, mutasyon ve seleksiyonla farklı gen havuzları oluştururlar. Uzun bir süre sonra bu popülasyonlar artık birbirleriyle çiftleşemeyecek derecede farklılaşmışlardır. Bu durum yeni alt türlerin ortaya çıkmasını sağlar (Allendorf F.W. 2008).

2.8.2.6. Rastgele olmayan evlilikler

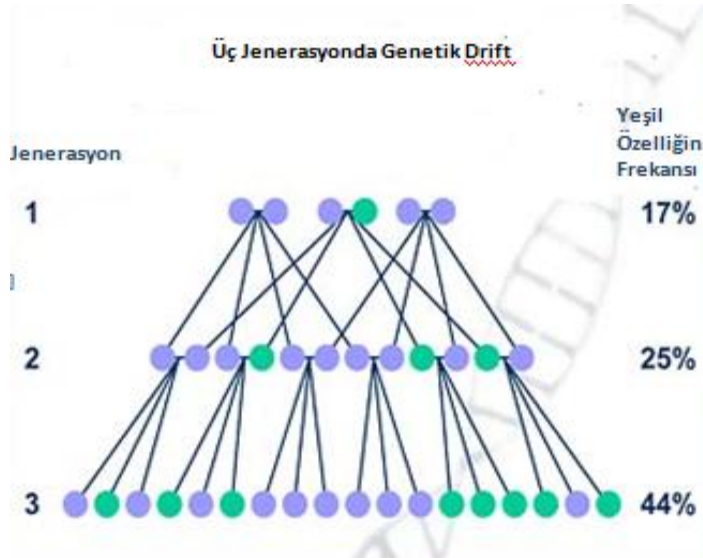
Toplumda zararlı ya da yararlı resesif bir gen için hem homozigot hem de heterezigot kişiler bulunur. Eğer evlilikler rastgele değil de homozigotlar homozigotlarla, heterezigotlar heterezigotlarla evlenecek olursa homozigotların sayısı artarken heterozigotların sayısı azalmış olacaktır. Akriba evlilikleri de buna örnektir (Allendorf F.W. 2008).

2.8.2.7. Genetik drift (kayma)

Gen sıklıklarında dalgalanmalara neden olan diğer bir etken genetik kaymadır. Genetik drift küçük toplumlarda gen sıklığında ortaya çıkan rastgele artma ya da azalmalardır. Küçük toplumlarda belirli bir gen tamamen şansa bağlı olarak yüksek sıklıkta bulunabilmektedir. Örneğin a aleli %90, b aleli %10 oranındayken, diğer bütün faktörlerin dışında sadece örnekleme etkisiyle dağılım %80'e ve %20'ye ve bir sonraki nesilde yeniden %85'e ve %15'e dönüşebilir. Bu değişimler, eninde sonunda durağanlaşacak yani %100-%0 ya da %0-%100 dengesine ulaşacak ve o noktada artık tek alel kalacaktır.

Eğer populasyon küçük ise mutasyon taşıyanların fertilitesi veya yaşam sürelerindeki artış gibi rastgele faktörler mutant alellerin sıklığını yükseltebilirler. Büyük populasyonlarda bu tür olaylar meydana gelir ancak etkisi küçüktür. Benzer şekilde büyük populasyondan küçük bir alt populasyon ayrıldığı zaman gen frekansı, köken aldığı populasyondan farklı olabilir. Birkaç nesil sonra küçük grubun büyüklüğü aynı kalsa dahi gen frekanslarında önemli dalgalanmalar olur. Populasyon büyüdükçe bu değişikliklerin etkileri de görülmemeye başlar.

Genetik kaymanın bir diğer formu da kurucu etkisidir. Büyük populasyondan ayrılan yeni grup nadir bir aleli taşıyorsa bu alel köken aldığı büyük gruba göre çok daha yüksek frekansa sahip olacaktır. Buna kurucu etkisi "founder effect" denir. Bu olay heterozigotluğun kaybolmasına ya da azalmasına neden olur (Allendorf F.W. 2008).



Şekil 7: Genetik kaymanın şematik anlatımı

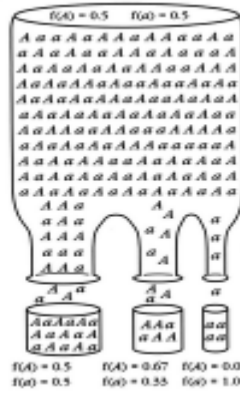
(<http://hihg.med.miami.edu/code/http/modules/education/Design/images/Slide502022.jpg>)

2.8.2.8. Founder etkisi

Küçük bir grubun büyük bir popülasyondan ayrılması sonucunda bu grubun daha sınırlı çeşitliliğe sahip olması anlamına gelir. Örneğin; ABO kan grubunu % 90 sıklıkla A kan grubuna sahip on kişiden oluşan bir grup bir adaya konulduğunda bu popülasyonda 2. kuşakta A kan grubu oranı daha fazla olacaktır. Bu yeni izole popülasyonda gen frekansları artık ayrıldıkları popülasyondan farklılık gösterecek ve onu temsil etmeyecektir. Founder etkisi iki şekilde gerçekleşebilir; ya popülasyonda bazı bireyler rastgele olarak uzaklaşır ya da yok olma tehlikesi karşısında popülasyondan birkaç birey hayatta kalır (Barton N.H. ve ark. 1984).

2.8.2.9. Popülasyon darboğazı

Popülasyon boyutu herhangi bir afet sonucu azalabilir ve genetik çeşitliliğin azalmasına neden olabilir. Dolayısıyla darboğazdan geçen bir popülasyon genetik çeşitliliğinin çoğunu yitirebilir. Darboğaz; genetik varyasyon kaybı ve zararlı alellerin sabitlenmesine neden olmaktadır (Ağaoğlu Ö.K. ve ark. 2011).



Şekil 8: Popülasyon darboğazı alel frekanslarında değişime yol açar
(http://uhrakahraman.blogspot.com/2010/11/popülasyon-genetigi_06.html)

2.8.2.10 F İstatistiği ve Fiksasyon İndeksi

Wright'ın "Fiksasyon İndeksi" (F İndeksi) bir popülasyonun herhangi bir hiyerarşik seviyesinde rastgele eşleşme sonucu heterozigotluktaki azalmayı gösterir. Genetik farklılaşmayı saptamak açısından bu indeksler önemlidir. Çünkü farklı organizmalar arasında alel frekanslarına gerek duyulmaksızın heterozigotluk seviyelerine bakılarak tüm popülasyon üzerindeki gruplaşmanın etkisi saptanabilir.

$$F_{SR} = \frac{H_R - H_S}{H_R}$$

F_{SR} = Alt popülasyonlarda heterozigotluğun değişiminin bölgesel popülasyona göre ifadesi

H_R = Bölgesel heterozigotların ortalaması

H_S = Alt popülasyonun heterozigotlarının ortalaması

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_R}{H_T}$$

F_{ST} = Alt popülasyonlarda heterozigotluğun değişiminin toplam popülasyona göre ifadesi

H_R = Bölgesel popülasyonda heterozigotların ortalaması

H_T = Toplam popülasyonun heterozigotlarının ortalaması

Hiyerarşinin bir üst seviyesinde fiksasyon indeksi F_{ST} 'dir. Bu popülasyondaki bölgesel toplanmaların toplam heterozigotluktaki azalma etkisi/oranını vermektedir. F_{ST} indeksi ise hiyerarşinin en düşük ve en yüksek popülasyon seviyelerini karşılaştırır ve tüm etkileri verir. F_{ST} indeksi göç, seleksiyon ve popülasyon boyutu gibi etmenlerden etkilenir (Kahraman U. ve ark. 2010).

F_{ST};

- 0 ile 0.05 arasında ise altpopölasyon arasındaki farklılık düşük düzeydedir.
- 0.05 ile 0.15 arasında ise farklılaşma orta derecededir.
- 0.15 ile 0.25 arasında ise genetik çeşitlilik yüksek düzeydedir.
- 0.25 in üzerinde ise çok büyük genetik farklılaşma vardır.

2.8.2.11 Wahlund Etkisi

Bütün alt-popölasyonlar aynı gen sıklıklarına sahip olduğunda bu altpopölasyonlar arasında hiçbir farklılık görülmez ve Wahlund etkisi meydana gelmez ($F_{ST}= 0$). Popölasyonun alt yapılanması önlenir ve önceki alt popölasyonlar rastgele eşleşmeye devam ederse, ortalama homozigotluk azalır ve heterozigotluk eşit düzeyde artar. Alt popölasyonların birleşmesi sonucu ortalama homozigotluğun azalması olayı “ayrılmanın kırılması” veya “Wahlund prensibi” olarak bilinmektedir. Wahlund etkisinin genetik yapıdaki önemi; alt popölasyonların birleşmesi sonucunda bu gruplarda sık görülen homozigot resesif alelin yol açtığı genetik hastalıkları taşıyan bireylerin doğma şansını azaltır (http://en.wikipedia.org/wiki/Wahlund_effect).

2.9 ADLİ BİLİMLERDE İSTATİSTİKSEL PARAMETRELER

2.9.1. Bağlantı Dengesizliği (Linkage Disequilibrium, LD)

Bağlantı dengesizliği; aynı kromozomda iki veya daha fazla lokustaki alellerin rastgele olmayan ilişkisidir. Gametik faz dengesizliği veya sadece gametik dengesizlik olarak da ifade edilir. Bağlantı dengesizliğinin miktarı gözlenen ve beklenen alelik sıklıklar arasındaki farka göre değişir. Alel veya genotip kombinasyonlarının beklenen oranlarda görüldüğü popölasyonlarda bağlantı dengesizliği olduğu söylenir. Bağlantı dengesizliği seviyesini etkileyen bir dizi faktör vardır; bunlar arasında, genetik bağlantı, seleksiyon, tekrar-kombinasyon oranı, mutasyon oranı, genetik kayma, rastgele olmayan çiftleşmeler ve popölasyon yapısı sayılabilir. Doğal popölasyonlarda gözlenen LD düzenleri, genetik faktörler ile popölasyonun demografik tarihi arasındaki karmaşık bir etkileşimin sonucudur (Pritchard 2001). LD genellikle iki lokus arasındaki mesafenin bir fonksiyonu olup HWE ile hiçbir ilişkisi yoktur ve bununla karıştırılmamalıdır.

2.9.2. Genetik Mesafe

Genetik uzaklık, türler arasındaki veya bir tür içerisindeki popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmayı ifade eder. Daha küçük genetik mesafeler yakın bir genetik ilişkiyi gösterirken, büyük genetik mesafeler daha uzak bir genetik ilişkinin göstergesidir. Genetik uzaklık, farklı türler hatta aynı tür içerisindeki alt türler arasındaki farklılaşmayı ölçmek için kullanılabilir (Leberg ve ark. 2005). İki popülasyon arasındaki genetik uzaklık, bir lokustaki alellerin sıklıklarındaki farkı gösterir. Yaygın olarak kullanılan genetik mesafe ölçümü, 0 ve 1 arasında değişen fiksasyon indeksidir. 0 değeri, iki popülasyonun genetik olarak aynı olduğunu gösterirken; 1 değeri ise, iki popülasyonun farklı türler olduğunu gösterir. Genetik uzaklık ölçümleri ile mikrosatellitlerin bir popülasyondaki evrimsel geçmişini tespit etmek mümkündür. Genetik uzaklık ölçümlerinin amacı sadece iki popülasyonun farklı olduğunu ortaya çıkarmak değil aynı zamanda nasıl farklılaştıklarını da göstermektir (Dorak M.T. ve ark. 2004). Genetik uzaklık için kullanılan ölçüm modelleri aşağıda verilmiştir.

- **Nei standart genetik mesafesi:** Bu ölçüm, genetik farklılıkların mutasyonlar ve genetik kayma nedeniyle ortaya çıktığını varsayar.
- **Cavalli-Sforza, Edwards (1967), Reynold, Weir ve Cockerham (1983):** Bu ölçümler, genetik farklılıkların sadece genetik kayma nedeniyle ortaya çıktığını varsayarlar.

2.10. POPÜLASYON GENETİĞİ VERİ ANALİZLERİ

Popülasyon genetiği araştırmalarında kullanılan yeni veri analiz yöntemleri; popülasyonlardan elde edilen genetik bilginin doğru bir şekilde yorumlanması için doğru bilgiler sağlar (Akey J. ve ark. 2004). Genetik verilerin analizi için çok büyük hesaplamalara dayanan güçlü, yeni, düşük maliyetli ve kısa zamanda analiz yapan yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler çeşitli yazılım paketleri ve programları kapsamaktadır. Popülasyon genetiğinde kullanılan programlar 4 gruba ayrılabilir (Excoiffer L. ve ark. 2005).

- **Çok amaçlı programlar:** Popülasyonlar içinde ve arasında genetik çeşitliliği tanımlayan temel istatistikleri hesaplar.
- **Tek merkezli programlar:** Tek tip veri analizi yapmak üzere tasarlanmışlardır.

- **Özelleştirilmiş programlar:** Belirli bir genetik işaretin analizini yapmak üzere özelleştirilmişlerdir.
- **Dönüştürücü programlar:** Bir programa ait veri tipinin başka bir analiz programının veri tipine dönüştürülmesini kolaylaştırmak üzere tasarlanmışlardır.

DnaSP ve MEGA gibi bazı programlar DNA dizilerini, BATWING, MSA ve MSVAR gibi programlar ise STR verilerini analiz etmek üzere tasarlanmıştır. Bu programlar arasında Arlequin, BATWING, FDIST2, FSTAT, GDA, Genepop, IM, LAMARC ve Migrate gibi özel işaretlerin incelenmesine olanak sağlayan programlar da mevcuttur (Labate ve ark.2000). Programlar ile ilgili detaylar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2: Populasyon genetiği araştırmalarında kullanılan programlar (Excoffier, Heckel. 2006).

İsim	Versiyon	Platform	Grafik	Veri Tipi	Ulaşılabilecek İnternet Sayfası
Çok Amaçlı Programlar					
ARLEQUIN	3,11	Win	Evet	DNA, SNP, STR, MULT, FREKANS	http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3
DNASP	5	Win	Evet	DNA, SNP	http://www.ub.edu/dnasp/DnaSP32Inf.html
FSTAT	2,93	Win	Evet	STR, MULT	http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm
GDA	1,1	Win	Evet	AFLP, MULT	http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php
GENEPOP	4	DOS	Hayır	STR, MULT	http://ftp.cefe.cnrs.fr/PC/MSDOS/GENEPOP
GENETIX	4,05	Win	Evet	MULT	http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm
MEGA	3,1	Win	Evet	DNA, UZAKLIK	http://www.megasoftware.net/
MSA	4	DOS, MacOS, Linux	Hayır	STR, MULT	http://i122server.vu-wien.ac.at/MSA/MSA_download.html
CERVUS	3.0	Win	Hayır	SNP, STR	http://www.fieldgenetics.com/pages/aboutCervus_Overview.jsp
Tek Amaçlı Programlar					
PHYLIP	5	Win	Evet	MULT	http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html
STRUCTURE	2.3	Java	Evet	MULT	http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure2_1.html
Özelleştirilmiş Programlar					
BATWING	-	DOS, MacOS, Linux	Hayır	STR, SNP	http://www.mas.ncl.ac.uk/~nijw/
COLONISE	1	Win	Evet	MULT	http://www-leca.ujf-grenoble.fr/logiciels.htm
FDIST2	2	DOS, Linux	Hayır	DNA, STR, MULT	http://www.rubic.rdg.ac.uk/~mab/software.html
IM	-	DOS, MacOS	Evet	DNA, STR, hapSTR	http://lifesci.rutgers.edu/~heylab/HeylabSoftware.htm#IM
LAMARC	2.0.2	DOS, MacOS, Linux	Hayır	DNA, SNP, STR	http://evolution.gs.washington.edu/lamarc/lamarc_prog.html
MIGRATE	2,2,3	DOS, MacOS, Linux	Hayır	DNA, SNP, STR, MULT	http://popgen.csit.fsu.edu/
MSVAR	0.4.1.b	DOS, Linux	Hayır	STR	http://www.rubic.rdg.ac.uk/~mab/software.html
Dönüştürücü Programlar					
CONVERT	1,3	Win	Evet	-	http://www.agriculture.purdue.edu/fnr/html/faculty/Rhodes/Students%20and%20Staff/glaubitz/software.htm

2.10.1. Arlequin 3.11

Arlequin'in amacı, popülasyon genetiği kullanıcılarına popülasyon verilerini toplayarak genetik ve demografik özellikler hakkında bilgi elde etmek üzere oldukça geniş istatistiksel testler sunmaktadır. Kullanıcıların verileri üzerinde yapmak istedikleri analizleri hızla seçmelerine yardımcı olmak üzere tasarlanmıştır. Arlequin'in birçok farklı formdaki genetik verileri işleyebilmesi ve veri formatı ne olursa olsun aynı analizi yapmak mümkündür (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>). Arlequin haplotip veya genotip formdaki birkaç veri tipini analiz edebilir (Excoffier L. 2005). Temel veri tipleri:

DNA dizileri: Arlequin DNA dizilerine keyfi bir uzunluk verebilir. Her nükleotid ayrı bir lokus olarak düşünülür. Dört nükleotid "C", "T", "A", "G" her bir lokusta anlamı açık olan aleller olarak kabul edilir ve silinen nükleotidi göstermek için "-" kullanılır. Bilinmeyen nükleotid için genellikle soru işareti "?" kod olarak kullanılır.

RFLP verileri: Arlequin belirli uzunluktaki RFLP verilerini işleyebilir. Her bir restriksiyon (sınırlandırılmış) bölgesini ayrı bir lokus olarak kabul eder. Bir restriksiyon yerinin varlığı "1" ile kodlanır, yokluğu ise "0" olarak kodlanır.

Mikrosatellit verileri: Burada ham veriler mikrosatellit lokuslarının alellerinden oluşur. Veriler genetik yapı için analiz ediliyorsa her lokus için mikrosatellit dizilerinin tekrarlanma sayısı belirtilir.

Alel sıklığı verileri: Polimorfizmin moleküler temelini tanımlı olmadığı veya farklı aleller söz konusu olduğunda, alellerin mutasyon açısından birbirlerinden eşit uzaklıkta olduğu kabul edilir. Bu yüzden standart veri haplotipleri her lokusta içerikleri açısından karşılaştırılır. Örneğin, HLA verileri (insan MHC) standart veri kategorisine girer.

2.10.2. DnaSP

DNA dizi verilerinden geniş popülasyon analizleri yapan bir Windows yazılım paketidir. DnaSP popülasyonlar içinde ve arasında bazı DNA dizi değişimlerini (kodlama yapmayan bölgeler), bağlantı dengesizliği, rekombinasyon, gen akışı, gen dönüşümünü ve bazı test istatistiklerinin güvenlik aralıklarını hesaplar. DnaSP, Hudson, Kreitman ve Aguadé (1987), Tajima (1989), McDonald ve Kreitman (1991), Fu ve Li (1993), ve Fu (1997) testlerini de yapabilir (Rozas J. ve ark 2009). Bir metin dosyasına bir veya daha fazla homolog dizili nükleotid (DNA veya RNA) alabilir. Dizilerin toplam sayısı ve dizi uzunluğu DnaSP tarafından binlerce nükleotid içeren çok sayıda diziyi içeren veri dosyalarını işleyebilen bir hafızaya sahiptir. Çıktılar metin, tablove grafikler şeklinde gösterilebilir (<http://www.ub.es/dnasp/>).

2.10.3 FSTAT

Jérôme Goudet tarafından geliştirilmiş bir yazılımdır. FSTAT gen çeşitliliğini hesaplayan ve test eden ko-dominant genetik işaretlerin istatistiklerini yapan bir bilgisayar paketidir. Mevcut versiyon 2002 tarihinde geliştirilen 2.9.3.2'dir (<http://www2.l.ch/popgen/software/fstat.htm>) Önceki versiyonları artık kullanılmamaktadır (Goudet J. ve ark. 2005 ; Hered J. ve ark 1995). FSTAT ko-dominant veya haploit genetik işaretler için; Alel sıklığı, Her bir genotip için gözlenen ve beklenen sayı, gen çeşitliliği ve örneklenen alel sayısı hesaplar.

2.10.4. GDA

Paul O. Lewis ve Dmitri Zaykin'in tasarladıkları program bağlantı analizi ve Hardy Weinberg kuralına uyumu ve bazı genetik uzaklıkları hesaplar (<http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>).

2.10.5. GENEPOP 4.0.10

Genepop; Hardy Weinberg dengesi, bağlantı dengesizliği, popülasyon ayrışması, efektif göç sayısı, Fst veya diğer korelasyonlar için geliştirilmiş bir popülasyon genetiği yazılım paketidir. Genepop DOS versiyonu veya Web versiyonu olarak çalışabilir. Web versiyonunun kullanımı kolaydır (Raymond M. <http://genepop.curtin.edu.au/>).

2.10.6. GENETIX 4.05

Bu program genotip verilerini çok kullanılan bazı genetik analiz yazılım formatına dönüştürür (örneğin Arlequin, Biosys, FSTAT, Genepop). Girdi formatı basittir ve excel çalışma sayfasından kolayca kopyalanıp yapıştırılabilir. Giriş yapıldıktan sonra veriler diğer yazılım formatına dönüştürülmeden popülasyonlar oluşturulabilir. Popülasyon genetiği için güçlü bir analiz programıdır (Belkhir K. ve ark. 2004) (<https://www.eeb.ucla.edu/Faculty/Barber/Software.htm>).

2.10.7. MEGA (Moleküler Evrimsel Genetik Analizi)

Gen dizisi veritabanları hızla büyümektedir. Bu verilerin analizlerini verimli bir şekilde yapabilmek için kullanımı kolay ve hızlı hesaplama yapabilen bilgisayar programları gerekir. MEGA yazılımının amacı; DNA ve protein dizilerinin araştırılması, keşfi ve analizini sağlar. MEGA1'in ilk versiyonu 1990'ların başlarında bilim dünyasına araştırma ve öğretim amaçlı kullanılacak evrimsel analiz yöntemlerini sunmuştur. MEGA2, 1990'ların sonlarında dizi analizlerinin hızla artan ihtiyaçlarını karşılamak ve bir araştırma yazılımı sağlamak amacıyla tasarlanmıştır. Daha sonra MEGA'nın 3,4 ve 5 versiyonu daha geliştirilmiştir. Program, çoklu gen dizisi grupları oluşturarak gruplar içindeki ve arasındaki çeşitliliğin hesaplanmasını kolaylaştırarak, genler ve türler arasında yüksek seviyede evrimsel ilişkileri ortaya çıkarır (www.megasoftware.net/manual.pdf).

2.10.8. MSA

MSA, mikrosatellitlerde genetik uzaklık hesaplamaları için kullanılan bir DOS yazılımıdır. MSA'da basit bir girdi formatı kullanılır. Standart tanımlayıcı istatistikleri hesaplar ve diğer yazılım paketleri için girdi dosyaları oluşturur (<https://courses.washington.edu/popgen/Software.htm>).

2.10.9. CERVUS 3.0

Cervus, SNP ve STR'lerden elde edile genetik verilerin analizi için kullanılır. Cervus ile alel frekans hesaplamaları yapılabilir. Alel frekans hesaplamaları homozigotların oranı, heterozigotların oranı, polimorfizm bilgi içeriği, gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranlarının hesaplamalarını içerir. Bunlarla birlikte istenirse bu program kullanılarak genetik mesafe hesaplamaları yapılabilir. Bu programın diğer bir önemli özelliği ise çalışılan her lokus için Hardy Weinberg dengesine uyum hesaplamasının yapılabilmesidir. (http://www.fieldgenetics.com/pages/aboutCervus_Functions.jsp)

2.10.10 LAMARC v2.1.3

Bu program DNA ve RNA dizileri, SNP ve STR verilerini kullanarak rekombinasyon, göç hızı ve lokuslar arasında sabit mutasyon hızları varsayılarak popülasyon büyüklüğünü ve büyüme hızlarını hesaplar (<http://www.ctu.edu.vn/~dvxe/Bioinformatic/Software/BIT%20Software/lamarc.html>).

2.10.11 MIGRATE

Migrate yazılımı ile DNA dizileri ve SNP verileri kullanılarak popülasyonlar arası göç hızlarını ve popülasyon büyüklük oranlarını hesaplar (<http://popgen.sc.fsu.edu/migratedoc.pdf>).

2.10.12. STRUCTURE

Program çok lokuslu genotip verileri yardımıyla popülasyon yapısının araştırılmasına yarayan ücretsiz bir yazılım paketidir. popülasyon alel sıklıklarının hesaplanması için SNP, microsatellite, RFLP ve AFLP gibi genetik belirteçleri kullanabilir (<http://pritch.bsd.uchicago.edu/software.html>).

2.10.13. BATWING

BATWING, geçmişte atasal popülasyonun birkaç popülasyona ayrılma olayının gerçekleştiği varsayımına dayanarak, popülasyon büyüklüğünü ve üreme hızlarını hesaplayan bir programdır. Batwing, özellikle çoklu lokuslardaki STR verilerinden yararlanarak popülasyon büyüklüğünü hesaplamak için geliştirilmiştir, son zamanlarda SNP'ler için de spesifik bir model geliştirilmektedir (Wilson I. 2003)

<http://www.mas.ncl.ac.uk/~nijw/batwing/batguide.pdf>).

2.10.14. MSVAR

Otozomal mikrosatellit sıklıklarını kullanarak geçmişteki nüfus artışlarını, genişlemeleri veya küçülmeleri belirlemek üzere kullanılan bir programdır (Beaumont, M. 1999).

2.10.15. CONVERT

CONVERT, sık kullanılan popülasyon genetiği yazılım paketleri arasında ko-dominant, diploid verilerin kolay transferini sağlayan bir Windows programıdır. CONVERT girilen verileri kendi 'standart' veri formatında okur. Bu verilerle excel dosyası oluşturur. Verileri GDA, GENEPOP, ARLEQUIN, POPGENE, MICROSTAT, PHYLIP, ve STRUCTURE programlarına uygun hale getirir (Excoffier, Heckel. 2006).

2.10.16 FDIST2

FDIST2 popülasyonlar arasındaki genetik farklılığı ve heterozigot lokusları tespit eden bir programdır (Excoffier, Heckel. 2006).

2.10.17. PHYLIP

PHYLIP (PHYLogeny Inference Package) Evrim ağaçlarının oluşturulması için geliştirilen bir programlar paketidir. İnternette ücretsiz olarak indirilebilir, mümkün olduğu kadar çok sayıda farklı bilgisayar sistemleri üzerinden çalışabilmek üzere yazılmıştır. Ele alınabilecek veri tipleri arasında moleküler gen dizileri ve sıklıkları bulunur (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>).

2.10.18. COLONISE

Colonise, doğal popülasyonlarda kolonizasyon olaylarının incelenmesine yarayan bir Microsoft Windows yazılımıdır. Bireylerin yeni bir popülasyon oluşturmalarını etkileyen faktörleri ortaya çıkarır (Foll, M. ve ark. 2005).

2.10.19. IM

Bir süre önce birbirinden ayrılmış iki popülasyon arasındaki popülasyon büyüklüğü veya göç oranlarının hesaplamalarına olanak verir. Bu program, iki popülasyon arasındaki ayrılma zamanını ve göç hızlarını aynı anda hesaplar. STR ve SNP gibi birçok farklı genetik işareti anal izleyebilir (Hey J. 2007).

2.10.20. POWERSTAT V1.12

Minimal veri girişi gerektiren ve standart yazılımla geliştirilen Microsoft® Excel çalışma sayfasına sahip bir yazılımdır. Hitachi STaRCall™ yazılımındaki “landscape view” ve

Applied Biosystem Genotyper® yazılımındaki alel tablosundan elde edilen genotip verileri “PowerStats” çalışma sayfasına kolayca transfer edilebilmektedir. Sonuçların çalışma şablonuna direkt olarak kopyalanması zamandan tasarruf sağlamak ve kayıt hatalarını ortadan kaldırmaktadır. Veriler girildiğinde şablon, otomatik olarak gözlemlenen nadir alelleri belirlemekte ve her ırk ya da alt grup için popülasyon istatistiklerini hesaplar. Bir özet çalışma sayfasında tüm ırk ya da popülasyon alt gruplarına ait ilgili bilgiler gösterilmektedir. Şablon Macintosh®’a yönelik Office 98’le ve PC-uyumlu bilgisayarlara yönelik Office 97 ile ve Excel 5/Office 95 ile uyumludur. “PowerStats” çalışma şablonu bir dizi çalışma sayfası içermektedir (Bacher J. ve ark. 1998).

2.10.20.1. Giriş Çalışma Sayfası

Bu çalışma sayfasında;

- Şablonun kullanımı konusunda kısa talimatlar verilmektedir.
- Otomatik olarak gerçekleştirilen basamaklar özetlenmektedir.
- Şablonun bazı kısıtlamaları sıralanmaktadır.
- Popülasyon istatistiklerinin çıkarılması için kullanılan formüller ve referanslar verilmektedir.

2.10.20.2. Genotip Çalışma Sayfası

Bir lokusa ait genotip verileri “Genotype” (Genotip) çalışma sayfasına girilir. Bu çalışma sayfası, ırk ya da popülasyona özgü, her biri dört sütun içeren beş gruba ayrılmıştır. Belirlenen isimler arzu edildiği takdirde değiştirilebilir ve bu durumda diğer çalışma sayfalarında da otomatik olarak değişir. İlk sütun örnek içindir ve isteğe bağlıdır. İkinci ve üçüncü sütun her bir örnekte bulunan iki alel içindir ve bu sütunlara STaRCall™ ya da Genotyper® çalışma tablolarından ve başka bir çalışma tablosundan veriler kopyalanır ya da manuel olarak girilir. Tüm örnekler her iki sütunda da bir alel numarasına sahip olmalıdır. 99’a kadar olan pozitif sayılar ve bir ondalık basamaklı mikrovaryantlar (örneğin, TH01 aleli 9.3) geçerlidir. Dördüncü sütun, en büyük alel birinci olacak şekilde alelleri düzenler ve sayıları bir

virgülle ayırır. Veriler, yanlış şekilde isimlendirilen örneklerin düzeltilebilmesi ya da daha fazla örnek eklenmesi için herhangi bir zamanda güncellenebilir. Boş satırlara izin verilmektedir. Mevcut şablon popülasyona özgü grup başına en fazla 600 örneğe (satıra) ve toplamda 50 farklı alele ya da gruba izin vermektedir. Son olarak, arzu edilirse B1 hücrelerine lokus adı girilebilir ve bu otomatik olarak diğer çalışma sayfalarında da belirecektir (Şekil 9).

Locus: D1S1177 A				Black				Asian				Hispanic				Native			
Caucasian																			
Sample	#1	#2	Genotype	Sample	#1	#2	Genotype	Sample	#1	#2	Genotype	Sample	#1	#2	Genotype	SAMPLE	#1	#2	Genotype
	12	14	14,12																
	13	15	15,13																
	14	14	14,14																
	12	13	13,12																
	13	13	13,13																
	9	14	14,9																
	13	15	15,13																
	13	14	14,13																
	14	15	15,14																
	13	14	14,13																
	14	14	14,14																
	13	16	16,13																
	16	16	16,16																
	15	16	16,15																
	15	16	16,15																
	13	13	13,13																
	16	16	16,16																
	14	14	14,14																
	14	16	16,14																
	14	15	15,14																
	15	17	17,15																
	15	16	16,15																
	17	17	17,17																
	14	14	14,14																
	13	15	15,13																
	13	14	14,13																

Şekil 9: Powerstats V1.12 genotip çalışma sayfası görüntüsü (Tereba A. 1999)

2.10.20.3. Hesaplama Çalışma Sayfası

Hesaplama (“Calc”) çalışma sayfası bütün ırklara özgü gruplara ilişkin nadir alelleri tarar ve otomatik olarak belirler. Bu özellik, nadir bir alelin hariç bırakılması şeklindeki hatayı elimine eder ve ırka özgü alel sıklıklarının birleşik grafiklerle karşılaştırılmasına olanak verir. Çalışma sayfası yalnızca hesaplama yöneliktir ve herhangi bir sonuç analizi içermemektedir. Beş ırka özel çalışma sayfası (Caucasian-Beyaz, Black-Siyah, Asian-Asyalı, Hispanic-Latin ve Yerli), “Calc” (Hesaplama) ve “Genotype” (Genotip) değerlerini kullanarak her bir ırk ya da popülasyon alt grubuna ilişkin popülasyon istatistiklerini hesaplar (Şekil 10 ve 11). Bu, her bir alelin sıklığı, homozigotluk (Ho), heterozigotluk (He) oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği (Polymorphism Information Content, PIC), eşleşme olasılığı (probability of match, PM), ayırt etme gücü (power of discrimination, PD), dışlama gücü (power of exclusion PE) ve

babalık indeksi (typical paternity index, TPI) oranlarını içermektedir. Irka özgü çalışma sayfalarında verilerin görsel anlatımı ve farklı ırklara ait istatistiksel veriler sunulmaktadır.

Allele	Number
9	1
12	2
13	12
14	16
15	9
16	9
17	3

Şekil 10: Powerstats V1.12 hesaplama çalışma sayfası görüntüsü (Tereba A. 1999)

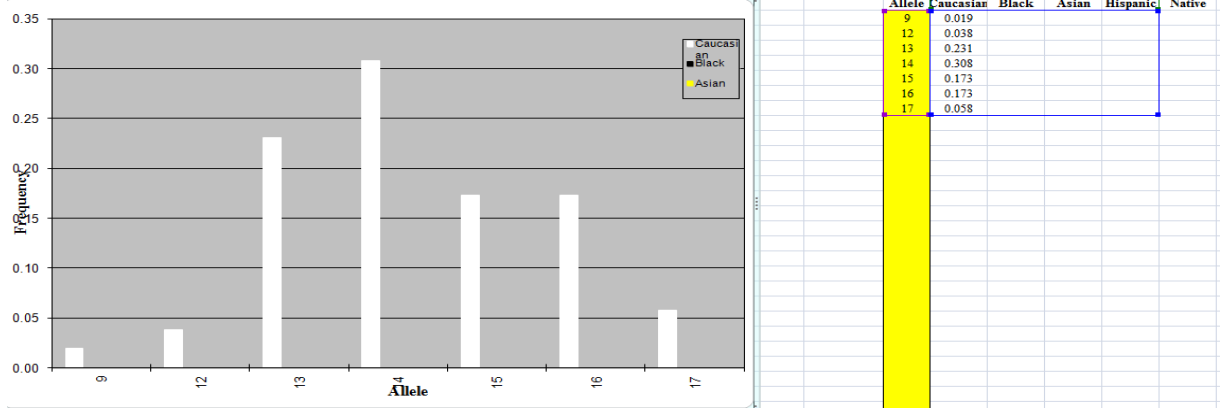
Locus: D1S1677 A		Caucasian						
		Forensic Statistics				Paternity Statistics		
Total	26	Matching Probability:				0.092	Power of Exclusion:	0.361
Homos	9 34.6%	Power of Discrimination:				0.908	Typical Paternity Index:	1.44
Hets	17 65.4%	PIC:				0.76		
Frequency	Allele	9	12	13	14	15	16	17
1.9%	1 9							
3.8%	2 12							
23.1%	12 13			1	2			
30.8%	16 14	1	1	3	4			
17.3%	9 15			3	2			
17.3%	9 16			1	1	3	2	
5.8%	3 17					1	1	

Şekil 11: Powerstats V1.12 Beyaz popülasyonu için kullanılan çalışma sayfası görüntüsü (Tereba A. 1999)

2.10.20.4. Grafik Çalışma Sayfası

Bu çalışma sayfasında 5 popülasyona özgü alel sıklığı özetlenmektedir. Grafikler, alel sıklık grafiği olarak otomatik olarak oluşturulmaktadır (Şekil 12). Bu grafik alel ve ırka özgü dağılımların kolay şekilde görülebilmesini sağlamaktadır. Macintosh®'a yönelik Office 98'de

ve IBM®-uyumlu bilgisayarlara yönelik Office 97’de grafiği oluşturulan alellerden, grafiğe bir defa tıklanarak ayarlanabilir.



Şekil 12: Powerstats V1.12 grafik çalışma sayfası görüntüsü (Tereba A. 1999)

2.10.20.5. Özet Çalışma Sayfası

Her bir alele ait sıklık değerleri dahil olmak üzere 5 farklı ırka ait istatistiksel verilerin tümü derlenebilmektedir (Şekil 13). Çalışma sayfası verilere ait olup okunması kolay ve özet şeklindedir. Powerstats V1.12 Excel çalışma sayfaları formül içeren hücrelerden birine kazayla herhangi bir şey yazılmasına korumalıdır. Çalışma tabloları içinde ve arasında birçok bağlantı bulunduğu için, bu koruma kaldırıldığında dikkatli olunmalıdır.

1	Locus:	DIS1677 A			
2			Caucasian		
3	Forensic				
4	Matching Probability		0.092		
5	Expressed as 1 in ...		10.9		
6	Power of Discrimination		0.908		
7	PIC		0.76		
8	Paternity				
9	Power of Exclusion		0.361		
10	Typical Paternity Index		1.44		
11	Allele Frequencies				
12	Homozygotes		34.6%		
13	Heterozygotes		65.4%		
14	Total Alleles		52		
15					
16		Allele		Frequency	
17		9		1.9%	
18		12		3.8%	
19		13		23.1%	
20		14		30.8%	
21		15		17.3%	
22		16		17.3%	
23		17		5.8%	
24					

Şekil 13: Powerstats V1.12 özet çalışma sayfası görüntüsü (Tereba A. 1999)

3. MATERYAL VE METOD

3.1. DNA Örneklerinin Kaynağı

Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2010 yılına ait bölgelere göre nüfus dağılım verileri temel alınarak, Türkiye'nin tüm bölgelerini kapsayacak şekilde, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu (Ek1) imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul eden İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü öğrencileri ve gönüllü kişilerden oluşan toplam 200 kişiden kan örneği alındı. Bölgesel olarak örnek sayısı belirlenirken kişilerin doğum yerleri temel alındı. Kan örnekleri ya 2 ml'lik EDTA'lı tüpe ya da parmaktan alınan 1-2 damla kan ile oluşturulan kan lekeleri şeklinde kullanıldı. Kan lekeleri kodlandı ve kurutularak ayrı ayrı zarflarda saklandı.

3.2. Kullanılan Kit ve Kimyasallar

DNA İzolasyonunda Kullanılan Kit:

- QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN)

DNA Miktar Ölçümünde Kullanılan Kit:

- Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen™)

PCR'da Kullanılan Kit ve Kimyasallar:

- Floresan (6FAM, HEX ve TET) ile işaretli primerler (Alpha DNA)
- TopTaq™ Master Mix Kit (QIAGEN)

Elektroforezde Kullanılan Kimyasallar:

- Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems),
- GeneScan™ - 350 TAMRA™ Size standard (Applied Biosystems)

- Flourescent Amidite Matrix Standart Kit for 310 system - DS-34 Matrix Standart (Applied Biosystems)

3.3. Kullanılan Cihazlar

- Mikrosantrifüj - ALC Multispeed - PK121
- Vorteks - Harmony Mixer Uzusio - VTX-3000L
- Termomikser - Wealtec Corp.
- Fluorometre cihazı - Qubit ® (Invitrogen™)
- Isı döngü cihazı (PCR) - GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems)
- Genetik Analizör - ABI 310 (Applied Biosystems)

3.4. Metodun Uygulanması

6 mini STR lokusunun analizi şu aşamalardan oluşmaktadır:

- Kan ve kan lekelerinden DNA izolasyonu
- İzolatların DNA miktar tayini
- PCR ile lokusların çoğaltılması
- PCR ürünlerinin elektroforezi
- Elektroforez sonrası 6 miniSTR lokusunun analizi ve tiplendirilmesi
- PowerStats (Promega Corporation) programı kullanılarak istatistiksel analiz yapılması.
- Arlequin 3.11 (Excoffier L. 2007) programı kullanılarak Hardy Weinberg Dengesi'ne uyum analiz edildi.

3.5. Kan ve Kan Lekelerinden DNA İzolasyonu

Kan ve kan lekelerinden DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Kit ile yapıldı (DNA Blood Mini Kit Handbook, 2001).

3.5.1. QIAamp® DNA Mini Kit İle Kurumuş Kan Lekelerinden DNA İzolasyonu

- Steril delgeç ile kurumuş kan lekesinden (filtre kağıdı) 4 parça alarak 1,5µl'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Üzerine 180µl ATL tamponundan eklendi.
- 10 dakika 85 °C'de inkübe edildi.
- 20µl proteinaz K eklendi ve vortekslendi. 56°C'de 1 saat inkübe edildi.
- 200µl AL tamponu eklendi ve vortekslendi. 70°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- 200µl % 96-100 saflıkta etanol eklendi ve vortekslendi.
- Elde edilen karışım QIAamp® mini spin kolona aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dak. santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı, temiz toplama tüpü takıldı.

- 500µl AW1 tamponu eklendi. 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atılıp temizliğiyle değiştirildi.
- 500µl AW2 tamponu eklendi. 14000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.
- QIAamp® mini spin kolon steril 1,5µl’lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. 150µl AE tamponu eklendi. Oda ısısında 1-2 dakika inkübe edilerek 8000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.

3.6. DNA Miktar Tayini

İzole edilen örneklerin DNA miktar tayini Qubit® Fluorometer - Invitrogen™ cihazında, Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen™) kullanılarak yapıldı (Qubit dsDNA dikkat Assay Kit Quick Reference Card, 2010).

3.6.1. The Quant-iT™ dsDNA HS Assay Kit ile DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

1. Ölçülecek örnek sayısı ve cihazın kalibrasyonu için gerekli 2 adet standart ile birlikte toplam sayı belirlenerek, 0,5 ml’lik steril tüpler hazırlandı.
2. Miktar tayin kitinin içeriğinde bulunan Quant-iT™ dsDNA HS reaktifi, ölçümü yapılacak her örnek için 200:1 oranında Quant-iT™ working çözeltisi ile seyreltildi. Tüplere bu çözeltiden 200 µl’ lik karışımlar hazırlandı.
3. Hazırlanan karışımdan standartların ölçüleceği tüplere 190 µl, örneklerin ölçüleceği tüplere ise 199 µl konuldu.
4. İki standarttan da 10 µl alınarak, 190 µl ‘lik karışım içeren tüplere eklendi.
5. İncelenecek örneklere ait izolatlardan da 1 µl alınarak, 199 µl’lik karışım içeren tüplere eklendi.
6. Elde edilen karışımlar kısa süre vorteksenerek, 5 dakika oda ısısında bekletildi.
7. Öncelikli olarak standartların Qubit™ fluorometer cihazında DNA konsantrasyonları belirlenerek aletin kalibrasyonu sağlandı.
8. Kalibre edilen Qubit™ fluorometer cihazında sırasıyla örnekler ölçülerek miktarları not edildi.

3.7. PCR Aşaması

D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 miniSTR lokuslarının PCR'ı Coble M.D. ve ark.'nın 2005'te yayınladıkları çalışma temel alınarak yapıldı.

3.7.1. Primerlerin Sulandırılması

Firmadan liyofilize halde alınan PCR primerleri (Tablo 3), ultra saf su ile sulandırılarak primer konsantrasyonları 100 µM olacak şekilde ana stoklar hazırlandı. Elde edilen stok çözeltiler -20°C de muhafaza edildi.

Tablo 3: PCR' da kullanılan floresan işaretli primer baz dizileri

Lokusun Adı	Primer Dizini (5' – 3')
D1S1677	İleri [TET]-TTCTGTTGGTATAGAGCAGTGTTT Geri *GTGACAGGAAGGACGGAATG
D2S441	İleri [HEX]-CTGTGGCTCATCTATGAAACTT Geri *GAAGTGGCTGTGGTGTATGAT
D4S2364	İleri [FAM]-CTAGGAGATCATGTGGGTATGATT Geri *GCAGTGAATAAATGAACGAATGGA
D10S1248	İleri [FAM]-TTAATGAATTGAACAAATGAGTGAG Geri *GCAACTCTGGTTGTATTGTCTTCAT
D14S1434	İleri [HEX]-TGTAATAACTCTACGACTGTCTGTCTG Geri *GAATAGGAGGTGGATGGATGG
D22S1045	İleri [TET]-ATTTTCCCCGATGATAGTAGTCT Geri *GC GAATGTATGATTGGCAATATTTT

3.7.2. Primer Konsantrasyonları

Çalışılan 6 miniSTR lokusunun primer konsantrasyonlarını ayarlamak için Unsal T. ve arkadaşları tarafından validasyonu ve optimizasyonları yapılmış primer konsantrasyonları kullanıldı (Tablo 4).

Tablo 4: NC01 ve NC02'nin primer konsantrasyonları

Grup	Lokusun adı	Primer konsantrasyonları
NC01	D10S1248	1,6 μ M
	D14S1434	1,8 μ M
	D22S1045	1,5 μ M
NC02	D1S1677	1,5 μ M
	D2S441	1,7 μ M
	D4S2364	1,3 μ M

D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 mini-STR lokuslarının PCR'ları 3'lü multipleks oluşturularak yapıldı.

1. Multipleks: **NC01:** (D10S1248, D14S1434, D22S1045),
2. Multipleks: **NC02:** (D4S2364, D2S441, D1S1677) (Coble M.D. ve ark. 2005).

3.7.3. Primer Karışımının Hazırlanması

Konsantrasyonları belirlenen miniSTR lokus primerleri kendi multipleks grubu içinde eşit hacimlerde karıştırıldı.

NC01 Primer karışımı: Eşit hacimde: D10S1248 (1,6 μ M), D14S1434 (1,8 μ M) ve D22S1045 (1,5 μ M) primerlerinin karıştırılmasıyla oluşturuldu.

NC02 Primer karışımı; Eşit hacimde: D4S2364 (1,3 μ M), D2S441 (1,7 μ M) ve D1S1677 (1,5 μ M) primerlerinin karıştırılmasıyla oluşturuldu.

PCR karışımı her bir örnek için toplam 25 μ L olacak şekilde hazırlandı.

TopTaq™ Master Mix Kit kullanılarak bir reaksiyon için oluşturulan PCR karışımı:

- 12,5 µL TopTaq™ Master Mix Kit - QIAGEN®
- 5 µL Primer Mix ileri
- 5 µL Primer Mix geri
- 0,5 µL dH₂O
- 2 µL (1 ng/ µL) DNA örneği

Toplam hacim = 25 µL

3.7.4. PCR Programı

PCR, GeneAmp® 9700 (Applied Biosystems) ısı döngü cihazında yapıldı.

95 °C de 10 dakika

94 °C de 1 dakika
55 °C de 1 dakika
72 °C de 1 dakika

} 32 döngü

60 °C de 45 dakika

(Coble M.D. ve ark. 2005)

3.8. PCR Ürünlerinin ABI 310 Genetik Analizör Cihazında Analizi

3.8.1. Örnek Hazırlanması

ABI 310' da analiz edilecek her bir örnek için aşağıdaki karışım hazırlandı:

- 12,5 µL Hi-Di™ formamide (Applied Biosystems),
- 0.5 µL GeneScan™- 350 TAMRA™ Size Standard (Applied Biosystems)
- 1 µL PCR ürünü

Analiz için hazırlanan karışım, 5 dakika 95 °C'de denatüre edildikten 5 dakika buzda bekletildi.

3.8.2. Örneklerin Elektrofrez

Analiz edilmek üzere hazırlanan örnekler, DS-34 Matrix Standart'ında (Applied Biosystems) C filtresi seçilerek, 36 cm kapillerde, POP-4 polimeri kullanarak enjeksiyon süresi 5 saniye, yürütme süresi 24 dakika olacak şekilde 60⁰C'de ve 15000 V'de yürütüldü.

3.8.3. Örneklerin Analizi

Elektroforez sonrasında elde edilen pikler GeneScan 3.7 programında analiz edildi. Örneklerin alel tiplerini belirlemek için, NIST – National Institute of Standard and Technology'de daha önceden alel tipleri belirlenmiş olan (Şekil 14) 9947A ve K562 pozitif kontrole ait DNA örnekleri kullanıldı. Bu DNA'ların alel tipleri bilindiğinden, piklerin değerlendirilmesi bu örneklere göre yapıldı. Ayrıca, elektroforezde her örnekle beraber pozitif kontrol (9947A-K562) yürütüldü, analiz sırasında hem örnek hem de pozitif kontrol karşılaştırılarak tiplendirme yapıldı. 6 mini STR lokusunun büyüklük (size) ve alel aralıkları aşağıda (Tablo 5) verilmiştir (Hill C.R., 2006).

Tablo 5: Lokusların büyüklük (size) ve alel aralığı (Hill C.R., 2006)

MİNİPLEX 2 NC02	Lokus Adı	Alel Büyüklük (Size) Aralığı	Alel Tipleri
	D1S1677	77 -117	9-19
	D2S441	78 -110	9 -17
	D4S2364	67 – 83	7-11
MİNİPLEX 1 NC01	D10S1248	79 -123	8-19
	D14S1434	70 -102	9-17
	D22S1045	76 -109	8-19

Lokus	Pozitif Kontrol DNA Örnekleri				SRM 239 1b Bileşenleri							
	9947A	9948	ABI 007	K562	Genomic 1	Genomic 2	Genomic 3	Genomic 4	Genomic 5	Genomic 6	Genomic 7	Genomic 8
D1GATA113	11,12	7,12	12,12	11,12	11,11	12,13	11,11	13,13	11,12	11,12	10,12	10,12
D1S1627	13,14	11,13	11,14	10,14	10,14	13,14	13,14	11,12	14,15	11,13	11,14	13,14
D1S1677 (NC02)	13,14	13,14	13,13	13,14	12,13	14,16	14,17	14,15	13,14	13,14	12,13	14,16
D2S441 (NC02)	10,14	11,12	14,15	10,14	11,14	11,14	10,14	12,14	11,14	10,11	11,14	11,11,3
D2S1776	10,10	10,12	8,10	11,11	11,12	11,11	8,10	11,12	12,13	11,12	11,12	11,12
D3S3053	9,11	9,12	9,9	12,12	9,12	10,11	9,11	11,11	11,11	9,9	11,11	9,9
D3S4529	13,13	12,12	13,13	14,14	14,15	13,16	14,16	15,16	13,15	15,17	14,16	14,14
D4S2364 (NC02)	9,10	9,10	9,10	9,9	9,9	9,10	9,10	9,9	9,10	8,9	9,9	9,9
D4S2408	9,10	10,10	10,11	10,11	10,10	9,9	8,9	9,10	10,11	9,9	8,11	11,11
D5S2500	14,23	14,17	17,18	14,14	17,18	17,24	17,18	17,18	14,15	14,18	14,20	14,18
D6S474	14,18	17,17	14,14	15,18	15,17	14,17	14,15	14,16	15,18	14,17	15,17	17,17
D6S1017	9,10	8,8	10,10	8,11	10,10	10,12	10,12	7,10	8,9	10,10	7,12	10,12
D8S1115	9,18	15,17	15,17	16,16	16,16	16,16	16,17	9,17	9,15	9,16	9,18	15,16
D9S1122	12,13	12,15	12,12	10,14,15	11,12	12,13	12,12	12,12	11,13	11,12	11,12	13,13
D9S2157	7,13	7,11	13,13	13,13	8,13	9,11	11,13	11,11	7,14	11,13	12,15	11,11
D10S1248 (NC01)	13,15	12,15	12,15	12,12	14,16	13,15	13,16	12,12	14,15	14,15	13,14	11,15
D10S1435	10,11	12,13	11,13	10,12	13,13	11,14	13,14	12,12	11,12	12,12	12,12	11,13
D11S4463	12,13	12,14	14,14	13,14	14,14	13,14	14,15	11,12	13,15	15,16	13,14	13,16
D12ATA63	13,13	13,18	13,17	17,17	14,17	13,17	12,15	16,18	13,15	14,18	16,17	14,15
D14S1434 (NC01)	11,13	13,14	11,14	10,10	13,14	11,13	14,15	10,11	13,14	13,14	10,14	13,13
D17S974	7,10	10,11	9,10	8,8	9,11	9,10	9,9	7,9	11,12	9,9	11,11	8,9*
D17S1301	12,12	11,12	12,13	11,12	11,11	11,12	11,12	12,13	11,11	11,11	11,12	12,12
D18S853	11,14	11,11	11,11	12,15	11,14	11,11	11,11	11,13	10,15	11,14	14,14	12,13
D20S482	14,15	13,14	14,15	15,15	14,14	14,16	15,15	14,15	14,15	14,14	14,14	15,16
D20S1082	11,14	11,15	12,14	11,11	11,15	14,15	11,11	14,15	11,14	11,15	14,15	11,15
D22S1045 (NC01)	11,14	16,18	11,16	16,16	14,15	11,16	15,16	17,18	11,14	11,15	11,15	16,17

Şekil 14. Pozitif kontrol DNA genotipleri

(http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR/miniSTR_NC_loci_types.htm)

3.9. Örneklerin İstatistiksel Analizi

200 kişinin 6 miniSTR lokusunun istatistiksel analizi PowerStats V.1.2 (Promega Cooperation) programı kullanılarak yapıldı. Programın çalışma sayfası sekmeleri yeni isimlere karşılık gelecek şekilde manuel olarak değiştirildi. İlk sütuna örnek adı yazıldı. İkinci ve üçüncü sütun her bir örnekte bulunan iki alel içindir (her iki alel de ilk olarak girilebilir). Bu çalışmada gönüllülerden alınan kan örneklerinin ABI genetik analizör cihazında analiz sonucu elde edilen her lokusa ilişkin genotip verileri “Genotype” (Genotip) çalışma sayfasında Kafkas popülasyonu için ayrılan sütuna girildi. Çalışma sayfası ile aleller otomatik olarak belirlendi. Genotip çalışma sayfasına girilen aleller tamamlandığında otomatik olarak grafik hazırlandı ve her bir lokusun Türkiye toplumundaki alel sıklıkları, homozigotluk (Ho), heterozigotluk (He) oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği (Polymorphysm Information Content, PIC), eşleşme olasılığı (probability of match, PM), ayırt etme gücü (power of discrimination, PD), dışlama gücü (power of exclusion PE) ve babalık indeksi (typical paternity index, TPI) oranları hesaplandı. Daha sonra Arlequin 3.1 programı kullanılarak Hardy Weinberg Dengesine uyum hesaplandı.

Bir sonraki adımda ise Türkiye geneli alel sıklıkları Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (İtalya ve Almanya) popülasyonları ile karşılaştırıldı. Bunun için Z testinden yararlanıldı (Karaman S. 2009) (Filoglu G 1999).

$$Z = \frac{(P_1 - P_2)}{\sqrt{(P_1 \times (1 - P_1) / N_1) + (P_2 \times (1 - P_2) / N_2)}}$$

P₁: Birinci popülasyondaki ilgili alelin sıklığı

P₂: İkinci popülasyondaki ilgili alelin sıklığı

N₁: Birinci popülasyondaki birey sayısı

N₂ : İkinci popülasyondaki birey sayısı

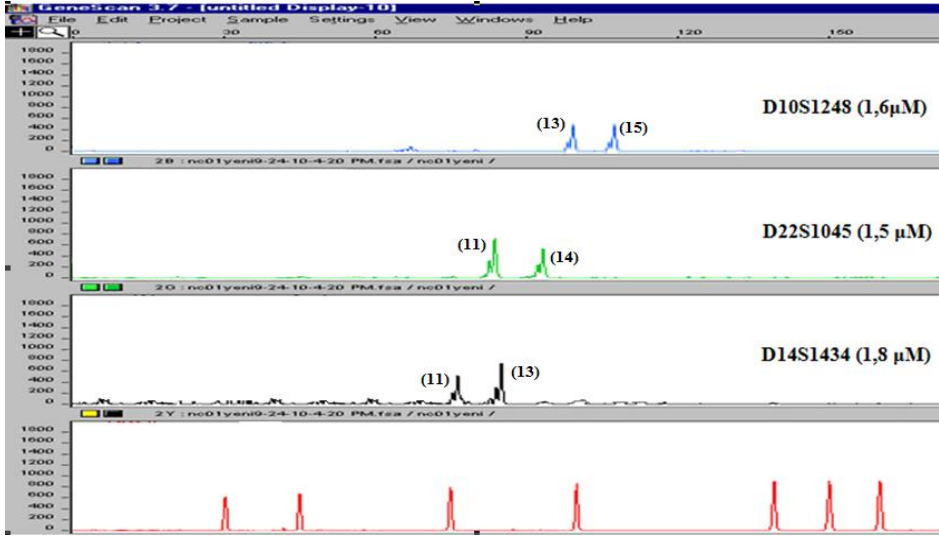
4. BULGULAR

Bu çalışmada, Türkiye İstatistik Kurumu 2010 yılı bölgelere göre nüfus dağılım verileri temel alınarak, Türkiye'nin tüm bölgelerini kapsayacak şekilde, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 'Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu'nu (Ek1) imzalayarak çalışmaya katılmayı kabul eden İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü öğrencileri ve gönüllü kişilerden oluşan toplam 200 kişiden alınan kan örneklerinde 6 yeni miniSTR lokusu (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) tiplendirildi.

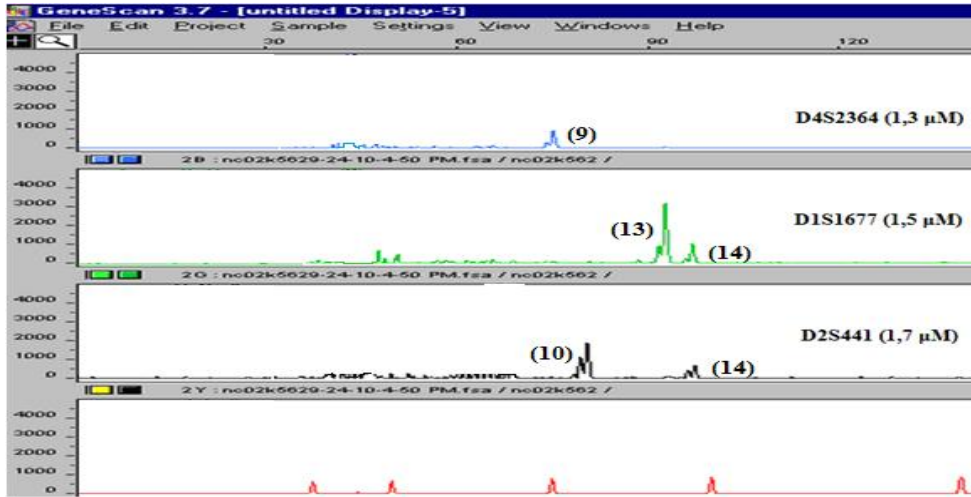
Elde edilen alel tipleri PowerStats V.1.2 (Promega Corporation) programı kullanılarak analiz edildi. Analizde; her bir lokusun Türkiye toplumundaki alel sıklıkları, homozigotluk (Ho), heterozigotluk (He) oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği (Polymorphysm Information Content, PIC), eşleşme olasılığı (probability of match, PM), ayırt etme gücü (power of discrimination, PD), dışlama gücü (power of exclusion PE) ve babalık indeksi (typical paternity index, TPI) oranları hesaplandı. Hardy Weinberg Dengesine uyum Arlequin 3.11 (Excoffier L. 2007) programında hesaplandı. Popülasyonlar arası karşılaştırma için Z testi uygulandı.

4.1. NCO1 ve NCO2 multiplekslerinde (çoklu lokus) kullanılan primer konsantrasyonları

Bu çalışmada NCO1 ve NCO2 multipleksleri, TopTaq™ Master Mix Kit, 6-FAM, TET, HEX floresan boylarıyla işaretli primerler ve Unsal T. ve arkadaşları tarafından 2011 yılında validasyonu ve optimizasyonları yapılmış primer konsantrasyonları kullanıldı (Şekil 15 ve 16).



Şekil 15: NC01 multipleksinin çalışma sonucuna ait elektroforegram.

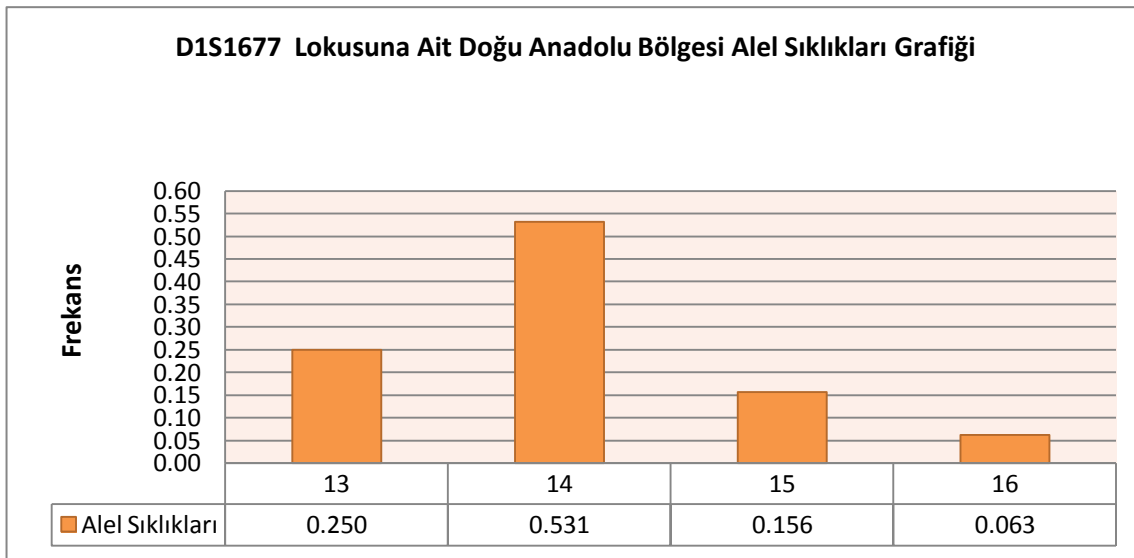


Şekil 16: NC02 multipleksinin çalışma sonucuna ait elektroforegram.

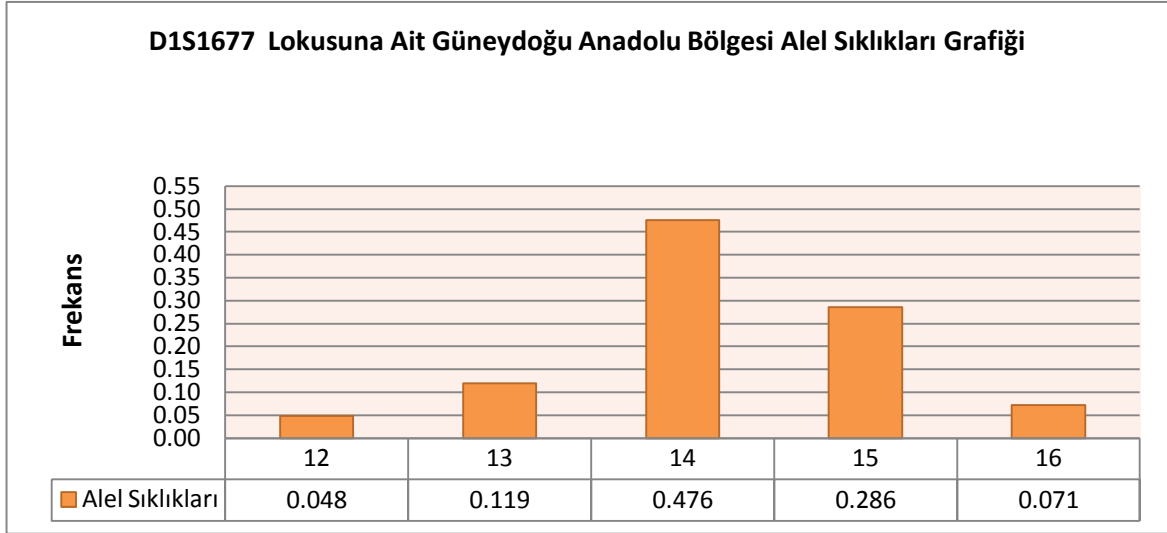
4.2. Yeni Mini STR (D1S1677, D2S441, D4S2364, D10S1248, D14S1434, D22S1045) Lokuslarına Ait Alel Sıklıkları ve İstatistiksel Verileri'nin Bölgesel ve Türkiye Sonuçları

4.2.1. D1S1677 Lokusuna Ait Bulgular

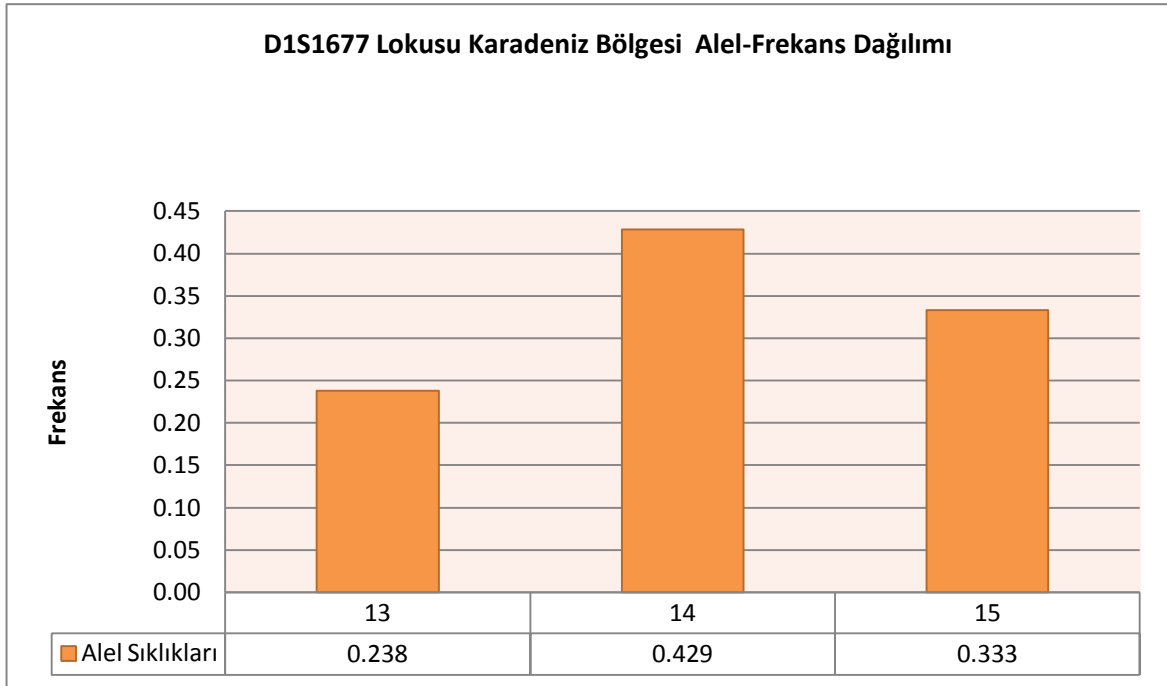
D1S1677 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 1-7'de Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 8'de verilmiştir. Bölgelere göre beklenen ve gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p değerleri Tablo 6'da yer almaktadır. D1S1677 lokusuna ait istatistik veriler Tablo 7'de gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 9'da ve Z testi verileri Tablo 8'de gösterilmiştir



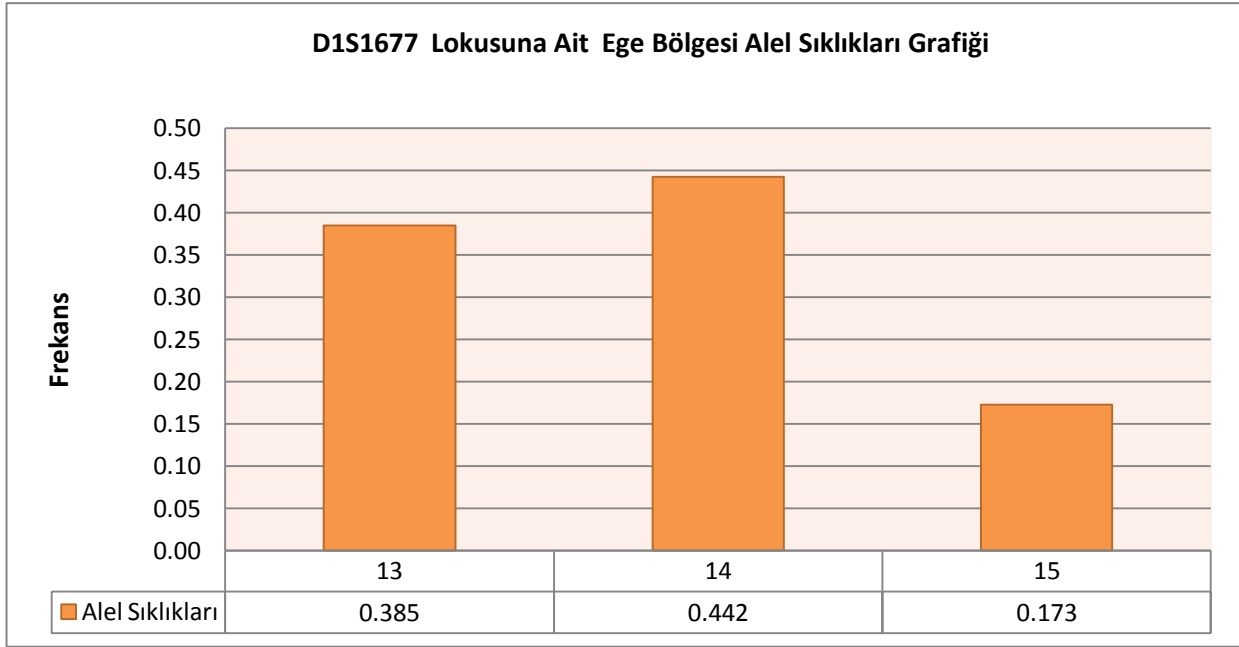
Grafik 1: D1S1677 lokusunun Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı: 16)



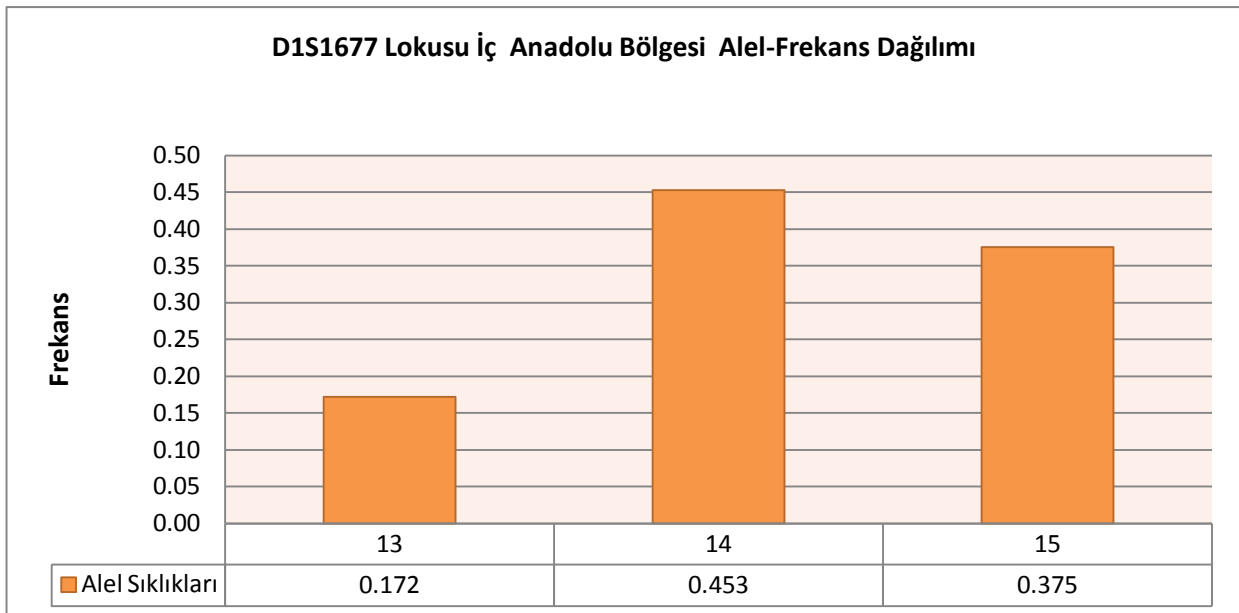
Grafik 2: D1S1677 lokusunun Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



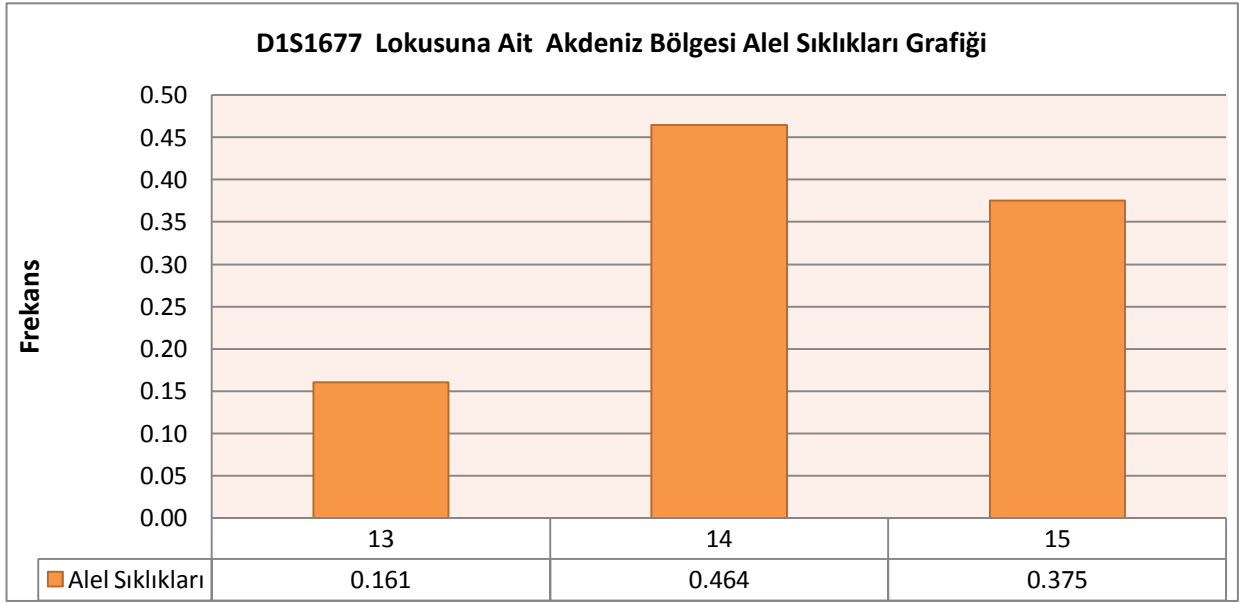
Grafik 3: D1S1677 lokusunun Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



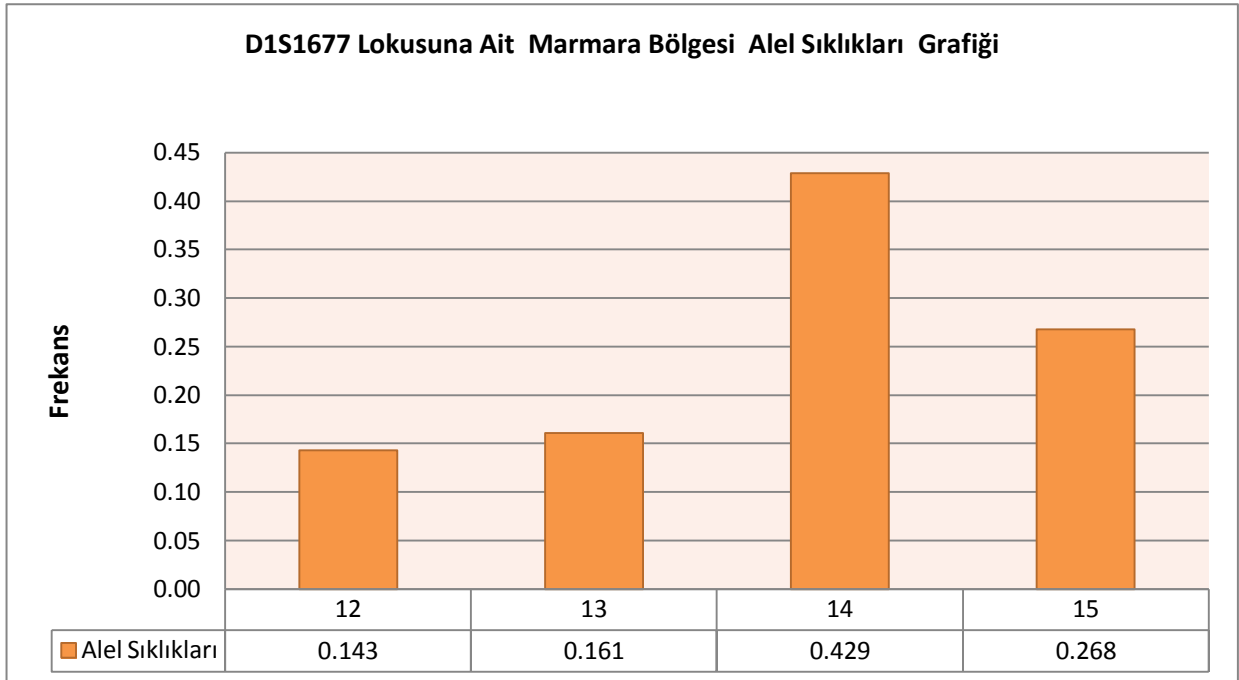
Grafik 4: D1S1677 lokusunun Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



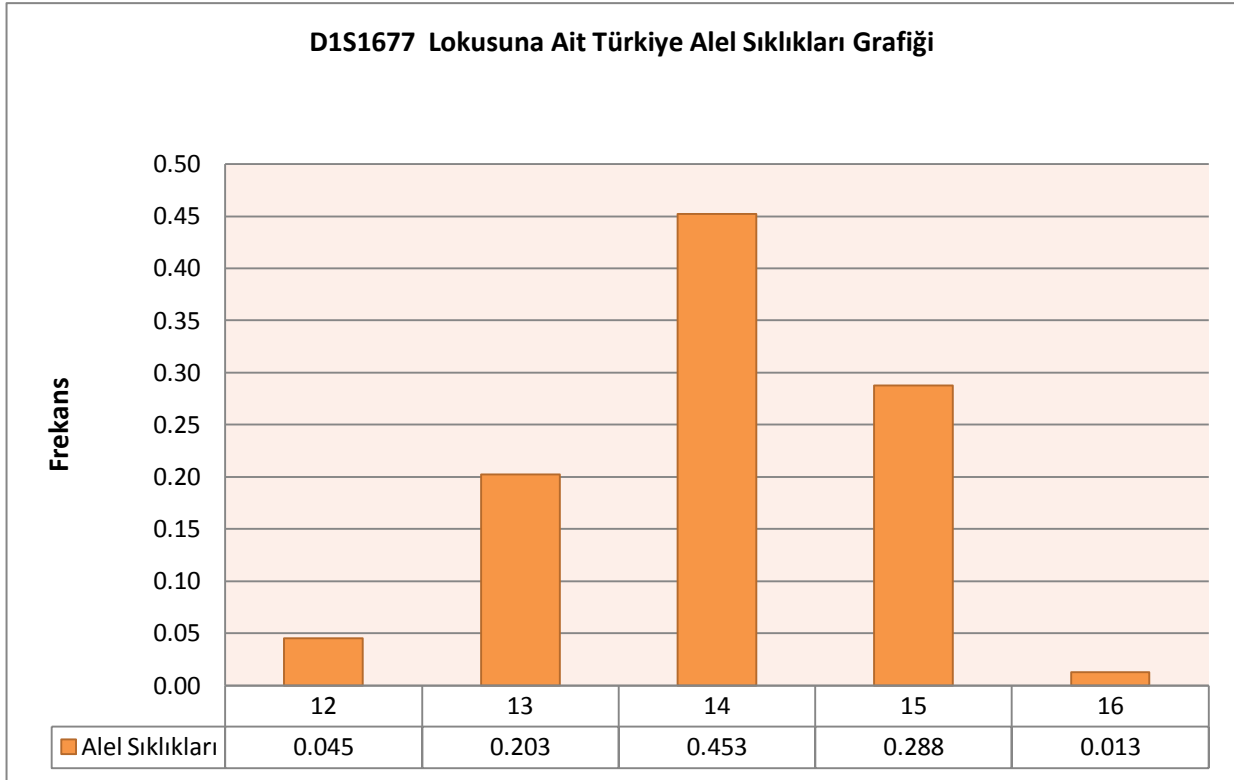
Grafik 5: D1S1677 lokusunun İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 6: D1S1677 lokusunun Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 7: D1S1677 lokusunun Marmara Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:56)



Grafik 8: D1S1677 lokusunun genel Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 6: D1S1677 Lokusunun Bölgelere Göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

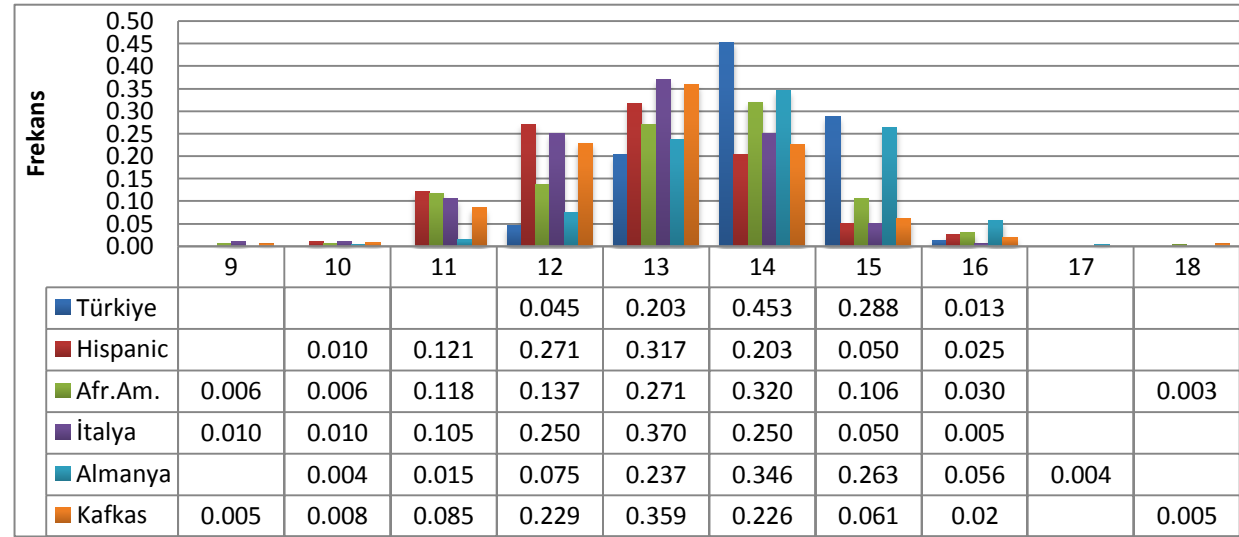
Bölge	Örnek Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	P Değeri	Standart Sapma
Doğu Anadolu	16	0.500	0.647	0.232	0.00110
Güneydoğu Anadolu	21	0.714	0.686	0.314	0.00044
Karadeniz	21	0.571	0.664	0.701	0.00046
Ege	26	0.615	0.638	0.683	0.00145
Akdeniz	28	0.392	0.629	0.150	0.00044
İç Anadolu	32	0.500	0.650	0.230	0.00110
Marmara	56	0.583	0.617	0.222	0.00110
Türkiye	200	0.568	0.665	0.540	0.00110

Tablo 7: D1S1677 Lokusunun İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oramı (Ho) (%)	Heterozigotluk Oramı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	50.00	50.00	0.570	0.211	0.789	0.188	1.000
Güneydoğu Anadolu	28.60	71.40	0.620	0.211	0.789	0.451	1.750
Karadeniz	42.90	57.10	0.570	0.188	0.812	0.258	1.170
Ege	38.50	61.50	0.550	0.210	0.790	0.310	1.300
İç Anadolu	62.50	37.50	0.550	0.215	0.785	0.099	0.800
Akdeniz	46.00	54.00	0.610	0.171	0.829	0.225	1.000
Marmara	39.30	60.70	0.650	0.173	0.827	0.300	1.270
Türkiye Geneli	29.90	70.01	0.750	0.017	0.829	0.225	1.090

Türkiye Toplumuna Ait D1S1677 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Populasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D1S1677 lokusu için toplam 5 alel (12, 13, 14, 15, 16) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok 14. alel görülmüştür. Ülkemizde görülen aleller karşılaştırma yapılan tüm popülasyonlarda görülmektedir.

**Grafik 9:** D1S1677 lokusunun Türkiye alel sıklıklarının diğer populasyonlarla karşılaştırılması

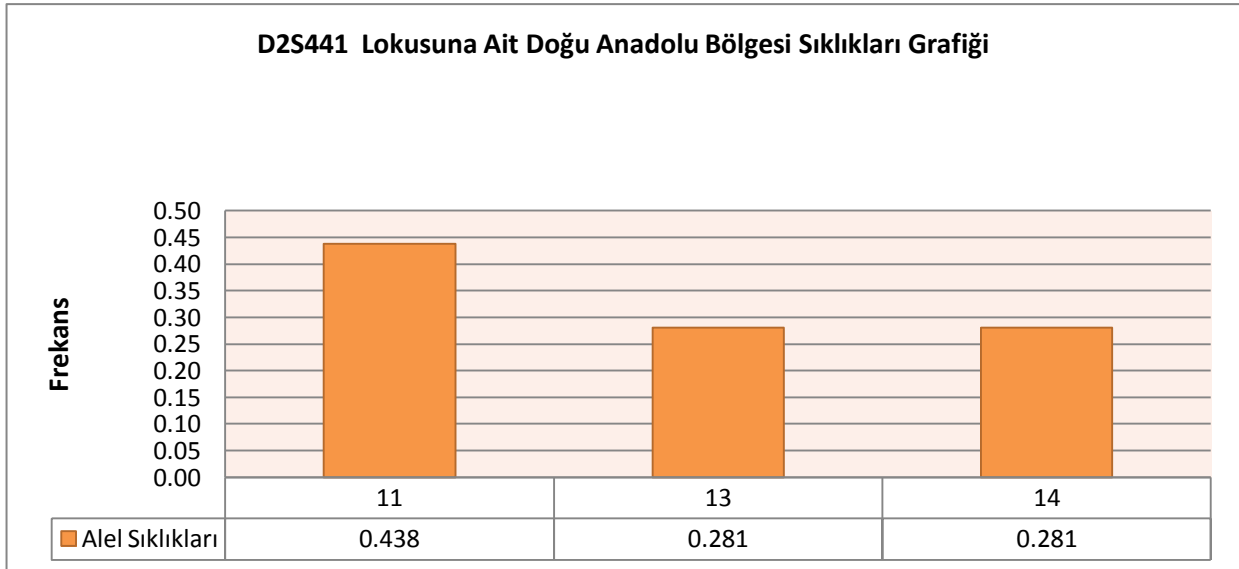
Tablo 8: Türkiye geneli D1S1677 lokusu alel sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D1S1677 Lokusu					
Aleller	Latin (N=140)	Afroamerikan(N=164)	İtalya (N=100)	Almanya(N=133)	Kafkas (N=170)
12	-5.605	-3.007	-4.484	-1.105	-5.197
13	-2.349	-1.515	-2.980	-0.730	-3.355
14	5.109	2.626	3.638	1.973	4.767
15	6.443	4.546	6.145	0.502	6.150
16	-0.777	-1.094	0.750	-2.001	-0.523

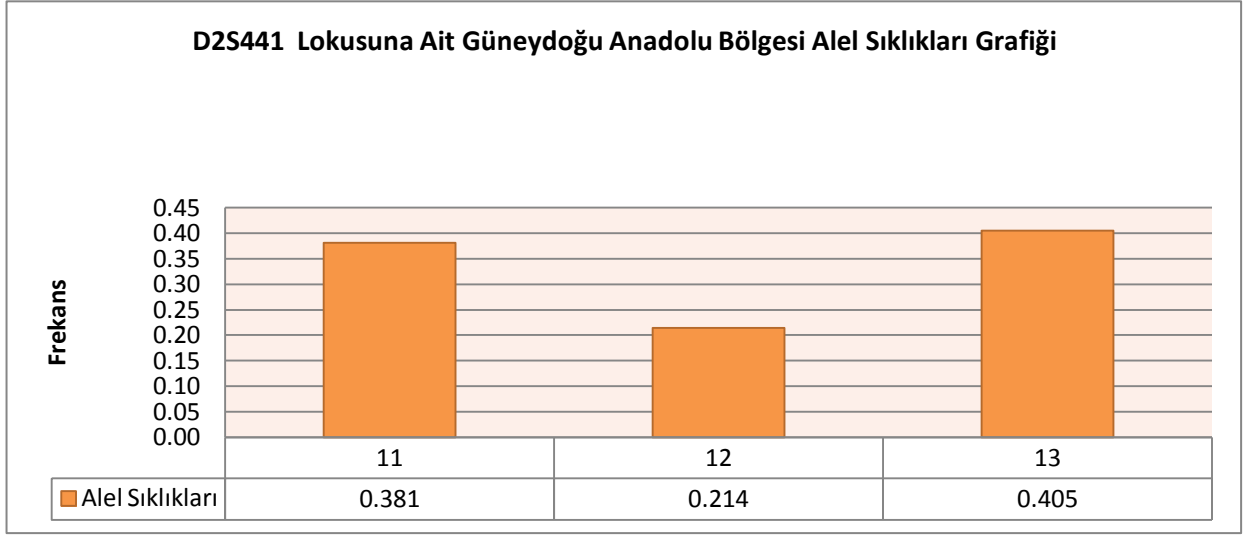
*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.2.2. D2S441 Lokusuna Ait Bulgular

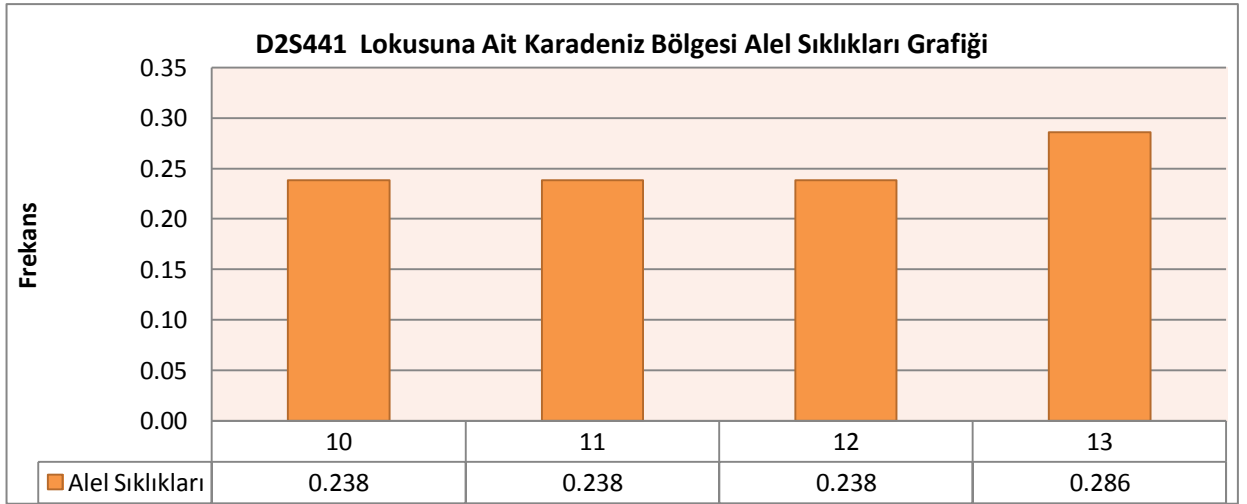
D2S441 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 10-16'da Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 17'de verilmiştir. Bölgelere göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve p değerleri Tablo 9'da yer almaktadır. D2S441 lokusuna ait istatistik veriler Tablo 10'da gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 18'de ve Z testi verileri Tablo 11'de gösterilmiştir.



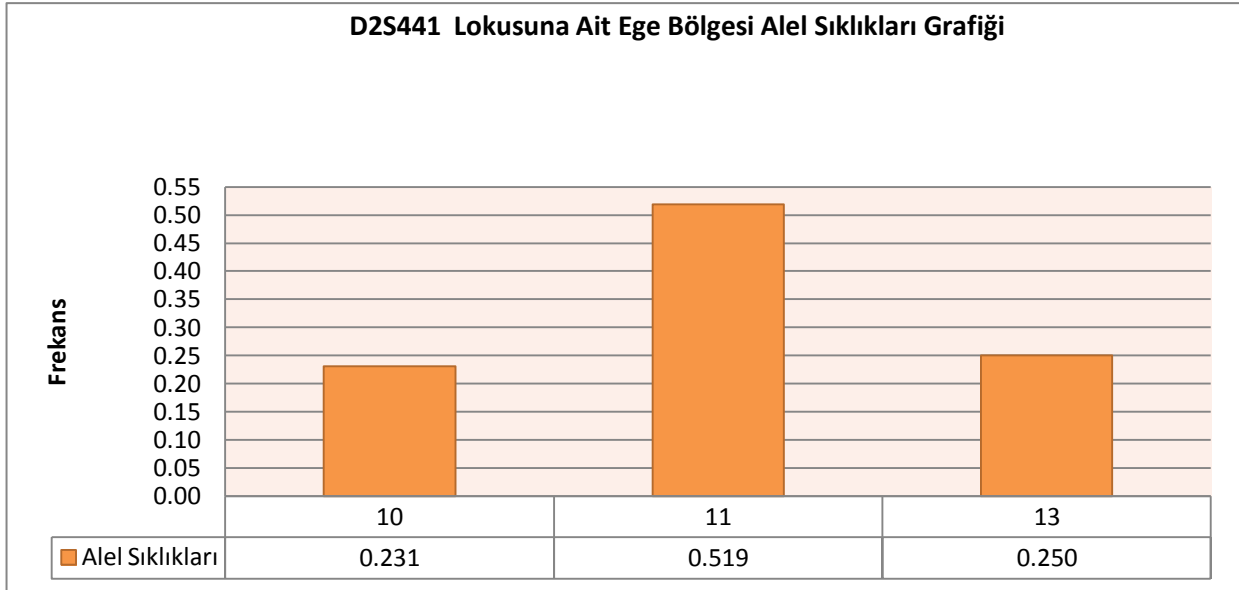
Grafik 10: D2S441 lokusunun Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (*Gönüllü sayısı:16)



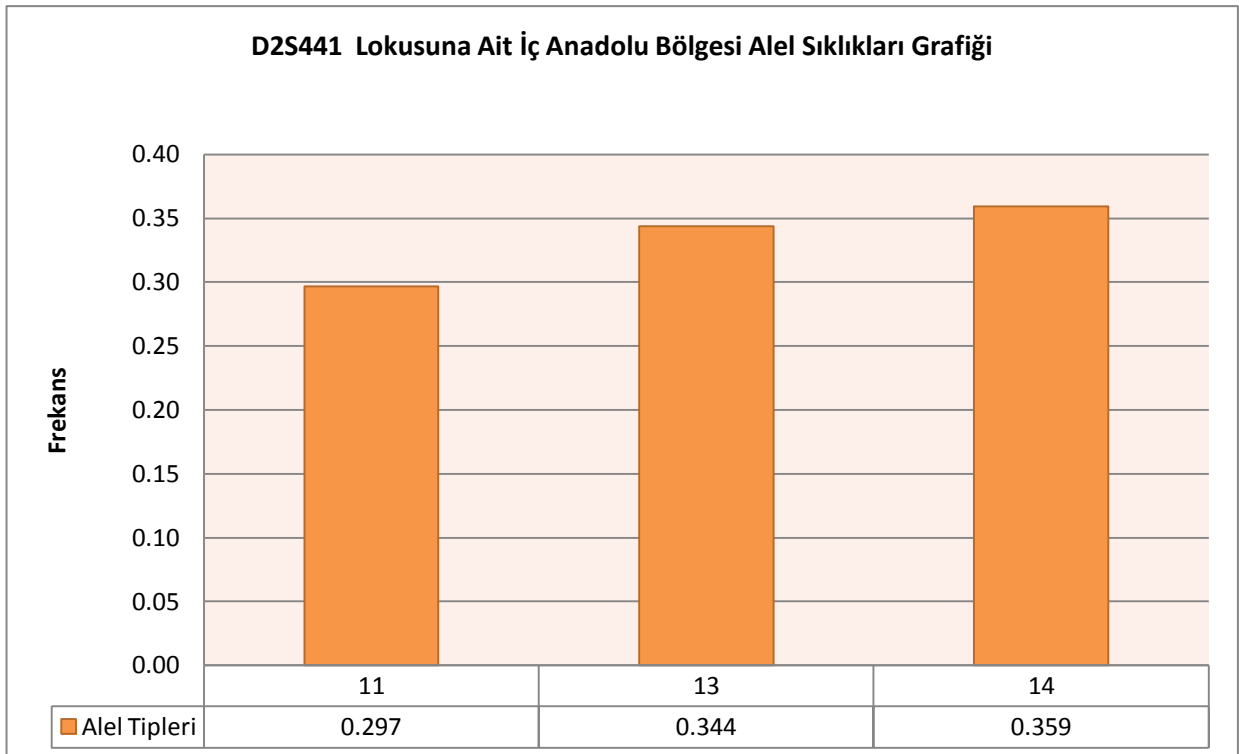
Grafik 11: D2S441 lokusunun Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



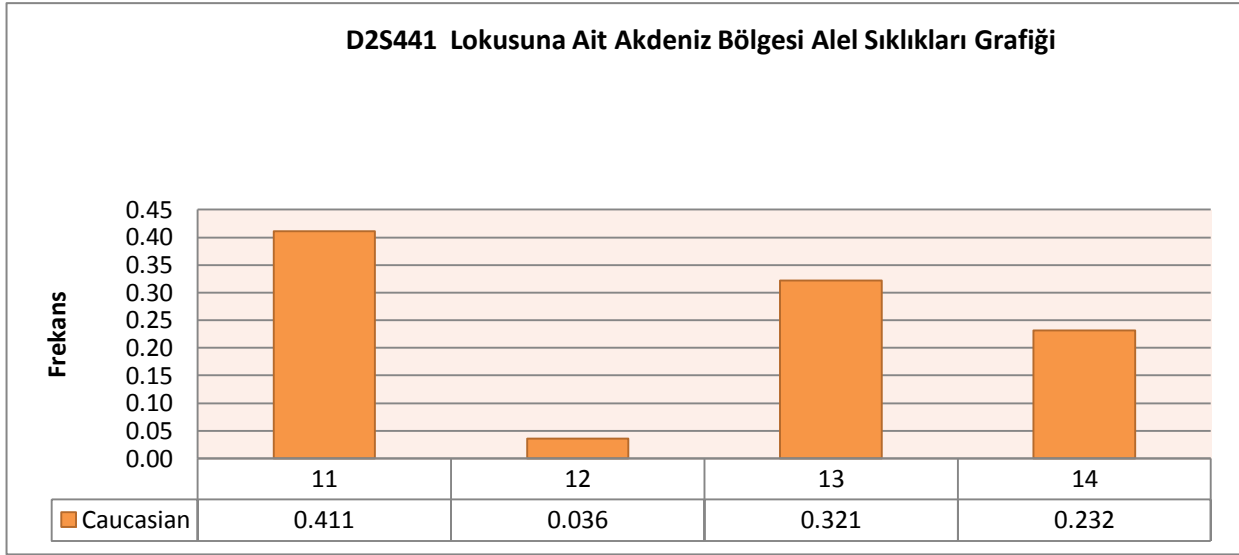
Grafik 12: D2S441 lokusunun Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



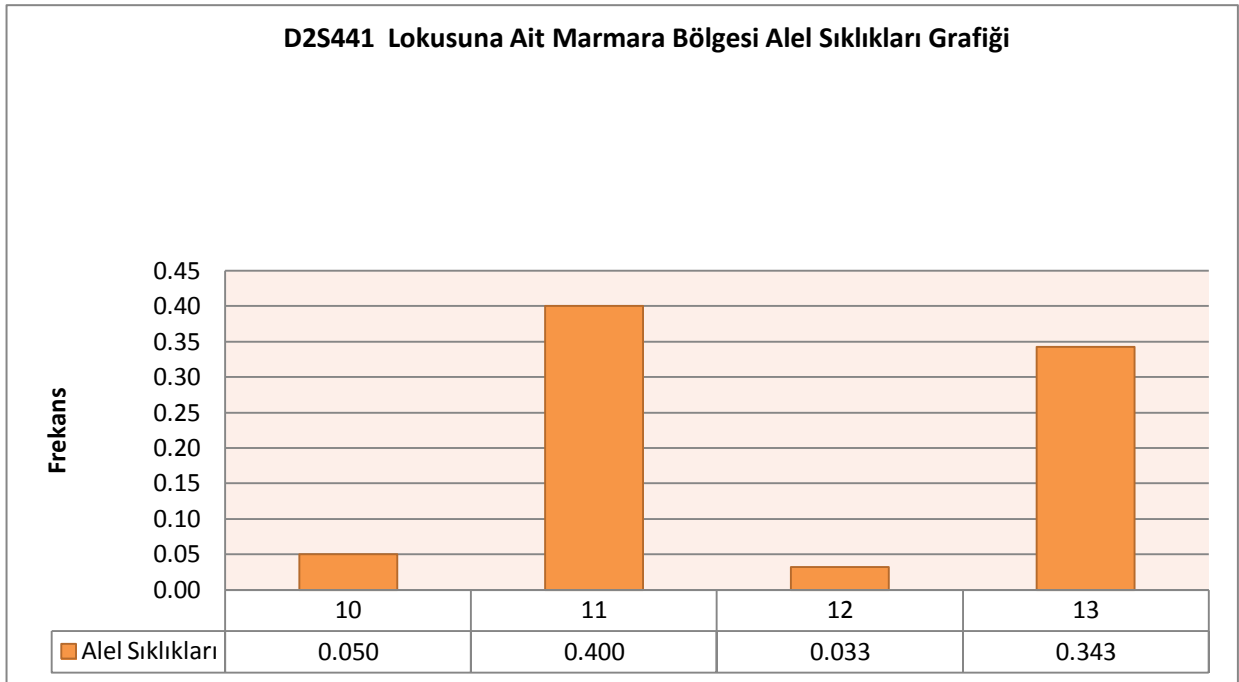
Grafik 13: D2S441 lokusunun Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



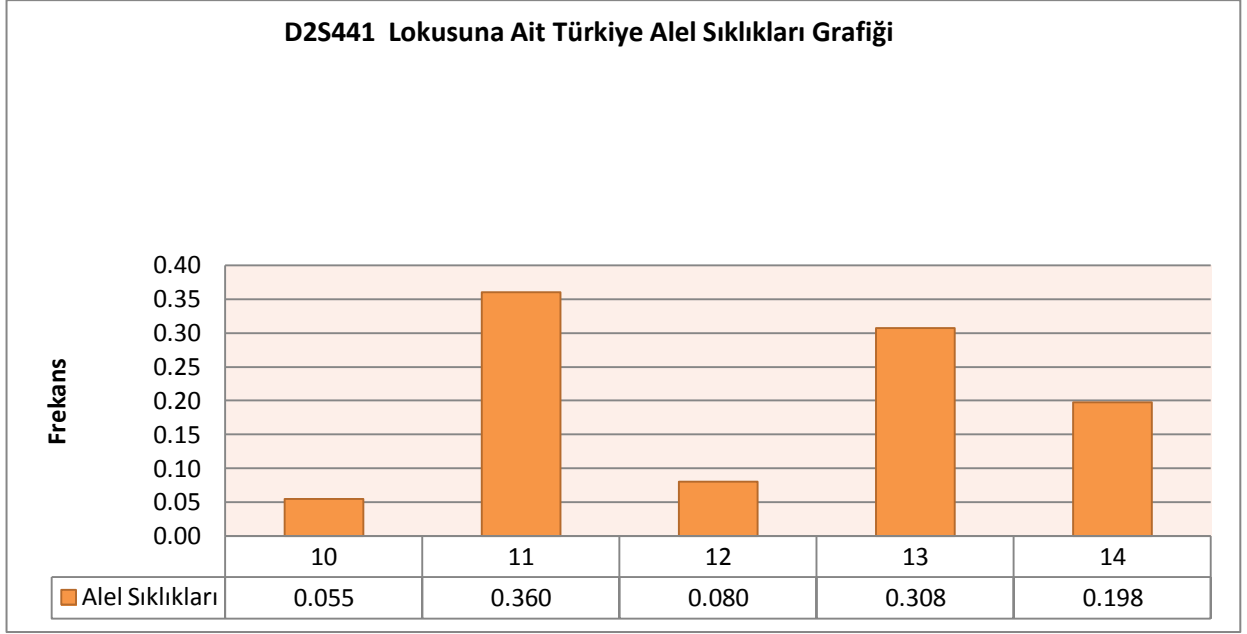
Grafik 14: D2S441 lokusunun İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 15: D2S441 lokusunun Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 16: D2S441 lokusunun Marmara Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:56)



Grafik 17: D2S441 lokusunun Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 9: D2S441 Lokusu Bölgelere göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

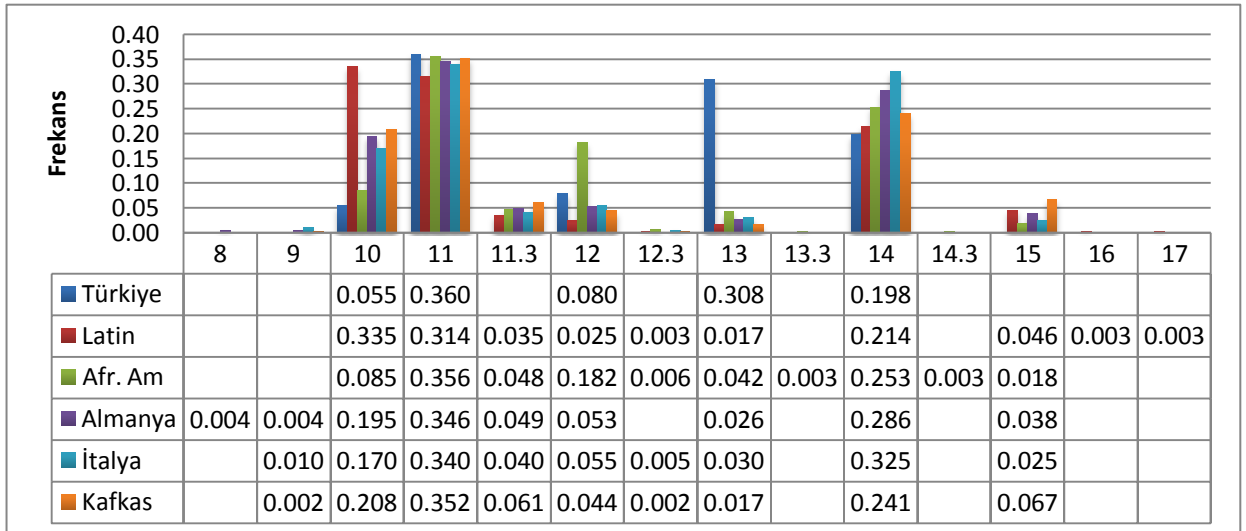
Bölge	Örnek Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	p Değeri	Standart Sapma
Doğu Anadolu	16	0.625	0.697	0.118	0.00081
Güneydoğu Anadolu	21	0.285	0.371	0.538	0.00152
Karadeniz	21	0.333	0.642	0.222	0.00110
Ege	26	0.692	0.626	0.274	0.00151
Akdeniz	28	0.695	0.592	0.476	0.00044
İç Anadolu	32	0.562	0.673	0.120	0.00095
Marmara	56	0.589	0.635	0.197	0.00110
Türkiye	200	0.675	0.676	0.492	0.00072

Tablo 10: D2S441 Lokusu İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oranı (Ho) (%)	Heterozigotluk Oranı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	37.50	62.50	0.580	0.242	0.758	0.322	1.330
Güneydoğu Anadolu	14.30	85.70	0.570	0.288	0.712	0.709	3.500
Karadeniz	14.30	85.70	0.700	0.143	0.857	0.709	3.500
Ege	30.08	69.20	0.550	0.260	0.740	0.416	1.630
İç Anadolu	18.80	81.30	0.590	0.262	0.738	0.622	2.670
Akdeniz	35.70	64.30	0.610	0.184	0.816	0.345	1.400
Marmara	14.03	85.70	0.660	0.168	0.832	0.709	3.500
Türkiye	22.00	78.00	0.680	0.136	0.864	0.562	2.270

Türkiye Toplumuna Ait D2S441 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Popülasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D2S441 lokusu için toplam 5 alel (10, 11, 12, 13, 14) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok görülen alel 11. aleldir. Ülkemizde görülen aleleler karşılaştırma yapılan tüm popülasyonlar da görülmektedir.

**Grafik 18:** D2S441 lokusu Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlarla karşılaştırılması

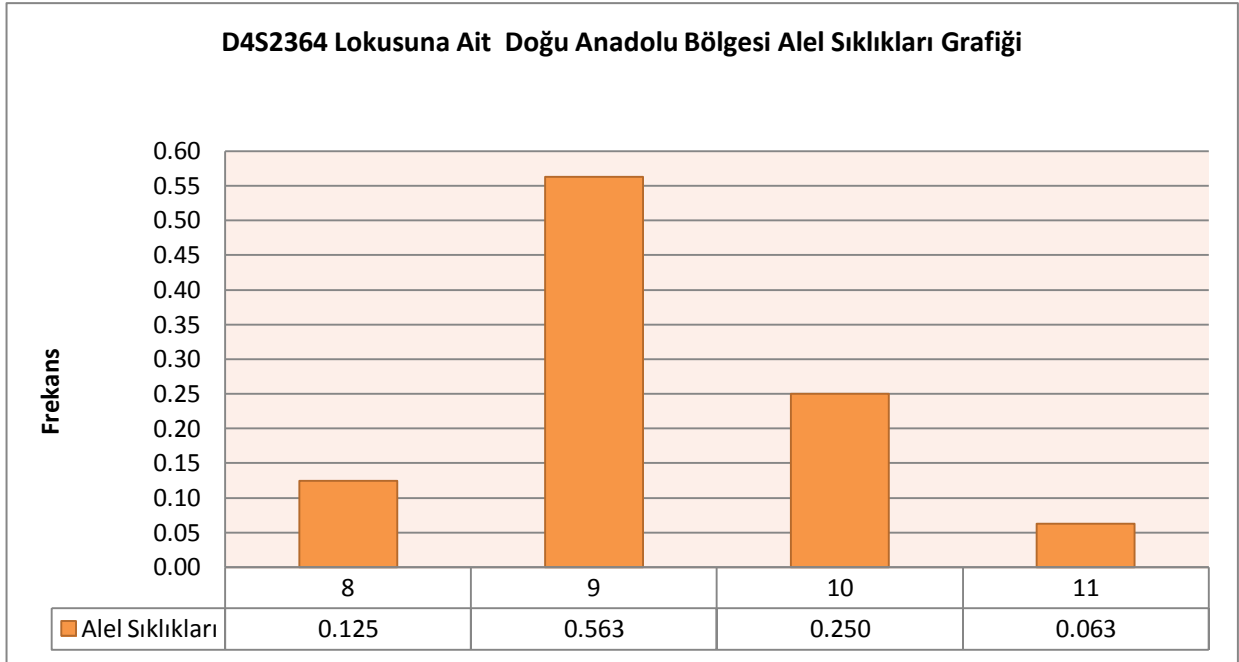
Tablo 11: Türkiye geneli D2S441 lokusu alel sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D2S441 Lokusu					
Aleller	Latin (N=140)	Afroamerikan (N=164)	İtalya (N=100)	Almanya (N=133)	Kafkas (N=170)
10	-6.508	-1.107	-2.813	-3.689	0.208
11	0.887	0.079	0.343	0.262	0.352
12	2.362	-2.856	0.839	0.989	0.044
13	8.453	7.346	7.548	7.957	0.017
14	-0.358	-1.247	-2.323	-1.823	0.241

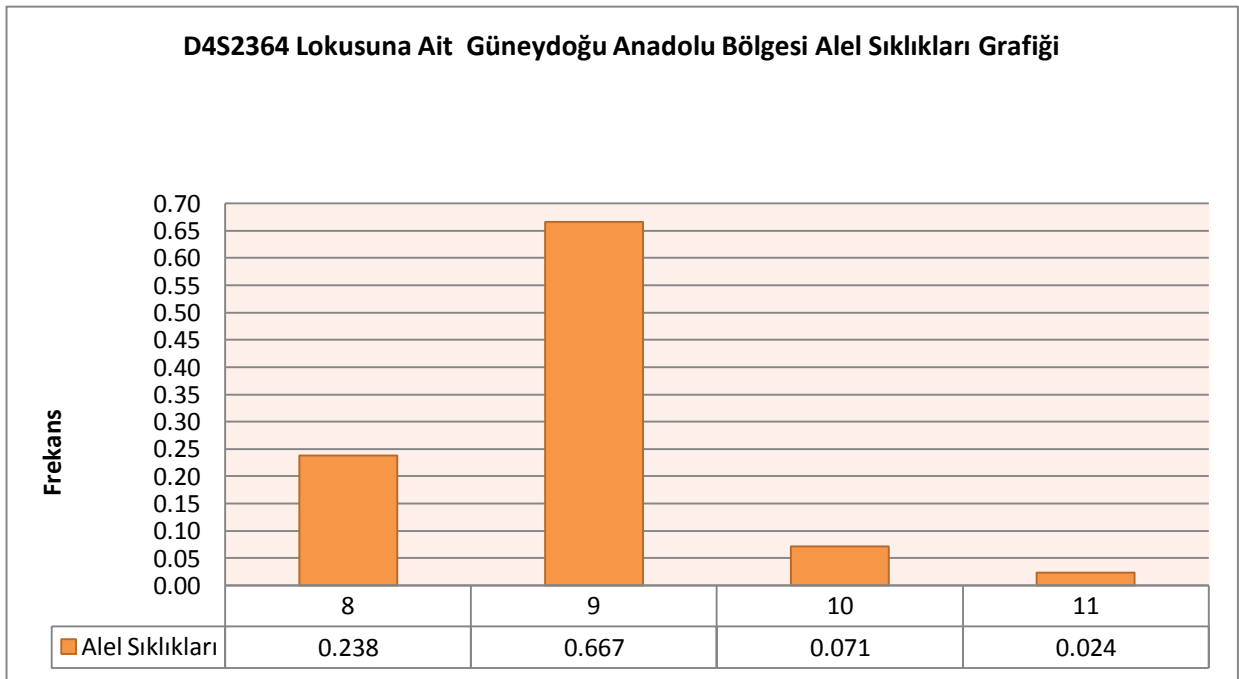
*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.2.3. D4S2364 Lokusuna Ait Bulgular

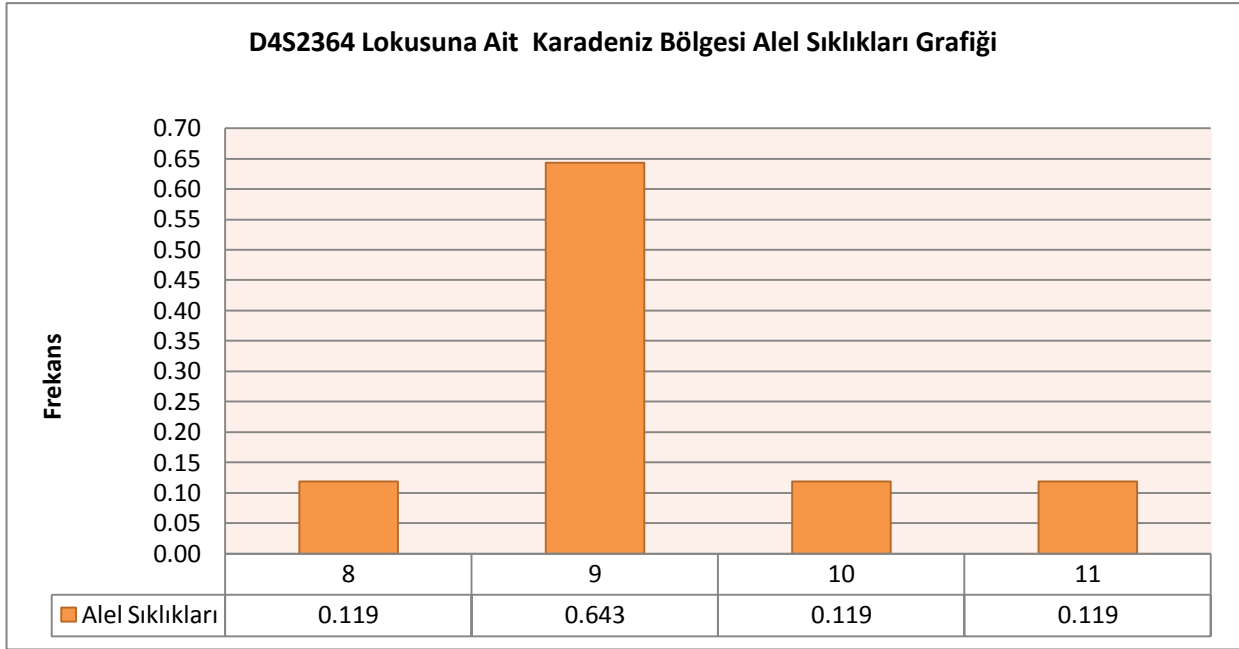
D4S2364 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 19-25’de Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 26’da verilmiştir. Bölgelere göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri Tablo 12’de yer almaktadır. D4S2364 lokusuna ait istatistik verileri Tablo 13’de gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 27’de ve Z testi verileri Tablo 14’de gösterilmiştir.



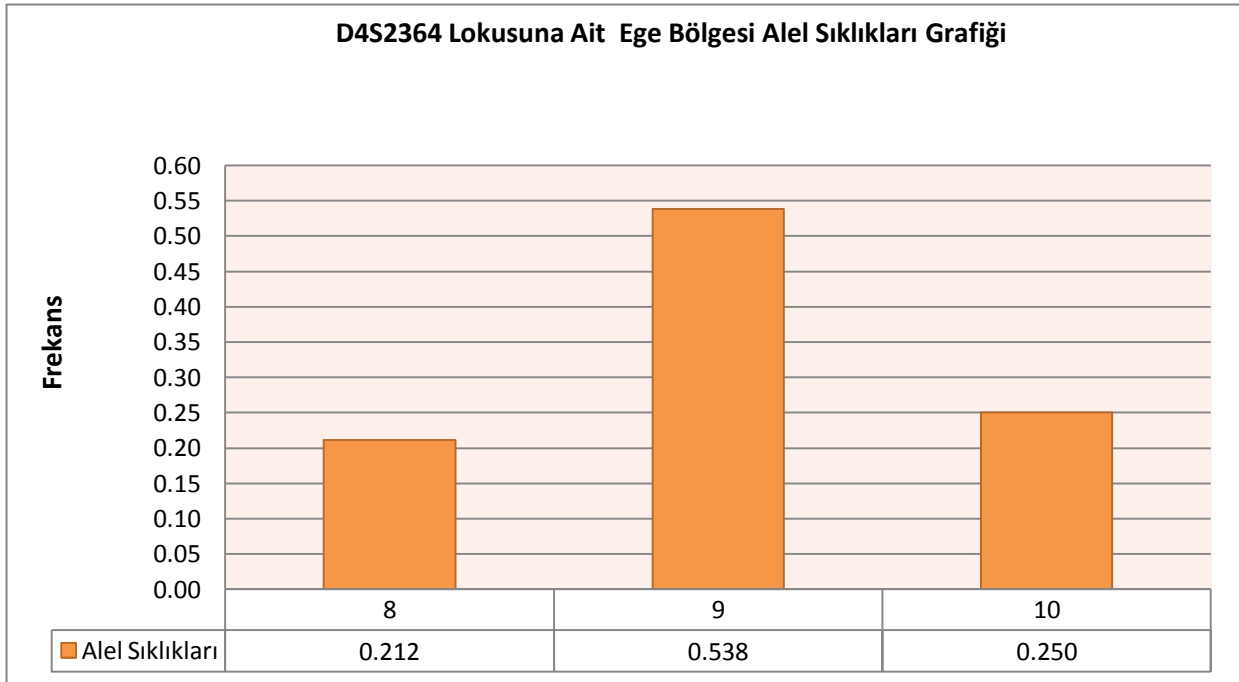
Grafik 19: D4S2364 lokusunun Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları(Gönüllü sayısı:16)



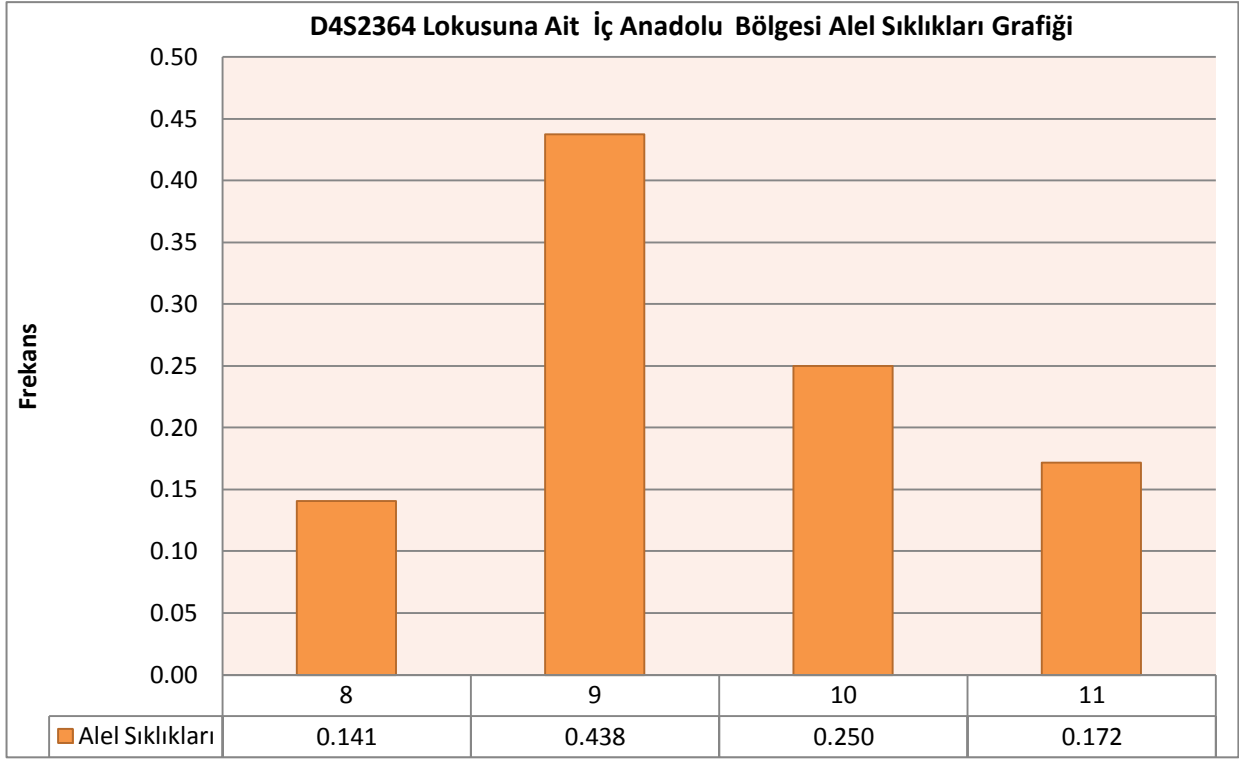
Grafik 20: D4S2364 lokusunun Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



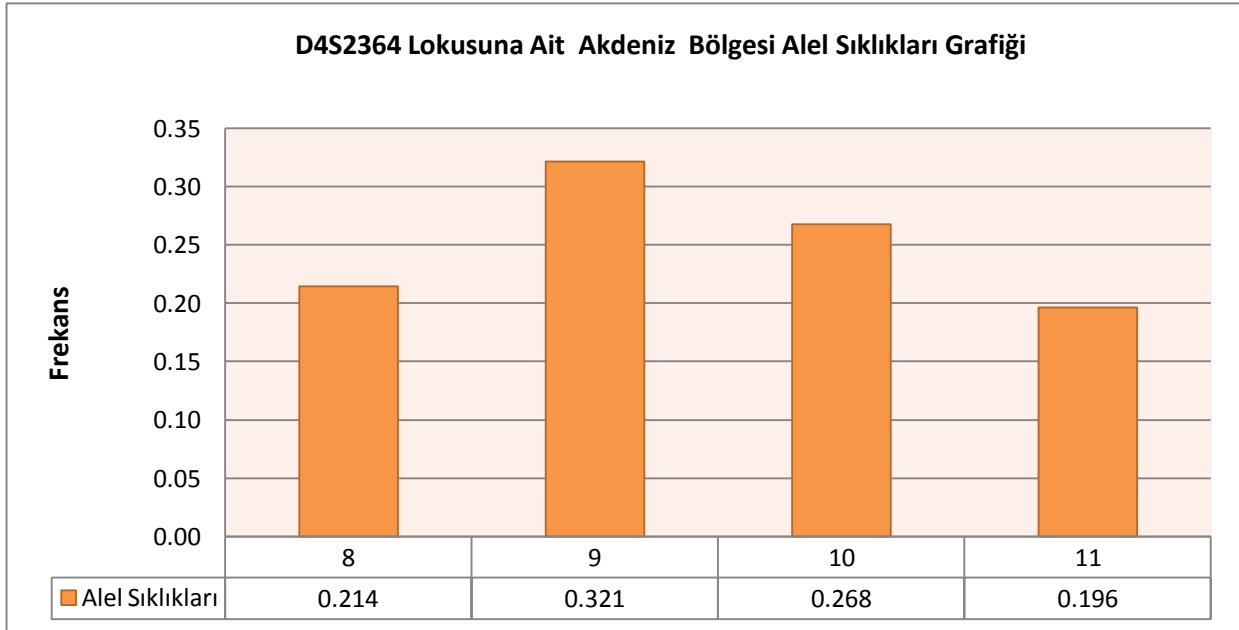
Grafik 21: D4S2364 lokusuna ait Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları(Gönüllü sayısı:21)



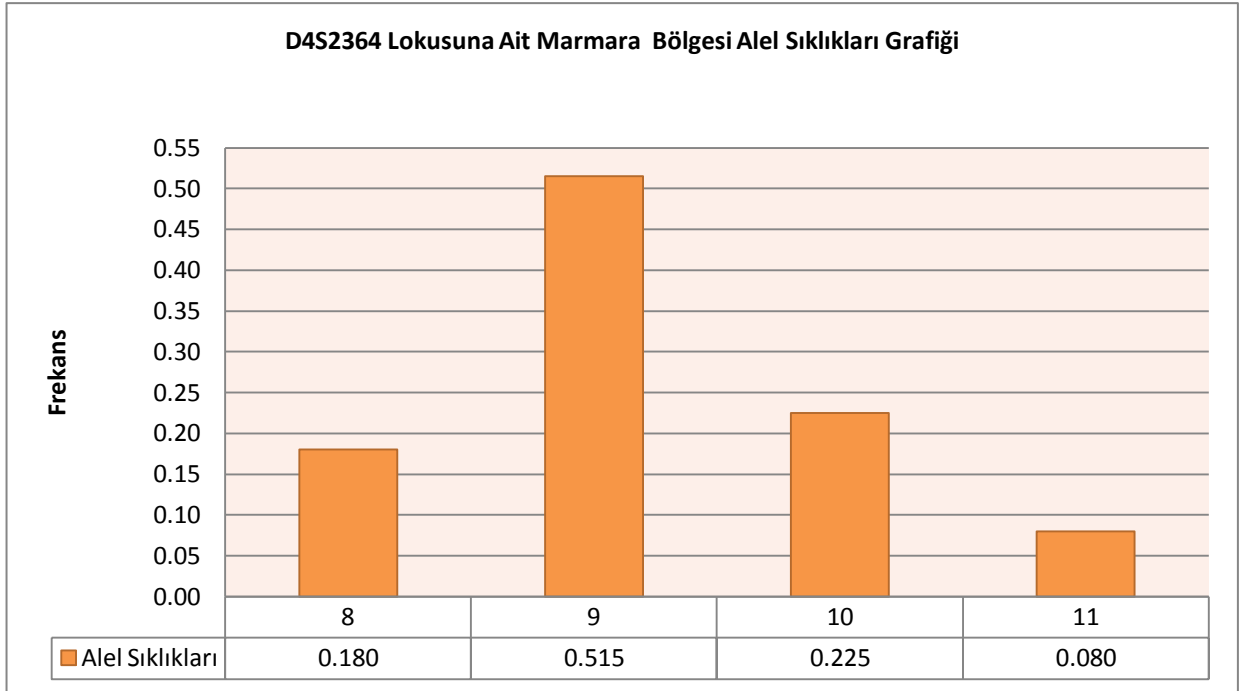
Grafik 22: D4S2364 lokusunun Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



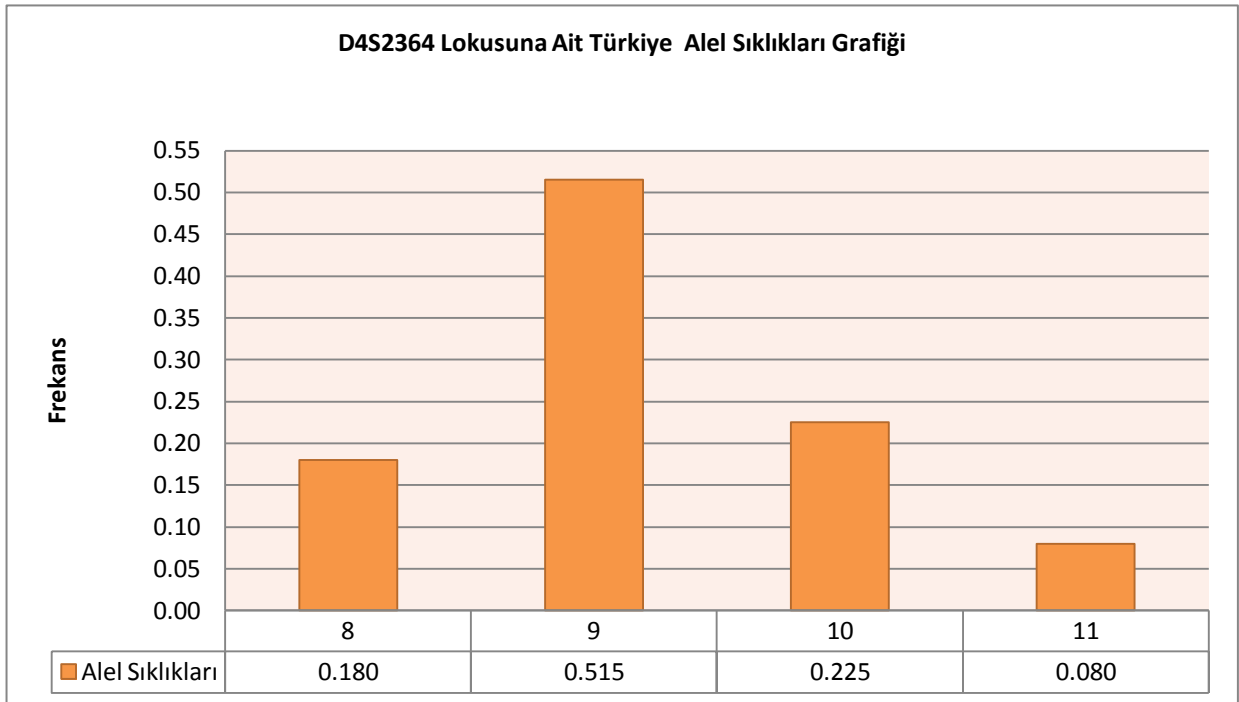
Grafik 23: D4S2364 lokusunun İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 24: D4S2364 lokusu Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 25: D4S2364 lokusunun Marmara Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:56)



Grafik 26: D4S2364 lokusu Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 12: D4S2364 Lokusu Bölgelere Göre Beklenen, Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve P Değerleri

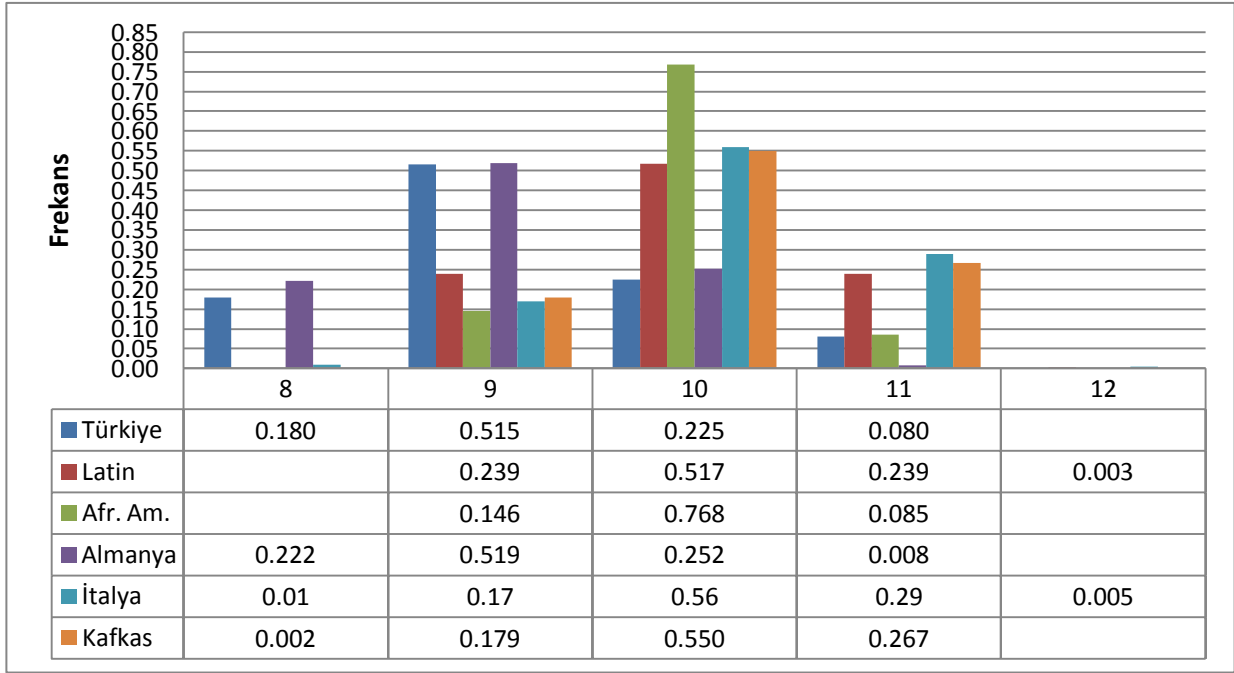
Bölge	Örnek Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	P Değeri	Standart Sapma
Doğu Anadolu	16	0.500	0.620	0.140	0.00108
Güneydoğu Anadolu	21	0.428	0.483	0.641	0.00154
Karadeniz	21	0.476	0.557	0.079	0.00073
Ege	26	0.674	0.614	0.266	0.00072
Akdeniz	28	0.607	0.666	0.149	0.00042
İç Anadolu	32	0.875	0.707	0.138	0.00104
Marmara	56	0.589	0.620	0.454	0.00130
Türkiye	200	0.660	0.645	0.131	0.00086

Tablo 13: D4S2364 Lokusu İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oranı (Ho) (%)	Heterozigotluk Oranı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	50.00	50.00	0.550	0.242	0.758	0.188	1.000
Güneydoğu Anadolu	57.10	42.90	0.440	0.306	0.694	0.132	0.880
Karadeniz	52.40	47.60	0.510	0.270	0.730	0.168	0.950
Ege	26.90	73.10	0.540	0.284	0.716	0.047	1.860
İç Anadolu	12.50	87.50	0.650	1.199	0.801	0.745	4.000
Akdeniz	10.70	89.30	0.690	0.189	0.811	0.781	4.670
Marmara	41.10	58.90	0.550	0.219	0.781	0.278	1.220
Türkiye	34.00	66.00	0.590	0.188	0.812	0.369	1.470

Türkiye Toplumuna Ait D4S2364 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Popülasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D4S2364 lokusu için toplam 4 alel (8, 9, 10 ve 11) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok görülen alel 9. aleldir. Latin ve İtalya popülasyonlarında tespit edilen 12. alel Türkiye’de görülmezken, 8. alel Türkiye’de gözlemlenmiş fakat Latin ve Afroamerikan toplumlarında rastlanmamıştır.



Grafik 27: D4S2364 lokusunun Türkiye al el sıklıklarının diğer popülasyonlarla karşılaştırılması

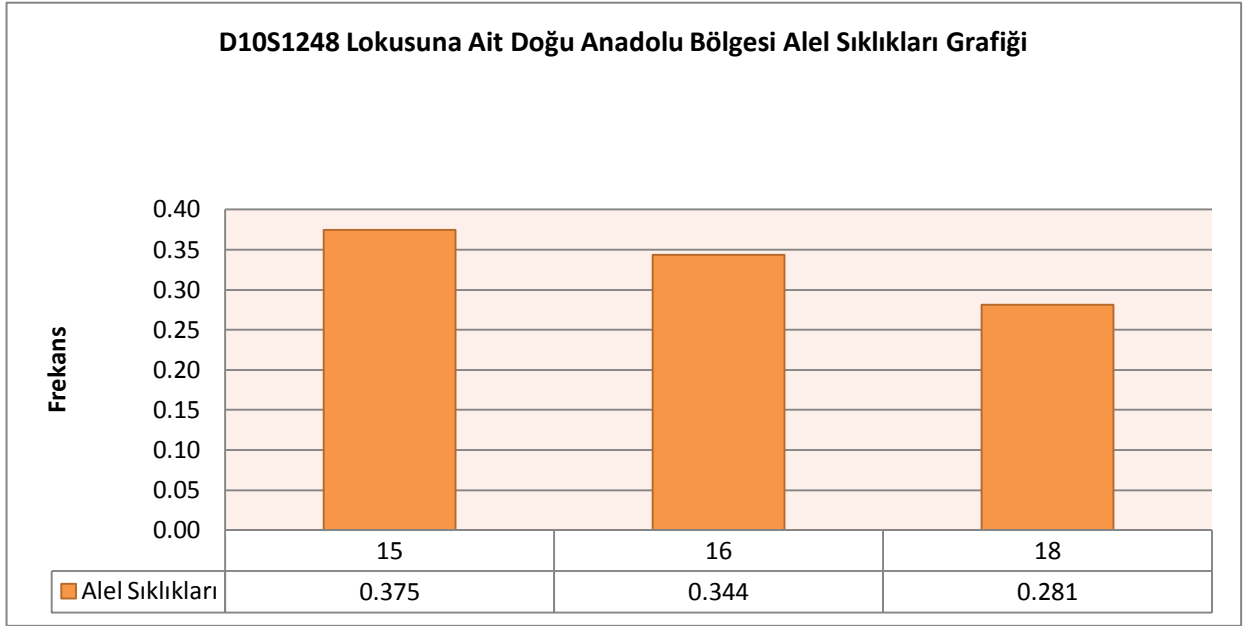
Tablo 14: Türkiye geneli D4S2364 lokusu al el sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D4S2364 Lokusu					
Allelleri	Latin (N=140)	Afroamerikan (N=164)	İtalya (N=100)	Almanya (N=133)	Kafkas (N=170)
8	-	-	5.876	-0.931	6.501
9	5.732	8.232	6.689	-0.072	7.309
10	-6.035	-1.270	-5.800	-0.564	-6.736
11	-4.193	3.482	-4.263	-0.172	-4.798

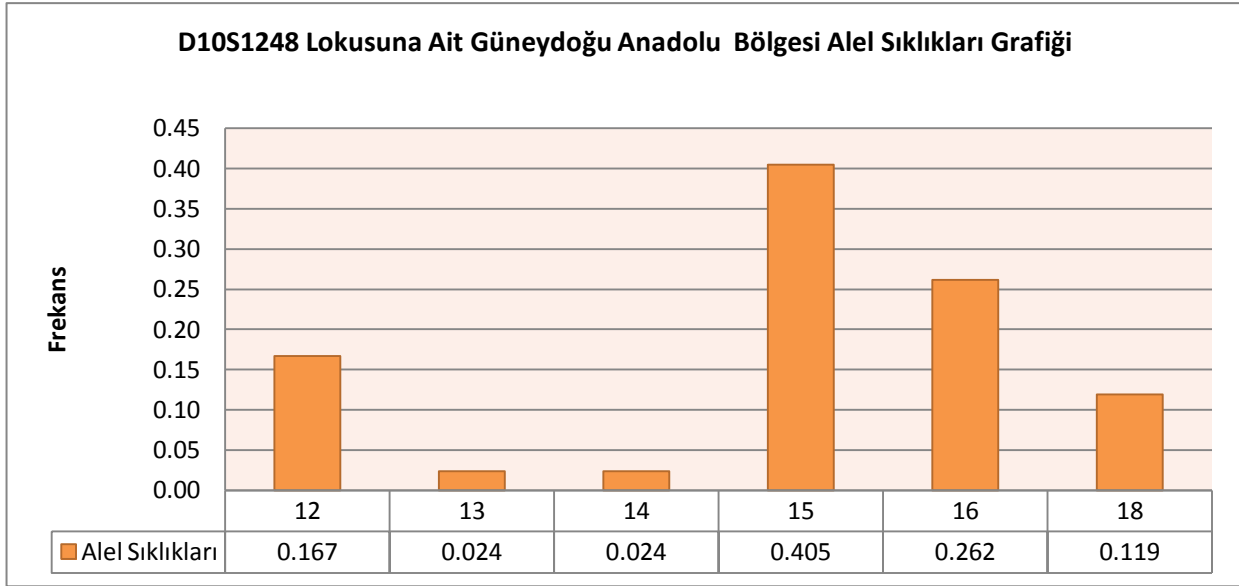
*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.2.4. D10S1248 Lokusuna Ait Bulgular

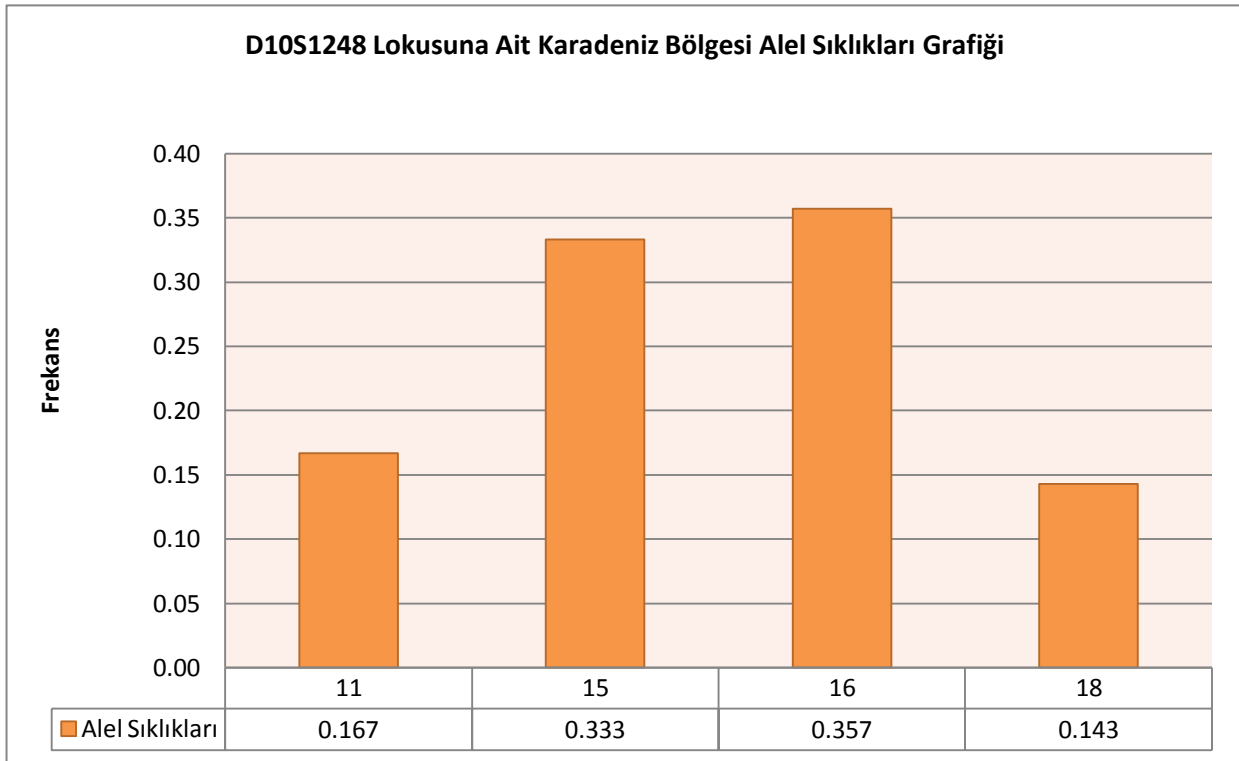
D10S1248 Lokusunun Bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 28- 34'de Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 35'de verilmiştir. Bölgelere göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve p değerleri Tablo 15'de yer almaktadır. D10S1248 lokusuna ait istatistik veriler Tablo 16'da gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 36'da ve Z testi verileri Tablo 17'de gösterilmiştir.



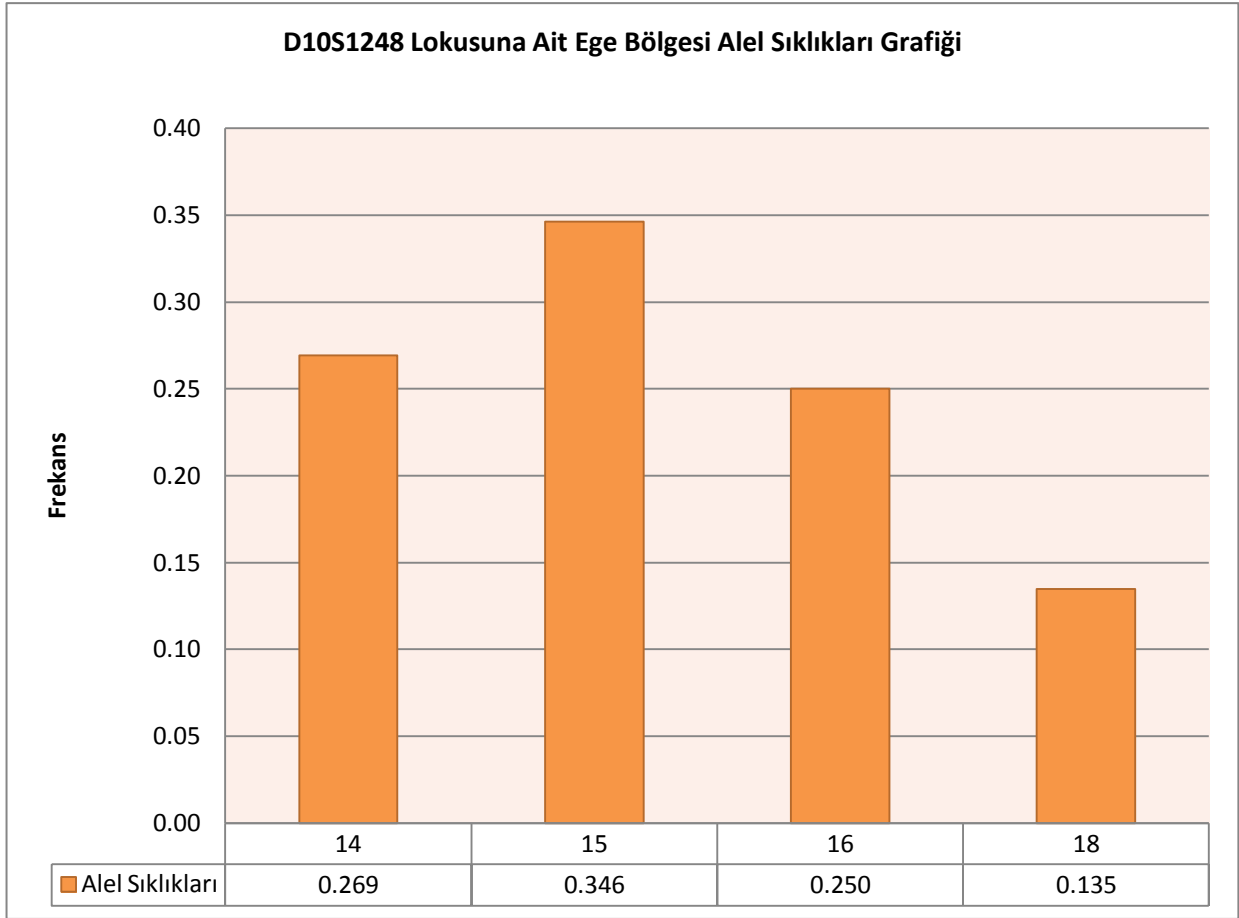
Grafik 28: D10S1248 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:16)



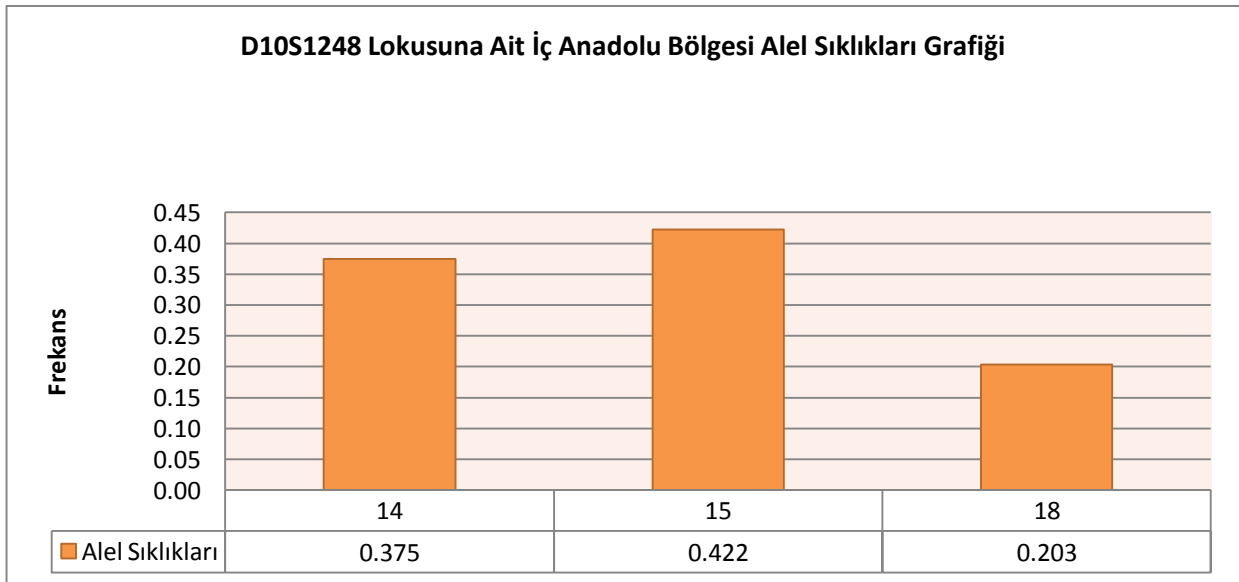
Grafik 29: D10S1248 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



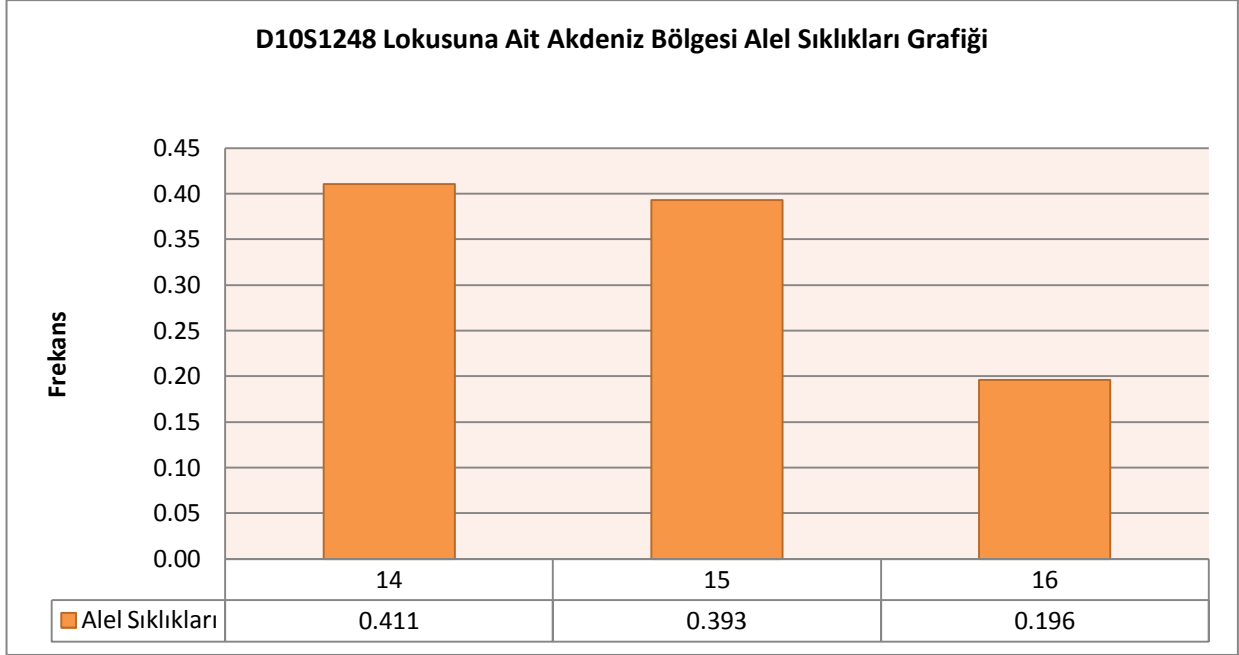
Grafik 30: D10S1248 lokusu Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



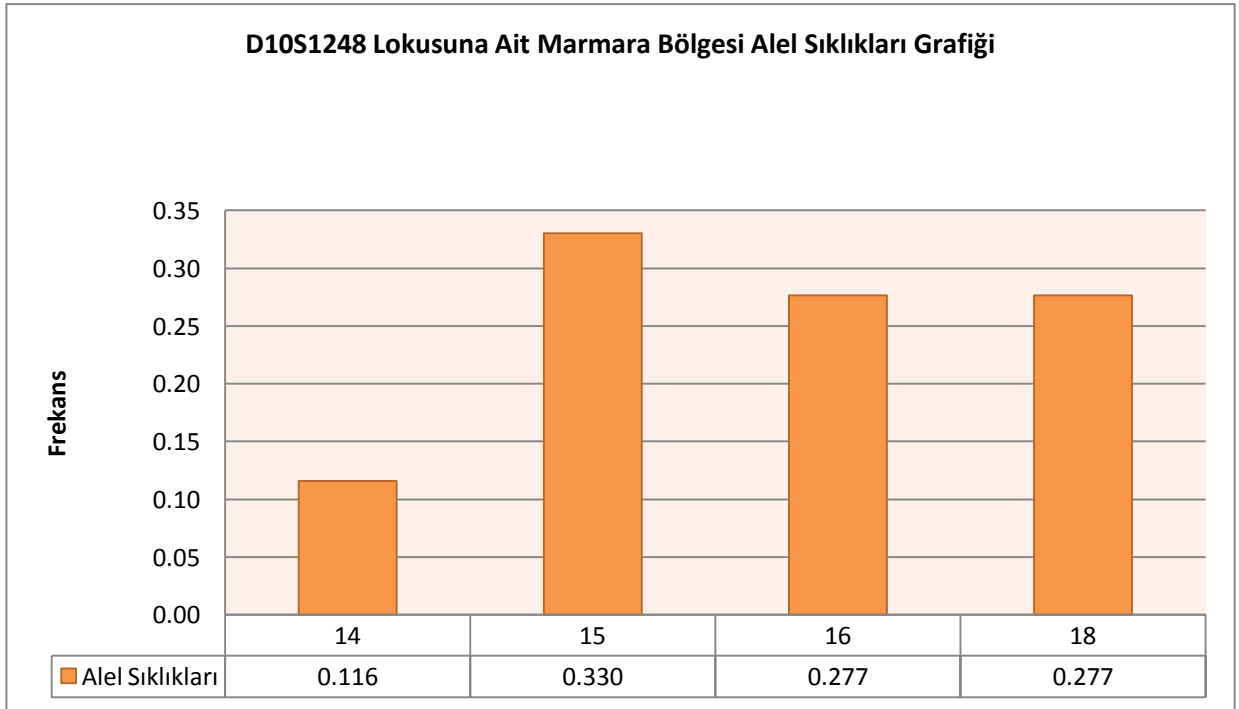
Grafik 31:D10S1248 lokusu Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



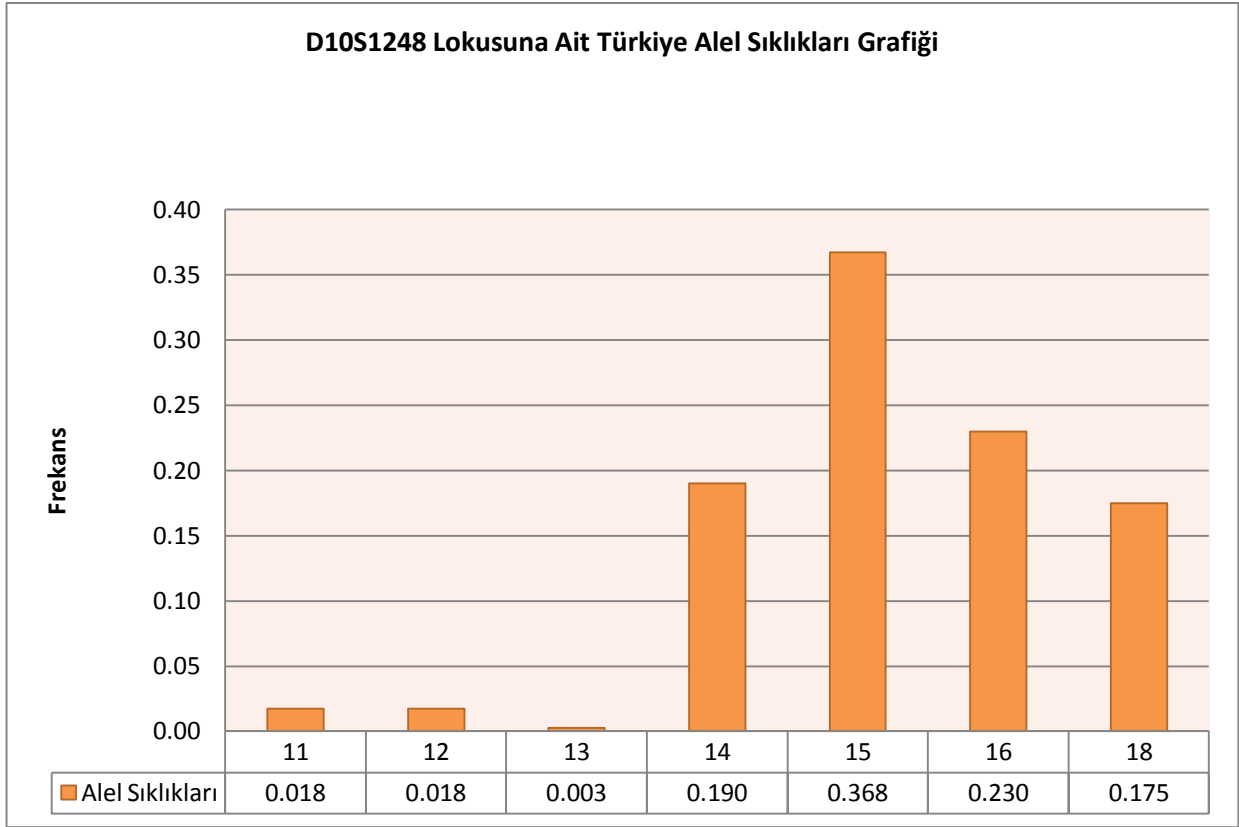
Grafik 32: D10S1248 lokusu İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 33: D10S1248 lokusu ait Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 34: D10S1248 lokusu Marmara Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:56)



Grafik 35: D10S1248 lokusu Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 15: D10S1248 Lokusu Bölgelere göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

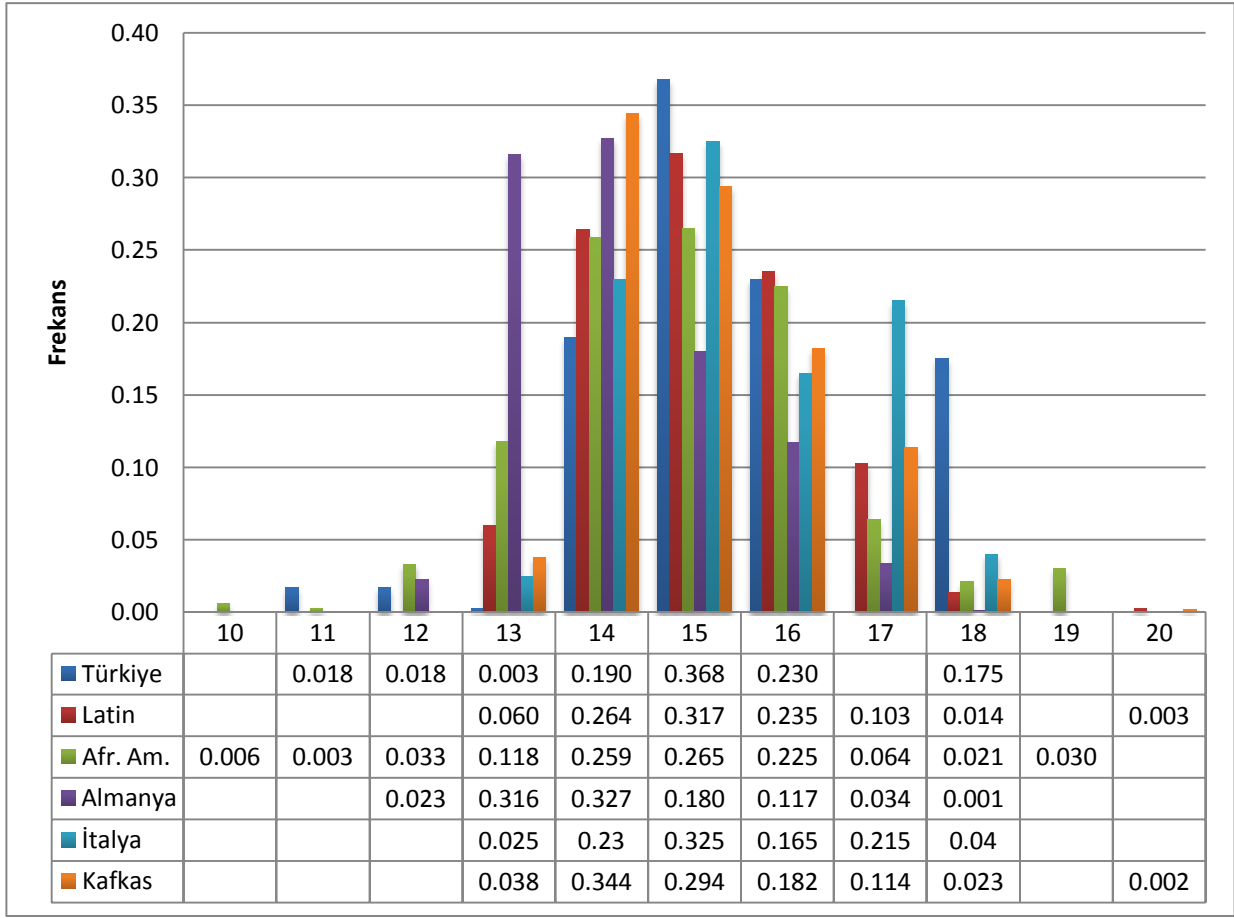
Bölge	Örnek Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	P Değeri	Standart Sapma
Doğu Anadolu	16	0.687	0.685	0.924	0.00081
Güneydoğu Anadolu	21	0.761	0.685	0.965	0.00048
Karadeniz	21	0.666	0.728	0.851	0.00104
Ege	26	0.692	0.741	0.512	0.00143
Akdeniz	28	0.714	0.650	0.238	0.00137
İç Anadolu	32	0.781	0.599	0.156	0.00115
Marmara	56	0.660	0.639	0.123	0.00093
Türkiye	200	0.596	0.66	0.705	0.00044

Tablo 16: D10S1248 Lokusu İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oranı (Ho) (%)	Heterozigotluk Oranı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	31.30	68.70	0.590	0.227	0.773	0.409	1.600
Güneydoğu Anadolu	33.30	66.70	0.680	0.147	0.853	0.379	1.500
Karadeniz	38.10	61.90	0.660	0.129	0.871	0.314	1.310
Ege	30.80	69.20	0.680	0.142	0.858	0.416	1.630
İç Anadolu	25.00	75.00	0.560	0.285	0.715	0.510	2.000
Akdeniz	28.60	71.40	0.560	0.276	0.754	0.421	1.750
Marmara	21.40	78.60	0.670	0.162	0.838	0.573	2.330
Türkiye	27.50	72.50	0.700	0.120	0.880	0.468	1.820

Türkiye Toplumuna Ait D10S1248 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Popülasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D10S1248 lokusu için toplam 7 alel (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok görülen alel 15. aleldir. 11. alel Türkiye ile birlikte Afroamerikan popülasyonunda görülmüştür. 12. alel ise Türkiye ile birlikte Afroamerikan ve Latin popülasyonlarında görülmüştür.



Grafik 36: D10S1248 Lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması

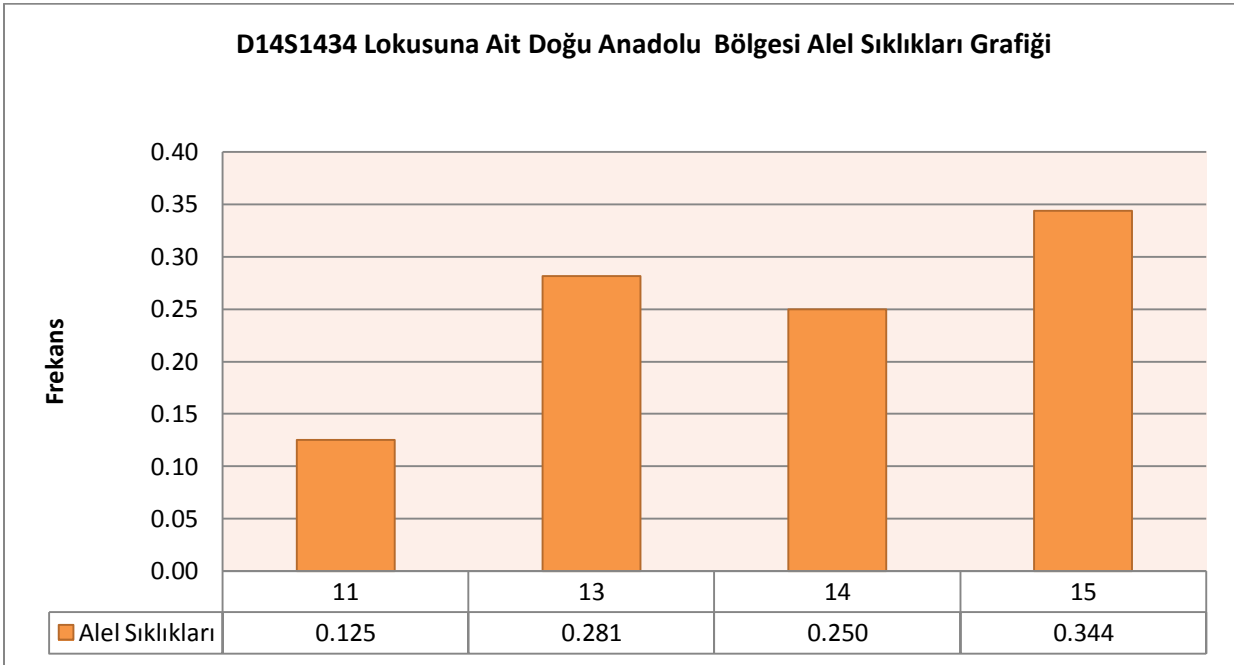
Tablo 17: Türkiye geneli D10S1248 lokusu alel sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D10S1248 Lokusu					
Aleller	Latin (N=140)	Afroamerikan (N=164)	İtalya (N=100)	Almanya (N=133)	Kafkas (N=170)
11	-	1.420	-	-	-
12	-	-0.925	-	-0.344	-
13	-2.821	-4.540	-1.406	-7.747	-2.354
14	-1.593	-1.567	-0.794	-2.783	-3.363
15	0.970	2.114	0.734	3.934	1.506
16	-0.107	2.113	1.366	2.772	1.144
18	5.621	5.291	1.060	6.443	5.201

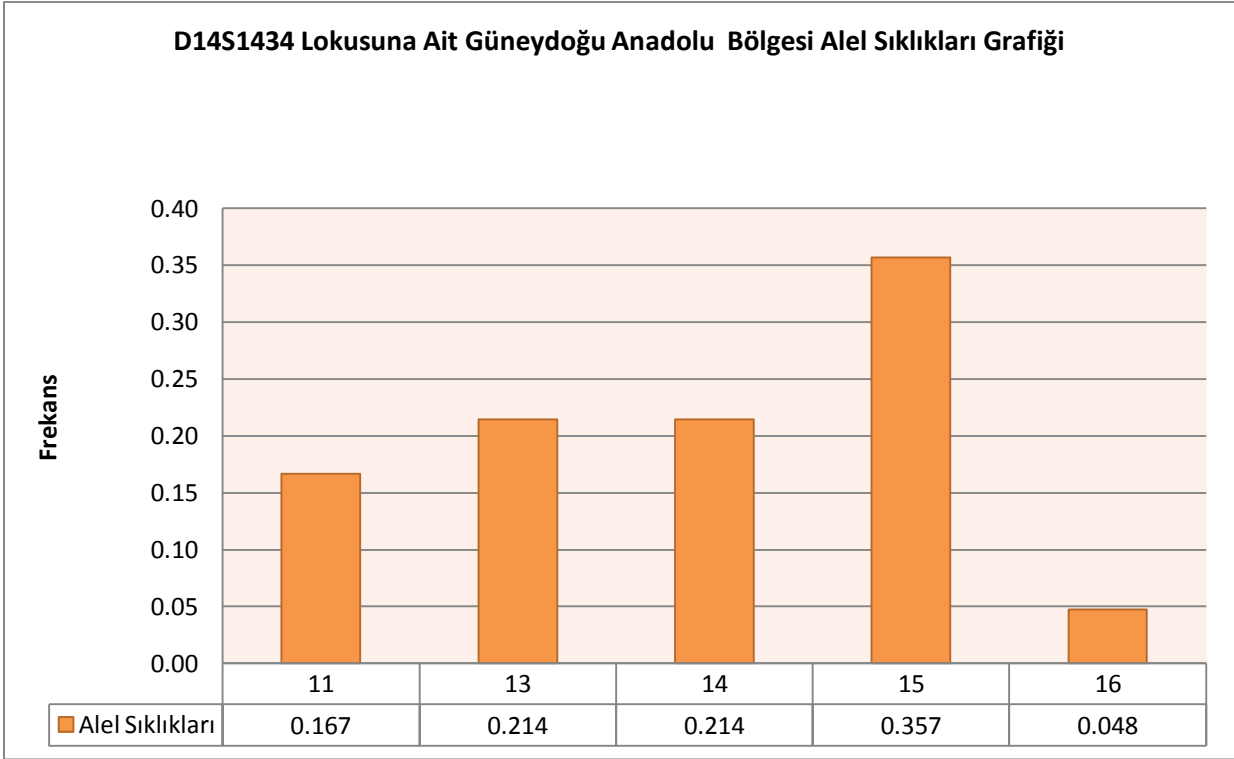
*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.2.5. D14S1434 Lokusuna Ait Bulgular

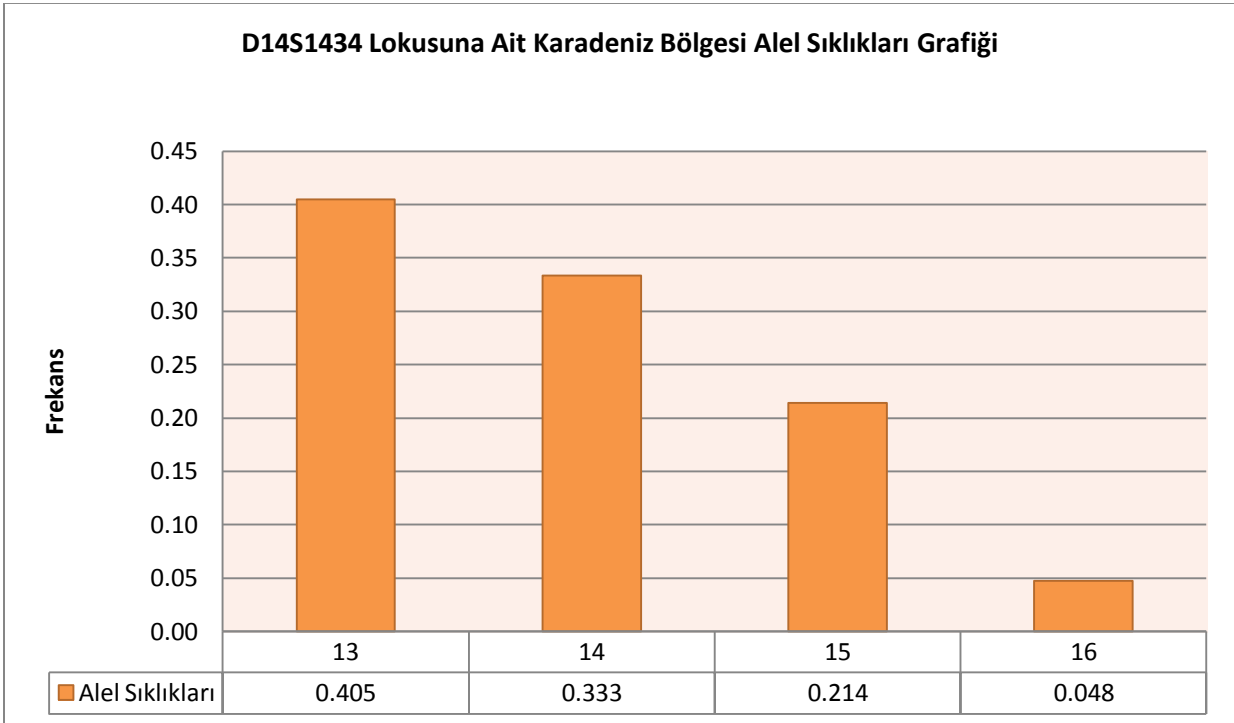
D14S1434 Lokusunun Bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 37-43'de Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 44'de verilmiştir. Bölgelere göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri Tablo 18'de yer almaktadır. D14S1434 lokusuna ait Adli İstatistik Verileri Tablo 19'da gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 45'de, bölgelere göre Z testi verileri Tablo 20'de gösterilmiştir.



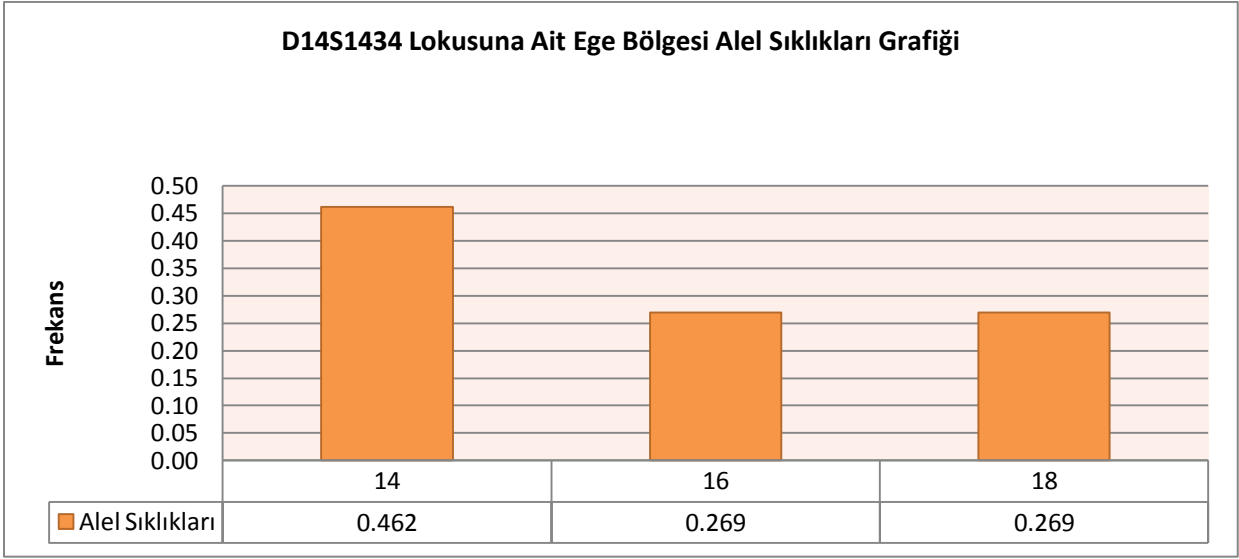
Grafik 37: D14S1434 lokusu Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:16)



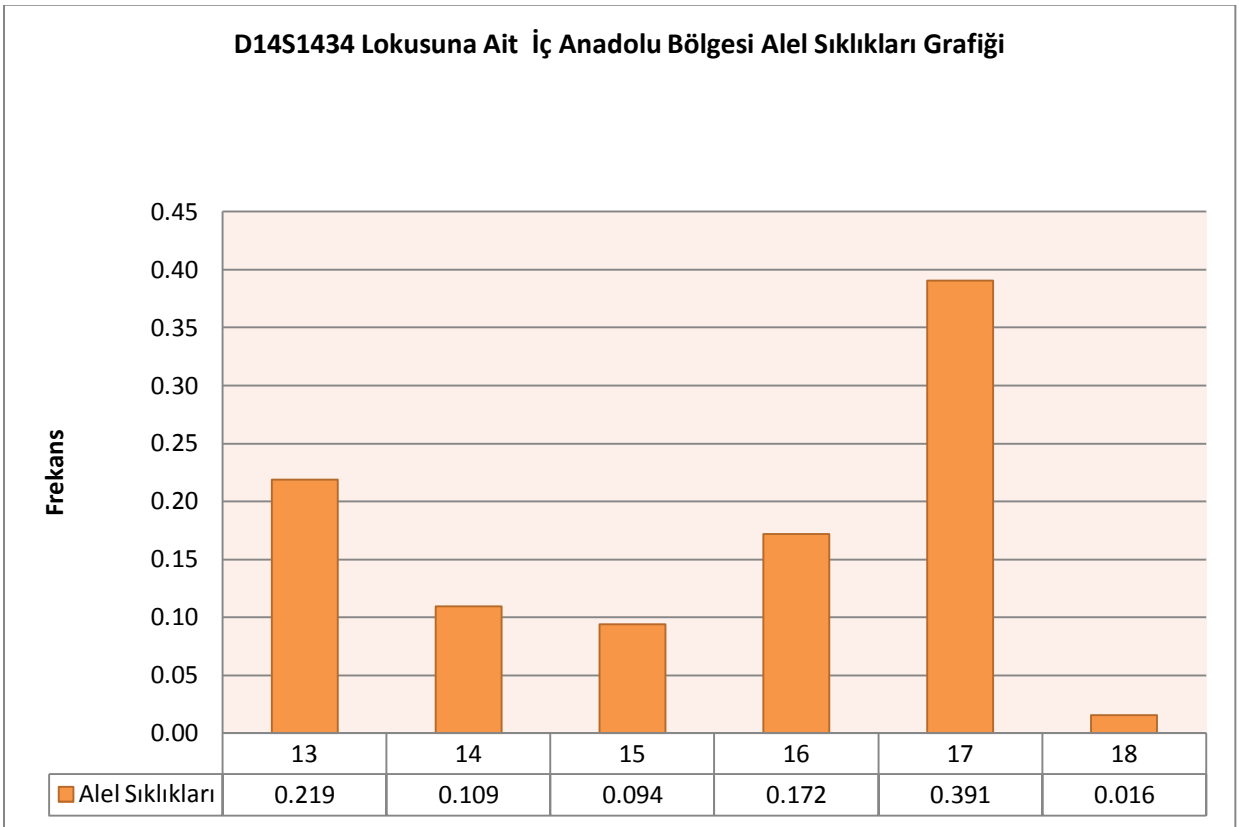
Grafik 38: D14S1434 lokusu Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



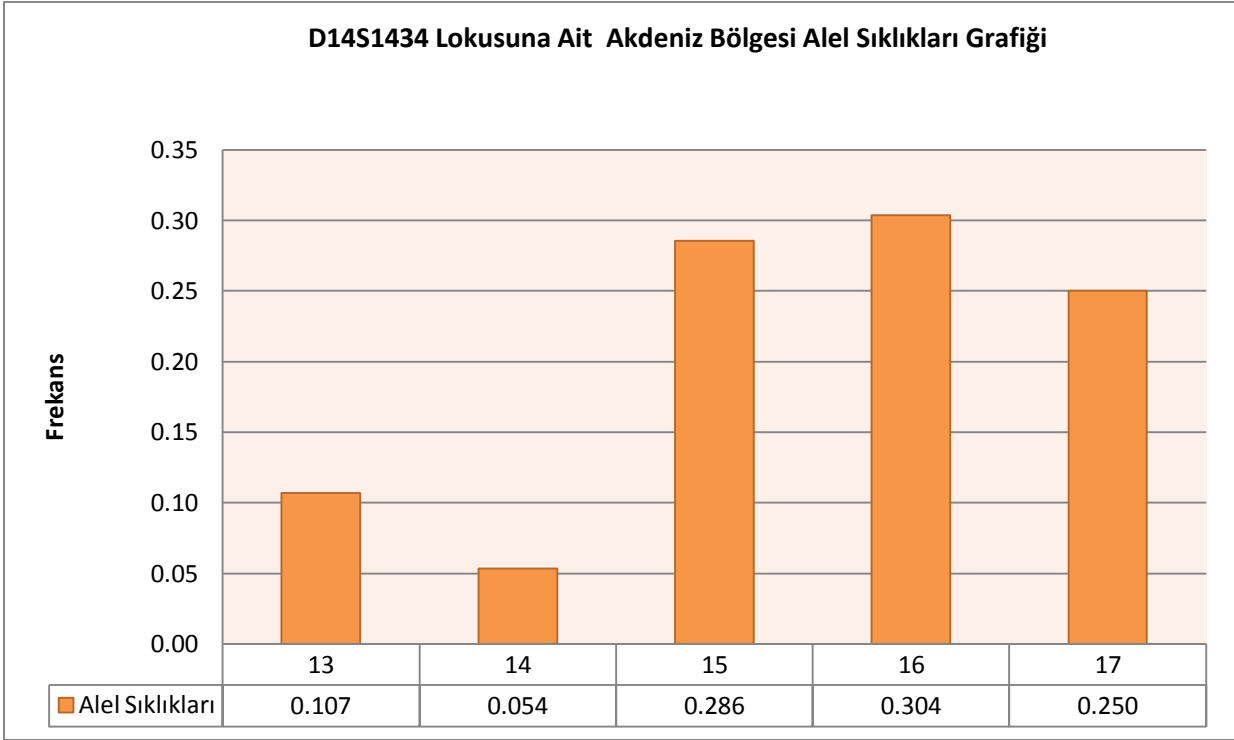
Grafik 39: D14S1434 lokusu Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



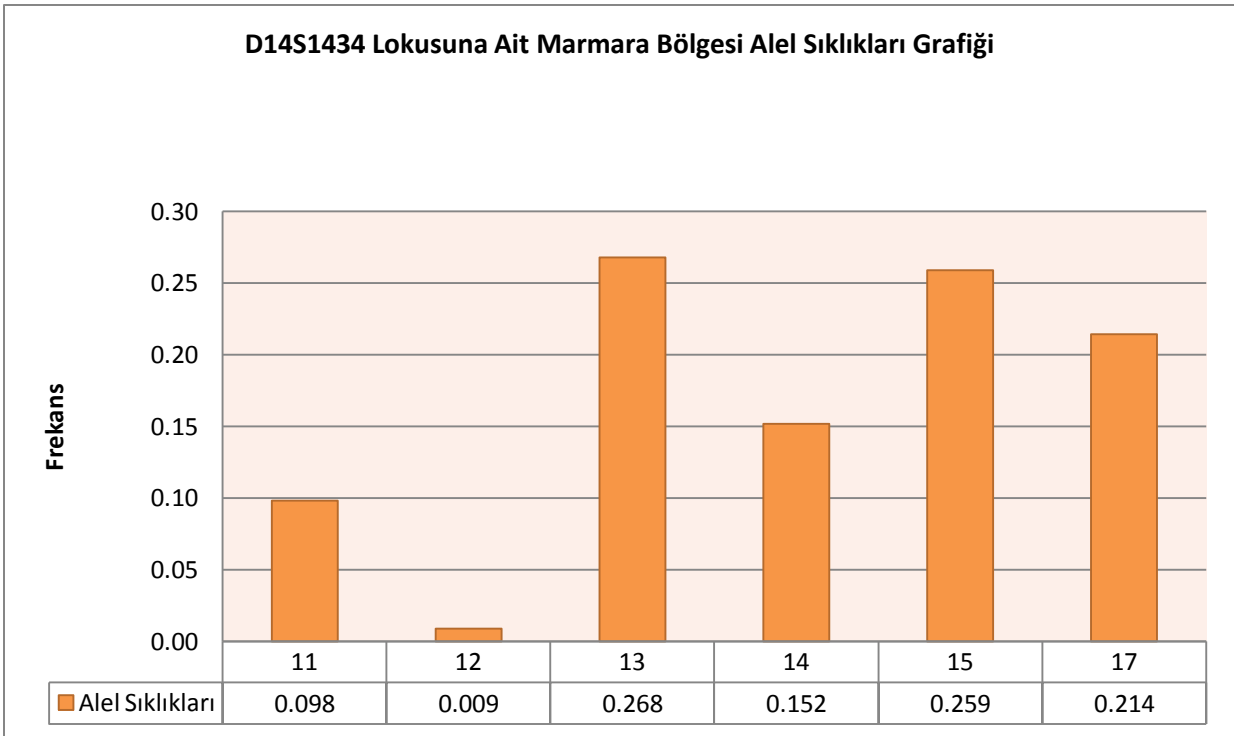
Grafik 40: D14S1434 lokusu Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



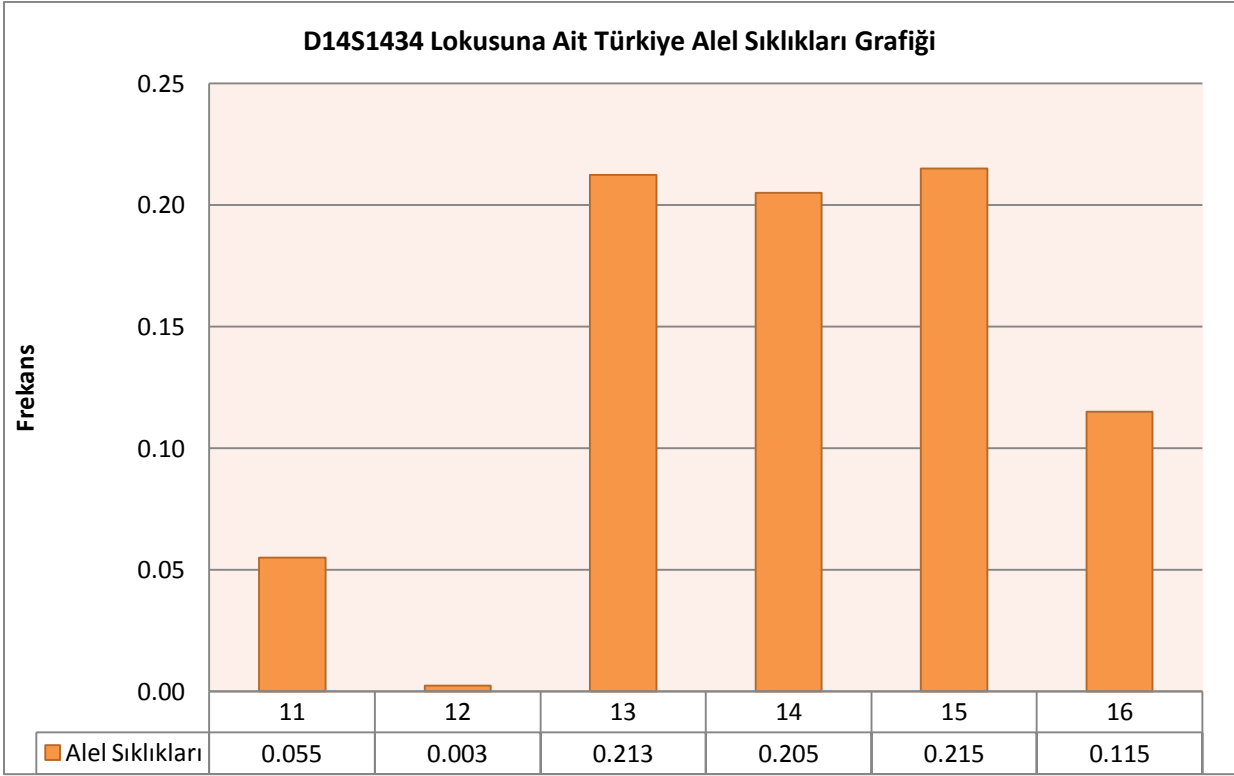
Grafik 41: D14S1434 lokusu İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 42: D14S1434 lokusu Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 43: D14S1434 lokusu Marmara Bölgesi alel sıklıkları (*Gönüllü sayısı:56)



Grafik 44: D14S1434 lokusu Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 18: D14S1434 Lokusu Bölgelere göre Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

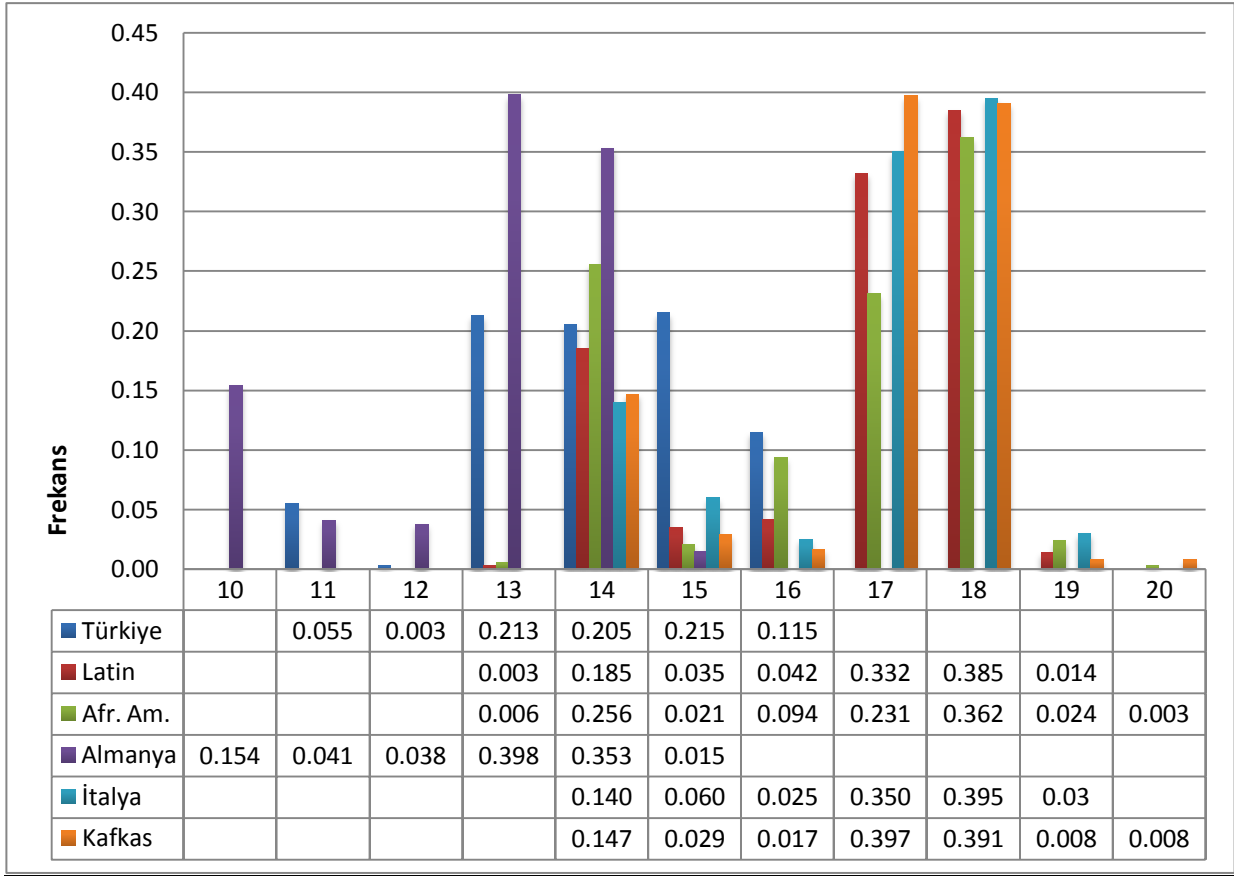
Bölge	Genotip	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	p Değeri	Standart Saapma
Doğu Anadolu	16	0.500	0.747	0.115	0.00105
Güneydoğu Anadolu	21	0.553	0.557	0.054	0.00074
Karadeniz	21	0.619	0.693	0.373	0.00141
Ege	26	0.807	0.653	0.377	0.00150
Akdeniz	28	0.821	0.762	0.376	0.00145
İç Anadolu	32	0.625	0.760	0.203	0.00086
Marmara	56	0.803	0.790	0.314	0.00126
Türkiye	200	0.700	0.655	0.238	0.00137

Tablo 19: D14S1434 Lokusu İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oran (Ho) (%)	Heterozigotluk Oranı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	50.00	50.00	0.670	0.141	0.859	0.188	1.000
Güneydoğu Anadolu	66.70	33.30	0.710	0.156	0.844	0.078	0.750
Karadeniz	38.10	61.90	0.610	0.188	0.812	0.314	1.310
Ege	19.20	80.80	0.570	0.254	0.746	0.613	2.600
İç Anadolu	37.50	62.50	0.710	0.113	0.887	0.322	1.330
Akdeniz	17.90	82.10	0.710	0.143	0.857	0.639	2.800
Marmara	19.60	80.40	0.750	0.098	0.902	0.606	2.550
Türkiye	31.50	68.50	0.800	0.059	0.941	0.405	1.590

Türkiye Toplumuna Ait D14S1434 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Popülasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D14S1434 lokusu için toplam 6 alel (11, 12, 13, 14, 15 ve 16) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok görülen alel 15. aleldir. 11. , ve 12. aleller Türkiye ve Almanya popülasyonunda görülmüştür. 13. alel İtalya ve Kafkas popülasyonlarında görülmemektedir. 14. ve 15. aleller tüm popülasyonlarda ortaktır. 16. alel Alman popülasyonunda bulunmamaktadır.



Grafik 45: D14S1434 Lokusu Türkiye Al el Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması

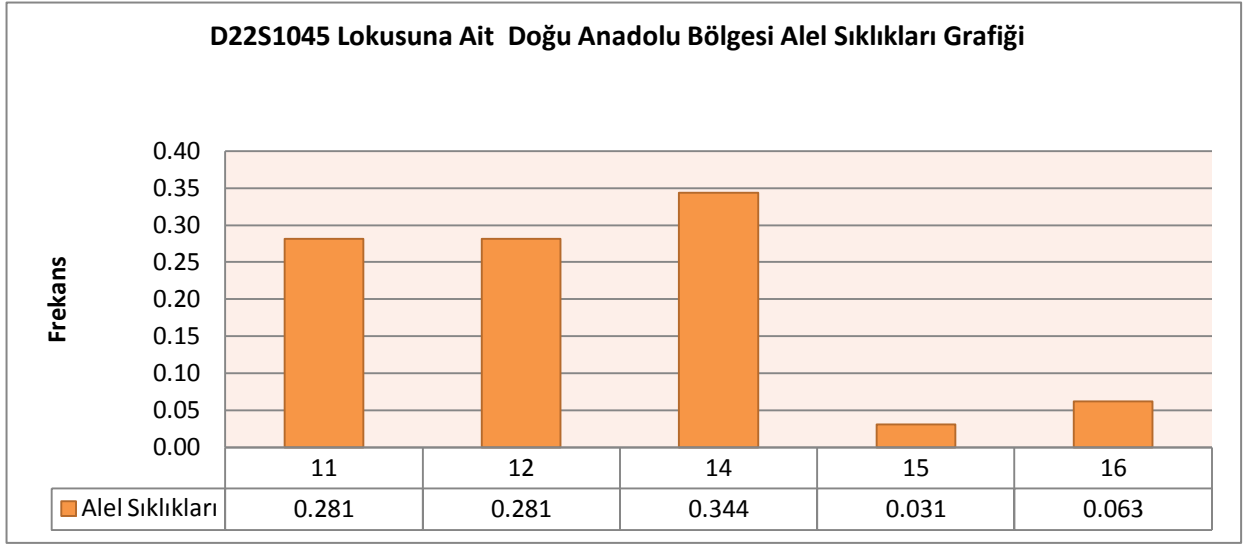
Tablo 20: Türkiye geneli D14S1434 lokusu al el sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D14S1434 Lokusu					
Alleller	Latin (N=140)	Afroamerikan (N=164)	İtalya (N=100)	Almanya (N=133)	Kafkas (N=170)
11	-	-	-	0.594	-
12	-	-	-	-2.056	-
13	7.163	7.000	-	-3.601	-
14	0.460	-2.147	1.447	-2.941	1.472
15	5.464	6.231	4.131	6.472	5.854
16	2.587	3.655	0.281	-	3.977

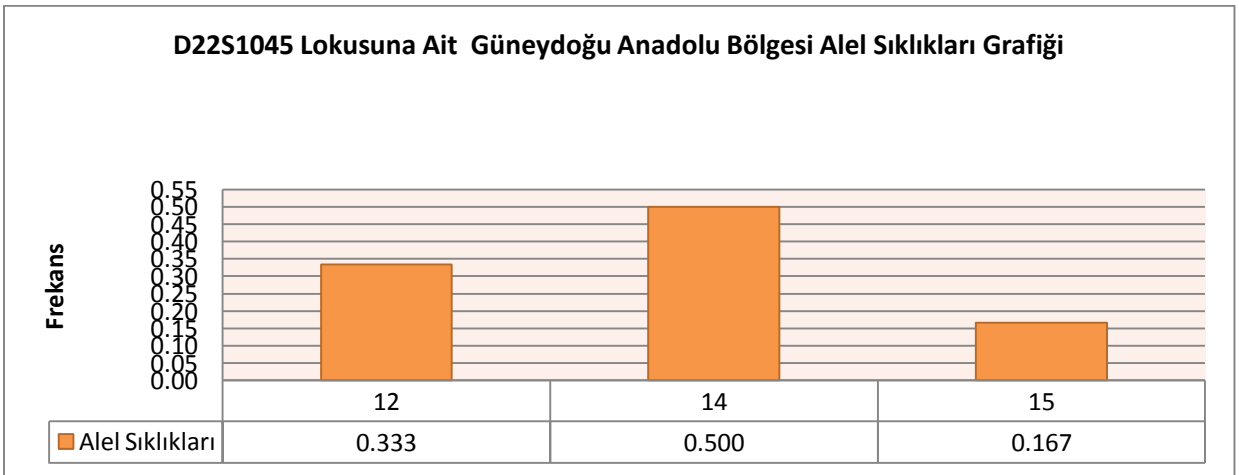
*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.2.6. D22S1045 Lokusuna Ait Bulgular

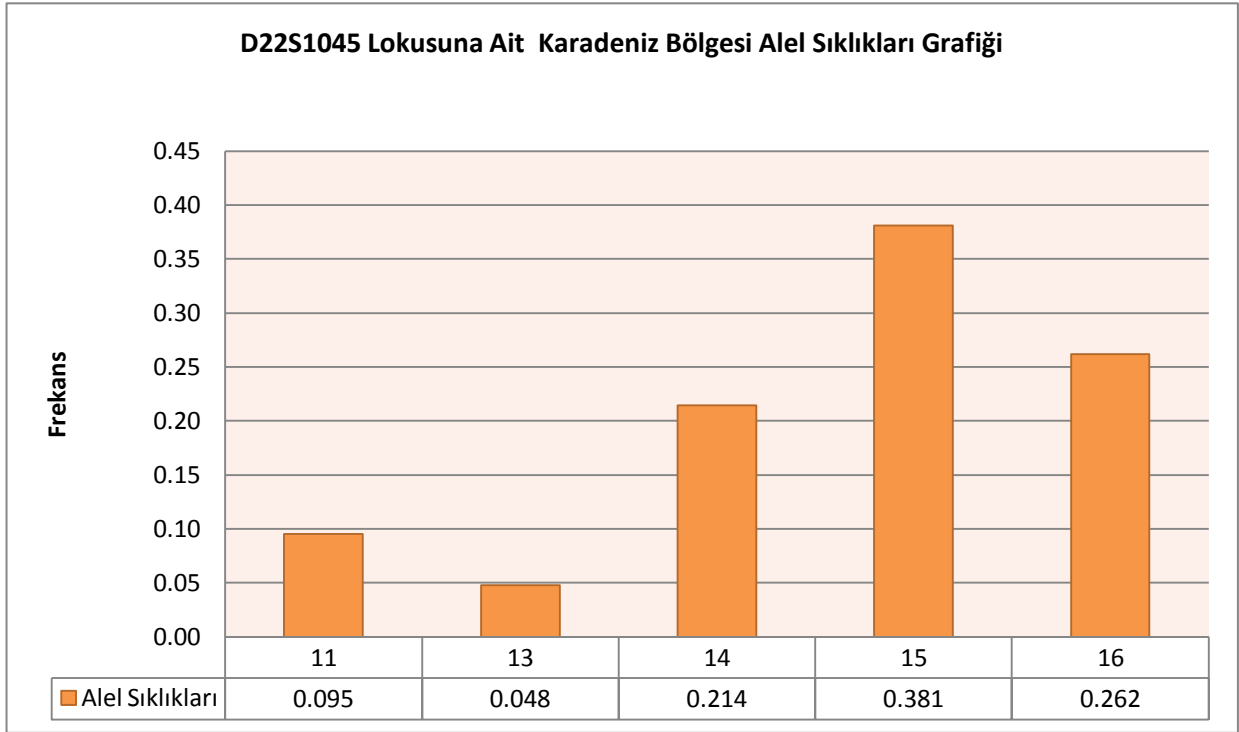
D22S1045 Lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 46-52’de Türkiye alel sıklıkları ise Grafik 53’de verilmiştir. Bölgelere göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve p değerleri Tablo 21’de yer almaktadır. D22S1045 lokusuna ait istatistik verileri Tablo 22’de gösterilmiştir. Türkiye alel sıklıklarının diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması Grafik 54’de ve Z testi verileri Tablo 23’de gösterilmiştir.



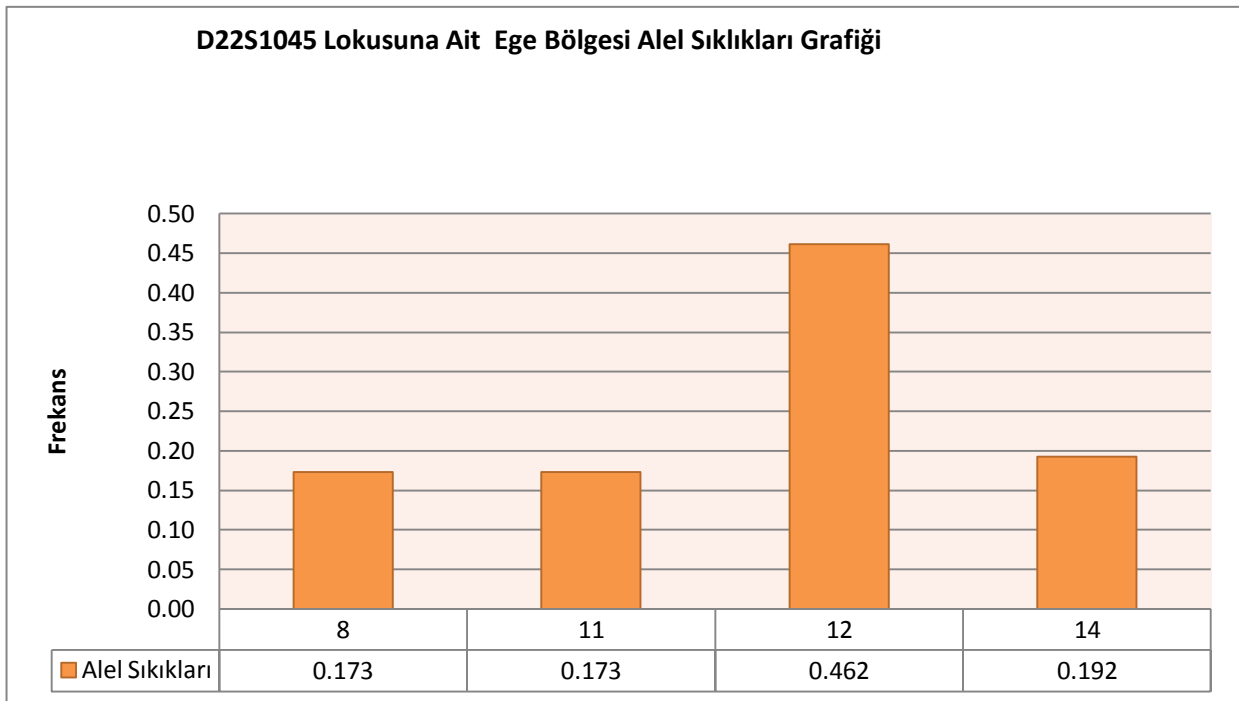
Grafik 46: D22S1045 lokusunun Doğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:16)



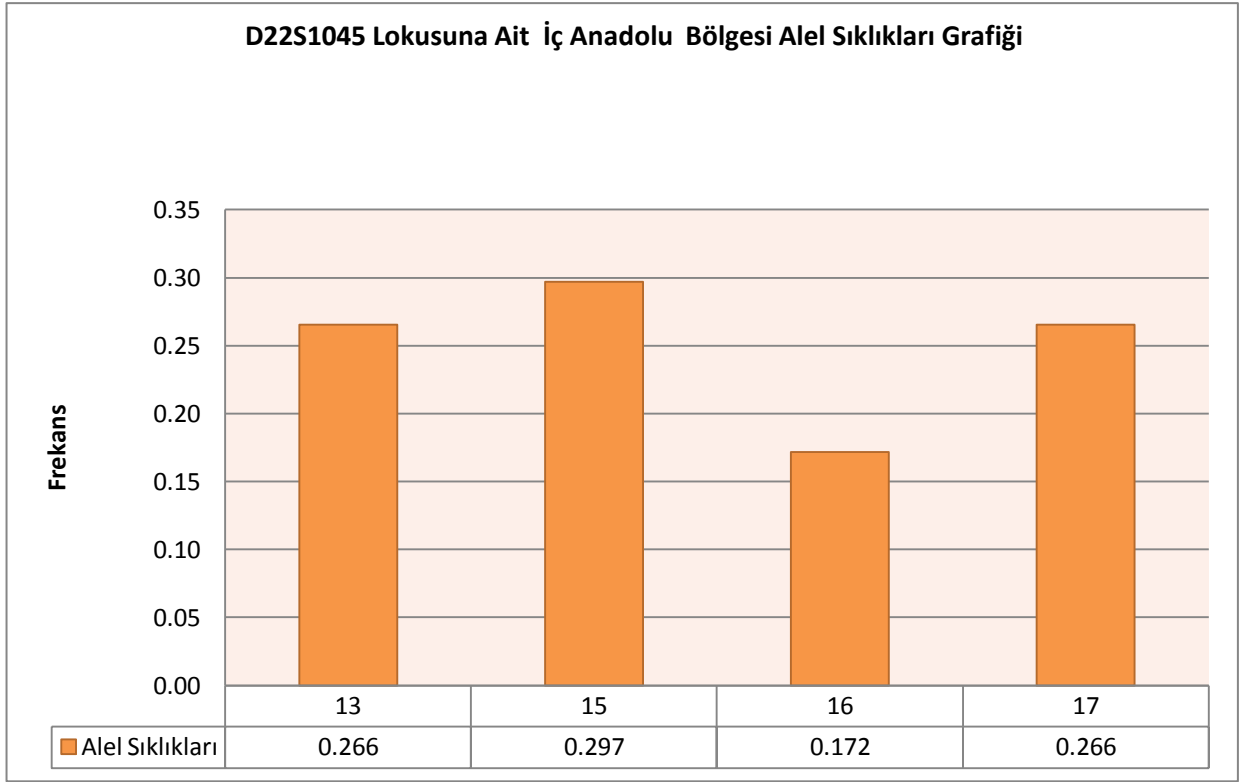
Grafik 47: D22S1045 lokusunun Güneydoğu Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



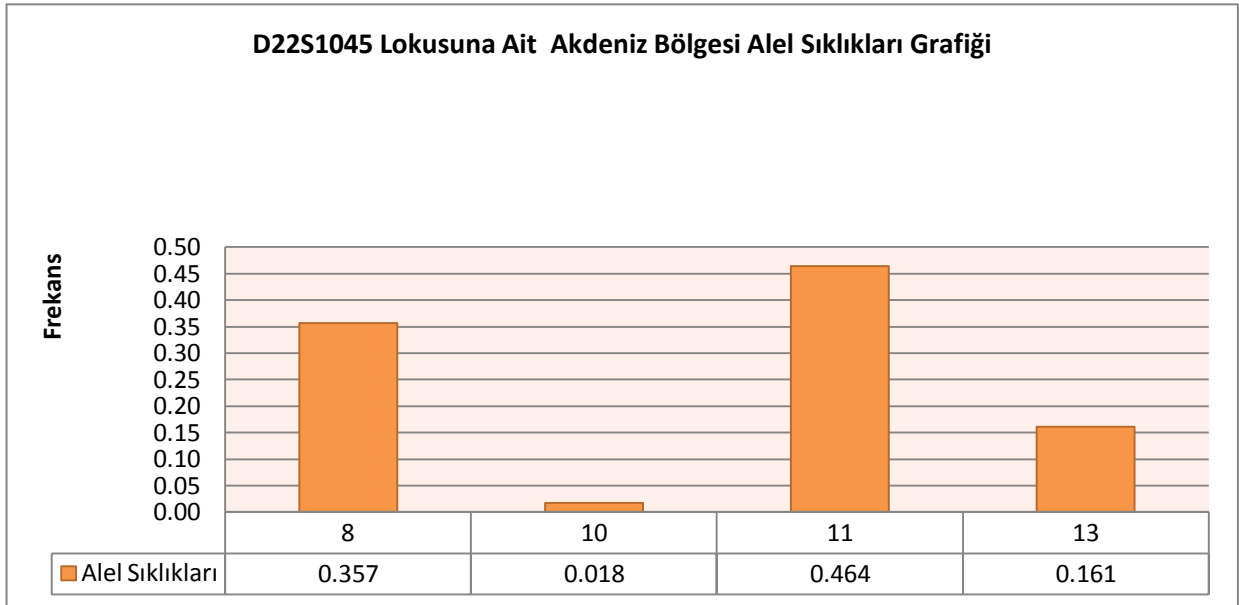
Grafik 48: D22S1045 lokusu Karadeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:21)



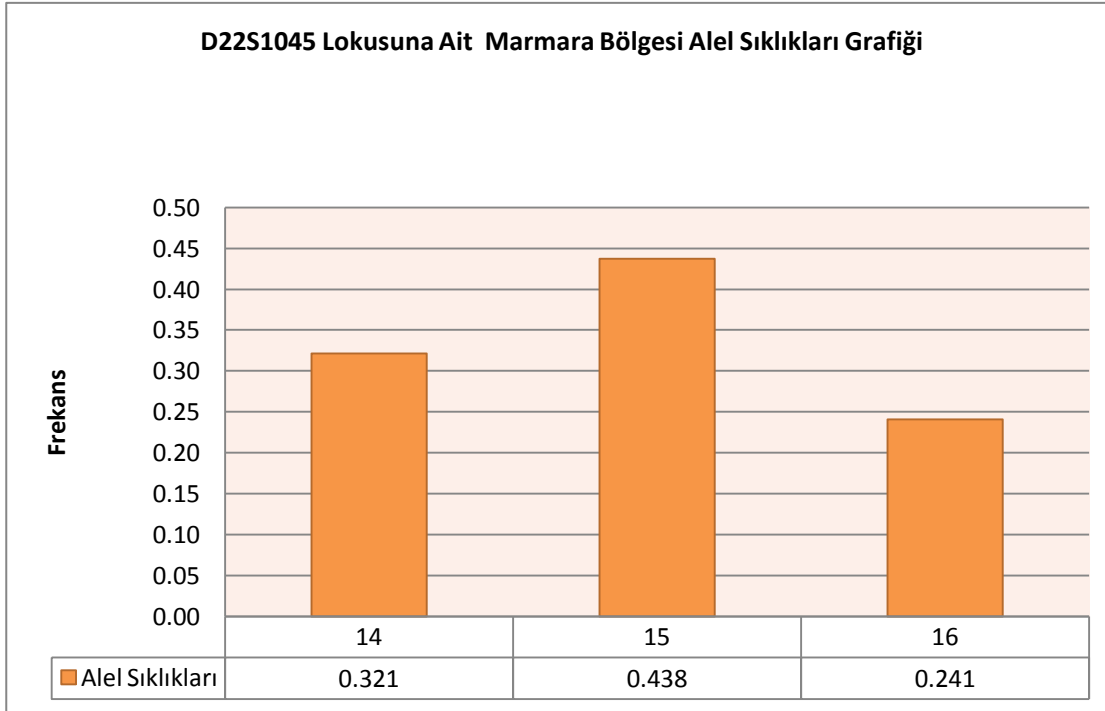
Grafik 49: D22S1045 lokusunun Ege Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:26)



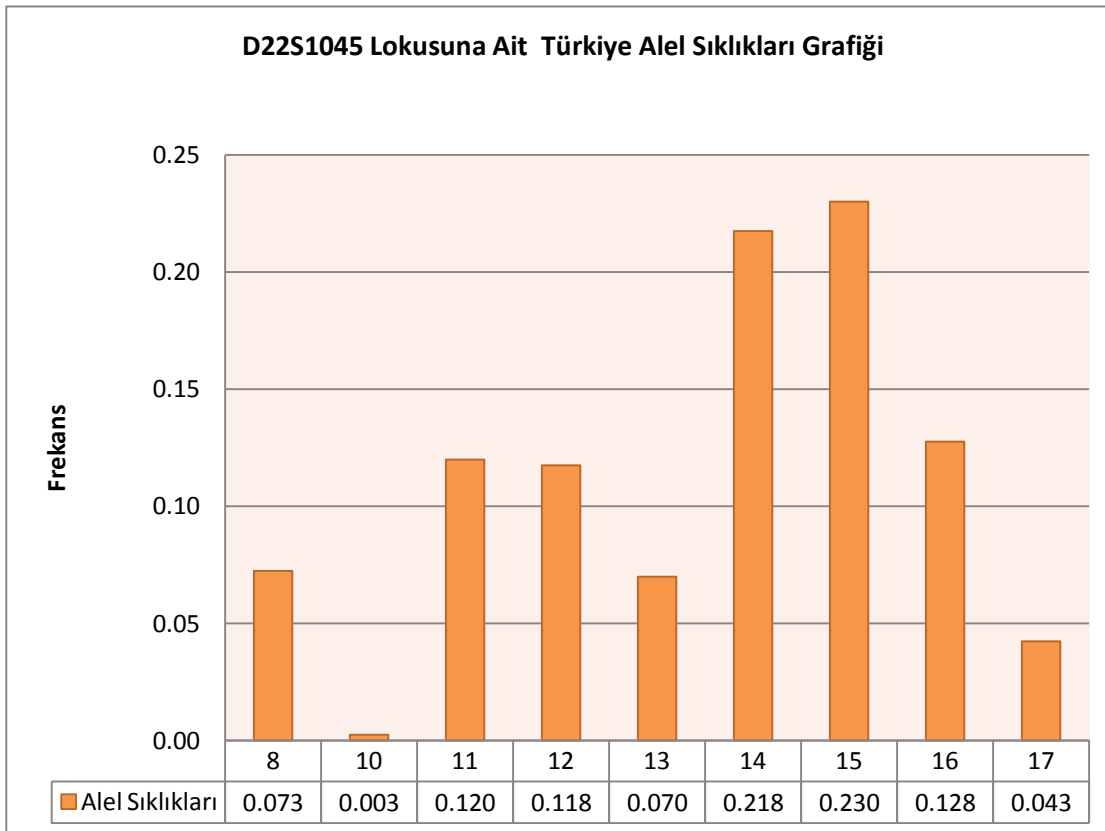
Grafik 50: D22S1045 lokusunun İç Anadolu Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:32)



Grafik 51: D22S1045 lokusunun Akdeniz Bölgesi alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:28)



Grafik 52: D22S1045 lokusu Marmara Bölgesi alel sıklıkları (*Gönüllü sayısı:56)



Grafik 53: D22S1045 lokusu Türkiye alel sıklıkları (Gönüllü sayısı:200)

Tablo 21: D22S1045 lokusu bölgelere göre beklenen ve gözlenen heterozigotluk oranları ve p Değerleri

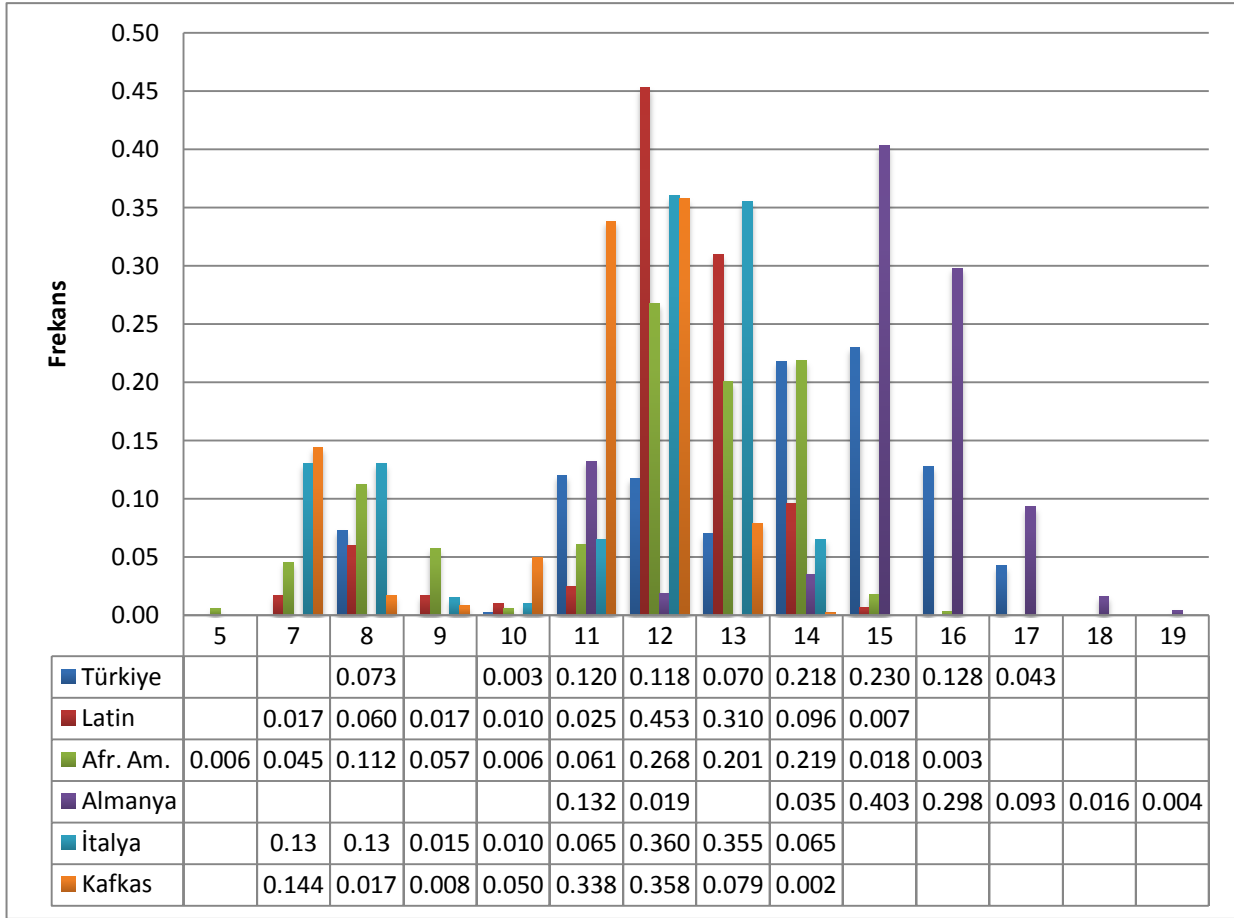
Bölge	Örnek Sayısı	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	P Değeri	Standart Sapma
Doğu Anadolu	16	0.625	0.741	0.156	0.00103
Güneydoğu Anadolu	21	0.523	0.626	0.297	0.00143
Karadeniz	21	0.523	0.746	0.051	0.00063
Ege	26	0.807	0.720	0.147	0.00118
Akdeniz	28	0.535	0.642	0.183	0.00099
İç Anadolu	32	0.687	0.752	0.517	0.00153
Marmara	56	0.696	0.641	0.149	0.00110
Türkiye	200	0.580	0.632	0.410	0.00130

Tablo 22: D22S1045 Lokusunun İstatistik Verileri

Bölge	Homozigotluk Oran (Ho) (%)	Heterozigotluk Oranı (He) (%)	Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	Eşleşme Olasılığı (PM)	Ayırt Etme Gücü (PD)	Dışlama Gücü (PE)	Babalık İndeksi (TPI)
Doğu Anadolu	37.50	62.50	0.670	0.164	0.836	0.322	1.330
Güneydoğu Anadolu	47.60	52.40	0.540	0.220	0.780	0.209	1.050
Karadeniz	47.60	52.40	0.680	0.138	0.862	0.209	1.050
Ege	15.40	84.60	0.640	0.219	0.781	0.687	3.250
İç Anadolu	31.30	68.80	0.690	0.125	0.875	0.409	1.600
Akdeniz	46.40	53.60	0.560	0.204	0.786	0.221	1.080
Marmara	28.60	71.40	0.570	0.240	0.760	0.451	1.400
Türkiye	34.50	65.50	0.820	0.065	0.935	0.362	1.450

Türkiye Toplumuna Ait D22S1045 Lokusunun Alel Sıklıklarının Diğer Popülasyonlarla Karşılaştırılması

Türkiye popülasyonunda D22S1045 lokusu için toplam 8 alel (8,10,11,12,13,14,15,16 ve 17) gözlemlenmiştir. Ülkemizde en çok görülen alel 15. aleldir. Latin, Afroamerikan ve İtalya popülasyonlarında görülen 5., 7. ve 8. aleller Türkiye popülasyonunda görülmemektedir. 18. ve 19. aleller sadece Alman popülasyonunda görülmüştür.



Grafik 54: D22S1045 Lokusu Türkiye Alel Sıklıklarının diğer popülasyonlarla Karşılaştırılması

Tablo 23: Türkiye geneli D22S1045 lokusu alel sıklıklarının dünya popülasyonları ile karşılaştırılması (Z değerleri)

D22S1045 Lokusu					
Alleller	Latin (N=140)	Afroamerikan (N=164)	İtalya (N=100)	Almanya (N=133)	Kafkas (N=170)
8	0.477	-1.269	-1.487	-	2.680
10	-0.822	-2.501	-0.710	-	-2.780
11	3.585	1.992	1.632	-0.322	-5.076
12	-7.013	-3.935	-4.565	3.838	-5.561
13	-5.575	-3.627	-5.573	-	-0.328
14	3.168	-4.034	3.993	5.490	7.337
15	7.292	6.727	-	-3.333	-
16	-	5.207	-	-3.695	-
17	-	-	-	-1.745	-

*Türk popülasyonu ile diğer popülasyonlar arasında görülen anlamlı derecedeki farklılıklar işaretlenmiştir.

4.3. Türkiye Geneli NC01 (D10S1248, D14S1434, D22S1045) ve NC02 (D1S1677, D2S441, D4S2364) Minipleks Lokuslarının Alel Sıklıkları, İstatistik Verileri ve Hardy Weinberg Uyumlarının Karşılaştırılması

4.3.1. NC01 ve NC02 Minipleks Lokuslarının Alel Sıklıklarının Karşılaştırılması

Tablo 24: NC01 Minipleks (D10S1248, D14S1434, D22S1045) Alel Sıklıkları

NC01 MİNİPLEKS			
LOKUS	D10S1248	D14S1434	D22S1045
ALEL	FREKANS		
8	-	-	0.073
10	-	-	0.003
11	0.018	0.055	0.120
12	0.018	0.003	0.118
13	0.003	0.213	0.070
14	0.190	0.205	0.218
15	0.368	0.215	0.230
16	0.230	0.115	0.128
17	-	0.158	0.043
18	0.175	0.038	-

Tablo 25: NC02 Minipleks (D1S1677, D2S441, D4S2364) Alel Sıklıkları

NC02 MİNİPLEKS			
LOKUS	D1S1677	D2S441	D4S2364
ALEL	FREKANS		
8	-	-	0.180
9	-	-	0.515
10	-	0.055	0.225
11	-	0.360	0.080
12	0.045	0.080	-
13	0.203	0.308	-
14	0.453	0.198	-
15	0.288	-	-
16	0.013	-	-

4.3.2. NC01 ve NC02 Minipleksleri'nin Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları'nın ve p Değerleri Karşılaştırılması

Tablo 26: NC01 ve NC02 Minipleksleri'nin Beklenen ve Gözlenen Heterozigotluk Oranları ve p Değerleri

Lokus	Gözlenen Heterozigotluk	Beklenen Heterozigotluk	p Değeri	Standart Sapma
NC01 Minipleks				
D10S1248	0.596	0.660	0.705	0.00044
D14S1434	0.700	0.655	0.238	0.00137
D22S1045	0.580	0.632	0.410	0.00130
NC02 Minipleks				
D1S1677	0.568	0.665	0.54	0.00110
D2S441	0.675	0.676	0.492	0.00072
D4S2364	0.660	0.645	0.131	0.00086

4.3.3. NC01 ve NC02 Minipleks Lokuslarının Adli Yararlıklarına Ait İstatistik Bilgilerinin Karşılaştırılması

Tablo 27: NC01 Minipleksinin İstatistik verileri

NC01 MINIPLEKS			
LOKUS	D10S1248	D14S1434	D22S1045
Homozigotluk Oranı (Ho)	27.50%	31.50%	34.50%
Heterozigotluk Oranı (He)	72.50%	68.50%	65.50%
Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	0.70	0.800	0.820
Eşleşme Olasılığı (PM)	0.120	0.059	0.065
Ayrırt Etme Gücü (PD)	0.880	0.941	0.935
Dışlama Gücü (PE)	0.468	0.405	0.362
Babalık İndeksi (TPI)	1.820	1.590	1.45

Tablo 28: NCO2 Minipleksinin İstatistik Verileri

NC02 MINIPLEKS			
LOKUS	D1S1677	D2S441	D4S2364
Homozigotluk Oranı (Ho)	45.00%	22.00%	34.00%
Heterozigotluk Oranı (He)	55.00%	78.00%	66.00%
Polimorfik Bilgi İçeriği (PIC)	0.610	0.680	0.590
Eşleşme Olasılığı (PM)	0.171	0.136	0.188
Ayırt Etme Gücü (PD)	0.829	0.864	0.812
Dışlama Gücü (PE)	0.225	0.562	0.369
Babalık İndeksi (TPI)	1.090	2.270	1.47

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Miktar ve kalite olarak yetersiz veya çevresel inhibitörlerden etkilenip aşırı derecede bozulmuş DNA örneklerinin analizinde standart STR analizlerinde genellikle problem yaşanmaktadır. Bu tür örneklerin STR analizinde büyük boyuttaki STR lokusları çoğalamadığı için tam profil elde edilememektedir. Tam profil için gerekli sayıda STR lokusu elde edilemediğinden istenilen ayırtılma gücüne ulaşılamayacak ve dahil etme - dışlamada sorunlar yaşanacaktır. Bu sorunları ortadan kaldırmak amacıyla CODIS içerisinde yer almayan, National Institute of Standards and Technology (NIST) tarafından 26 yeni mini STR lokusu geliştirilmiştir.

Mini-STR analizleri genel anlamda mevcut STR lokuslarının analiz yöntemlerine benzese de klasik STR primerleri daha uzun dizileri hedef alırken, mini STR primerleri tekrar dizisine daha yakın noktalardan bağlanacak şekilde oluşturulmuş olup elde edilen PCR ürünleri daha küçüktür. Bu lokusların PCR ürünleri 150 baz çiftinden küçüktür. Özellikle de D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 lokuslarının PCR ürünleri 125 bp den küçüktür. Bu lokuslardan D10S1248, D2S441 ve D22S1045 Avrupa'da benimsenmiş ve adli laboratuvarlarda kullanılan STR lokuslarına eklenmiştir (Coble M.D. ve ark. 2005) (Hill C.R. ve ark. 2006).

Mini STR lokuslarının Türkiye'deki adli laboratuvarlarda çalışılabilmesi için bu lokusların validasyon ve optimizasyonun yapıp Türkiye genelinde alel sıklıklarının belirlenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü'nde Tuğba Ünsal ve ark. tarafından optimizasyon ve validasyonu yapılmış (Ünsal T. ve ark. 2011) olan D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 mini STR lokuslarının Türkiye genelinde gen sıklıkları belirlenerek ülkemizdeki adli laboratuvarlarda kullanımını sağlamaktır.

Gen sıklıkları ve istatistiksel analiz için PowerStats V.1.2 (Promega Corporation) programının tercih edilmesinin nedeni; şablonun kolay kullanımı, veri girişinin kolaylığı, verilerin özetlenebilir olması, programın kullanıldığı bilgisayar sistemlerinin ve uygulama versiyonlarının çeşitliliği, sonuçların grafik olarak elde edilebilmesi ve farklı popülasyon sonuçlarının tek bir grafikte karşılaştırmalı olarak gösterilebilmesidir. Bu program ile gerçekleştirilen analizde; her bir lokusun Türkiye toplumundaki alel sıklıkları, homozigotluk (Ho), heterozigotluk (He) oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği (Polymorphysm İnformation Content, PIC), eşleşme olasılığı (probability of match, PM), ayırt etme gücü (power of discrimination, PD), dışlama gücü (power of exclusion PE) ve babalık indeksi (typical paternity index, TPI) oranları hesaplandı.

D1S1677 lokusu

D1S1677 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 1-7’de, Türkiye alel sıklıkları Grafik 8’de, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 6’da, istatistik verileri (PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo7’de, Türkiye popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 9’da ve Z testi verileri Tablo 8’de gösterilmiştir.

Bölgelere göre alel sıklıklarına bakıldığında; tüm bölgelerde en sık 14. alel gözlenmektedir ve genel Türkiye popülasyonu ile uyum içindedir. (Grafik 1-7). En az rastlanan alel; Doğu Anadolu bölgesinde 16. alel, Güneydoğu Anadolu ve Marmara bölgesinde 12. alel, Karadeniz, Akdeniz ve İç Anadolu bölgelerinde 13. alel ve Ege bölgesinde ise 15. aleldir (Grafik 1-7). 12. alel sadece Güneydoğu Anadolu ve Marmara bölgesinde gözlemlendi. Benzer şekilde 16. alel yalnızca Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgesinde gözlenirken diğer bölgelerde gözlenmedi. D1S1677 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıklarına bakıldığında toplam 5 (12, 13, 14, 15 ve 16) alel gözlemlendi. En sık 14. alele ve en az 16. alele rastlandı (Grafik 8).

D1S1677 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu hem bölgeler için hem de Türkiye geneli için değerlendirildi. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p

değerleri incelendiğinde p değerinin tüm bölgelerde 0.005'ten büyük ve Türkiye genelinde p değeri nin 0.540 olduğu yani Hardy Weinberg dengesine uyum gösterdiği saptandı (Tablo 6).

Tablo 7'de yer alan bölgesel istatistik verilere bakıldığında gerek bölgelerde gerekse Türkiye genelinde Homozigotluk oranı düşük Heterozigotluk oranı yüksektir. PIC değeri en yüksek bölge Marmara bölgesi iken en düşük bölgeler Ege ve İç Anadolu'dur. Eşleşme Olasılığının en yüksek olduğu bölgeler eşit değerlerle Doğu ve Güneydoğu Anadolu, en az olduğu bölge Akdeniz'dir. Ayırt Etme Gücü en yüksek olan bölge Akdeniz en düşük olan bölge ise İç Anadolu'dur. Dışlama Gücü ve Babalık indeksinin en yüksek olan bölge Güney Doğu Anadolu, en düşük olan bölge İç Anadolu'dur.

D1S1677 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıkları diğer dünya popülasyonlarıyla karşılaştırıldı (Grafik 9). Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada Latin ve Kafkas popülasyonunda en sık 13. alele rastlanırken en az 16. alel gözlemlenmiştir. Afroamerikan popülasyonunda ise en sık görülen 14. alel, en az görülen ise 18. aleldir. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşları tarafından Almanya popülasyonunda yaptıkları çalışmada, en sık 14. alel, en az 10. ve 17. alellere rastlamışlardır. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya popülasyonunda yapılan çalışmada ise, en sık 13. alel ve en az 9. ve 10. aleller tespit edilmiştir. Ülkemizde ise en sık 14. alel gözlenirken nadir olarak da 16. alel görülmektedir. Ülkemizde gözlenen tüm aleller karşılaştırma yapılan popülasyonlarda gözlenmektedir.

D1S1677 lokusuna ait bulgularımızı dünya popülasyonları ile karşılaştırılmasında ayrıca Z testi uygulandı (Tablo 8). Z değeri; -1,96'dan küçük ve +1,96'dan büyük değerler iki popülasyon arasında anlamlı derecede fark olduğunu gösterir. Buna göre; 12. , 13., 14. ve 15. alel için Almanya popülasyonu dışındaki popülasyonlarla anlamlı bir fark gözlenmiştir.

D2S441 Lokusu

D2S441 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 10-16'da, Türkiye alel sıklıkları Grafik 17'de, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 9'da, istatistik verileri

(PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo 10’da, Türkiye popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 18’de ve Z testi verileri Tablo 11’de gösterilmiştir.

Bölgelere göre alel sıklıklarına bakıldığında, Doğu Anadolu bölgesinde en fazla 11. alel, en az 13. alel gözlemlenmiştir (Grafik 10). Güneydoğu Anadolu bölgesinde en sık 13. alel nadir olarak da 12. alel tespit edilmiştir. (Grafik 11). Karadeniz bölgesinde en sık 13. alel tespit edilmiştir. Bunun dışında tespit edilen 10. , 11. ve 12. alellerin görülme sıklıkları birbirine eşittir (Grafik 12). Ege bölgesinde ise en sık rastlanan alel 11. alel, nadir görülen alel 10. aleldir (Grafik 13). İç Anadolu Bölgesinde en fazla 14. alel, en az 11. alel görülmektedir (Grafik 14). Akdeniz ve Marmara Bölgelerinde ise en fazla 11. alel ve en az 12. alel gözlemlenmektedir (Grafik 15-16).

D2S441 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıklarına bakıldığında toplam 5 (10, 11, 12, 13 ve 14) alel gözlenmiştir. En sık 11. alele ve en az 10. alele rastlanmıştır (Grafik 17).

D2S441 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu bölgeler içinde ve Türkiye genelinde değerlendirilmiş, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p değerleri Tablo 9’da verilmiştir. P değeri tüm bölgelerde 0.005 değerinden büyüktür. Türkiye geneline bakıldığında p değeri 0.492’dir. D2S441 lokusu Hardy Weinberg dengesine uyum göstermektedir.

Tablo 10’da yer alan bölgesel adli istatistik verilerine bakıldığında gerek bölgelerde gerekse Türkiye genelinde homozigotluk oranı düşük heterozigotluk oranı yüksektir. PIC değeri en yüksek bölge Karadeniz bölgesiyken en düşük bölge Ege’dir. Eşleşme Olasılığının en yüksek olduğu bölge Güneydoğu Anadolu, en düşük olduğu bölge Karadeniz’dir. Ayırt Etme Gücü en yüksek olan bölge Karadeniz en düşük olan bölge ise Güneydoğu Anadolu’dur. Dışlama Gücü ve Babalık indeksinin en yüksek olduğu bölgeler Güneydoğu Anadolu, Karadeniz ve Marmara en düşük olduğu bölge Doğu Anadolu’dur.

Türkiye geneli alel sıklıkları diğer popülasyonlarla karşılaştırılmış ve Grafik 18’de gösterilmiştir. Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışmada Kafkas ve Afroamerikan popülasyonlarında en sık 11. alele, Latin popülasyonunda en sık 10. alele rastlanırken her üç popülasyonda en az 12.3 ara aleli gözlemlenmiştir. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşları tarafından Almanya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık rastlanan alel 11. alel en az görülen aleller ise 8 ve 9 alelleridir. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya popülasyonunda yapılan çalışmada ise en sık 11. alel nadir olarak da 9. alel tespit edilmiştir. Ülkemizde en sık 11. alel, nadir olarak da 10. alel görülmektedir. Ülkemizde tespit edilen tüm aleller karşılaştırma yapılan popülasyonlarda da görülmektedir.

Diğer popülasyonlarda tespit edilmiş olan 11.3, 12.3, 13.3,14.3 gibi ara aleller ve 8. , 9. , 15. , 16. ve 17. aleller ülkemizde görülmemektedir.

D2S441 lokusuna ait bulgularımızı dünya popülasyonları ile karşılaştırdığımızda Türkiye popülasyonunda görülen tüm aleller için Kafkas popülasyonu ile bir yakınlık gözlenirken diğer popülasyonlar ile anlamlı derecede farklılık gözlemlendi (Tablo 11).

D4S2364 Lokusu

D4S2364 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 19-25’de, Türkiye alel sıklıkları Grafik 26’da, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 12’de, istatistik verileri (PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo 13’de, Türkiye popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 27’de ve Z testi verileri Tablo 14’de gösterilmiştir.

Bölgelere göre alel sıklıkları, Tüm bölgelerde en fazla 9. alel, en az 11. ve 8.alel gözlemlenmiştir (Grafik 19, 20, 24 ve 25). Karadeniz bölgesinde en sık 9. alel tespit edilmiştir. Bunun dışında tespit edilen 8. , 10. ve 11. alellerin görülme sıklıkları eşittir (Grafik 21). Ege ve İç Anadolu bölgelerinde ise en sık rastlanan alel 9. alel, nadir görülen alel 8. aleldir (Grafik 22,23).

D4S2364 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıklarına bakıldığında toplam 4 adet (8, 9, 10 ve 11) alel gözlenmiştir. En sık 9. alele ve en az 11. alele rastlanmıştır (Grafik 26).

D4S2364 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu bölgeler içinde ve Türkiye genelinde değerlendirilmiş, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p değerleri Tablo 14'de verilmiştir. p değeri tüm bölgelerde 0.005 değerinden büyüktür.

Türkiye geneline bakıldığında p değeri 0.131'dir. D4S2364 lokusu Hardy Weinberg dengesine uyum göstermektedir (Tablo 12) .

Tablo13'de yer alan bölgesel istatistik verileri; Doğu Anadolu bölgesinde Homozigotluk oranı Heterozigotluk oranına eşittir. Güneydoğu ve Karadeniz bölgelerinde Homozigotluk oranı Heterozigotluk oranına göre daha yüksektir. Diğer bölgelerde ise Heterozigotluk oranı yüksek, Homozigotluk oranı düşüktür. PIC değeri en yüksek bölge Akdeniz bölgesiyken en düşük bölge Karadeniz'dir. Eşleşme Olasılığının en yüksek olduğu bölge Güneydoğu Anadolu, en düşük olduğu bölge Marmara'dır. Ayırt Etme Gücü en yüksek olan bölge Akdeniz en düşük olan bölge ise Güneydoğu Anadolu'dur. Dışlama Gücü ve Babalık indeksinin en yüksek olduğu bölge Akdeniz en düşük olduğu bölge Marmara'dır.

Türkiye geneli alel sıklıkları diğer popülasyonlarla karşılaştırılarak Grafik 27'de gösterilmiştir. Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışmada Kafkas, Latin ve Afroamerikan popülasyonlarında en sık 10. Alele rastlanmıştır. Kafkas popülasyonunda en az 8. alel, Latin popülasyonunda en az 12. alel, Afroamerikan popülasyonunda ise en az 11. alel gözlemlenmiştir. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşlarının Almanya popülasyonunda yaptıkları çalışmada en sık rastlanan alel 9. alel en az 11. alel tespit edilmiştir. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık 10. alelin, nadir olarak 8. alelin varlığı tespit edilmiştir. Ülkemizde en sık 9. alel gözlenirken en az 11. alel görülmektedir. Ülkemizde tespit edilen tüm aleller karşılaştırma yapılan popülasyonlarda da görülmektedir. Latin ve İtalya popülasyonlarında tespit edilmiş olan 12. alel ülkemizde tespit edilmemiştir.

D4S2364 lokusuna ait bulgularımızı dünya popülasyonları ile karşılaştırdığımızda Türkiye popülasyonunda görülen tüm aleller için Alman popülasyonu ile farklılık gözlenmezken diğer popülasyonlar ile anlamlı derecede bir farklılık bulunmaktadır (Tablo 14).

D10S1248 Lokusu

D10S1248 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 28-34'de, Türkiye alel sıklıkları Grafik 35'de, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 15'de, istatistik verileri (PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo 16'da, Türk popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 36'da ve Z testi verileri Tablo 17'de gösterilmiştir.

Bölgelere göre alel sıklıklarına bakıldığında, Doğu Anadolu, Güneydoğu Anadolu, Ege ve İç Anadolu bölgelerinde en fazla 15. alel gözlemlenmiştir (Grafik 28, 29, 31 ve 32). Doğu Anadolu, Ege ve İç Anadolu bölgelerinde en az görülen alel 18. aleldir (Grafik 28, 31 ve 32). Güneydoğu Anadolu bölgesinde en az görülen aleller ise 13. ve 14. alelleridir (Grafik 29). Karadeniz bölgesinde en sık 16. alel en az 18. alel tespit edilmiştir (Grafik 30). Akdeniz bölgesinde en sık rastlanan alel 15. alel, en az görülen alel ise 16. aleldir (Grafik 33). Marmara bölgesinde en sık 14. alele rastlanırken en az 13. alel tespit edilmiştir (Grafik 34).

D10S1248 lokusunun Türkiye geneli alel dağılımında; toplam 7 adet (11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ve 18) alel gözlenmiştir. En sık 15. alel ve en az 13. alel rastlanmıştır (Grafik 35).

D10S1248 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu bölgeler içinde ve Türkiye genelinde değerlendirilerek, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p değerleri Tablo 15'de verilmiştir. p değeri tüm bölgelerde 0.005 değerinden büyüktür. Türkiye geneline bakıldığında p değeri 0.705'dir. D10S1248 lokusu Hardy Weinberg dengesine uyum göstermektedir.

Tablo 16'da yer alan bölgesel istatistik verilere bakıldığında gerek bölgelerde gerekse Türkiye genelinde Homozigotluk oranı düşük Heterozigotluk oranı yüksektir. PIC değeri en yüksek bölge Güneydoğu Anadolu bölgesi iken en düşük bölgeler Akdeniz ve İç Anadolu'dur. Eşleşme Olasılığının en yüksek olduğu bölge İç Anadolu, en düşük olduğu bölge Karadeniz'dir. Ayırt Etme Gücü en yüksek olan bölge Karadeniz en düşük olan bölge ise İç Anadolu'dur.

Dışlama gücü ve babalık indeksinin en yüksek olduğu bölge Marmara en düşük olduğu bölge Karadeniz'dir.

Türkiye geneli alel sıklıkları diğer popülasyonlarla karşılaştırılarak Grafik 36'da gösterilmektedir. Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışmada Kafkas popülasyonunda en sık görülen alel 14. alel, en az görülen alel ise 20. aleldir. Latin ve Afroamerikan popülasyonlarında en sık 15. alele rastlanmıştır. Latin popülasyonunda en az 20. alel, Afroamerikan popülasyonunda ise en az 11. ve 19. aleller gözlemlenmiştir. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşları tarafından Almanya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık rastlanan alel 14. alel, en az 18. alel tespit edilmiştir. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık 15. alelin, nadir olarak 13. alelin varlığı tespit edilmiştir. Ülkemizde en sık 15. alel, en az 13. alel görülmektedir. Ülkemizde görülen nadir rastlanan 11. alel Afroamerikan popülasyonunda, yine nadir görülen 12. alel ise Afroamerikan ve Almanya popülasyonlarında da tespit edilmiştir. Diğer popülasyonlarda görülmüş olan 10. , 11. , 18. , 19. ve 20. aleller ülkemizde tespit edilmemiştir.

D10S1248 lokusuna ait bulgularımızı (Z değerleri) dünya popülasyonları ile karşılaştırdığımızda İtalya popülasyonu ile anlamlı derecede farklılık görülmezken diğer popülasyonlarla anlamlı derecede farklılık bulunmaktadır (Tablo 17) .

D14S1434 Lokusu

D14S1434 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 37-43'de, Türkiye alel sıklıkları Grafik 44'de, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 18'de, istatistik verileri (PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo 19'da, Türkiye popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 45'de ve Z testi verileri Tablo 20'de gösterilmiştir..

Bölgelere göre alel sıklıklarına bakıldığında, Doğu Anadolu bölgesinde en fazla 15. alel, en az 11. alel gözlemlenmiştir (Grafik 37). Güneydoğu Anadolu bölgesinde en fazla görülen alel 15'inci en az görülen alel 16. aleldir (Grafik 38). Karadeniz bölgesinde en sık 13.

alel en az 16. alel tespit edilmiştir (Grafik 39). Ege bölgesinde en sık rastlanan alel 14. alel, nadir görülen alel ise 16. aleldir (Grafik 40). İç Anadolu bölgesinde en sık görülen alel 17. alel en az görülen alel ise 18. aleldir (Grafik 41). Akdeniz bölgesinde en sık rastlanan alel 15. alel, en az görülen alel ise 16. Aleldir (Grafik 42). Marmara bölgesinde en sık 13. alele rastlanırken en az 12. alel tespit edilmiştir (Grafik 43).

D14S1434 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıklarına bakıldığında toplam 6 adet (11, 12, 13, 14, 15 ve 16) alel gözlenmiştir. En sık 15. alele ve en az 12. alele rastlanmıştır (Grafik 44).

D14S1434 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu bölgeler içinde ve Türkiye genelinde değerlendirilmiş, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p değerleri Tablo 18’de verilmiştir. P değeri tüm bölgelerde 0.005 değerinden büyüktür. Türkiye geneline bakıldığında p değeri 0.238’dir. D10S1248 lokusu Hardy Weinberg dengesine uyum göstermektedir.

Tablo 19’da yer alan bölgesel istatistik verilere bakıldığında, Doğu Anadolu bölgesinde homozigotluk ve heterozigotluk oranları eşittir. Güneydoğu Anadolu bölgesinde ise homozigotluk oranı heterozigotluk oranından yüksektir. Diğer bölgelerde heterozigotluk oranı homozigotluk oranından yüksektir. PIC değeri en yüksek bölge Marmara bölgesi iken en düşük bölge Ege’dir. Eşleşme olasılığının en yüksek olduğu bölge Ege, en düşük olduğu bölge Marmara’dır. Ayırt etme gücü en yüksek olan bölge Marmara en düşük olan bölge ise Ege’dir. Dışlama gücü ve babalık indeksinin en yüksek olduğu bölge Akdeniz en düşük olduğu bölge Güneydoğu Anadolu’dur.

Türkiye geneli alel sıklıkları diğer popülasyonlarla karşılaştırılarak Grafik 45’de gösterilmiştir. Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışmada Kafkas popülasyonunda en sık görülen alel 17. alel, en az görülen aleller ise 19. ve 20. alellerdir. Latin ve Afroamerikan popülasyonlarında en sık 18. alele rastlanmıştır. Latin popülasyonunda en az 13. alel, Afroamerikan popülasyonunda ise en az 20. alel gözlemlenmiştir. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşları tarafından Almanya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık rastlanan alel 13. alel en az 15. alel tespit edilmiştir. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya

popülasyonunda yapılan çalışmada en sık 18. alel, nadir olarak da 16. alel tespit edilmiştir. Ülkemizde en sık 15. alel, en az 12. alel görülmektedir. 11. ve 12. aleller Türkiye ve Almanya popülasyonunda görülmüştür. 13. alel İtalya ve Kafkas popülasyonlarında görülmemektedir. 14. ve 15. aleller tüm popülasyonlarda ortaktır. 16. alel Alman popülasyonunda bulunmamaktadır.

D14S1434 lokusuna ait bulgular dünya popülasyonları ile karşılaştırıldığında (Z testi) genel olarak tüm popülasyonlarla anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir (Tablo 20) .

D22S1045 Lokusu

D22S1045 lokusunun bölgelere göre alel sıklıkları Grafik 46-52'de, Türkiye alel sıklıkları Grafik 53'de, Hardy Weinberg dengesine uyum ve p değerleri Tablo 21'de, istatistik verileri (PIC, PM, PD, PE ve TPI) Tablo 22'de, Türkiye popülasyonunda görülen alel sıklıklarının Afroamerikan, Latin, Kafkas ve Avrupa (Almanya ve İtalya) popülasyonları ile karşılaştırılması Grafik 54'de ve Z testi verileri Tablo 23'de gösterilmiştir.

Bölgelere göre alel sıklıklarına bakıldığında, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde en fazla 14. alel, en az 15. alel gözlemlenmiştir (Grafik 46,47). Karadeniz bölgesinde en sık 15. alel en az 13. alel görülmüştür (Grafik 48). Ege bölgesinde en sık rastlanan alel 12. alel, nadir görülen aleller ise 8. ve 11. alellerdir (Grafik 49). İç Anadolu bölgesinde en sık görülen alel 15. alel, en az görülen alel ise 16. aleldir (Grafik 50). Akdeniz bölgesinde en sık rastlanan alel 11. alel, en az görülen alel ise 10. aleldir (Grafik 51). Marmara bölgesinde en sık 15. alele rastlanırken en az 16. alel gözlenmiştir (Grafik 52).

D22S1045 lokusunun Türkiye geneli alel sıklıklarına bakıldığında toplam 9 (8, 9, 10,11, 12, 13, 14, 15, 16 ve 17) alel gözlenmiştir. En sık 15. alele ve en az 10. alele rastlanmıştır (Grafik 53).

D22S1045 lokusunun Hardy Weinberg dengesine uyumu bölgeler içinde ve Türkiye genelinde değerlendirilmiş, gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri ile p değerleri Tablo 16'da verilmiştir. p değeri tüm bölgelerde 0.005 değerinden büyüktür. Türkiye geneline

bakıldığında p değeri 0.410'dur. D22S1045 lokusu Hardy Weinberg dengesine uyum göstermektedir.

Tablo 22'de yer alan bölgesel istatistik verileri incelendiğinde , gerek bölgelerde gerekse Türkiye genelinde Homozigotluk oranı düşük Heterozigotluk oranı yüksektir. PIC değeri en yüksek bölge İç Anadolu bölgesi iken en düşük bölge Güneydoğu Anadolu Bölgesidir. Eşleşme olasılığının en yüksek olduğu bölge Marmara, en düşük olduğu bölge İç Anadolu'dur. Ayırt etme gücü en yüksek olan bölge İç Anadolu en düşük olan bölge ise Marmara'dır. Dışlama gücü ve babalık indeksinin en yüksek olduğu bölge Ege en düşük olduğu bölge Güneydoğu Anadolu'dur.

Türkiye geneli alel sıklıkları diğer popülasyonlarla karşılaştırıldı ve Grafik 54'de gösterildi. Buna göre, Coble M.D. ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptığı çalışmada Kafkas popülasyonunda en sık görülen alel 13. alel, en az görülen 10. aleldir. Latin popülasyonunda en sık 12. alel, nadir olarak da 10. alele rastlanmıştır. Afroamerikan popülasyonunda ise en fazla 12. alele en az 16. alele rastlanmıştır. 2008 yılında Herzog U. ve arkadaşları tarafından Almanya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık rastlanan alel 15. alel en az 12. alel tespit edilmiştir. 2006 yılında Rocchi A. ve arkadaşları tarafından İtalya popülasyonunda yapılan çalışmada en sık 12. alel ve nadir olarak 10. alel tespit edilmiştir. Ülkemizde en sık 15. alel nadir olarak 10. alel görülmektedir. 11., 12. ve 14. aleller tüm popülasyonlarda ortaktır. Türkiye popülasyonunda tespit edilen 8. , 10. ve 13. aleller Alman popülasyonunda görülmemektedir. Karşılaştırma yapılan popülasyonlarda görülmüş olan 5. , 7. , 9. , 17. , 18. ve 19. aleller Türkiye popülasyonunda görülmemektedir.

D22S1045 lokusuna ait bulgularımızı dünya popülasyonları ile karşılaştırdığımızda İtalya ile birkaç alel dışında (Z testi) genel olarak tüm popülasyonlarla anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir (Tablo 23) .

NC01 ve NC02 Minipleksleri'nin alel sıklıkları Tablo 24 ve Tablo 25'de, adli istatistik bilgileri Tablo 26 ve Tablo 27'de Hardy Weinberg Dengesine uyumları Tablo 28'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Bazı lokuslarda genel Türkiye populasyonunda gözlenen alel sıklıklarının tüm bölgelerde aynı oranda rastlanmadığı gözlenmiştir. Bunun nedeni bölgelere göre örnek sayısının az olmasından kaynaklanmaktadır. Bölge bazında daha sağlıklı gen sıklıkları belirlemek için daha fazla örnekle çalışılması gerekir. Ancak 6 mini STR lokusunun genel Türkiye populasyonundaki gen sıklıkları için çalışılan örnek sayısı yeterli düzeydedir (Tablo 24 , 25). Genel Türkiye popülasyonunda Hardy Weinberg dengesine uyum Tablo 26'da gösterilmektedir.

Genel Türkiye popülasyonunda NC01 ve NC02 Minipleks lokuslarının adli identifikasyon (kimliklendirme) açısından yararlılıklarına bakıldığında homozigotluk düşük, heterozigotluk yüksektir. Yüksek heterozigotluk sebebiyle bu lokuslar kimliklendirme ve kişileri birbirinden ayırt etme gücü açısından daha yararlı sistemlerdir. En yüksek heterozigotluğa sahip lokuslar sırasıyla D2S441, D14S1434, D4S2364, D22S1045, D10S1248 ve D1S1677'dir. Polimorfizm oranı, ayırtetme gücü yüksek olan ve aynı zamanda eşleşme olasılığı düşük lokuslar kimliklendirmede tercih edilen sistemlerdir. Buna göre adli açıdan en yararlı lokuslar sırasıyla D22S1045, D14S1434, D10S1248, D2S441, D1S1677 ve D4S2364'tür. Babalık belirlemede temel kriter her bir lokusun babalık indeksidir. En yüksek babalık indeksine sahip olan lokuslar sırasıyla D2S441, D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364 ve D1S1677'dir.

Çalışmamızın bulguları ışığında NC01 ve NC02 Mini STR lokuslarının adli laboratuvarlarda kimliklendirme ve babalık tayininde kullanılmaları yararlı olacaktır.

6. ÖZET

Adli bilimlerde DNA analizleri; kimliklendirme, babalık tayini, akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde ve olay yeri - suçlu arasında bağlantı kurulması için gereklidir. STR lokuslarının alel frekansları (sıklıkları) toplumdan topluma değişiklik göstermektedir.

Bu tez çalışmasında, D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 mini STR lokuslarının Türkiye genelinde gen sıklıklarının saptanması ve kriminal laboratuvarlarda rutinde kullanılabilmesi amacıyla Türkiye genelinde 200 kişiden alınan kan örneklerinde 6 mini STR lokusu tiplendirildi. Bunun için; 6 lokusun PCR'ı 3'lü multipleks oluşturularak çalışıldı. Coble M. D. ve ark. 2005'te dizayn ettikleri primerler kullanılarak, 2011 yılında Ünsal T. ve ark. tarafından optimize edilmiş FAM, TET, HEX boya ile işaretlenmiş primerler kullanıldı. PCR için Top Taq™ Master Mix (Qiagen) kullanıldı. PCR ürünleri ABI 310 cihazında analiz edildi. 200 örnekte 6 mini STR lokusu için elde edilen alel tipleri Powerstat V1.2 (Promega) populasyon genetiği programı kullanılarak analiz edildi. Her bir lokusun Türkiye toplumdaki alel sıklıkları, homozigotluk ve heterozigotluk oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği, eşleşme olasılığı, ayırt etme gücü, dışlama gücü ve babalık indeksi oranları hesaplandı. Arlequin 3.11 programı ile her lokusun Hardy Weinberg Dengesine uyumu analiz edildi. Elde edilen veriler diğer popülasyonlar ile karşılaştırılması amacıyla Z değerleri hesaplandı.

Bu tez çalışmasında D1S1677, D2S441, D4S2364, D10S1248, D14S1434, D22S1045 mini STR lokuslarının Türkiye'deki adli laboratuvarlarda olgu aydınlatılmada kullanılabilmesi için Türk toplumuna ait gen sıklıkları belirlendi. Elde edilen sonuçlar Türkiye popülasyonuna özgü olup, genel olarak babalık ve kimliklendirme çalışmalarında mutlaka kendi toplumumuza özgü gen sıklıklarının kullanılması gerekmektedir.

7. SUMMARY

In Forensic Sciences, DNA analysis is required for identifications, paternity test, understanding the relationships between people, and establishment of a connection between the crime scene and the guilty person. Frequencies of the STR loci varies between populations.

The aim of the study is to determinate the allele frequencies of D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 mini STR loci in Turkish population and to become a valuable tool for Turkish Criminal Laboratories. For this purpose 6 mini STR loci was identified blood samples, which were taken from 200 volunteer subjects. Therefore 6 STR loci were amplified by two different multiplex PCR reaction. Primer set which was designed by M.D. Coble on 2005 and optimized with FAM-HEX-TET dies by T. Unsal on 2011. Top Taq™ Master Mix (Qiagen) was used for PCR reaction. PCR products were analysed on ABI 310 Genetic Analyser. Allele Frequencies were calculated with Powerstats V.1.2 (Promega Cooperation) population genetics Excel workbook. As well as Allele Frequencies, Matching Probability, Polymorphism Information Content, Power of Discrimination, Power of Exclusion, Typical Paternity Index , Number of Homozygotes and Heterozygotes were also calculated. Hardy Winberg Equilibrium was tested for each Loci with Arlequin 3.11 population istatistic program. Finally, In order to compare our data with other populations we calculate Z score for every allele.

In this study, allele frequencies of 6 mini STR loci (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) for Turkish population were statistically calculated and verified. The usage of 6 mini STR loci in Turkish Criminal Laboratories were established. The results obtained are specific to Turkey population. In general, it is necessary to use the frequency of specific in our own society for paternity and identification issues.

8. KAYNAKLAR

ABI Prism 310 Genetic Analyzer User's Guide (2001) Applied Biosystems, USA.

ABI Prism 310 Genetic Analyzer User's Manual (2001) Applied Biosystems, USA.

Abrahams Z., Benjeddou M. (2011) The value of Non-CODIS miniSTR genotyping systems in forensic casework in South Africa African Journal of Biotechnology Vol. 10(86), pp. 19908-19912

Agaoglu Ö.K. , Ertuğrul O. , (2011) Mikrosatellit Belirteçleri ile Darboğaz (Bottleneck) Testi Erciyes Üniv Vet Fak Derg 8(3) 187-192, 2011

Akey J. M.(2004) Population history and natural selection shape patterns of genetic variation in 132 genes. *PLoS Biol.* 2, e286.

Allendorf, F. W., England, P. R., Luikart, G., Ritchie, P. A., & Ryman, N. (2008) Genetic Effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology & Evolution* (Personal Edition), 23(6), 327-337.

Arlequin version 3.11 Manual (2007) <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/> (ET:10.12.2011)

Bar W., Brinkmann, B., Lincoln P., Mayr W.R. and Rossi U. (1994) DNA recommendations--1994 report concerning further recommendations of the DNA Commission of the ISFH regarding PCR-based polymorphisms in STR (short tandem repeat) systems. *Int. J. Leg. Med.* 107: 159-160.

Barton N.H. , Charlesworth B. , Genetic Revolutions, Founder Effects, and Speciation Annual Review of Ecology and Systematics - ANNU REV ECOL SYST , vol. 15, no. 1, pp. 133-164,

1984 <http://libra.msra.cn/Publication/44355989/genetic-revolutions-founder-effects-and-speciation> (ET:09.09.2012)

Baechtel F.S., Smerick J.B., Presley K.W. and Budowle B. (1993) Multigenerational amplification of a reference ladder for alleles at locus D1S80. *Journal of Forensic Sciences*; 38: 1176–1182.

Bacher J.W. , Hennes L.F., Gu T., Tereba A., Micka K.A., et al. (1999) Pentanucleotide Repeats: Highly Polymorphic Genetic Markers Displaying Minimal Stutter Artifact. Proceedings of the Ninth International Symposium on Human Identification, pp. 24–37. Madison, Wisconsin: Promega Corporation.

Beaumont, M. (1999) Detecting population expansion and decline using microsatellites. *Genetics* 153, 2013-2029

Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 1996-2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions <https://www.eeb.ucla.edu/Faculty/Barber/Software.htm> (ET: 02.09.2012)

Bianchi L, Liò P. (2007) Forensic DNA and bioinformatics. *Brief Bioinform.* 2007 Mar;8(2):117-28.

Brinkmann B. (1992) The use of STR's in stain analysis. In: Proceedings from the Third International Symposium on Human Identification. Promega Corporation, Madison, USA, 357-73

Bostein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W., Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism, *Am. J. Hum. Genet.* 32 (1980) 314–331.

Budowle B., Moretti T.R. (1999) Genotype Profiles for Six Population Groups at the 13 CODIS Short Tandem Repeat Core Loci and Other PCR-Based Loci, *Forensic Science Communications*, Vol. 1, Num. 2:

Butler J.M., (2005) Forensic Issues: Degrade DNA, PCR Inhibition, Contamination, Mixed Samples and Low Copy Number: 145-179.

Butler J. M., Buel E., Crivellente F., McCord B. R. (2004) Forensic DNA typing by capillary electrophoresis using the ABI Prism 310 and 3100 genetic analyzers for STR analysis, *Elektrophoresis*, 25 : 1397-1412.

Cervus 3.0 Manual http://www.fieldgenetics.com/pages/aboutCervus_Functions.jsp (ET: 04.09.2012)

Chan L. (1992) Advances in molecular biology with applications in clinical medicine. *Klin Lab*; 38:2-4.

Coble M.D. , Butler C.M. (2005), Characterization of New MiniSTR Loci to Aid Analysis of Degraded DNA, *J Forensic Sci*, Jan. Vol. 50

Coble M.D. , Hill C.R, Vallore P.M., Butler C.M. (2006) Characterization and performance of new MiniSTR loci for typing degraded samples. *International Congress Series* 1288 504–506

Crow J.F (1999) Hardy, Weinberg and language impediments. *Genetics* 152 (3): 821–5.

Crouse C.A. (1999) Analysis and Interpretation of Short Tandem Repeat Microvariants and Three-Banded Allele Patterns Using Multiple Allele Detection Systems *J Forensic Sci* 1999;44(1):87–94.

DDC DNA diagnostic center website. <http://www.forensicdnacenter.com/dna-ministr.html> (ET: 9.10.2011)

Dorak M. (2004) Basic Population Genetics. <http://www.dorak.info/genetics/popgen.html> (ET:25.06.2012)

Edwards A., Hammond H.A., Jin L., Caskey T., Chakraborty R. (1992) Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeats. *Genomics*; 12: 241-53.

Excoffier L. , Laval G. , Schneider S. (2005) Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis *Evol Bioinform Online*. 2005; 1: 47–50. Published online 2007 February 23

Excoffier, Heckel. 2006. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. *Nature Reviews Genetics* 7, 745-758.

Filoğlu G. (1999) 7 Tetrametrik STR lokusunun kriminal identifikasyondaki önemi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul

Foll M. , Gaggiotti O.E., (2005) Colonise: a computer program to study colonization processes in metapopulations. *Molecular Ecology Notes* Volume 5, Issue 3, pages 705–707,

Foreman L.A. Lambert, J.A. 2000. Genetic differentiation within and between four UK ethnic groups. *Forensic Science International*, 114:7-20.

GeneScan Reference Guide (2000) Applied Biosystems, USA

Gill P., Kirkham A. (2004) Development of a simulation model to assess the impact of contamination in casework using STRs. *J Forensic Sci*; 49(3): 485-491.

Gill P. (1987) Werrett DJ. Exclusion of a man charged with murder by DNA fingerprinting. *Forensic Sci Int*; 35: 145-8.

Gill P., Urquhart A., Millican E., Oldroyd N., Watson S., Sparkes R., Kimpton C.P., (1996) A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database. *Int J Leg Med*;109:14-22

Gomes I. , Collins A. , Lonjou C. , Thomas N.S. , Wilkinson J., Watson M. , Morton M., Hardy–Weinberg quality control *Annals of Human Genetics* Volume 63, Issue 6, pages 535–538, November 1999

Goudet J. (2005) HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics *Molecular Ecology Notes* (2005) 5, 184–186

Hered J.(1995) A Computer Program to Calculate F-Statistics *J Hered* 86(6): 485-486

Herzog U. , Augustin C. , Püschel K. (2008) Allele frequencies of six miniSTR markers in a population sample from Northern German and its application on forensic stain analysis. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 1* (2008) 331–333

Hey J. (2007) IM Software manual <http://genfaculty.rutgers.edu/hey/software> (ET:01.09.2012)

Hill C.R., Coble M.D., Butler J.M. (2006) Development of 27 New MiniSTR Loci for Improved Analysis of Degraded DNA Samples, Poster B105 at American Academy of Forensic Sciences, Seattle, WA

Hill C.R., Coble M.D., Butler J.M. (2006) Characterization Of 26 New MiniSTR Loci, at Promega Meeting, Nashville, TN

Hill C.R., Kline M.C., Coble M.D., Butler J.M. (2006) Helping to Improve Human Identity Testing: Development of 26 New miniSTR Loci as DNA Markers, Forensics and Homeland Security.

Holt CL, Buoncristiani M, Wallin JM, Nguyen T, Lazaruk KD, Walsh PS. TWGDAM validation of AmpFSTR™ PCR amplification kits for forensic DNA casework. J Forensic Sci 2002;47(1):66–96

Hosking L. , Lumsden S. , Lewis K, Yeo A. , McCarthy L., Bansal A, Riley J., Purvis I. , Xu C.F (2004) Detection of genotyping errors by Hardy–Weinberg equilibrium testing European Journal of Human Genetics, 395–399.

<http://www.promega.com/geneticidprooc/ussymp14proc/oralpresentations/howitt.pdf>. Ref Type: Internet Communication (ET: 07.11.2010)

<http://hihg.med.miami.edu/code/http/modules/education/Design/images/Slide502022.jpg> (ET: 10.09.2012)

http://www.cstl.nist.gov/strbase/var_tab.htm (ET: 26.10.2012)

<http://www2.lch/popgen/software/fstat.htm> (ET: 1.09.2012)

Jeff Glaubitz software page: Convert

<http://www.agriculture.purdue.edu/fnr/html/faculty/Rhodes/Students%20and%20Staff/glaubitz/software.htm> (ET: 09.07.2012)

Jeffreys A.J., Wilson V., (1985) Thein SL. Hypervariable “minisatellit” regions in human DNA. Nature; 314: 67-73.

Karaman S. (2009) Tıpta Bilimsel Araştırma ve İstatistik
anestezi.med.ege.edu.tr/sem/2009/15_bai.ppt (ET: 01.12.2012)

Kahraman U. (2010) Popülasyon genetiği derlemesi
http://uhrakahraman.blogspot.com/2010/11/populasyon-genetigi_06.html (ET: 10.09.2012)

Kloosterman A.D, Kersbergen P. (2003) Efficacy and limits of genotyping low copy number DNA samples by multiplex PCR of STR loci International Congress Series 1239 (2003) 795 – 798

Labate, J. A. (2000) Software for population genetics analyses of molecular marker data. *Crop Sci.* 40, 1521-1528

Lamarc - Likelihood Analysis with Metropolis Algorithm using Random Coalescence
<http://www.ctu.edu.vn/~dvxe/Bioinformatic/Software/BIT%20Software/lamarc.html> (ET: 05.09.2012)

Larsen L.A., Christiansen M., Vuust J., Anderson P.S. (2000) High throughput mutation screening by automated capillary electrophoresis, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 3: 393-409

Laurent E. (1995-2006) An Integrated Software Package for Population Genetics Arlequin Ver. 3.1. Manual

Leberg P. (2005) Genetic approaches for estimating the effective size of populations *Journal of Wildlife Management* 69(4):1385-1399. 2005 doi: [http://dx.doi.org/10.2193/0022-541X\(2005\)69\[1385:GAFETE\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2193/0022-541X(2005)69[1385:GAFETE]2.0.CO;2) (ET: 10.09.2012)

Lee H.C., Ladd C., Bourke M.T., Pagliaro E., Tirnady F. (1994) DNA typing in forensic science I. Theory and background. *Am J Forensic Med Pathol*; 15: 269-82.

Lee H.C. ve Ladd C. (2001) Preservation and Collection of Biological Evidence, Croatian Medical Journal, 42(3):225-228

Levinson G. and Gutman G.A. (1987). Slipped-strand impairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. *Molecular Biology and Evolution*; 4, 203. 21.

Lewis P. GDA Software <http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php> (ET: 01.09.2012)

Martinez G. (2003) Vazquez E, Sachaller C, Quevedo E. Genetic data on 11 STRs (CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS, vWA, D16S539, D7S820, D13S317, F13B, LPL) in an Argentine northeast population. *Forensic Science International* 133 254–255

MEGA Software Manual www.megasoftware.net/manual.pdf (ET: 03.09.2012)

Migrate Software Manual <http://popgen.sc.fsu.edu/migratedoc.pdf> (ET: 06.09.2012)

Möller A. (1994) Meyer E, Brinkmann B. Different types of structural variation in STR's: HumFES/FPS, HumVWA and HumD21S11. *Int J Leg Med*; 106:319-23.

MSA Software Manual http://i122server.vu-wien.ac.at/MSA/info.html/MSA_info.html (ET: 01.09.2012)

Phyliph Software Manual <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html> (ET:20.09.2012)

Pritchard JK, Przeworski M.(2001) Linkage disequilibrium in humans: models and data *Am J Hum Genet.* 2001 Jul;69(1):1-14. Epub 2001 Jun 14

QIAamp® DNA Micro Handbook (2010) QIAGEN®, USA.

QIAamp® DNA Mini Kit and QIAamp® and DNA Blood Mini Kit Handbook (2001) QIAGEN®, USA.

Qubit ssDNA Assay Kit Quick Reference Card (2010) Invitrogen™, California. www.invitrogen.com/qubit (ET:08.09.2011)

Raymond M. Genepop on the web <http://genepop.curtin.edu.au/> (ET:2.09.2012)

Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006;444:444–54

Robertson J., Ross A.M., Burgayne L.A. (1990) DNA in Forensic Science: Theory, Techniques and Applications. London: Ellis Howard Ltd.

Rocchi A. , Spinetti I. , Toni C. , Presciuttini S. , Domenici R. (2006) Gene frequencies of six miniSTR in Tuscany (Italy) Elsevier International Congress Series 1288 (2006) 377– 378

Rozas J (2009) DnaSP Graphic User Interface. Example of the output produced by DnaSP <http://www.ub.es/dnasp/> (ET:10.08.2012)

Schlotterer C. and Tautz D. (1992). Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*; 20: 211. 5.

Schmitt C. , Schmutzler A., Prinz M., Staak M. (1994) High sensitive DNA typing approaches for the analysis of forensic evidence: comparison of nested variable number of tandem repeats (VNTR) amplification and a short tandem repeats (STR) polymorphisms. *Forensic Sci Int*; 66: 29-41.

Sensabaugh G.F. (1994) DNA Typing of Biological Evidence Material Ancient DNA 1994, pp 141-148

Smith R.N. (1995). Accurate size comparison of short tandem repeat alleles amplified by PCR. *BioTechniques*; 18: 122–128.

Structure Software Manual <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software.html> (ET: 04.09.2012)

The International HapMap Consortium. The Hapmap project. *Nature* 2005;437:1299–320; (<http://www.hapmap.org>)

TopTaq™ PCR Handbook (2010) QIAGEN Sample and Assay Technologies, USA: www.qiagen.com

Unsal T. (2011) D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 Yeni MiniSTR Lokuslarının Kan ve Kan Lekelerinde Optimizasyonu

Urquhart A. (1994) Kimpton PC, Downes TJ, Gill P. Variation in short tandem repeat sequences- a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *Int J Leg Med*; 107: 13-20.

Wahlund Effect http://en.wikipedia.org/wiki/Wahlund_effect (ET: 14.10.2011)

Walsh S. (1998) Genotyping of forensic short tandem repeat (STR) systems based on sizing precision in a capillary electrophoresis instrument *Volume 19, Issue 1, pages 86–93, January 1998*

Weber JL., May P.E. (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet*; 44: 388-96.

Wilson I. (2003) Batwing User Manual <http://www.mas.ncl.ac.uk/~nijw/batwing/batguide.pdf> (ET:04.09.2012)

9. EKLER

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü tarafından yürütülen ve aşağıda adı geçen araştırma projesinde kullanılmak üzere biyolojik örnek verme yoluyla katkıda bulunmanızı dileriz. Projenin adı: 6 MiniSTR Lokusunun (D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677) Adli İdentifikasyondaki önemi ve Türkiye’deki gen sıklığı.

Bu tez çalışmasında, Mini STR’lerin Türkiye’deki Adli laboratuvarlarda rutinde kullanılabilmesi için; taze kan örneklerinde bu lokuslar çalışılarak alel sıklıkları, homozigotluk, heterozigotluk oranları, lokusların polimorfik bilgi içeriği, eşleşme olasılığı, ayırt etme gücü, dışlama gücü ve babalık indeksi oranları hesaplanacaktır.

Genetik inceleme kişinin DNA’sının, DNA ürünlerinin veya kromozomlarının incelenmesi yolu ile yapılır. Bu tür incelemelerin sonuçları kişiye özeldir ve kişinin rızası olmadığı sürece açıklanamaz.

Gönüllü, istediği anda araştırmacıya haber vererek araştırmadan çekilmek isteyebilir bu durumda, katılımcının örnekleri derhal imha edecektir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir.

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

Gönüllü katılımcının kimlik bilgileri gizli tutulacaktır ve kimse ile paylaşılmayacaktır. Bilgilerin kullanımında şifre kullanılacaktır. Katılımcının çalışmadan herhangi bir neden ile ayrılması durumunda; tüm kayıtları silinecektir

Yukarıda adı geçen çalışma için biyolojik örnek vermeyi kabul ediyorum. İ.Ü. Adli Tıp Enstitüsünün genetik inceleme sonuçlarımı anonim bir şekilde bilimsel yayınlarında kullanmalarını kabul ediyorum.

Araştırmaya katılan kişinin

Adı – Soyadı :

Doğum yeri

İmza

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Elif Sipahi

Doğum Tarihi: 18.11.1985

Doğum Yeri: İstanbul

E-posta: *elif_sipahi@hotmail.com*

İŞ DENEYİMİ:

- MEK Consulting Sözleşmeli Araştırma Kuruluşu (Ekim 2012- ...)
Klinik Araştırma Uzmanı
- Johnson and Johnson Sıhhi Malzeme Tic. Ltd. Şti (Temmuz 2011-Ekim 2012)
Klinik Araştırma Asistanı
- Atlas Medikal Tıbbi Danışmanlık Hizmetleri (Şubat 2010- Temmuz 2011)
Klinik Araştırma Saha Görevlisi
- Asra Medikal Danışmanlık Hizmetleri (Ağustos 2009- Şubat 2010)
Klinik Araştırma Saha Görevlisi

EĞİTİM DURUMU:

- İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimleri Yüksek lisans programı (2008 - Halen)
- T.C. Haliç Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (2004 - 2008)
- İstek Vakfı Belde Lisesi (2000 - 2003)

YAYINLARI:

Uluslararası Makaleler:

Sipahi E., Filoglu G., Unsal T., Altuncul H. (2011) Allele frequencies of NC02 multiplex STR loci (D1S1677, D2S441, D4S2364) in Turkey *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* Volume 3, Issue 1, December 2011, Pages e538–e539

Unsal T., Filoglu G., Sipahi E., Altuncul H., Rayimoglu G. (2011) NEW miniSTR loci D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 validation and optimization on blood samples. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* Volume 3, Issue 1, December 2011, Pages e473–e474

Uluslararası Bildiriler:

Sipahi E., Filoglu G., Unsal T., Altuncul H. (2011) Allele frequencies of NC02 multiplex STR loci (D1S1677, D2S441, D4S2364) in Turkey *Poster The 24th ISFG Congress Vienna, Austria, August 28 -- September 3, 2011*

Aldığı Kurs ve Sertifika Programları:

İ.Ü. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı (18-19.04.2006)