

Adli Biyoloji: Doğanın İzleriyle Adaletin Peşinde II

[Forensic Biology: Pursuing Justice with Nature's Traces II]

Editörler
Gönül FİLOĞLU
Özlem BÜLBÜL



iuc-universitypress.org

IUC
UNIVERSITY
PRESS

Adli Biyoloji: Doğanın İzleriyle Adaletin Peşinde II

Bu kitap, Cumhuriyetimizin kuruluşunun 100. yılı anısına
“Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap” projesi kapsamında
İstanbul Üniversitesi–Cerrahpaşa tarafından yayımlanmıştır.

Editörler
Gönül Filoğlu
Özlem Bülbül

Nisan 2024



Adli Biyoloji: Doğanın İzleriyle Adaletin Peşinde II

Yazar: Gönül Filoğlu

Kurum: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta: gfoglu@iuc.edu.tr

Yazar: Özlem Bülbül

Kurum: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta: ozlem.bulbulercan@iuc.edu.tr

Yayıncı



Adres: Üniversite Mahallesi, 34320 İstanbul/Türkiye

E-posta: iucpress@iuc.edu.tr

E-ISBN: 978-605-7880-68-0 (2.C)

DOI: 10.51.52/9700

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Üniversite Yayınevi Seri No: 50

Yayıncılık Hizmetleri



© 2024. Telif hakkı yazarlara aittir. Bu kitaptaki bölümler açık erişimli olup Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası Lisansı altında dağıtılmaktadır. Bu lisans kullanıcılara, bölümleri herhangi bir amaç için indirme, çoğaltma ve yayımlanan bölümler üzerinde çalışma imkânı sunar. Böylece yayınlarmızın en geniş şekilde yayılmasını ve daha geniş bir etkiye sahip olmasını sağlar.

Sorumluluk Reddi

Kitapta yayımlanan metinlerin/bölümlerin ifadeleri veya görüşleri yazar(lar)ın ve editör(ler)in görüşlerini yansıtır. İÜC Üniversite Yayınevi ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa yazıların içeriğinden sorumlu değildir. Yayımlanan kitaplardaki çalışmaların doğru ve iyi araştırılmış olması ve metinlerde ifade edilen görüşlerin tutarlılığı yazar ve editörlerin sorumluluğundadır. İÜC Üniversite Yayınevi ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, yazarlara çalışmalarını bilimsel toplulukla paylaşmak için bir platform sağlamaktadır.

Atıf için: Filoğlu, G. & Bülbül, Ö. (Ed). (2024). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II*. İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.

YAZARLAR

Beytullah Karadayı 

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Adli Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Burçak Vural 

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cemal Gürkan 

DNA Laboratuvarı, Kayıp Şahıslar Komitesi Kıbrıslı Türk Üye Ofisi, Lefkoşa, KKTC; Doğu Akdeniz Üniversitesi, Dr. Fazıl Küçük Tıp Fakültesi, Gazimağusa, KKTC

Damla Kanlıada 

DNA Laboratuvarı, Kayıp Şahıslar Komitesi Kıbrıslı Türk Üye Ofisi, Lefkoşa, KKTC

Evrım Kömürcü-Bayrak 

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Gökhan Ersoy 

İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Gönül Filoğlu 

İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Gülbanu Zorba 

Kayıp Şahıslar Komitesi Kıbrıslı Türk Üye Ofisi, Lefkoşa, KKTC

Güven Toksoy 

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Havva Altunçul 


Emekli Öğretim Üyesi; İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

Hüseyin Çakan 

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

Hüseyin Sevay 

Orta Doğu Teknik Üniversitesi (Kuzey Kıbrıs Kampusu), Yazılım Mühendisliği Programı, Kalkanlı, Güzelyurt, KKTC

Murat Ögdür 

Ankara Bölge Kriminal Polis Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Mustafa Fatih Yavuz 

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Adli Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Nurcan Hamzaoğlu 

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Psikoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Özlem Akkan 

Antalya İl Emniyet Müdürlüğü, Antalya, Türkiye

Özlem Bülbül 

İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul Türkiye

Sümeyye Zülal Şimşek 

İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Şükriye Karadayı 

Altınbaş Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, İstanbul, Türkiye

Tuğba Ünsal Sapan 

Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Adli Bilimler Bölümü, İstanbul, Türkiye; Üsküdar Üniversitesi, Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

İÇİNDEKİLER

REKTÖRÜN ÖN SÖZÜ VIII

ÖN SÖZ IX

GİRİŞ..... X

KISIM 1: ADLİ BİLİMLERDE BİYOLOJİK DELİL TOPLAMA VE İNCELENME SÜREÇLERİ

BÖLÜM 1: ÖLÜM SONRASI DEĞİŞİMLER VE MOLEKÜLER GENETİK YÖNTEMLERİN TATBİKİ..... 1

Gökhan Ersoy

1. Ölüm Sonrası Değişimler	2
2. Vücuttaki Postmortem Değişimler	2
2.1. Ölü Lekeleri (Livor Mortis, Hipostaz)	2
2.2. Ölü Katılığı (Rigor Mortis)	2
2.3. Ölü Soğuması.....	3
2.4. Çürüme	3
3. Postmortem Süreçlerde Genetik Materyalin Kullanılabilirliği	4
4. DNA'nın Parçalanması	5
4.1. Postmortem Değişimlerin DNA Analizlerine Etkisi	5
5. RNA'nın Parçalanması	6
6. Diğer Faktörler	8
7. miRNA ile PMI Analizleri	8

BÖLÜM 2: OLAY YERLERİNDEN BİYOLOJİK DELİLLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI 12

Özlem Akkan, Murat Öğdür

1. Olay Yerinin Tanımı ve Kapsamı	13
2. Bulgu ve Delil Kavramı	13
2.1. Bulgu/Delillerin Sınıflandırılması	13
3. Biyolojik Delillerin İncelenmesinin Hukuki Prosedürü.....	14
4. Biyolojik Delillerin Genel Özellikleri ve Adli Bilimlerdeki Değeri.....	15
5. Biyolojik Delillerin Sınıflandırılması.....	15
5.1. Kan	15
5.1.1. Silinmiş Kan Lekelerinin Tespiti ve Analizi	16
5.2. Tükürük.....	16
5.3. Kıl	16
5.4. Ter.....	16

5.5. Burun Akıntısı	16
5.6. Cinsel Akıntılar	16
5.7. Dışkı.....	17
5.8. İdrar	17
5.9. Doku ve Kemik Parçaları.....	17
5.10. Deri Döküntüleri.....	17
5.11. Entomolojik Bulgular.....	17
5.12. Botanik ve Narkotik Bulgular	17
5.13. Palinolojik Bulgular	17
5.14. Mikrobiyolojik Bulgular	18
6. Biyolojik Delillerin Genel Olarak Toplanma, Saklanma, Paketlenme ve Taşınma Kriterleri	18
7. DNA Analizi İçin Yeterli Olmayan Örnekler ve Kısıtlamalar	20
8. Karışım (Mix) Örnek, Kontaminasyon (Bulaş), Çapraz Bulaş ve Sekonder Transfer Kavramları.....	20
9. Biyolojik Deliller Üzerinde Yapılan Çeşitli İncelemeler	20
10. Biyolojik Delillerle İlgili Kolluk/Uzman Hataları ve Kolluk Dışındaki Personelin Farkındalığı	21

BÖLÜM 3: CİNSEL SALDIRI OLGULARINDA BİYOLOJİK ÖRNEK ALMA..... 24

Nurcan Hamzaoğlu, Mustafa Fatih Yavuz

1. Cinsel Saldırı Olgularının Değerlendirilmesi.....	25
1.1. Cinsel Saldırı Olgularında Muayene ve Biyolojik Örneklerin Toplanması	25
1.2 Anamnez Alınması	25
1.3 Muayene	25
1.4 Biyolojik Örneklerin Toplanması	25

BÖLÜM 4: ADLİ SEROLOJİ..... 31

Şükriye Karadayı, Hüseyin Çakan, Beytullah Karadayı

1. Biyolojik Delillerin Tanımlanmasında Kullanılan Rutin Adli Serolojik Yöntemler	32
1.1. Kan Tespit Yöntemleri	32
1.1.1. Kanda Mikroskopik İncelemeler ve Kristal Testleri.....	32
1.1.2. Katalitik Testler.....	32
1.1.3. Hemoglobinin Spektrofotometrik Yöntemlerle Tanımlanması.....	32
1.1.4. Kan Tanımlaması İçin İmmünolojik ve İmmünokromatografik Testler	32

1.1.5. Adli Bilimlerde Kan ve Kan Lekeleri Üzerinde Serolojik İnceleme Gerektiren Bazı Özel Durumlar	33
1.2. Semen ve Seminal Sıvının Tespiti İçin Kullanılan Serolojik Yöntemler	33
1.2.1. Spermatozoanın Mikroskopik Tespiti	34
1.2.2. Semen Testleri	34
1.2.3. İlişkiden Sonra Geçen Süre – Koital Sonrası Aralık (KSA).....	34
1.3. Tükürük.....	34
1.4. Diğer Biyolojik Sıvı ve Dokular (İdrar, Dışkı, Vajinal Sıvı, Deri Döküntüsü vb.)	35
2. Adli Serolojik İncelemeler İçin Yeni Teknikler	35
2.1. Gelişmiş Adli Işık Sistemleri	35
2.2. Raman Spektroskopisi	36
2.3. Adli Proteomik	37
2.3.1. Vücut Sıvılarının ve Dokularının Tanımlanmasında Proteomlar	38
2.3.2. Saç Proteomu.....	39
2.3.3. Kemik Proteomu.....	39

KISIM 2: ADLİ GENETİKTE TARİHSEL GELİŞİM VE GÜNCEL UYGULAMALAR

BÖLÜM 1: GEÇMİŞTEN GÜNÜMÜZE ADLİ GENETİKTE POLİMORFİZM

Gönül Filoğlu

1. Polimorfizm ve Genetik Markırlar.....	46
1.1. Kan Grupları ve Genetik Polimorfizm	46
1.2. Eritrosit Enzimleri ve Polimorfizm	46
1.3. İnsan Lökosit Antijeni (HLA)	47
1.4. DNA Polimorfizmi.....	47
1.4.1. DNA parmak izi	47
1.4.1.1. Tekrarlayan Dizi Polimorfizmi	48
1.4.1.2. PCR tekniğine dayalı ilk üretilen kitler.....	48
1.4.1.3. DNA Çalışmalarının İlk Dönemlerinde Standardizasyon ve akreditasyon çalışmaları.....	48
1.4.2. STR polimorfizmi.....	48
1.4.2.1. STR Lokuslarının Analizi.....	49
1.4.2.2. STR polimorfizmi ve DNA Veri Bankaları.....	49
1.4.3. Yeni Nesil Genetik Markırlar	50
1.4.3.1. SNP Lokusları	50
1.4.3.2. InDel Polimorfizmi	50
1.4.3.3. Epigenetik Markırlar	51
2. Cinsiyet Kromozomları ve Genetik Polimorfizm	51
3. mtDNA ve Polimorfizm	52
4. Popülasyon Çalışmalarında Polimorfizmin Önemi	52

BÖLÜM 2: ADLİ BİLİMLERDE YENİ NESİL DİZİLEME

Guven Toksoy, Evrim Kömürcü-Bayrak, Burçak Vural

1. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri.....	57
---	----

1.1. Yeni Nesil Dizileme Metodolojisi.....	58
1.1.1. Kütüphane hazırlanması	59
1.1.2. Taslak hazırlanması	61
1.1.3. Dizileme.....	62
1.1.4. Biyoinformatik Analiz	63
2. Adli Bilimlerde Yeni Nesil Dizileme Teknolojisinin Kullanım Alanları.....	64
2.1. Y Kromozom Analizleri.....	65
2.2. Mitokondriyal DNA Analizleri.....	66
2.2.1. YND ile Mitokondriyal Heteroplazminin Tespit ve Yorumunda Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar	66
2.3. Yeni Nesil Dizileme ile Epigenetik Analizler	67
2.3.1. Epigenetik DNA Metilasyon Analizi	67
2.3.2. Küçük RNA'ların Analizi	68
2.4. Yeni Nesil Dizileme ile Mikrobiyom Analizleri	68
2.4.1 Adli Araştırmalarda Mikrobiyal Profillemede Dikkat edilmesi Gereken Hususlar	69

BÖLÜM 3: KAYIP KİŞİLERİN DNA-BAZLI YÖNTEMLERLE KİMLİKLENDİRİLMESİ.....

Cemal Gürkan, Gülbanu G. Zorba, Damla Kanlıada

1. Kayıp Kişilerin DNA-bazlı Yöntemlerle Kimliklendirilmesi	75
1.1. İnsan Kalıntılarında DNA Profili Elde Edilmesi	75
1.2 İnsan Kalıntılarında ve İlgili Referans Örneklerinden Elde Edilen DNA Profillerinin Eşleştirilmesi.....	76
1.3. Eşleşen/Uyumlu DNA Profillerinin İstatistiksel Analizi ve Değerlendirilmesi.....	77
2. İnsan Kalıntılarının Bir Araya Getirilmesi.....	77
3. Kayıp Kişilerin Kimliklendirilmelerinde Disiplinlerarası Yaklaşımın Önemi	78
4. Çoklu Kayıp Kişilere Özgü Durumlar ve Zorlu Vakalar	79
5. Ailelerin Bilme (Bilgi Edinme) Hakkı.....	79

BÖLÜM 4: DNA VERİ BANKALARI

Tuğba Ünsal Sapan

1. Adli DNA Veri Bankalarının Kapsamı.....	83
2. CODIS (Combined DNA Index System, Birleşik DNA İndeks Sistemi).....	83
3. Adli DNA Veri Bankalarında Kullanılan Kimliklendirme Lokusları	84
4. Dünyada Genelinde Adli DNA Veri Bankaları	85
4.1. Afrika – Orta Doğu DNA Veri Bankaları	85
4.2. Amerika DNA Veri Bankaları	85
4.3. Avrupa DNA Veri Bankaları.....	87
4.4. Avrupa Birliği Üyesi Olmayan Devletler ve DNA Veri Bankaları	88
4.5. Avustralya DNA Veri Bankaları	88
4.6. Asya DNA Veri Bankaları	89
5. DNA Veri Bankaları ve Etik Yaklaşımlar	89
5.1. İnsan Hakları Açısından Yaklaşımlar	89

5.2. DNA Veri Bankalarının Gizlilik Durumu	90
5.3. Aile Taramaları	90
5.4. Hatalar ve DNA Verilerinin Uygunsuz Kullanımı	90

BÖLÜM 5: ADLİ GENETİK İSTATİSTİĞİ..... 93

Hüseyin Sevay, Özlem Bülbül, Cemal Gürkan

1 Popülasyon Genetiği Verilerinin Değerlendirilmesi	95
1.1. Mendel'in Kalıtım Kuralları	95
1.2. Bir Popülasyon Veri Setinin Oluşturulması	96
1.3. Popülasyon Verileri ve İstatistik Testler.....	97
1.3.1. Hardy-Weinberg Dengesi.....	97
1.3.2. Bağlantı Dengesi	98
2. DNA Delillerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi	98
2.1. Frekansçı Yaklaşım.....	98
2.2. Olasılık Oranı Yaklaşımı	100
2.3. Bayes Yaklaşımı.....	100
3. Akrabalık İstatistiği.....	101
3.1. Durumsal Özdeş ve Atasal Özdeş Aleller.....	101
3.2. Akrabalı Yetiştirme Katsayısı, F.....	102
3.3. Ortak Ata Katsayısı, θ	102
3.4. Annelik ve Babalık Testleri	102
3.4.1. Birleştirilmiş Babalık Endeksi ve Babalık Olasılığı.....	102
3.4.2. Standart Üçlü Babalık Testi—Rastgele Erkek	103
3.4.3. İkili Babalık Testi (Annesiz Olgu)	103
3.5. Akrabalık Testi (Kinship Testing)	103
3.5.1. Genetik İlişki Katsayıları.....	103
3.6. Mutasyon	104

**BÖLÜM 6: ADLİ LABORATUVARLARDA
STANDARDİZASYON VE AKREDİTASYON**

Hava Altunçul

1. Standardizasyon.....	107
2. Akreditasyon.....	108

3. Adli Bilimlerde Standardizasyon ve Akreditasyon	109
4. Akreditasyonda Dokümantasyonun Önemi	111
4.1. Kalite Politikası	111
4.2. Kalite El Kitabı (KEK)	111
4.3. Prosedür	111
4.4. Talimat ve Şemalar	111
4.5. Diğer Dokümanlar.....	111
5. Validasyon (Geçerli Kılma), Verifikasyon (Doğrulama) ve Kalibrasyon	112
5.1. Kesinlik ve Alt Parametreleri.....	113
5.2. Hassasiyet/Duyarlılık ve Seçicilik/Özgüllük (Selectivity and Sensivity)	113
5.3. DNA Analizlerinde Stokastik Eşik, Karışım Analiz ve Kontaminasyon Çalışması.....	114

**BÖLÜM 7: ADLİ GENETİKTE GÜNCEL
YAKLAŞIMLAR..... 118**

Sümeyye Zülal Şimşek, Özlem Bülbül

1. Tek Nükleotid Polimorfizm.....	118
1.1. Kimliklendirme SNP Markırları (Identity Informative SNPs, IISNPs)	119
1.2. Nesep SNP Markırları (Lineage Informative SNPs, LISNPs)	120
1.3. Biyocoğrafik Soy SNP Markırları (Ancestry Informative SNPs, AISNPs)	120
1.4. Fenotip SNP markırları (Phenotypic Informative SNPs, PISNPs)	121
2. Mikrohaplotipler	122
3. Epigenetik	122
3.1. Vücut Sıvılarının Kimliklendirilmesi	123
3.2. Yaş Tahmini	123
3.3. Monozigotik İkiizlerin Ayırt Edilmesi	124
4. Adli Genetik Geneoloji (Jeneoloji veya Soy bilimi)	
5. Mikrobiyom Analizi.....	126

REKTÖRÜN ÖN SÖZÜ

Türk milletinin bağımsızlık mücadelesi, 29 Ekim 1923'te Cumhuriyetin ilanı ile taçlanmıştır. Dünya tarihine altın harflerle kazınan büyük bir mücadele sonucu elde edilen şanlı zafer, Türk milletinin hür ve bağımsız yaşama kararlılığı ile çıktığı yolda; inanç, cesaret, güven ve sınırsız fedakârlıkla gösterdiği eşsiz kahramanlıkların eseridir. Egemenliğin kayıtsız şartsız millete teslim edildiği Türkiye Cumhuriyeti, Millî Mücadele'mizin önderi Gazi Mustafa Kemal Atatürk'ün milletimize en büyük armağanıdır.

Cumhuriyetin kazanımlarını koruma ve milletimizin muasır medeniyetler seviyesine ulaşma hedefinde, eğitim ve bilim her zaman en büyük rehberdir. Bu hedeflerin gerçekleştirilmesinde ise en büyük sorumluluk kuşkusuz üniversitelere düşmektedir.

Ülkemizin köklü ve öncü üniversiteleri arasında yer alan İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa; bilimsel yaklaşımı benimseyen, bilgi üreten ve uygulamalarıyla toplumun gelişmesine katkıda bulunmayı ilke edinen bir araştırma üniversitesidir. Cumhuriyet değerlerine bağlı bir yükseköğretim kurumu olarak Cumhuriyetimizin 100. yılına ithafen akademisyenlerimizin iş birliğiyle "*Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap*" projesini hayata geçiriyoruz. Proje kapsamında, akademisyenlerimizin kendi uzmanlık alanlarıyla ilgili kaleme aldıkları ve İÜC Yayınevi tarafından basılan kitaplar, açık erişimle tüm toplumun faydasına sunulmaktadır. Sağlıktan mühendisliğe, sosyal bilimlerden eğitime kadar pek çok alanda hazırlanan 100 kitap; eğitim-öğretim materyali, ders kitabı olarak kullanılabilceği gibi araştırma geliştirme kapsamında yararlanılacak kaynak olarak da kullanılabilcek nitelikteki kitaplardan oluşmaktadır.

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa olarak köklü geçmişimizden aldığımız güçle Cumhuriyetimizi nice yüzyıllara taşımak için var gücümüzle çalışmaya ve üretmeye devam ediyor, 100. yılını kutladığımız Cumhuriyetin kurulmasında emeği geçen tüm kahramanlara adadığımız "*Cumhuriyetin 100. Yılına 100 Kitap*" projemizi; tüm akademisyenlerin, öğrencilerin ve araştırmacıların kullanımına sunuyoruz.

Rektör
Prof. Dr. Nuri AYDIN
29 Ekim 2023

ÖN SÖZ

Adli bilimlerde suçu çözme ve delillerle ilişkilendirmede birden fazla bilim dalının işbirliği söz konusudur. Adli bilimler, multidisipliner olması nedeniyle delilden elde edilen bulgularla suçu ilişkilendirmede ve çözmeye birden çok bilim dalının birlikte çalışmasıyla mümkündür. Hangi bilim dallarından yararlanılacağını suç ve suçun işlendiği koşullar belirler. Son yıllarda bilimin her alanında büyük teknolojik gelişmeler yaşanmıştır. Bu teknolojik gelişmelerle birlikte suç unsurları da değişkenlik göstermiştir. Adli soruşturmalarda olay yeri incelemelerinde elde edilen delillerin doğru bir şekilde değerlendirilmesi hızlı ve doğru bir şekilde çözülmesi önemlidir. Olayla ilgili elde edilen tüm biyolojik deliller adli bilimlerin önemli bir parçasını oluşturan adli biyoloji kapsamında incelenir. Bu bilim dalı suça ilgili olarak olay yerinden toplanan insan, hayvan, bitki veya mikrobiyal kalıntılar gibi çok çeşitli biyolojik örneklerden yararlanarak suça karışan kişilerin kimliklendirilmesi, ölüm zamanı, ölüm sonrası cesedin yerinin değişip değişmediği gibi soruların yanıtını arar.

Adli Biyoloji: Doğanın İzleriyle Adaletin Peşinde kitabımız adli bilimler ve adli biyoloji eğitimi alan lisans, yüksek lisans ve doktora öğrencileri için kapsamlı bir kaynak olarak sunulmaktadır. Kitabımızın ilk cildinde hayvanlar, bitkiler ve mikrobiyoloji ikinci cildinde ise biyolojik delillerin toplanması, öncü analizler, adli DNA analizleri ve kimliklendirme konularını geniş bir yelpazede sunmayı amaçladık. Adli biyoloji alanındaki uzmanlarımızın bir araya gelerek kaleme aldığı bu kitapta, okuyuculara hem temel bilgileri hem de güncel yaklaşımları sunarak bu alandaki bilgi birikimlerini siz okuyuculara aktarmaya çalıştık.

Doç. Dr. Gönül FİLOĞLU
Doç. Dr. Üyesi Özlem BÜLBÜL

GİRİŞ

Adli biyoloji, adli soruşturmalarda olay yerinden toplanan biyolojik kanıtların analizi ve değerlendirilmesiyle ilgilenen bir bilim dalı olup biyolojinin birçok alt dalını barındıran geniş bir yelpazeye sahiptir. Her türlü biyolojik kanıtların toplanması, korunması, analizi ve yorumlanmasında adalate katkıda bulunur.

Bu kitap, adli bilimlerde lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimi alan öğrencilerin adli biyoloji alanında yararlanabilecekleri iki ciltten oluşan kapsamlı bir kaynaktır. Kitapta, adli biyolojinin farklı alanlarına odaklanarak, uzman yazarlar tarafından kaleme alınmış bölümlerle zenginleştirilmiştir. Kitabın birinci cildinde ele alınan konu başlıkları **adli bilimlerde hayvanlar ve entomolojik izler**: Adli bilimlerde evcil ve yaban hayvanlar ve adli entomoloji, **bitkilerin gölgesindeki sırlar**: adli botanik, adli bilimlerde zehir ve/veya psikoaktif madde içeren bitkiler ve mantarlar ve adli palinoloji ve **mikropların gizemli dünyası**: Adli mikrobiyoloji, biyoterör, adli mikrobiyota ve metagenomik analiz uygulamaları ve adli viroloji olmak üzere 3 temel modülde ve toplamda 10 bölümde ele alınmıştır. Kitabın ikinci cildinde ise **adli bilimlerde biyolojik delil toplama ve incelenme süreçleri**: Ölüm zamanı ve çürüme, olay yerlerinden biyolojik delillerin toplanması ve saklanması, cinsel saldırı olgularında biyolojik örnek alma, adli seroloji ve son olarak da **adli genetikte tarihsel gelişim ve güncel uygulamalar**: Geçmişten günümüze adli genetikte polimorfizm, adli bilimlerde yeni nesil dizileme, kayıp kişilerin DNA bazlı yöntemlerle kimliklendirilmesi, DNA veri bankaları, adli genetik istatistiği, adli laboratuvarlarda standardizasyon ve akreditasyon, adli mikrobiyolojide metagenomik analiz uygulamaları ve adli genetikte güncel yaklaşımların yer aldığı 2 modül ve 11 bölümden oluşmaktadır.

Bu kitap, konusunda uzman olan yazarların deneyimleriyle desteklenmiş hem teorik bilgi hem de pratik uygulamalar hakkında bilgi sunmayı amaçlamaktadır.

KISIM 1
ADLİ BİLİMLERDE BİYOLOJİK DELİL
TOPLAMA VE İNCELENME SÜREÇLERİ

BÖLÜM 1

ÖLÜM SONRASI DEĞİŞİMLER VE MOLEKÜLER GENETİK YÖNTEMLERİN TATBİKİ

Gökhan ERSOY

Ölüm Sonrası Değişimler ve Moleküler Genetik Yöntemlerin Tatbiki

Postmortem Changes and Application of Molecular Genetic Methods

BÖLÜM HAKKINDA

Şüpheli ölüm olaylarında gerçekleştirilen adli otopsilerin amaçlarından biri de ölüm zamanının belirlenmesi olabilmektedir. Ceset üzerinde gözlenen pek çok değişim ile postmortem interval (PMI) tahmini yapılabilmektedir. Çoğu morfolojik gözlemlere dayanan bu parametreler dışında, son yıllarda kimyasal ya da genetik belirteçler üzerinden PMI hesaplamasını amaçlayan çalışmaların sayısı artmaktadır. Rutin kullanıma girebilmesi için bunları daha da artması gerektiği görülmektedir. Bu bölümde DNA ve çeşitli RNA çeşitlerinin PMI ile ilişkilendirildiği çalışmalara olan yaklaşım ve çeşitli örnekler hakkında bilgi verilmektedir.

Anahtar kelimeler: Ölüm zamanı, çürüme, DNA, RNA

ABOUT the CHAPTER

One of the purposes of forensic autopsies performed in suspicious deaths may be to determine the time of death. Postmortem interval (PMI) estimation can be made by observation of changes on the corpse. Apart from these parameters, most of which are based on morphological observations, the number of studies aiming to calculate PMI through chemical or genetic markers has been increasing in recent years. It seems that these numbers need to increase further in order to enter into routine use. In this section, information is given about the approach and various examples of studies in which DNA and various RNA types are associated with PMI.

Keywords: Time of Death, decomposition, putrefaction, DNA, RNA

Giriş

Bilindiği gibi ölüm, anlık bir olay olmaktan çok bir süreçtir. Ölüm öncesinde, *agoni* denilen ve vücutta patofizyolojik, biyokimyasal sapmalara yol açan kısa ya da uzun sürebilen, bir dönem izlenir. Bunu klinik anlamda kalp, solunum ve beyin fonksiyonlarının sona ermesi takip eder. Bu sistemlerin durmasıyla somatik ölümün gerçekleştiğinden bahsedilir. Oysa ölümün gerçekleştiğini dile getirdiğimiz bu aşamada, kişinin bir varlık olarak devamı sona ermiş olsa da, hücresel bazda bir yaşam halen devam etmektedir. Metabolik faaliyetleri devam eden hücrelerin katkısı sonucu, bedenin sergilediği moleküler profil sürekli olarak değişir. Kimi araştırmacılar, "*somatik ölüm*" terimini, bu hücresel faaliyetlerin de sonlanmasını takiben kullanmayı tercih ederler.

Otopsi, şüpheli ölümlerin aydınlatılmasında en önemli araştırma yöntemi olma özelliğini hala korumaktadır. Ölünün sadece dıştan muayene edilmesi çoğu durumda yeterli olmaz ve ölüme yol açan patolojik sürecin tespiti için otopsi yapmak gerekebilir. Otopsi, ölüm sebebinin yanı sıra kaza, cinayet, doğal ölüm gibi orjinlerden hangisine dahil olduğunu belirlemeyi sağlar. Otopsi incelemelerinde; olayla ilgili delillerin toplanması, kişinin kimliğinin belirlenmesi ve ölüm zamanının tayini gibi amaçlar da bulunmaktadır.

Ölen kişinin kimliğinin belli olmadığı durumlarda, kişinin fiziksel özelliklerinin kaydedilmesi yoluyla kimliğinin belirlenmesi önemli bir hedeftir. Boy, kilo, vücut yapısı, saç rengi, bıyık, sakal, sünnet gibi tanımlayıcı fiziksel özellikler mutlaka not edilir. Bunlar olası kişilerin özellikleri ile karşılaştırılıp kimliğin doğrulanmasına çalışılır. Gerekli durumlarda, görsel kaydın yetersizliği ihtimalini ortadan kaldırmak için parmak izi, diş özellikleri ve DNA analizi gibi bireylere özgün olduğu düşünülen yöntemlere başvurmak gerekir.

Otopside bir başka önemli amaç, ölümün ne zaman gerçekleştiğini belirlemektir. Ölümün nasıl ve ne zaman gerçekleştiğinin bilinmediği durumlarda yaklaşık ölüm zamanı tayinini saptamak için yapılan incelemeler, *ölüm zamanı (postmortem interval - PMI)*



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Gökhan Ersoy

Istanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
E-posta: gersoyn@iuc.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Ersoy, G. (2024). Ölüm sonrası değişimler ve moleküler genetik yöntemlerin tatbiki. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 1-10). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.

taini başlığı altında toplanmaktadır. Ceset üzerinde aşama aşama ortaya çıkan değişimler zamanla ilişkilendirilir ve ölümün cesedin bulunmasından ne kadar süre önce gerçekleştiği araştırılır. Her ne kadar bu incelemeler sonucunda tam kesin bir tarih ve saat belirlemek mümkün değilse de, yaklaşık bir zaman tahmini yapmak mümkün olabilmektedir. Bu tahmini zaman, olayın yeniden kurgulanması ve olaya karışan muhtemel tarafların, etkili faktörlerin analizinde kullanılabilir.

Ölümden sonra gerçekleşen aşamalı değişimler zamana bağlı bir gelişim gösterirler. Geçen bu zaman bir yandan ölüm zamanı tayinine yönelik ipuçları sağlarken, bir yandan da çürümenin devreye girmesiyle cesedin kimlik özelliklerinin bozulmasına yol açar. Konumuz bağlamında bakıldığında bu değişikliklerin, özellikle de çürümenin, moleküler genetik incelemeleri olumsuz etkilemesi mümkündür. DNA, RNA analizleri bilhassa çürümeden ve çürümeye yol açan ortam şartlarından olumsuz etkilenir. Bu bölümün esas konusu, postmortem yıkıma rağmen yapılan moleküler genetik incelemelerin olası kullanımı hakkında bilgi vermektir. Cesedin çürümeye doğru gösterdiği değişimlerin genetik materyalle ilişkisini daha iyi açıklamak için öncelikle ölüm sonrası değişimlerin kısa bir özeti verilecektir.

Ölüm Sonrası Değişimler

Ortamin ve bedeninin koşullarına bağlı olarak hızı ve şiddeti farklılıklar göstermekle birlikte, ölümlü takiben cesetlerde benzer değişimler görülür. Bunların bir kısmı hemen ölümden sonra, kısa süre içinde izlenebilen değişimlerdir. Bir kısmı ise saatler (dakikalar) içinde başlayıp, aylara kadar uzayan bir zaman spektrumu içinde ortaya çıkarlar; hepsi ardı sıra ya da eş zamanlı gelişim gösterebilirler.

En erken değişim, kas gevşemesidir. Ölümle beraber ya da hemen öncesinde gerçekleşen bilinç kaybı, kişinin kaslarının üzerinde sinir sistemi kontrolü kalkacağı için kas gevşemesine neden olur. Bunun pratik anlamı kişinin pozisyonunu kaybetmesidir. Kas gevşemesi bir süre sonra yerini (aşağıda bahsedeceğimiz) kas sertleşmesine bırakacaktır.

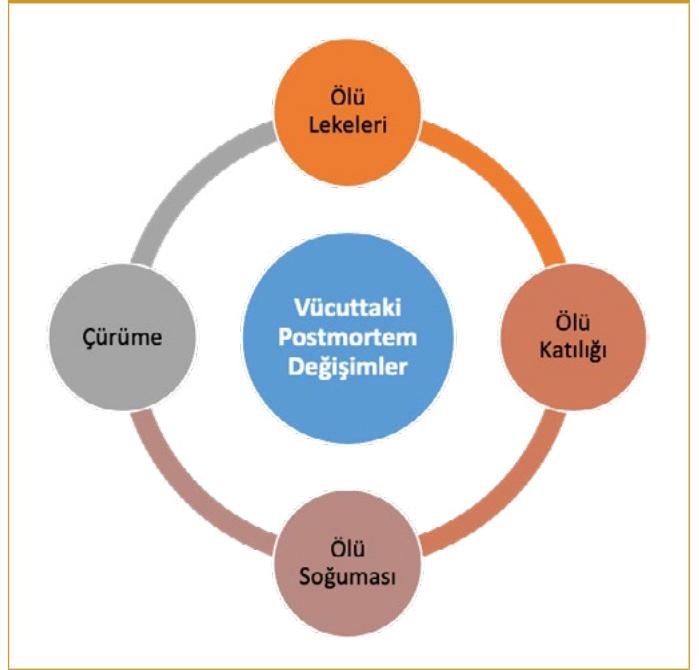
Yine kısa zaman içinde ortaya çıkan sıvı kaybı, vücutta ağırlık azalması ve kurumaya yol açar. Dudak, skrotum, parmaklar gibi ince deri bölgeleri üzerinde "parşömenleşme" adı verilen, kahverengi, kuru bir görünüm ortaya çıkabilir. Ölen kişinin göz kapakları açık kaldı ise, aynı sıvı kaybına bağlı olarak göz sklerasında açık kalan yerlerde kahverengi değişim görülebilir. Bu değişim, "tache-noir" olarak adlandırılır.

Bunların dışında, kanda ölüm sonrası pıhtılaşma (koagülasyon) ya da tam tersi fibrinoliz gerçekleşebilir. Ölüme yol açan sebep, ortam koşulları, düşük pH, yüksek katekolamin seviyesi, ölümden sonra geçen süre, vb. pek çok faktör kanın pıhtılaşma ya da pıhtıların erime eğilimini etkileyebilir. Ölümden sonra görülen koagülasyon durumunda, postmortem pıhtıdan (aleka) bahsedilir. Diğer yandan, bazen pıhtılaşma daimi olarak kalamaz ve postmortem fibrinoliz baskınlık kazanabilir. Bu durumda da, otopside kanın akıcı bir kıvam aldığı izlenir.

Şu ana kadar sayılan bu değişimler, ölüm zamanı hakkında bir değerlendirme yapmak için yetersizdir. Böyle bir değerlendirmede asıl öne çıkacak değişiklikler, daha geniş zamana yayılan ve

Şekil 1

Ölüm sonrası vücutta meydana gelen değişimlerin en önemlileri gösterilmektedir. Çürüme diğerlerine göre daha geç evrede ortaya çıkacaktır.



genellikle daha geç ortaya çıkan değişimlerdir. Bunların en önemlileri ölü lekeleri, ölü katılığı, ölü soğuması ve çürümedir (Şekil 1). Çürüme son evrede ortaya çıkan ve en uzun zamana yayılan değişimdir. Daha da önemlisi, moleküler genetik analizlerin sonuçlarını olumsuz etkileyebilecek asıl aşama, çürümedir. Tüm bu değişimlerle ilgili ayrıntılı bilgiye pek çok adli tıp kaynağından ulaşılabilir (Elmas & Ersoy, 2019).

Vücuttaki Postmortem Değişimler

Ölü lekeleri (Livor mortis, Hipostaz)

Dolaşımı durmuş olan ve pozisyonu sabitlenmiş olan cesette, damarların içindeki kan yer çekimine göre konumlanır. Bu nedenle, cesedin aldığı son pozisyona göre vücudun yer çekimine uygun bölgelerinde pembe – kırmızı renk değişimi olur. Eğer yere temas varsa ya da benzer şekilde bir cismin cilt üzerine basısı mevcutsa, bası olan bölgede kılcal damarlara kan girişi engelleneceği için buralarda renklenme olmaz. Ölü lekeleri, oluştuktan sonra bir süreye kadar, cesedin konumu değiştirildiğinde ya da oluşan lekelere baskı uygulandığında yer değiştirirler. Bir süre sonra da yer değiştirme niteliği yok olur. Ölümden sonra yaklaşık yarım saat içinde görülmeye başlayan ölü lekeleri, ortalama 3-4 saatte maksimum yoğunluğa ulaşır. Kaybolması ancak çürümenin başlaması ile mümkün olur; zira çürüme bulgularının çarpıcılığı bu rengi izlenemez hale getirir. Iliman hava koşullarında 36-48 saat gibi bir süre bunun için yeterlidir.

Ölü Katılığı (Rigor Mortis)

Önceki başlıkta, ölümlü birlikte kasların hemen gevşeyeceğinden bahsedilmişti. Bu gevşemeden bir süre sonra, kasların kasılmaya başladığı görülür. Kasılmanın temel sebebi, ölü bedende depolanmış olan ATP moleküllerinin yavaş yavaş tüketilmesidir.

Enerji kaynağı olan ATP molekülü supravital hücrel süreçlerde tükenince, kaslar kasılmaya başlar. Bunun en önemli sebebi, kasların gevşek kalabilmesi için ATP molekülünün gerekli olmasıdır. Bu nedenle, ATP azaldığında kaslar da kasılı hale geçmeye başlarlar. Öncelikle küçük kaslardan başlayan bu süreç, sonunda aşamalı olarak tüm çizgili kasları, kalbi ve hatta düz kasları tutar. Ortam koşullarına bağlı olarak 2-3 saat gibi bir sürede başlayan katılaşma, saatler içinde maksimum yoğunluğa ulaşacak ve çürüme ile birlikte gevşemeye başlayacaktır. Sözü edilen fizyolojik bir reaksiyona değil, çürümenin yol açtığı yıkıma bağlı gerçekleşen bir gevşemedir.

Ölü Soğuması

Ölümden sonra cesetler ısı kaybederler ve sıcaklıkları ortam sıcaklığı ile eşitleninceye kadar düşer. Bu sıcaklık düşüşü geçen zaman ile korele edilip ölüm zamanı tayini yapılabilir. Isı kaybı öncelikli olarak vücudun dışından başlar. İç kısımlarda sıcaklık düşüşü daha geç oluşur. Bu nedenle termometre ile yapılacak ölçümlerin deriden değil, vücut içinden yapılması daha uygundur. Bu amaçla kullanılan çubuk termometrelerle rektumdan, kafa içinden ölçüm yapılabileceği gibi kulak zarından yapılan ölçümler de kullanılabilir. Ölçülen sıcaklık kullanılarak çeşitli formüllerle ya da bu amaçla düzenlenmiş nomogramlar uygulanarak PMI tayini yapılabilir. Ortam koşullarına bağlı olmakla birlikte, vücut ve ortam sıcaklıkları çoğunlukla ilk 24 saat içinde eşitlenir. Bu nedenle, soğumaya bağlı PMI tayini ölümden sonraki 24 saatlik süre içinde daha kullanışlı bir yöntemdir.

Çürüme

Çürüme, putrefaksiyon (kokuşma) ve otoliz süreçlerinden oluşur¹. Kokuşmada iç ve dış organizmalar vücudu sindirirken, otoliz steril şartlarda gelişen hücrel bir parçalanma sürecidir. Otoliz, hücrel denge bozulup enerji tükendiğinde, hücrenin kendi enzimleriyle parçalanmasına bağlı olarak gerçekleşir.

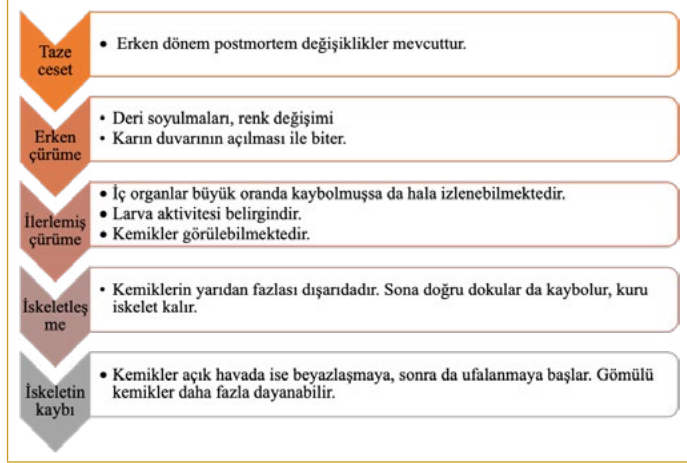
Ölümden sonra hücreye oksijen girişinin kesilmesiyle hücrel karbondioksit artar ve pH düşer. Kısa süre içinde anaerobik glikolizin yol açacağı laktik asit artışı da bu asiditeyi artırır. Olumsuz etkilenen hücrel hemostazla birlikte zar bütünlüklerinin bozulması, lizozomal enzimlerin serbestleşmesine ve hücrenin kolayca parçalanmasına neden olur (Vass, 2001). Dahası, otolizle ortaya çıkan karbohidrat, protein, yağ yıkımı ve sıvılar, çürütücü organizmalar için enerji sağlar.

Doku ve hücrelerdeki lizozomal enzimlerin ve iltihap hücrelerinin yoğunluğu otoliz hızını da etkileyeceği için çürümenin pankreas, dalak, akciğer gibi dokularda daha hızlı gelişmesi beklenir. Buna bağlı olarak, kısa sürede pankreas, dalak, böbrek üstü bezlerinde yumuşama görülür.

Kokuşma, öncelikle vücudun anaerobik bakterileri ile başlar. Çürümenin başında, belki de ilk bulgu diyebileceğimiz karın bölgesinde gözlenen yeşil renk değişimi bu aktivite sonucu oluşur. Enfeksiyon hastalıkları ve sepsis gibi sebeplere bağlı ölümlerde, mikrobiyal aktivitenin yoğunluğundan dolayı kokuşma daha hızlı gerçekleşebilir. Yeşil rengin ortaya çıkışı, bağırsak ve sindirim sisteminde bulunan organizmaların ürettiği sülfür bileşiklerinden

1 Çürüme klasik olarak putrefaksiyon (kokuşma) ve otoliz süreçlerinden oluşur. Ancak bu tanım için farklı yorumlamalar (Elmas&Ersoy, 2019) bulunsa da genellikle adli tıp pratiğinde klasik tanım kabul görmektedir.

Şekil 2
Çürümenin sırasıyla sıralı aşamaları ve bu aşamalarda değişimler



kaynaklanır. Bu üretimin en önemli substratı ise kandaki hemoglobinin bileşenleridir.

Çürüme ilerledikçe kişinin fiziksel özellikleri tanınmaz hale gelir. Demirli bileşiklerin ilerleyen yıkımıyla birlikte, tabloya kırmızı ve siyah renk değişimleri de eklenir. Damarlar cilt yüzeyinden gözlenebilecek şekilde boyanır. Deride ve mukozalarda keseleşme ve soyulmalar başlar. Vücudun iç bölgesinde organların erimesi ile büyük miktarda çürüme sıvıları toplanır ve ağızdan, burundan, anüsten sıvı çıkışı olur. Kokuşmaya bağlı gazların birikimi ile ceset şişer ve karakteristik bir koku yayılmaya başlar. Bu şişme, zamanla karnın yarılması ile sonlanır. Artık ceset tümünden dış ortama açılmıştır.

Tüm bu süreç boyunca etkin bir entomolojik aktivite gözlenir. Böcek ve sineklerin bıraktığı yumurtalar, bu yumurtalardan çıkan larvalar, yerleştikleri pupaların incelenmesi istilacı böceğin yaşam döngüsünün hangi aşamasında olduğunu gösterir. Tespit edilen aşamaya karşılık gelen yaklaşık gün biliniyorsa, entomolojik inceleme ile gün tayini yapılabilir.

Çürümenin ilerlemesiyle, iç organların bir kısmı kaybolmuş ya da çok küçülmüş ve erimiştir. Süngerimsi bir görünümü vardır. Kafatası açıldığında beyin yumuşadığı; hatta sıvılaştığı görülür. Zamanla tüm dokular kaybolursa da, kemik diğerlerine göre daha uzun süre dayanır. Bir süre sonra kemiklerin de kaybolması beklenir (diagenez). Diagenez çok uzun zaman alabilir, bazen gömülü kemiklerin kaybolmadığı da görülebilir (Galloway vd., 1989). Çürümeye dair beş ayrı aşama Şekil 2'de verilmiştir.

Çürüme, kendinden önceki tüm değişimleri silen, baskın bir değişimdir. Yeşil, siyah, kırmızı renk değişimleri, doku ve cilt kayıpları gibi çarpıcı değişimlerle ölü lekeleri izlenemez hale gelir, ölü katılığı yok olur. Ilıman havada 1-3 günde erken çürüme aşamasına varan değişimler, ortam koşullarına bağlı olarak gecikebilir ya da hızlanabilir. Dahası, sıcak ve kuru ortamlarda kalan cesetlerde *mumyalaşma*, nemli ortamda kalan cesetlerde *sabunlaşma* denilen özel çürüme biçimleri de görülebilir. Anne karnında ölen ve bir süre bu steril ortamda kalan fetuslarda ise *maserasyon*

(*salamuralaşma*) denilen bir çürüme biçimi görülür. Maserasyonun en önemli farkı, ortam ve fetus steril olduğu için sürecin sadece otolize dayanmasıdır.

Çürümeye etki eden çevresel koşullar çok çeşitlidir. En önemli ortam sıcaklığı olmakla birlikte cesedin giysili, örtülü olması, hava akımları, nem, cesedin suda bulunup bulunmaması gibi pek çok etkenin çürüme hızı üzerinde etkisi vardır. Çürüme ile PMI ilişkilendirilirken bunun hesaba katılması gerekir.

Soğuk hava çürümeyi geciktirir. Hava akımı, su akımı ısıyı azaltıcı etkisi ile çürüme süresini uzatacaktır. Cesetlerin örtülü olması iki yönlü etki yapabilir: böcek ve sinekler ulaşamayacağı için bazı değişiklikler gecikebilir ama sıcaklığı koruyucu etkisi ile hızlandırmaya da mümkündür.

Suda bulunan cesetlerde çürüme, açık havada kalanlara göre daha yavaş gelişir. Burada dikkat edilmesi gereken, bu dengenin su sıcaklığın karaya göre daha düşük olduğu yaz dönemi için geçerli oluşudur. Kışın dengeler tam ters yönde oluşur ve suda çürüme hızlanır. Öte yandan, derin sularda sinek ve böcek aktivitesinin azlığı, her durumda yavaşlatıcı etki yapar.

Buna karşı, gömülmüş cesetlerde çürüme daha da yavaş olur. Kabaca suda kalmanın iki kat, gömülmenin ise sekiz kat yavaşlatıcı etkisi olduğu ileri sürülür. Gömülme derinliği ortam sıcaklığını değiştirir ve oksijeni düşürür. Ortalama 1 metre derinlik dahi çürüme süresini yıllara kadar uzatabilir (Mann vd., 1990).

Kişiyi ait faktörler de çürüme hızını belirler. Daha önceden değinildiği gibi, enfeksiyon, sepsis tablosu ile ölenlerde hem mikroorganizma sayı ve yaygınlığı yüksek olacağından, hem de vücut sıcaklığı yüksek olacağından çürüme kolaylaşır. Benzer şekilde, kişide hipertermiye yol açarak ölüme sebep veren bütün durumlar çürümeyi hızlandırır. Obezite, ölü soğumasını geciktirecek bir tampon rolü oynayan yağ tabakası nedeniyle çürümeyi hızlandırabilir.

Vücudun nemli, ödemli olması çürümeyi kolaylaştırırken dehidrate cesetlerde yavaşlayacaktır. Açık yara varlığında ise, sinek aktivitesi kolaylaşacağından çürümeye bağlı değişimler hızlanır. Yenidoğan ve küçük bebeklerde bakteri sayısının az oluşu ve soğumanın hızlı gerçekleşmesi nedeniyle çürüme gecikecektir.

Postmortem Süreçlerde Genetik Materyalin Kullanılabilirliği

Çürüme başta olmak üzere, PMI tayini için yukarıda sayılan değişimlerin çoğu subjektif inceleme ve gözlemlere dayanır. Bu değişimler, çevresel ya da kişisel pek çok faktörden etkilenebilmektedir. Yağ kitlesi yüksek bir cesedin geç soğuması, kan kaybetmiş bir maktül bedeninde ölü lekelerinin belirsiz görünümü, gömülen cesetlerin çürümesinde yüzeydekilere göre gözlenen farklılıklar bu etkilenmelere örnek olarak verilebilir. Bu değişkenlik ve subjektivite, gelişen teknoloji ile birlikte ölüm zamanı tayininde moleküler yöntemlerin kullanımı fikrini doğurmuştur. Bu alanda hayli kısıtlı olan veri birikimini arttırmak için çok sayıda araştırma yapılmakta ve ölüm sonrası moleküler süreçler ortaya konmaya çalışılmaktadır. Ölüm sonrası moleküler süreçlerin belirlenmesinde DNA ve/veya RNA analizleri yapılmaktadır ancak, DNA ve RNA'ların da kırılabilir olup çevresel şartlardan olumsuz etkilendiği gerçeği de göz önünde bulundurulmalıdır. Başta çürüme olmak üzere postmortem değişimlerin moleküler düzeyde de yıkıcı etkileri olmaktadır.

Genel olarak adli amaçlı DNA analizlerinin en sık uygulandığı başlık STR, SNP insersiyon/delesyon (InDel) gibi markırların analizi ile kimliklendirme ve fenotip analizi yapılmasıdır. Bilindiği gibi, bu analizlerin yapılabilmesinin en önemli dayanağı DNA dizisinin kişilere özgün özellikte olmasıdır. RNA analizleri ise kişilere özgün olmamaları nedeniyle etkin bir kimliklendirme aracı değildir. Buna karşı, RNA belirteçleri doku ve sıvılara özgün yapıları nedeniyle dokuların tanınmasında kullanılırlar. RNA'nın adli amaçlı umut vaat eden bir diğer kullanımı ise ölüm sebebinin tayininde kullanılmasıdır. Bu bölümün amacı bu konuyu kapsadığı için ölüm sebebi ile ilgili RNA analizlerine değinilmeyecektir.

Hem DNA'nın hem RNA'nın gittikçe önem verilen diğer bir kullanımını ise bu moleküllerin parçalanması ile PMI süresi arasında korelasyonun kurulmasıdır. Böyle bir korelasyonun kurulabilmesi degradasyon seviyesi tespit edilerek PMI hesabı yapılabilmesi anlamına gelecektir (van den Berge vd., 2016).

Hücresel nükleotidlerin yıkım süreci, genetik çalışmaları iki yönlü etkiler: Birinci etkisi, yıkılan moleküllerin tespitinin, ayırımının ve analizinin zor olmasıdır. İkinci (ve belki de olumlu) etki ise, DNA;RNA ailesindeki farklı moleküllerin farklı kırılabilirlikleri olması, farklı organlarda, farklı derecede yıkıma uğramasının aynı zamanda bir imkan sunmasıdır. Bu farklılıklar kesin bir şekilde ortaya konur, çevresel şartlar ve geçen zamanla ilişkilendirilebilirse PMI tayini yapmak mümkün olabilir. Bundan sonraki bölümlerde önce DNA ve RNA'nın ölüm sonrası şartlara göre kırılabilirliğinden, daha sonraki kısımda da DNA ve RNA analizlerinin ölüm zamanı tayininde kullanım örneklerinden bahsedilecektir.

Moleküler değişimler agoniden başlayıp hücresel ölümün gerçekleşmesine kadar olan bir sürece yayılabilirler. Bu alandaki deneysel araştırmaların çoğunluğu, belli bir ölüm anı ve sonrasında geçen süredeki değişim hesaba katılarak yapılmıştır. Bu araştırmalar, genellikle agoninin olası etkilerini hesaba katmamaktadır. Agonik süreçteki tıbbi değişimlerin varlığı ve şiddeti, ölüm ve sonrasında biyolojik süreçleri de etkileyebilir. Dolayısı ile yapılacak araştırmaların ölüm sebebine göre de çeşitlendirilmesi bir ihtiyaç olarak gözükmektedir.

Hücredeki üretim ve tüketim sürecini en basit şekilde şöyle bir cümle ile kodlayabiliriz: DNA şifreleri, RNA aracılığı ile proteinler sentezlenir. Sentezlenen proteinler kullanılır, dönüşür ve yıkılır; ortaya yıkım ürünleri çıkar. Moleküler araştırmada, DNA'dan başlayarak yıkım ürünlerine kadar süren bu sürecin herhangi bir ya da birkaç aşaması incelenebilir. Bu çalışmalar içinde protein profilini (proteomic) ya da metabolit profilini (metabolomic) saptayan pek çok araştırma bulursa da, bu bölümde sadece DNA ve RNA araştırmaları sunulacaktır.

PMI tayininde DNA'nın yıkımını, RNA'nın üretimi ve yıkımını tespit etmek için ekspresyon seviyelerinin artış ya da azalışına bakılır. Messenger RNA'ların (mRNA) fonksiyonlarını kontrol eden mikroRNA'ların da (miRNA) seviyeleri ölçülebilmektedir. Araştırmaların çoğu DNA, mRNA ve miRNA üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun dışında küçük nükleer RNA'ların (small nuclear RNA; snRNA), transfer RNA'ların (tRNA) ya da ribozomal RNA'ların da (rRNA) incelenmesi mümkündür. Yine aynı şekilde, stabilitesinin yüksek ve degradasyonunun PMI ile korele olduğu saptanan sirküler RNA'lar da (cRNA) kullanılabilir (Tu vd., 2019).

DNA'nın Parçalanması

Ölümden sonra hücre içinde bulunan ATP miktarı, hücre pH gibi pek çok faktör, hücreyle beraber DNA'nın da parçalanmasına yol açar. Ortaya çıkan DNA ürünleri hücre hasarının ve dolayısıyla parçalanma sürecinin tipine göre değişim gösterebilir. Hipoksi ile oluşan bir nekrozda hücre pH'nın düşüşüyle lizozomal enzimlerin açığa çıkışı nedeniyle, DNA'nın rastgele bir paternde parçalanmasına sebep olur. Buna karşın, ATP bağımlı bir hücre hasarı olan apoptozda endonükleaz aktivitesi ile düzenli bir kırılma oluşur. Bu kırılmalar elektorforezde "ladder patern veya merdiven patern" olarak isimlendirilen merdiven şeklinde görülür. Jennings ve ark. apoptozda ortaya çıkan parçaların 180 bp (baz çifti) uzunluğunda olduğunu belirlemişlerdir (Jennings vd., 1975).

Nekrozda ise daha belirgin olmak üzere gerek kalsiyum (Ca) pompalarının bozulması, gerekse de yırtılan hücre içi membranlardan sızan kalsiyumla daha da yükselen sitoplazmik kalsiyum seviyeleri, yıkıcı enzimatik yolları daha da tetikler (Kroemer vd., 2007).

DNA'nın parçalanması, *enzimatik* bir süreçle hızlı ya da *non-enzimatik* mekanizmalarla daha yavaş biçimde olabilir. Yeterli süre geçtiğinde, DNA'nın yüksek molekül ağırlıklı bir parçası kalmayacaktır. Bu mekanizmaların etkinlik derecesini çevresel (ısı, radyasyon gibi) ve hücre faktörleri (pH, enerji, sıvıdan zengin ortam gibi) belirler. Enzimatik parçalanma endonükleazlarla olur. Bundan önce, hasara giden hücrede proteazların ortaya çıkışı histonları uzaklaştırıp endonükleazların etkisinde artışa zemin hazırlayabilir. Genellikle daha düzenli biçimde yüksek moleküler ağırlıklı (high molecular weight, HMW) parçalar oluşturan bu mekanizma, DNA'yı parçalarına ayırmaya devam eder. Ortamdaki Ca ve magnezyum (Mg) konsantrasyonları, parçaların uzunluğuna etki eder. Mg ağırlıklı ortamda HMW parçalar oluşurken, Ca ve Mg yoğunlukları beraber yüksekse *Ca²⁺/Mg²⁺ bağımlı DNAaz* aktivitesine bağlı olarak oligomerler oluşacaktır (Giannakis vd., 1991). Bilindiği gibi son enzim (yani *Ca²⁺/Mg²⁺ bağımlı DNAaz*), apoptotik parçalanmada da çok önemli rol oynayan bir endonükleazdır. Buna rağmen, postmortem bir jel elektroforez incelemesinde apoptozun klasik merdiven paterni yerine yayılmış, düzensiz bir kromatin paterni görülür. Bu düzensiz paternin önemli sebebi proteazlardır. Hatırlanacağı gibi, bu enzim grubu lizozomlarda bolca bulunup hücre hasarında lizozomal hasarla birlikte serbestleşmektedir.

Postmortem dönemde, endonükleazların tek kaynağı hücrenin kendisi değildir. Çürüme sürecinde dokuların ve hücrelerin yıkımı ile oluşan besleyici ortam pek çok mikroorganizmayı cezbeder. Gerek cesette, gerekse toprakta bulunan bu organizmaların çoğunda DNA'yı parçalayan enzimler bulunur.

Öte yandan, bir yerden sonra için içine *non-enzimatik* süreçler dahil olup parçalanma paternini değiştirebilirler. Bunlar hem endonükleaz aktivitesini bozabilir, hem de doğrudan DNA yıkımına sebep olabilirler. En önemli non-enzimatik mekanizmalardan biri hidroksilasyondur. Baz şeker bağları üzerinde etkili olan bu yıkım depurinasyona sebep olur. Amin, poliaminlerin ortaya çıkması bu reaksiyonları kolaylaştırırken, geçen zamanla birlikte pH'nın artması ise bu reaksiyonu yavaşlatır. Pirimidin bölgelerinin yıkımı da çok daha yavaş olur. Dolayısıyla, fizyolojik koşullara yakın ortamlarda bile son derece yavaşlayan bu yıkım, 15 °C sıcaklıkta (örneğin toprak altı) yıllar alabilir. Bir organizmadaki tüm DNA'nın yıkımının 100.000 yıl alabileceği hesaplanmıştır (Barnes vd., 2013).

Pirimidinlerin daha duyarlı olduğu non enzimatik yıkım süreci oksidasyondur. Benzer şekilde, dehidrate cesetlerde de hidroliz değil, oksidasyon ön plana geçer. Oksidasyonun önemli sebeplerinden biri ultraviyoleye maruziyetle beraber ortaya çıkan serbest oksijen radikalleridir. Yine ceset ve ortamda çoğalan mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri nedeniyle de radikaller oluşabilir. Oksidasyona bağlı yıkımın adli bilimler açısından en önemli olumsuzluğu, reaksiyonla ortaya çıkan hidantoinlerin DNA polimerazı bloke ederek PCR başarısını düşürmesidir (Barnes vd., 2013; Paabo, 1989).

Non enzimatik reaksiyonların bir diğer örneği ise çapraz bağlanmadır. Serbest DNA parçalarının bir arada kaldığı ortamlarda bu tarz bağlanmanın olması kaçınılmazdır ve oluşan bağlarla DNA parçalanır. Reaksiyon hızının son derece düştüğü buzdolabı ısısında bile, günler içinde bu bağlar oluşabilmektedir (Goffin & Verly, 1983). Yine aynı mekanizmanın devreye girdiği bir diğer önemli durum ise parafin bloklardaki doku örnekleridir. Formalin fiksasyonu, dokudaki tüm komponentlerde çapraz bağlanmalara sebep olduğu için elde edilen DNA içeriği parçalanmış haldedir.

Postmortem Değişimlerin DNA Analizlerine Etkisi

Uzun süre beklemiş ve kurumuş kan örneklerinde, DNA elde etmenin mümkün olduğu 1980'lerden beri bilinir. DNA'yı çürüme koşullarında da saptamak ve analizde kullanmak mümkündür. Gerek kan örneklerinde, gerekse de doku örneklerinde DNA eldesi başarılıdır; bunu takiben, DNA degradasyonu ile PMI korelasyonunu inceleyen pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda, çürüme ile degradasyon ilişkisi genellikle degradasyonun zamanla ilişkisi şeklinde gösterilmiştir. Bu yaklaşıma göre, DNA parçalanması ölüm sonrası geçen süre ile birlikte artacaktır. Parçalanmanın derecesi ile postmortem süre arasında korelasyona dair bir formül elde edilebilirse, bu formül kullanılarak ölçülen hasarlı DNA miktarı ile ölüm zamanı tayini yapmak mümkün olabilecektir.

Postmortem incelemeler bazında düşünürsek, özellikle ölümden sonraki ilk 3 günde yapılan çalışmalarda DNA eldesinin oldukça başarılı olduğu bilinmektedir fakat daha uzun sürelerde de başarılı analizler yapılmaktadır. DNA'nın postmortem dayanıklılığına dair ilk çalışmalarda dahi DNA'nın kas, beyin ve lenf nodlarında üç haftaya kadar stabil kalabildiği gösterilmiştir (Bär vd., 1988). Bu süre böbrek ve dalakta bile beş gün kadardır. Gerçekte, dalak yüksek inflamatuvar hücre içeriği ve barsağa yakın konumu ile degradasyonun yüksek bekleneceği organlardan biridir.

İlk çalışmalarda sözü edilen sonuçlara, sınırlandırılmış uzunluk parça polimorfizmi (*Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP*) gibi nisbeten kısıtlı bir teknolojiyle çalışılarak ulaşılmıştır. Teknolojik gelişmelerin moleküler genetik çalışmalardaki katkısı tespit olanaklarını çeşitlendirmiştir. Günümüze kadar olan süreçlerde Feulgen boyama, imaj analizi gibi görsel yöntemler ve tek hücre jel elektroforezi (single-cell gel electrophoresis, SCGE), flow sitometri gibi yöntemler üzerinden PCR'ye doğru devinmiştir (Midori vd., 2013; Williams vd., 2015). Çoğu ratlar üzerinde yapılan bu çalışmaların arasında postmortem elde edilmiş insan dokularında yapılanlar da vardır.

Kostal kartilaj ve dental pulpada ilk dört gün için degradasyon seviyesi düşük bulunmuştur ve PMI ile degradasyon arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır (Long vd., 2005). Real time PCR ile yapılan analizlerde, dişten elde edilen DNA miktarının 10 güne kadar analizler için yeterli olabileceği bildirilmiştir.

Yanık ve gömülü cesetlerde açıkta iskeletleşenlere göre çok daha iyi sonuçlar alınmaktadır. Yine kapalı ortam ya da açık havada kalmış cesetlerden elde edilen DNA miktarlarının, suda ya da açık havada bekleyenlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Mansour vd., 2019).

Beyinde degradasyonun yavaş ve zamanla korele olduğu olduğu gösterilmiştir. Karaciğerde ise DNA degradasyonu 48 saate kadar PMI ile lineer ilişki göstermektedir (Lin vd., 2000). Kasta da fragmentasyonun zamana karşı arttığı, bunun zamanla korele olduğu belirtilmektedir (Zaki vd., 2017). Realtime PCR ile yapılan bir çalışmada (standart çözeltinin 5ng/μl'sinden elde edilen floresan sinyalin gücü 100 RFU olarak tanımlandığında) karaciğer, kas ve böbrek dokularında DNA Relatif Floresan Unit değeri (RFU) 3 haftada 10 RFU altında kalırken, beyinde 6 hafta 10 RFU'nun üstünde kalmıştır (Itani vd., 2011).

Diş pulpasında postmortem 144 saate kadar DNA saptanabilmiştir ancak bu geç dönemde PMI ile korelasyon bulunamamıştır (Boy vd., 2003). Bir başka çalışmada ise bildirilen süre uzamış, pulpadan 18 aya kadar anlamlı miktarda DNA elde edilebilmiştir. Arkeolojik diş örneklerinde de DNA elde etmek mümkün olmaktadır (Paabo, 1989; Rubio vd., 2013). Dişten yapılan DNA analizlerinde, uzun postmortem sürelerle rağmen DNA elde edilebildiği ve çoğu zaman kimliklendirme yapılabildiği belirtilmektedir. Öte yandan, konu ölüm zamanı tayini olunca, DNA'yı (ya da az sonra bahsedeceğimiz RNA'yı) bulmuş olmanın tek başına bir anlamı yoktur. Bakılan belirtecin postmortem zamanla korelasyonunun bilinmesi gerekir (Ugrappa & Jain, 2021).

Görüldüğü (ve bilindiği) gibi, ölümden sonra cesedin içinde bulunduğu fizikokimyasal koşullar çürüme ve dolayısıyla DNA parçalanma hızını etkilemektedir. Ortamın sıcaklığı, nemi, cesedin giysili olup olmaması, hava ya da su akımı içinde bulunması, giysili ya da çıplak olması gibi pek çok faktör çürüme hızını değiştirir. Sıcaklığın yüksek olmasının DNA bozunmasını ileri derecede arttırdığı bilinmektedir. Bu yüzden, bu faktörleri hesaba katmayıp tüm durumlarda geçerli bir DNA ya da RNA yıkım hızı saptamanın doğru olmadığı söylenebilir. Bu bağlamda, bir çözüm önerisi olarak ortaya atılan Birikmiş Gün Sıcaklıkları (Accumulated Degree Days, ADD) yaklaşımı, geçen zamana ek olarak sıcaklığı da hesaba katan bir yaklaşımdır. ADD, her gün için, gün içindeki en yüksek ve en düşük sıcaklık derecelerinin ortalaması ile gün sayısının çarpımı ile bulunur. Aslında ADD ile çürüme arasında korelasyon kurulması tanatoloji uygulamaları için çok yabancı bir uygulama değildir. Örneğin, insektisitlerin gelişim aşamalarının ADD ile korelasyonu entomoloji alanında kullanılabilir. Yine bunun gibi, çürümenin derecelerini de ADD ile korele eden çalışmalar mevcuttur. Bu yaklaşıma göre, belli ADD değerleri, belli çürüme evrelerine karşılık gelecektir. Bu halde tersinden gidilecek olursa, ortam sıcaklıkları biliniyorsa, çürüme evresi belirlenmiş bir cesedin PMI süresini hesaplamak mümkün olacaktır (Megyesi vd., 2005). Bu yaklaşımların bir uzantısı olarak, DNA parçalanması ile ADD değerlerini ilişkilendiren bir çalışmada, tavşan ve domuzlarda gerek beden parçaları, gerekse de bütün cesetlerden elde edilen dokular, DNA parçalanması için uygun ortamda tutulmuştur (Nazir vd., 2011). Araştırma sonucunda 112 ADD değerine kadar DNA elde etmek mümkün olmuştur. Benzer bir çalışmada, DNA'nın ilk 64 ADD için kış mevsiminde daha stabil olduğu bildirilmiştir (Larkin vd., 2010). Umut vaat eden bu

çalışmanın arkasından henüz korelasyonu formüle eden destekleyici araştırmalar gelmemiştir.

RNA'nın Parçalanması

RNA, DNA'ya göre çok daha kolay parçalanır. Bu hasar RNA izole edilirken iatrojenik olarak daha da artabilir. RNA'yı parçalayan enzim grubuna ribonükleaz (ya da RNAaz) adı verilir. RNAaz aktivitesinin, DNAaz'dan farklı olarak Mg⁺² iyonuna ihtiyaç duymaması, bu yıkımı daha kolay hale getirir. Bakteriler üzerinde deneysel olarak saniyelere varan kısa sürelerde RNA parçalanması bildirilmiştir (Nierlich & Murakawa, 1996).

Degradasyon, çekirdekte RNA üretimindeki her aşamada (başlama, uzama, uçları birleştirme, sonlanma), çekirdekten sitoplazmaya aktarıldığında veya protein üretimi sırasında meydana gelebilir. Ribonükleazların yoğunluğu ve aktivasyonu hücreden hücreye farklılık gösterebilir ve genellikle hücrelerimizde gereğinden güçlü bir ribonükleaz aktivitesi bulunmaktadır. Dahası, hücre tipine göre farklı olan bu ribonükleaz profili, enzimler arasında geçişler gösterebilmektedir. Başka bir deyişle, çoğunlukla bir RNAaz'ın bloke edilmesi RNA yıkımını tam olarak durdurmaz, diğer bir enzim alternatifi devreye girip parçalanmayı devam ettirebilir. Bu güçlü yıkım donanımına rağmen hücresel RNA aktivitesinin yine de sağlıklı yürümesinin en önemli sebebi, transkriptom aktivitesinin genellikle ihtiyaç duyulandan yüksek olmasıdır.

Şunu da hatırlamak gerekir ki, RNAaz aktivitesi bazen aktif RNA'nın maturasyonunda rol oynayabilmektedir. Bu çifte fonksiyon sayesinde farklı koşullarda aynı enzimler, aynı RNAlar üzerinde yıkıcı ya da yapıcı etki gösterebilmektedirler. Bu grubun içinde endonükleaz ya da ekzonükleaz aktivitesi gösteren enzimler yer alır. RNA parçalanmasından önce RNA'yı içten parçalayan bir endonükleaz aktivitesi izlenir. Bunu takiben molekülün 3' ucunu parçalayan 3' endonükleazlar ya da 5' ucundan parçalayan 5' endonükleazlar faaliyet gösterir (Houseley & Tollervey, 2009). Yukarıda bahsedilen esnek, iki yönlü fonksiyonelliğin kazanılması ve bu sistemin işleyişi, yardımcı faktörlerin katkısını gerektirir. Bu kofaktörler helikazlar, polimerazlar ve şaperonlar olarak gruplanabilir. Bunlara, mRNA'lar üzerinde çok önemli etkileri olan *small interference RNA (siRNA)*, *microRNA (miRNA)* gibi küçük RNA yapılarını da eklemek gerekir.

Ölüm zamanı tayininde RNA türlerinin kullanılmasına zemin oluşturan ilk çalışmalardan biri olan Inoue ve arkadaşlarının (2002) çalışmasında ortaya konan birkaç önemli tespit, sonradan başka araştırmacıların çalışmalarında da tartışılmıştır. Buna göre,

- RNA'yı postmortem tespit etmek mümkündür
- Farklı mRNA'ların postmortem seviyeleri birbirinden farklı olabilir.
- RNA'ların stabilizasyon süreleri organlar arasında değişim gösterebilir.

Bu bölümde, alandaki gelişmeleri bu tespitlere dayanarak açacağız:

RNA'yı postmortem tespit etmek mümkündür.

Inoue ve ark., RNA'nın postmortem tespit süresini "üç güne kadar" şeklinde nitelendirse de, daha uzun olabildiği ve pek ala

interval hesabında da kullanılabilceği kısa zamanda ortaya çıkmıştır (Inoue vd., 2002). Öte yandan, söz edilen birçok verinin hayvan deneylerinden elde edildiğini, bunların ancak bir kısmının insan üzerinde postmortem çalışma olduğunu vurgulamak gerekir. İlk katkılardan biri 2005'te gelmiştir; Xiao'nun çalışmasına göre postmortem RNA çalışabilme süresi 12 güne kadar uzayabilmektedir ve RNA ekspresyonundan interval hesabında yararlanmak mümkündür (Xiao vd., 2005). Süre konusunda ulaşılan en çarpıcı çalışma ise gömülü domuz dışından 84 güne kadar RNA elde edilmesidir (Young vd., 2013). Her iki çalışmada çalışılan RNA, β - Actin mRNA'dır.

β - Actin mRNA, üzerinde en sık çalışılan RNA'lardan biridir. β -Actin, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) gibi çok çalışılmış mRNA'ların varlığı çalışmaları birbiri ile kıyaslama imkanı da sunmaktadır. Dahası, bu iki genin de kullanıldığı ve ölüm zamanı tayini için bir formülasyon ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Bunlardan birinde, hata payının ± 51 dakika olduğu gösterilmiştir (Lv vd., 2016; Sampaio-Silva vd., 2013).

Farklı mRNA'ların postmortem seviyeleri birbirinden farklı olabilir.

"Farklı RNA'lar" terimi ile hem farklı RNA türlerini, hem de farklı proteinlerin RNA'larını akla getirmek mümkündür. İlk bileşeni açıklamak adına, tRNA ve rRNA'ların, tek iplikli mRNA'lardan daha uzun süre dayanabilmesi bekleneceği söylenebilir. Yapısında bulunan urasil ve adenin gruplarının varlığının da mRNA'yı kırılma kıldığı öne sürülür (Catts vd., 2005). Halbuki mRNA yapısında, ekzonükleazlara karşı dayanıklılığı arttıran 5' cap ve 3' Poli(A) kuyruklarının varlığı kırılma azaltması beklenir. Benzer bir çelişki ve tartışma, küçük RNA molekülleri olan miRNA'lar için de söz konusudur. Hücre içi protein yapılarına ve mRNA'lara bağlandıkları için stabiliteyi yüksek olmasını bekleyenlerin karşısında, 5' cap ve 3' Poli(A) kuyruklarının yokluğu nedeniyle stabilitelerinin düşük olduğunu savunanlar yer almaktadır (Pääbo & Wilson, 1991; Zhang vd., 2013).

RNA'ların farklılıklarına dair ikinci önemli bileşen ise, RNA'nın fonksiyonuna dair görülen farklılıklardır. İlk tespitlerden biri Xiao ve ark.nın çalışmasında β - Actin ekspresyon seviyesi, GAPDH seviyesinden yüksek bulunmuştur. Bu genler, aynı zamanda house-keeping gen olarak tanımlanan genlerdir (Xiao vd., 2005).

Postmortem RNA ekspresyonunun pek çok faktöre göre değişkenlik gösterebilmesi *housekeeping gen* ve *referans gen* kavramlarını öne çıkarmıştır. Yapılan tüm RNA çalışmalarında, aktiviteleri diğerlerine göre daha sabit kaldığı ve dokuların çoğunda bulunduğu bilinen (Housekeeping gene) genlerin RNA'ları, *Referans Gen* olarak kullanılır. Bu referans genler üzerinde de ölçümler yapılarak araştırılan genlere ait değerlerle karşılaştırılır. β -actin protein (Actb), β -2-microglobulin (β 2M) ve GAPDH en fazla adı geçen referans gen RNA'larıdır (Zhang vd., 2013).

Bazı araştırmalar referans genlerini kullanmadan, doğrudan ribozom ve rRNA ekspresyonları üzerinden sonuca gitmeye çalışmışlardır (Genro vd., 2006). DNA microarray tekniği ile 28s Ribozomal RNA'nın parçalanmaya yatkın D8 domain alanıyla, parçalanmaya dirençli 5' terminal bölge miktarlarını oranlandığında ölüm zamanı ile korelasyon görülmüştür. Tek bir RNA'nın kendi içindeki komponentlerinin kullanılması, referans başka bir gen

ihtiyaç duyulmadan güvenli ölçümler yapılabileceği öne sürülmüştür (Kim vd., 2017).

RNA çalışması yaparken sıklıkla referans genlerle karşılaştırmalı bir analiz yapma fikrinden hareketle ulaşılan önemli bir araç RNA Bütünlük Sayısını (RNA Integrity Number, RIN) saptamaktır. RIN değeri, ölçülebilir RNA miktarını saptayarak RNA kalitesini belirleyen bir değerdir. RNA'nın ne kadar yıkıldığı, önceleri ribozomal RNA'nın 28s ve 18s parçacıklarının oranına bakılarak saptanırken, sonraları RIN hesabı şeklinde modifiye edilerek daha güvenilir bir hale getirilmeye çalışılmıştır. 28s ve 18s oranının saptanması için kullanılan kapiller jel elektroforezi diagramlarında yapılan gözlemler fazlasıyla öznel nitelikler taşıdığı için teknolojinin gelişmesi ile birlikte dijital ölçümlerin yapılabilir olması, RIN metodunun en önemli avantajı haline gelmiştir. Basit metoddan farklı olarak, sadece eğri yüksekliği değil eğriler arasında bulunan alanların oranları da hesaplamada kullanılır; 1 ile 10 arası değerlerin 10'a yakın olması RNA integritesinin yüksek olduğunu gösterir. Bir çok parametrenin aynı anda kullanılıyor olması ve ölçüme dayanması bu yöntemi daha güvenilir kılmaktadır (Schroeder vd., 2006).

İlk araştırmalarda referans genler üzerinde durulurken, zamanla çalışılan RNA sayısı gittikçe artmıştır. Çok sayıda doku için, geniş bir gen havuzunun çalışıldığı soğuk iskemisi oluşturularak yapılan bir çalışmada ribonükleazlar ailesinden RNASE2'de, alfa globin genlerinden HBA1 ve HBA2'de, pek çok Histon geninde ve bir büyüme faktörü olan EGR3'de postmortem zamanla korele bir atış olduğu, Chemokine ailesinden CXCL2'nin ise azalma gösterdiği bildirilmiştir (Ferreira vd., 2018). Araştırmacılara göre, 94'ü protein kodlayan 187 gen RNA'sı soğuk iskemisi koşullarında kullanılabilir.

Soğuk etkisi türünden bulgular, eksprese olan RNA türlerinin ölüm giden sürece göre değişim gösterebileceğine de işaret eder. Hastalık süreçleri ve terminal agoni süreçleri RNA ekspresyonunu önemli ölçüde etkilerler. Agonide pH değerlerinin düşebileceği, bunun stres yanıtına bağlı olduğu öne sürülmektedir. Terminal agoninin uzadığı (çoklu organ yetmezliği, Respiratuar Distress, koma, vs.) gibi durumlarda beyin pH'sını düştüğü; beyin dokusunda stres yanıt genlerinin ekspresyonlarında artış, proteolitik aktivite ve enerji metabolizması ile ilgili genlerin mRNA seviyelerinde azalma olduğu öne sürülmüştür (Li vd., 2004). Bu bulguları destekleyen başka çalışmalar da mevcuttur. Çeşitli hastalıkların ve agoni döneminin olası değişikliklerine dair bilgimiz arttıkça, ölüm zamanı tayininin yanı sıra ölüm sebebi tayini için de imkanlar artacaktır.

RNA'ların stabilizasyon süreleri organlar arasında değişim gösterebilir.

Ribonükleaz aktivitesiyle oluşan RNA yıkımı, postmortem dönemde ölçülen RNA miktarını etkileyen en önemli parametredir. Postmortem RNAaz aktivitesinin bir diğer kaynağı da, tıpkı DNAaz aktivitesinde olduğu gibi postmortem bakteri ve mantar kolonizasyondur. Otopsi sonrası elde eilecek kan ve dokuların gösterdikleri ribonükleaz aktivitesi birbirleri arasında farklılık gösterebilir. Bu aktivite, hem dokuların yapısal değişkenliğinden, hem de mikroorganizmalarla olan ilişkisinden etkilenir. Dokular arası değişkenlik açısından bakılırsa, postmortem ilk 20 saat için kalp, akciğer ve dalağın en yüksek; deri ve pankreasın en düşük RIN

gösterdiğini ileri sürülmüştür (Sampaio-Silva vd., 2013). Birinci grup dokularda RNA fazla stabil, ikinci grupta ise fazla kırılgan olduğu için PMI ile korelasyonları zayıf olmuştur. Buna karşılık en fazla korelasyon, çizgili kas ve karaciğer dokularından elde edilmiştir.

Organ ve dokuların ekspresyon seviyeleri hakkında yayınlanmış diğer çalışmalarda, beyinde DNA stabilitesinin uzun sürdüğünü öne süren pek çok çalışma olduğu görülmektedir (Johnson vd., 1986). Yine tendon, kıkırdak dokularında RNA dayanıklılığı ve ekspresyonu yüksektir. Yapılan bir çalışmada, ekspresyon kuvveti açısından en uygun dokular olarak güneş gören deri bölgesi, deri altı yağlı doku, tiroit ve akciğerin kullanılması önerilmiştir (Ferreira vd., 2018).

Diğer Faktörler

Ortam sıcaklığı RNA ekspresyonu üzerinde önemli etkiye sahip olduğu defalarca gösterilmiştir. Bir istisna olarak, deriye özgün bir belirteç olan LCE1C'nin (late cornified envelope 1C, LCE1C) beş güne kadar PMI ile korelasyon gösterdiği ve bunun sıcaklıktan etkilenmediğini bildiren bir çalışma mevcuttur (Ali vd., 2017). Deng ve ark.nın kalp ve beyin dokularındaki çalışmalarında RNA ekspresyonları 37°C'de 48 saate kadar korelasyon göstermiştir. Aynı korelasyon, 4°C için gözlenmemiştir (Deng vd., 2013). Ortam sıcaklığının postmortem interval tayininde kullanılan klasik parametreleri (ölü katılığı, çürüme, vs) etkilemesine benzer bir etki burası için de söz konusudur. Bu ilk bakışta bir dezavantaj gibi gözükse de, ADD yaklaşımında ya da Henssge Nomogramında olduğu gibi, sıcaklık bilgisi RNA degradasyonu ile birlikte bir hesaplama aracı olarak kullanılabilir. Bilinen ortam sıcaklıkları hesaba katılarak, degradasyondan PMI tayini yapmak mümkün olabilir. Nitekim, ayrı ortam sıcaklıklarına göre β act ve GAPDH mRNA seviyeleri üzerinden ölüm zamanı tayini yapabilen model önerileri yayınlanmıştır (Lv vd., 2016).

Saklama ortamlarının etkisi de önemlidir. Otoliz, otopside elde edilen dokularda ekspresyon seviyelerini olumsuz etkiler. Bu dokular, patolojik inceleme amacıyla formalin fiksasyonundan geçirilip parafin içinde bloklandıysa olumsuz etkilerin artması beklenebilir. Fikse dokularda RIN etkinliğinin azaldığı vurgulanıp, bu durumun patoloji arşivinden yapılacak çalışmalarda hesaba katılması önerilmiştir (Staff vd., 2013). Buna rağmen, miRNA gibi küçük moleküllü RNA'lar için yüz güldürücü sonuçlar elde edilmiş; özellikle miR-191 ve miR26b için yüksek seviyeler tespit edilebileceği belirtilmiştir (Kakimoto vd., 2015).

Postmortem RNA çalışmalarını etkileyecek çok önemli bir olgu postmortem gen aktivitesidir. Ölümden sonra, hücresel yaşam (supravital dönem) bir süre daha devam edeceği için, bu periyotta bazı genlerin aktiviteleri artabilir. Ölümden sonra yüzde birinden azında aktivasyon görülebilmektedir. RNA yıkımına bakmaktansa bu genlerin RNA aktivasyonlarına bakmanın daha etkili olacağı öne sürülmüştür (Wilkins vd., 1996). Gerçekten de, RNA'da görülen azalma yıkım, baskılanma gibi çeşitli faktörlere bağlı olup, bu sebeplerin ayırımına gitmek oldukça zor olabilmektedir. Öte yandan, halen supravital aktivitesi devam eden RNA'lar için böyle bir sorun yaşanmayacaktır.

Özellikle apoptoz ile ilgili genlerin aktivitelerinde ölüm sonrası bir artış olabilmektedir. Apoptoz, hücrenin olumsuz koşullarda

kendini öldürdüğü, bunu yaparken genlerini çalıştırdığı aktif bir süreçtir. Ölmüş olan kişide solunum ve dolaşımın durduğu düşünülürse, hücrelerin oksijen ve beslenme ihtiyacını karşılayamayacağı açıktır. Nitekim, Fosfataz ve Homolog Tensin (Phosphatase And Tensin Homolog, PTEN), Fas Ligant (Fas Ligand, FasL) ve Caspase-3 mRNA ekspresyonlarında değişim, antiapoptotik gen ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır (Zapico vd., 2014). Bu değişimlerin ölüm zamanı ile korele olduğu bildirilmiştir. Değişik bir yaklaşım olarak, X Bağlantılı Apoptoz İnhibitörü (X Linked Inhibitor of Apoptosis, XIAP) mRNA'sındaki artışın, postmortem apoptotik ve antiapoptotik mekanizmaların dengesini yansıttığı ileri sürülmüştür (Javan vd., 2015).

Benzer bir mantıktan hareketle, hipoksi ilişkili faktörlerin de çalışıldığını görüyoruz. Bu konuda yapılan çalışma sayısı son yıllarda artış göstermektedir. HIF faktörleri, hipoksiye yanıt olarak gelişen transkripsiyonun hızlı olmasında rol oynayan aracı moleküllerdir. Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 alfa proteini (Hypoxia Inducible Factor 1 alfa, HIF1 α), hipoksi ile indüklenebilir faktör 2 alfa proteini (hypoxia-inducible factor 2 alpha, HIF2 α), hipoksi ile ilişkili faktör (hypoxia-associated factor, HAF), apoptoz indükleyici faktör (apoptosis-inducing factor, AIF) ve HIF'yi engelleyen faktör (factor inhibiting HIF, FIH) mRNA seviyeleri çeşitli dokularda araştırılmıştır. HIF2 α 'nın beyin ve kalpte 48 saate kadar gösterdiği korelasyon, HIF1 α için dış etinde 5 güne kadar saptanabilmiştir (Fais vd., 2018; Montanari vd., 2021).

miRNA ile PMI Analizleri

miRNA'lar, tek zincirli, 21-25 nukleotidli küçük moleküler yapıları ile PMI analizleri için uygun moleküllerdir. Dahası, miRNA'ların doku stabilitesi ve özgünlüğü olduğu, hatta bunun canlı türleri arasında da izlenebileceğine dair bir görüş savunulmaktadır (Montanari vd., 2021). Bunun böyle olduğunun kesin olarak ortaya konması, miRNA'yı kimliklendirme, olay konstruksiyonu gibi pek çok amaçla kullanmayı sağlayacaktır. Yüksek stabilitesiyle miRNA, parafin bloklardan yapılacak çalışmalar için de iyi bir materyal olarak nitelenebilir.

miRNA ile yapılan ilk çalışmalar vücut sıvılarının kimliklendirmesine yöneliktir. Daha sonra gündüz ve gece ritminin ayırımıyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Buna temel teşkil eden fikir, çeşitli gen ekspresyonlarının gündüz ve gece saatleri arasında farklılık gösterdiğinin (Sirkadyen ritim) bilinmesiydi. Bu tarz değişim gösterdiği bilinen bir belirtecin yüksek bulunması halinde, ait olduğu gece ya da gündüz diliminin belirlenebileceği ve kabaca ölüm zamanını göstereceği düşünülmekteydi. Öncü çalışmalardan biri göz içi sıvısında yapılmıştır (Odriozola vd., 2013). Bu çalışmada miR-142-5p ve miR-541 analizinin bu ayırımı yapabileceği öne sürülmüştür. Hem kan, hem göz içi sıvısında yapılan bir başka çalışmada farklı sonuçlara ulaşılmıştır. Buna göre gündüz ve gece arasında göz içi sıvısı için miR-106b and miR-96'nın, kan içinse miR-142-5p ve miR-219'un seviyeleri önemli farklılık göstermektedir (Corradini vd., 2015).

Daha sonraları, miRNA'nın PMI tayininde kullanımına yönelik araştırmalar da yapılmaya başlanmıştır. 2014 yılında yapılan bir çalışmada ribozomal 18s seviyelerinin PMI ile korelasyon gösterdiği saptanırken, miR1 seviyelerinin uzun süreler 96 saate kadar olan stabillliği nedeniyle endojen referans olarak

kullanılabileceği öne sürülmüştür (Li vd., 2014). Aslında miR1'in 18s'e göre daha zayıf olmakla birlikte PMI ile, orta derecede bir korelasyonu bulunmaktadır. miRNA'nın yüksek stabilitesi, bir yanda PMI ile miRNA seviyeleri arasındaki ilişkiyi zayıflatırken, diğer yanda RNA türünün endojen referans olarak seçilmesine olanak sağlayacaktır.

Buna yönelik çalışmalarda, kalp için miR1'in yanı sıra miR133a'nın referans gen olarak kullanılması önerilmiştir (Lv vd., 2017). Beyin için miR-9 ve miR-125'in özgün oldukları ve seviyelerinin postmortem 144 saate kadar stabil olduğu bulunmuştur (Ma vd., 2015). Akciğerde miR-195, miR-200; çürümeye nispeten dirençli dokulardan iskelet kasında miR-133a, miR-1 ve miR-206'nın seviyeleri oldukça stabil bulunmuş, endojen referans olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Lv vd., 2016; Tu vd., 2018). Karaciğerde postmortem miR-122 stabilitesini gösteren bu çalışmada ayrıca circ-AFF1 stabilitesinden de bahsedilmektedir (Tu vd., 2018).

Son çalışmanın da gösterdiği gibi, mRNA, miRNA dışı alternatif genetik araçlar üzerinde de araştırmalar sürmektedir. Sirküler RNA'lar, dokulara yüksek oranda özgün, halkasal yapıları nedeniyle oldukça dayanıklı moleküllerdir. Her ne kadar, bahsedilen son çalışmada kalp ve iskelet kasında stabil bulduysa da, karaciğer gibi hızlı postmortem yıkıma uğrayan bir organda, circ-AFF1 stabilitesinin çok önemli olduğuna dikkat çekilmiştir.

Small nuclear RNA (snRNA), ökaryotik hücre çekirdeklerinde bulunan bir RNA türüdür. SnRNA komponentlerinden biri olan U6, kısa saç tokası yapısıyla hayli dayanıklı yapıdadır. Bu snRNA'nın uzun postmortem sürelerde degrade olduğu ileri sürülmüştür (Tu vd., 2018). Diğer bir araştırmada ise U6'nın Ribozomal 18 proteinler yaptığı kompleksin kalp ve karaciğer için hedef belirteç olarak kullanılabileceği savunulmuştur (Tu vd., 2019). Yine alternatif yaklaşımlar arasında, bir çalışmada beyinde histon asetilasyonunun metilasyona göre daha stabil olduğu gösterilmiştir (Nagy vd., 2015).

Sonuç

Özellikle RNA'ların dokuya, çevre şartlarına, ölüm sonrası değişimlere bağlı olarak göstereceği farklı ekspresyonları ortaya koymak için ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu tip araştırmalar farklı dokularda, farklı postmortem zaman dilimleri için yapılmalıdır. Bu çalışmalar şu iki faktörlü sorudan en az birini mercek altına almalıdır: 'Genetik materyalin referans gen olarak kullanımı mümkün müdür' ve/veya 'hedef molekül olarak kullanımı olası mıdır?'. Bu tür araştırmalar, parafin bloklar şeklinde saklanan dokularda da tekrarlanmalıdır. DNA analizi ve çeşitli RNA türlerinin incelenmesi adli tıp ve adli bilimlerin yanıt aradığı pek çok soruyu cevaplama potansiyeline sahiptir. Bu alan, doku ayırımı, olay rekonstrüksiyonu, ölüm sebebinin tayini gibi pek çok konunun aydınlatılabileceği bir araştırma alanıdır. Ölüm zamanının net olarak belirlenmesi konusundaki geleneksel problemin çözümü için, hiçbir kriterin olmadığı kadar umut vaat edicidir.

Bu bölüm, amacı gereği ölüm sonrası değişimleri özetleyip, genetik materyal üzerinden yapılan araştırmalara odaklanmıştır. Bunun dışında ölüm zamanı ile mikrobiyatanın, biyokimyasal proteinlerin (*proteomic*) ya da bunların metabolik ürünlerinin (*metabolomic*) ilişkisine yoğunlaşan çalışma alanları da mevcuttur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- Ali, M. M., Ibrahim, S. F., & Fayed, A. A. (2017). Using Skin Gene Markers for Estimating Early Postmortem Interval at Different Temperatures. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 38(4), 323-325. [Crossref]
- Bär, W., Kratzer, A., Mächler, M., vd. (1988). Postmortem stability of DNA. *Forensic Science International*, 39(1), 59-70. [Crossref]
- Barnes, I., Barnett, R., & Shapiro, B. (2013). Ancient DNA. *Encyclopedia of Quaternary Science: Second Edition*, 2(May), 719-722. [Crossref]
- Boy, S. C., Bernitz, H., & Van Heerden, W. F. P. (2003). Flow Cytometric Evaluation of Postmortem Pulp DNA Degradation. *American Journal of Forensic Medicine & Pathology*, 24(2), 123-127. [Crossref]
- Catts, V. S., Catts, S. V., Fernandez, H. R., vd. (2005). A microarray study of post-mortem mRNA degradation in mouse brain tissue. *Molecular Brain Research*, 138(2), 164-177. [Crossref]
- Corradini, B., Alù, M., Radheshi, E., vd. (2015). Estimation of the time of death through the analysis of clock miRNAs expression in blood and vitreous humor. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 5, e204-e206. [Crossref]
- Deng, W., Lv, M., Wang, L., vd. (2013). mRNA degradation pattern analysis in post-mortem normalized using the DNA. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(1), e266-e267. [Crossref]
- Elmas, I., & Ersoy, G. (2019). Ölüm ve Postmortem Değişimler. In H. Dokgöz (Ed.), *Adli Tıp ve Adli Bilimler* (pp. 91-136). Akademisyen Yayınevi.
- Fais, P., Mazzotti, M. C., Teti, G., vd. (2018). HIF1 α protein and mRNA expression as a new marker for post mortem interval estimation in human gingival tissue. *Journal of Anatomy*, 232(6), 1031-1037. [Crossref]
- Ferreira, P. G., Muñoz-Aguirre, M., Reverter, F., vd. (2018). The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcripts. *Nature Communications*, 9(1), 490. [Crossref]
- Galloway, A., Birkby, W. H., Jones, A. M., vd. (1989). Decay Rates of Human Remains in an Arid Environment. *Journal of Forensic Sciences*, 34(3), 1268J. [Crossref]
- Genro, J., Roman, T., Zeni, C., vd. (2006). Expression of ribosomal subunit genes increased coordinately with postmortem interval in human brain. *Molecular Psychiatry* 2006, 11(12), 1067-1069. [Crossref]
- Giannakis, C., Forbes, I. J., & Zalewski, P. D. (1991). Ca²⁺-Mg²⁺-dependent nuclease: Tissue distribution, relationship to inter-nucleosomal DNA fragmentation and inhibition by Zn²⁺. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 181(2), 915-920. [Crossref]
- Goffin, C., & Verly, W. G. (1983). Interstrand DNA crosslinks due to AP (apurinic/aprimidinic) sites. *FEBS Letters*, 161(1), 140-144. [Crossref]
- Houseley, J., & Tollervey, D. (2009). *The Many Pathways of RNA Degradation*. *Cell*, 136(4), 763-776. [Crossref]
- Inoue, H., Kimura, A., & Tuji, T. (2002). Degradation profile of mRNA in a dead rat body: basic semi-quantification study. *Forensic Science International*, 130(2-3), 127-132. [Crossref]
- Itani, M., Yamamoto, Y., Doi, Y., vd. (2011). Quantitative analysis of DNA degradation in the dead Body. *Acta Medica Okayama*, 65(5), 299-306. [Crossref]
- Javan, G. T., Can, I., Finley, S. J., vd. (2015). The apoptotic thanatotranscriptome associated with the liver of cadavers. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 11(4), 509-516. [Crossref]

- Jennings, R. B., Ganote, C. E., & Reimer, K. A. (1975). Ischemic tissue injury. *The American Journal of Pathology*, 81(1), 179.
- Johnson, S. A., Morgan, D. G., & Finch, C. E. (1986). Extensive post-mortem stability of RNA from rat and human brain. *Journal of Neuroscience Research*, 16(1), 267-280. [Crossref]
- Kakimoto, Y., Kamiguchi, H., Ochiai, E., vd. (2015). MicroRNA Stability in Postmortem FFPE Tissues: Quantitative Analysis Using Autoptoc Samples from Acute Myocardial Infarction Patients. *PLoS ONE*, 10(6), e0129338. [Crossref]
- Kim, J. Y., Kim, Y., Cha, H. K., vd. (2017). Cell Death-Associated Ribosomal RNA Cleavage in Postmortem Tissues and Its Forensic Applications. *Molecules and Cells*, 40(6), 410. [Crossref]
- Kroemer, G., Galluzzi, L., & Brenner, C. (2007). Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiological Reviews*, 87(1), 99-163. [Crossref]
- Larkin, B., Iaschi, S., Dadour, I., vd. (2010). Using accumulated degree-days to estimate postmortem interval from the DNA yield of porcine skeletal muscle. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 6(2), 83-92. [Crossref]
- Li, J. Z., Zawter, M. P., Walsh, D. M., vd. (2004). Systematic changes in gene expression in postmortem human brains associated with tissue pH and terminal medical conditions. *Human Molecular Genetics*, 13(6), 609-616. [Crossref]
- Li, W.-C., Ma, K. J., Lv, Y. H., vd. (2014). Postmortem interval determination using 18S-rRNA and microRNA. *Science & Justice*, 54(4), 307-310. [Crossref]
- Lin, L. Q., Liu, L., Deng, W. N., vd. (2000). [An experimental study on the relationship between the estimation of early postmortem interval and DNA content of liver cells in rats by image analysis]. *Fa Yi Xue Za Zhi*, 16(2), 68-69, 127.
- Long, R., Wang, W. ping, & Xiong, P. (2005). [Correlation between PMI and DNA degradation of costicartilage and dental pulp cells in human being]. *Fa Yi Xue Za Zhi*, 21(3), 174-176.
- Lv, Y.-H., Ma, J.-L., Pan, H., vd. (2017). Estimation of the human post-mortem interval using an established rat mathematical model and multi-RNA markers. [Crossref]
- Lv, Y. H., Ma, J. L., Pan, H., vd. (2016). RNA degradation as described by a mathematical model for postmortem interval determination. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 44, 43-52. [Crossref]
- Ma, J., Pan, H., Zeng, Y., vd. (2015). Exploration of the R code-based mathematical model for PMI estimation using profiling of RNA degradation in rat brain tissue at different temperatures. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 11(4), 530-537. [Crossref]
- Mann, R. W., Bass, W. M., & Meadows, L. (1990). Time Since Death and Decomposition of the Human Body: Variables and Observations in Case and Experimental Field Studies. *Journal of Forensic Sciences*, 35(1), 12806J. [Crossref]
- Mansour, H., Krebs, O., Pinnschmidt, H. O., vd. (2019). Factors affecting dental DNA in various real post-mortem conditions. *International Journal of Legal Medicine*, 133(6), 1751-1759. [Crossref]
- Megyesi, M. S., Nawrocki, S. P., & Haskell, N. H. (2005). Using Accumulated Degree-Days to Estimate the Postmortem Interval from Decomposed Human Remains. *Journal of Forensic Sciences*, 50(3), 1-9. [Crossref]
- Midori, S., Sameer Gomma, M., Mohamad, A., vd. (2013). The relationship between the postmortem interval and the DNA degradation in brain and liver of adult albino rats. *Journal of American Sciences*, 9(5), 535-540. <http://www.americanscience.org/535><http://www.americanscience.org>.
- Montanari, E., Giorgetti, R., Busardo, F. P., vd. (2021). Suitability of miRNA assessment in postmortem interval estimation. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 25(4), 1774-1787. [Crossref]
- Nagy, C., Maheu, M., Lopez, J. P., vd. (2015). Effects of Postmortem Interval on Biomolecule Integrity in the Brain. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 74(5), 459-469. [Crossref]
- Nazir, M. S., Smith, J. A., & Goodwin, W. (2011). DNA degradation in post-mortem soft muscle tissues in relation to accumulated degree-days (ADD). *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 3(1), e536-e537. [Crossref]
- Nierlich, D. P., & Murakawa, G. J. (1996). The Decay of Bacterial Messenger RNA. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 52, 153-216. [Crossref]
- Odriozola, A., Riancho, J. A., De La Vega, R., vd. (2013). MiRNA analysis in vitreous humor to determine the time of death: A proof-of-concept pilot study. *International Journal of Legal Medicine*, 127(3), 573-578. [Crossref]
- Paabo, S. (1989). Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(6), 1939-1943. [Crossref]
- Pääbo, S., & Wilson, A. C. (1991). Miocene DNA sequences - a dream come true? *Current Biology : CB*, 1(1), 45-46. [Crossref]
- Rubio, L., Santos, I., Gaitan, M. J., vd. (2013). Time-dependent changes in DNA stability in decomposing teeth over 18 months. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71, 638-643. [Crossref]
- Sampaio-Silva, F., Magalhães, T., Carvalho, F., vd. (2013). Profiling of RNA Degradation for Estimation of Post Mortem Interval. *PLoS ONE*, 8(2). [Crossref]
- Schroeder, A., Mueller, O., Stocker, S., vd. (2006). The RIN: An RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. *BMC Molecular Biology*, 7, 1-14. [Crossref]
- Staff, S., Kujala, P., Karhu, R., vd. (2013). Preservation of nucleic acids and tissue morphology in paraffin-embedded clinical samples: Comparison of five molecular fixatives. *Journal of Clinical Pathology*, 66(9), 807-810. [Crossref]
- Tu, C., Du, T., Shao, C., vd. (2018). Evaluating the potential of house-keeping genes, rRNAs, snRNAs, microRNAs and circRNAs as reference genes for the estimation of PMI. *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 14(2), 194-201. [Crossref]
- Tu, C., Du, T., Ye, X., vd. (2019). Using miRNAs and circRNAs to estimate PMI in advanced stage. *Legal Medicine*, 38, 51-57. [Crossref]
- Ugrappa, S., & Jain, A. (2021). An emergence of dental tissues in the forensic medicine for the postmortem interval estimation: A scoping review. *Journal of Forensic Science and Medicine*, 7(2), 54-60. [Crossref]
- van den Berge, M., Wiskerke, D., Gerretsen, R. R. R., vd. (2016). DNA and RNA profiling of excavated human remains with varying postmortem intervals. *International Journal of Legal Medicine*, 130(6), 1471-1480. [Crossref]
- Vass, A. (2001). Beyond the grave - understanding human decomposition. *Microbiology Today*, 28(28), 190-192.
- Wilkins, M. R., Sanchez, J. C., Gooley, A. A., vd. (1996). Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13(1), 19-50. [Crossref]
- Williams, T., Soni, S., White, J., vd. (2015). Evaluation of DNA degradation using flow cytometry. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 36(2), 104-110. [Crossref]
- Xiao, J., Chen, Y., & Wang, J. (2005). [A preliminary study on estimation of postmortem interval according to beta-actin mRNA stability in rat]. *Fa yi xue za zhi*, 21(1), 19-20. <http://europepmc.org/abstract/MED/15895802>
- Young, S. T., Wells, J. D., Hobbs, G. R., vd. (2013). Estimating postmortem interval using RNA degradation and morphological changes in tooth pulp. *Forensic Science International*, 229(1-3), 163.e1-163.e6. [Crossref]
- Zaki, A. R., Tohamy, A. F., & Yaseen, N. E. (2017). Estimation of Post-mortem Intervals by Some Biochemical Changes and DNA Degradation in Rat Brain and Skeletal Muscle Tissues. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 25(1), 59-78. [Crossref]
- Zapico, S. C., Menéndez, S. T., & Núñez, P. (2014). Cell death proteins as markers of early postmortem interval. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(15), 2957-2962. [Crossref]
- Zhang, H., Zhang, P., Ma, K. J., vd. (2013). The selection of endogenous genes in human postmortem tissues. *Science & Justice*, 53(2), 115-120. [Crossref]

BÖLÜM 2

OLAY YERLERİNDEN BİYOLOJİK DELİLLERİN TOPLANMASI VE SAKLANMASI

Özlem AKKAN
Murat ÖĞDÜR

Olay Yerlerinden Biyolojik Delillerin Toplanması ve Saklanması

Collecting and Preserving Biological Evidence from Crime Scenes

BÖLÜM HAKKINDA

Teknoloji ilerledikçe ve uluslararası kalite standartları benimsendikçe, adli tıp laboratuvarları da delilleri daha yüksek düzeyde inceleme, saklama ve analiz etme uzmanlığıyla donatılmaktadır. Bu gelişmeler sayesinde adli bilim insanları adaletin ihtiyaçlarına daha iyi hizmet edebilir ve kolluk kuvvetlerine çok değerli yardımlar sağlayabilir.

Suç mahallinden elde edilen bulguların kalitesinin, adli tıp laboratuvarları tarafından gerçekleştirilen analizlerin doğruluğu ve güvenilirliği ile doğrudan bağlantılı olduğunu unutmamak gerekir. Bu nedenle, doğru ve güvenilir sonuçlar elde etmek için toplanan bulguların en yüksek kalitede olmasını sağlamak kritik öneme sahiptir.

Olay yerinden toplanan kanıtların davaya mümkün olduğunca katkı sağlaması için incelemenin büyük bir dikkatle yapılması gerekmektedir. Numunelerin tanınması, tespit edilen bulguların doğru bir şekilde toplanması ve uygun yöntemlerle laboratuvarlara gönderilmesi önemlidir. Bunu yaparak, delillerin doğru bir şekilde analiz edilmesini sağlayabilir ve suçtan etkilenenlere adaletin yerini bulmasına yardımcı olabilecek değerli bilgiler sunabiliriz. Bu bölümde olay yeri inceleme yöntemlerinin temelleri ele alınarak, olay yerinde yaygın bulunan biyolojik örnek türleri ve ülkemizde uygulanan delil toplama yöntemleri ve prosedürleri anlatılacaktır.

Anahtar kelimeler: Olay yeri, bulgu, delil, biyolojik örnekler

ABOUT the CHAPTER

As technology advances and international quality standards are adopted, forensic laboratories are equipped with the expertise to examine, preserve, and analyze evidence at a higher level. Thanks to these advances, forensic scientists can better serve the needs of justice and provide invaluable assistance to law enforcement.

It is important to remember that the quality of findings obtained from the crime scene is directly linked to the accuracy and reliability of the analyses performed by forensic laboratories. Therefore, it is critical to ensure that the findings collected are of the highest quality to obtain accurate and reliable results.

The examination must be conducted with great attention to detail so that the evidence collected from the scene can contribute as much as possible to the case. It is important to recognize the samples, collect the detected findings correctly, and send them to laboratories with appropriate methods. By doing this, we can ensure that evidence is analyzed accurately and provide those affected by crime with valuable information that can help ensure justice is served. In this chapter, the basics of crime scene investigation methods are discussed, the types of biological samples commonly found at the scene after a crime is committed, and evidence collection methods are explained.

Keywords: Crime scene, finding, evidence, biological samples

Giriş

Bir olayın adli vaka olduğuna karar verildikten sonra yapılması gereken işlere başlanıldığı noktaya olay yeri denir. Olay yeri; mağdur, şüpheli ve delillerin bir arada bulunduğu ve aralarındaki ilişkinin en güçlü olduğu yerdir. Olay yeri incelemesinin en önemli amacı suçun aydınlatılabilmesi için mağdur, olay yeri ve fail arasındaki üçgeni kuracak maddi delilleri ortaya çıkarmaktır. Bu dinamik bölgedeki ilişkilerin ortaya çıkarılması suç soruşturmalarının sonuçlarını önemli derecede etkiler. Bu nedenle birçok adli vakanın aydınlatılmasında olay yerinin iyi incelenmesi hayati bir öneme sahiptir.

Olay yeri inceleme çalışmalarının en önemli basamağı delili tanımlamaktır. Özellikleri bilinmeyen bir maddenin korunması, taşınması, saklanması ve analizi mümkün değildir. Suçun aydınlatılmasında faydalı olabilecek her türlü madde *bulgu* adını alır. Bu bulgular mahkemece kabul edilip dava dosyasına girdiklerinde *delil* olarak tanımlanırlar. Özellikle ceza davalarında soruşturma ve kovuşturma aşamasında olayın aydınlatılması ve



Özlem Akkan¹

Murat Ögdür²

¹ Antalya İl Emniyet Müdürlüğü, Antalya, Türkiye

² Ankara Bölge Kriminal Polis Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

E-posta: ozlemtepebas@gmail.com
murat.ogdur@egm.gov.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Akkan, Ö., Ögdür, M. (2024). Olay Yerlerinden Biyolojik Delillerin Toplanması ve Saklanması. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin pesinde II* içinde (s. 12-22). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

faillerin cezalarının kesin olarak belirlenmesi için olay yerinden elde edilen delillere ihtiyaç duyulur. Bazı olaylarda onlarca tanık yerine tek bir delil failin tespitinde çok daha fazla işe yarayabilir. Ancak delilin hukuka uygun olması gerekmektedir. Hukuka aykırı olarak elde edilen deliller ceza kovuşturmasında kabul edilmezler.

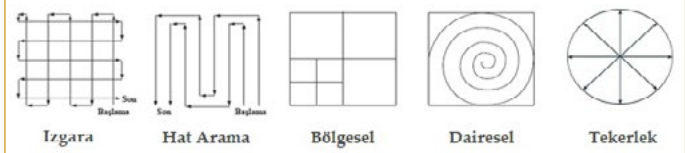
Olay yerinde elde edilecek maddi suç delillerini; biyolojik, kimyasal, fiziksel deliller veya izler olarak sınıflandırmak mümkündür. Canlıların vücutlarından kopan, düşen veya akan her türlü parçaya biyolojik delil denir. Biyolojik deliller; kan, ter, tükürük, diş, deri, kıl, kepek, saç, kemik, idrar, gaita (dışkı), semen, vajinal akıntı ve mekonyum şeklinde sıralanabilir. Bu biyolojik delillerden en sık karşılaşılanı kandır. Cinayet ve yaralama olaylarının neredeyse % 90'ında kan bulunmaktadır. Bu bölümde genel olarak olay yerinden biyolojik örneklerin toplanması, saklanması, paketlenmesi ve taşıma kriterleri anlatılacaktır.

Olay Yerinin Tanımı ve Kapsamı

Ceza hukukçularının mesleki eğitimlerinde "Olay yerini bilen avukat davayı kazanır" sözü birçok davada doğruluğunu ispatlamıştır. Adli vakalarda olayın başlangıç yeri olan olay yeri, ceza soruşturması ile ilgili pek çok ayrıntılı bilgiyi barındırır. Olayı dosyalardan anlamaya çalışan hukukçular için olay yerine ait tek bir fotoğraf bile önemli bir delil olabilmektedir. Olay yerini kafasında kurgulamayan mahkeme heyeti için de keşif yapılması kararı olay yerinin önemine işaret eder.

Olay yeri tanımlaması yapılırken sınırlarının belirlenmesi çoğu zaman mümkün değildir. Delillerin yoğun olarak bulunduğu yer ile kaçan şahsın güzergâhı ve mağdurun, saklanan suç delillerinin ve benzeri suça ilişkin her yer bir olay yeridir ve olay yeri incelemesinin bir bölümüdür. Bir olay yeri ev, işyeri, gökdelen, uçak gibi kısıtlı ve kapalı bir alan olabileceği gibi cadde, park, dağ, denizaltı ya da ada gibi geniş ve açık bir alan da olabilir. Bu gibi durumlarda olay yerinde bulgu arama yöntemleri (ızgara, hat (şerit), bölgesel, dairesel (spiral) ve tekerlek) sistematikleştirilmiştir (Şekil 1). Izzgara yöntemi, şerit yöntemine benzer bir yöntemdir. Özellikle bir olay ile ilgili birden fazla olay yerinin bulunduğu durumlarda kullanılır. Araştırmacılar bir eksenden başlayarak, şeritler hâlinde önce belirlenmiş güzergâhı (kuzey-güney istikameti gibi) tararlar. Bu bölgeyi taradıktan sonra, aynı bölgeyi bu sefer ters istikamette (doğu-batı) tararlar. Böylece her bölge iki kez taranmış olur. Şerit yöntemi daha çok olayın açık ve geniş alana yayıldığı durumlarda kullanılan bir yöntemdir. Örneğin; suç failinin saklandığı, suç eşyasını sakladığı veya attığı yol, failin kaçış istikameti gibi alanın araştırılması sırasında başvurulabilecek bir araştırma yöntemidir. Geniş alana yayılan olaylarda tercih edilen şerit metodunda öncelikle alanın büyüklüğü göz önüne alınarak personel sayısı belirlenir. Personel, incelenecek alanın yapısına göre belirli aralıklarla alana yerleştirilir ve bu pozisyonlarını inceleme süresince korumaları sağlanarak olay yerinin tamamı incelenir. Bulgu tespit edildiğinde tüm personel bulunduğu noktada bekler. Bulgu fotoğraflanır, işaretlenir, sonrasında çalışmaya devam edilir. Bölge yöntemi, olay yerinin kare ya da dikdörtgen şeklinde olduğu durumlarda ideal bir araştırma yöntemidir. Olayın çok geniş alana yayıldığı ve kapalı alanlarda gerçekleştiği durumlarda tercih edilebilecek bir yöntemdir. Taranacak alan bölgelere ayrılır ve her bölgenin aranması için bir personel görevlendirilir. Spiral yöntemi, olay yeri merkez noktasından dışa ya da dıştan merkez noktasına

Şekil 1
Bulgu Arama Yöntemleri



Açıklama notu. Bertino, A. J., 2012, Forensic Science Fundamentals & Investigations. South-Western CENGAGE Learning kaynağından alınmıştır.

doğru yapılan inceleme ve araştırma yöntemidir. Bu metotta bir görevli olayın merkez noktasından dışa doğru ya da dış noktadan merkeze doğru spiral şeklinde daireler çizerek araştırma yapar. Tekerlek yöntemi, daire biçimine benzeyen olay yerlerinin araştırılmasında kullanılır. Araştırılacak alanda bir hareket noktası yani merkez belirlenir. Buradan kenarlara doğru gidilerek araştırma yapılır. Bu işlemin tersi de yapılabilir. Genellikle bombalama olaylarında uygulanması ideal bir araştırma yöntemidir (Durmuş, 2003).

İyi bir inceleme için olay yerinin tedbirler alınarak korunması gerekmektedir. Birkaç saat sürebilecek bir inceleme bazen çevresel etkiler ya da beklenmeyen başka durumların da gelişmesiyle günlerce hatta haftalarca sürebilir. Bu nedenle olayın meydana gelmesinden son delilin toplanmasına ve incelemenin bitirilmesine kadar geçen sürede olay yerinin bütünlüğünün korunması zorunludur.

Bulgu ve Delil Kavramı

Bir olay yeri inceleme raporu okunduğunda öncelikle olayın tanımlandığı ve olay yerinin tarif edildiği görülür. Raporun ekinde yer alan bulgu listesinde de olay yerinde bulunan ve olayın çözümünde etkisi olabilecek maddeler numaralandırılıp fotoğraflandırılır ve liste haline getirilir. Bu bulgular uygun koşullarda pakettikten sonra adli soruşturmanın amiri olan Cumhuriyet Savcısına toplanan bulgularla ilgili bilgi verilir. Yetkili Cumhuriyet Savcısı bazı bulguların ilgili laboratuvara gönderilip analiz edilmesini, bazılarının soruşturmanın ileri safhalarında değerlendirilmek üzere adli emanete teslim edilmesini, bazılarının ise imha edilmesini talep edebilir. Bu bulgulardan soruşturma için önemli olduğu adli makamlarca kabul edilenler *delil* adını alır (Ceylan, 2008).

"Her delil bir bulgudur ancak her bulgu delil değildir" söylemi ezberlenmiş olsa da bu iki kavram birbirinden net olarak ayrılamayabilir. Bulgu ve delil arasındaki nitelendirme tamamen hukuki tanımlama olup olay yerinden toplanmaları veya sınıflandırılmaları ile ilgili değildir. Her bulgu delil olabilir. Her delil de çürütülecek bulgu olarak kalabilir ve yargılamada dikkate alınmayabilir. Örneğin; soruşturma aşamasının en önemli delili olan bir senedin sahte olduğunun anlaşılması ile o dosyada bulunan senet delil niteliğini kaybederek başka bir suçun (resmi belgede sahtecilik) ana delili haline dönüşebilir.

Bulgu/Delillerin Sınıflandırılması

Olay yerinden alınan her örnek farklı bir bulgu türü olsa da bazı ortak özellikleri nedeniyle kategorize edilirler. Bu ayrımda bazen alınan örneğin yapısına göre sınıflandırma yapılırken bazen de inceleme türüne göre sınıflandırma yapılır. Örneğin; kan biyolojik bir materyaldir.

Şekil 2

Bulgu/Delil Listesi Formu

KRİMİNAL DAİRE BAŞKANLIĞI		BULGU/DELİL LİSTESİ FORMU				Form Kodu																																			
		[TS EN ISO/IEC 17020] - Referans : [OYI-GP-001]				[OYI-GF-001]																																			
		(Olay Yeri İnceleme Raporunun Ekidir)																																							
Görevli Ekip Kodu : /.....		Rapor No : 2021/.....		Sayfa No :/.....																																					
1	BULGU/DELİL BİLGİSİ	Bulgu No	Bar Kod No	Delilin Tanımı (Bulgu türü, adı, adedi, niteliği)	Tespit Edildiği Yer	Tespit Yöntemi										Transfer Yöntemi										Ambalaj Yöntemi				İstenilen Analiz/İnceleme Türü								Uzman (Sicil)			
						Gözlem	Tozlanma	UV Işıklı	S.P.R.	Koklama	Dedektör	Lüminol	Diğer	Folyo / Jel Folyo	Serum Fizyolojik	Kesme	Kazıma	Emdirme	Eymanın Kendisi	Swap	Elektrostatik	Kalip	Fotoğraf	Kamera	Ölçme	Kopyalama	Vakumlama	Naylon Ambalaj	Kağıt ambalaj	Cam kavanoz	Plastik kutu	Petli kap	Ambalajlanmadı	Parmak/Avuç İzi	Vücut izi lab.	Kınyasaal	Biyolojik		İz inceleme	Belge	Balistik
01																																									
02																																									
03																																									
04																																									
2	MUKAYESE BİLGİSİ	Adı Soyadı	Olayla İlgisi	Mukayese Çeşidi	Bulgu No	Barkod No	3																																		
							DELİL VE MUKAYESE İLE İLGİLİ AÇIKLAMALAR																																		
Yukarıda tanımı, cinsi, adedi ve niteliği belirtilen bulgular, incelenmek üzere 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu'nun 123. maddesi uyarınca "muhafaza altına alınmıştır".																																									
Tarih :		Saat :																																							
4	İMZA	Sicil-Uzman-İmza	Sicil-Uzman Yrd-İmza	Sicil-Uzman Yrd-İmza	Mağdur/Şikâyetçi Adı-Soyadı/İmza																																				

Açıklama notu. Karakuş, O. ve Ünal, B., 2013, Kriminalistik (2. Baskı), Karakuş, O. (Eds.), Olay Yeri İnceleme [pp. 3-85], Ankara kaynağından alınmıştır.

Ancak kanda alkol tespiti kimyasal analiz yöntemleri ile yapıldığından bu kan örneği kimyasal incelemeler laboratuvarına gönderilmelidir. Bazı durumlarda bir materyal birden fazla incelemeye tabi tutularak farklı laboratuvarlara gönderilir. Örneğin; olay yerinden alınmış içinde bir miktar içecek olan bir bardağın dış yüzeyinde parmak izi incelemesi, ağız kısmında biyolojik inceleme, bardağın içinde bulunan sıvıya ise kimyasal inceleme yapılması gerekebilir. Bu durumda bardağın kendisini herhangi bir delil kategorisine dâhil edemeyiz. Ancak bardakta yapılacak inceleme türlerini belirtmiş oluruz.

Ülkemizde, Emniyet Genel Müdürlüğü Kriminal Dairesi Başkanlığının Olay Yeri İnceleme Raporunun ek kısmında bulunan bulgu/delil listesi formunda deliller: Parmak/Avuç İzi, Vücut İzi Lab., Kimyasal, Biyolojik, İz İncelemesi, Belge, Balistik, Ses-Görüntü-Data olmak üzere 8 sınıfa ayrılmışlardır (Karakuş ve Ünal, 2013). Bu ayrım her kurumun iç mevzuatında değişiklik gösterebilmektedir (Durmuş, 2010) (Şekil 2).

Biyolojik Delillerin İncelenmesinin Hukuki Prosedürü

Cumhuriyet Savcısı, soruşturma aşamasının karar vericisi olarak tarafların lehlerine ve aleyhlerine olan delillerin toplanmasını ve

bu yolla gerçeğin açığa çıkarılmasını talep eder (CMK md.160). Ceza yargılamasında polis delil toplamasının temel dayanağı Ceza Muhakemesi Kanunudur. Polis Vazife ve Salahiyet Kanunu (PVSK)'nin Ek 6. Maddesinde "Bir suçun işlendiği veya işlenmekte olduğu bilgisini alan polis, olay yerinin korunması, delillerin tespiti, kaybolmaması ya da bozulmaması için Cumhuriyet Savcısı ile irtibata geçerek Cumhuriyet Savcısının emirleri doğrultusunda derhal olayın aydınlatılması için soruşturma işlemlerini başlatır" hükmü bulunmaktadır.

Adli ve Önleme Aramaları Yönetmeliği'nin 9. maddesine göre, herkesin rahatlıkla girebileceği ve kamuya açık bir alanda maddi gerçeğin bulunmasına yönelik delil arama ve incelemenin yapılması gibi işlemlerde herhangi bir karara gerek duyulmamaktadır. Örneğin; herkese açık olan bir sokakta meydana gelen yaralama olayında kaldırım üzerindeki bir suç aletinin muhafaza altına alınması ve incelenmesi için bir karara ihtiyaç duyulmazken ikamet ve işyeri gibi kapalı alanlarda yapılan olay yeri incelemesi için mutlaka Cumhuriyet Savcısının talimatı gereklidir. Mal varlığına karşı işlenen ve şikâyete bağlı olan suçlarda müştekinin onayı ile rızaya dayalı işlem yapılmaktadır. Müşteki dışında şüphelinin kendi rızası

ile teslim ettiği deliller muhafaza altına alınmakta rızaen teslim yapılmıyorsa mahkeme kararı ile el koyma işlemi yapılarak ilgili malzemeler incelemeye gönderilmektedir (CMK 127. Madde).

Bir soruşturma kapsamında şüpheli veya diğer taraflardan biyolojik ve kimyasal incelemeler için örnek alınması mahkeme veya hakim kararı ile kişinin açık rızasının alınmasıyla olur. CMK'nın 75-82. maddeleri şüpheli, sanık veya diğer kişilerin beden muayeneleri, vücuttan örnek alınması, moleküler genetik incelemeler ve fiziki kimliğin tespiti konularını içermektedir. Bu usuller ayrıca "*Beden Muayenesi, Genetik İncelemeler ve Fizik Kimliğin Tespiti Hakkında Yönetmelik*"te de yer almaktadır. Mevzuat gereğince analiz veya mukayese amacıyla şahıslardan alınması gereken kan veya benzeri biyolojik örneklerle saç, tırnak veya tükürük gibi örneklerin alınması, hekim tarafından veya hekim gözetiminde bir sağlık personeli tarafından yapılmalıdır.

Biyolojik Delillerin Genel Özellikleri ve Adli Bilimlerdeki Değeri

Biyolojik deliller hayata karşı işlenen suçlarda en sık rastlanan kanıt türleridir. Biyolojik numuneleri önemli kılan husus içerinde barındırdıkları ve kişiye özgü olan DNA molekülüdür. DNA sayesinde materyalin ait olduğu kişi ile bağ kurularak kimliklendirme yapılabilmektedir. (Evelt ve Weir, 1998). Ayrıca olay yerinden alınan materyallerle kişiler arasındaki bağlantıları çözerek olayın aydınlatılmasında etkin rol oynarlar. DNA kişilerin tüm kalıtsal özelliklerini taşıyan bir moleküldür. Bir kişinin tüm hücrelerinde bulunan DNA aynıdır (kimerik olanlar hariç) ve o kişiye özgüdür. Kanda, spermde, deri kalıntılarında, doku ve organlarda, kaslarda, kemikte, vücut sıvılarında, dışkıda ve saçta ve bunların temas ettiği her yerde DNA bulmak mümkündür (Ludes ve Keyser, 2005).

Delil türleri arasında maddesel yapısı itibarıyla bozulmaya en elverişli olan ve ortamdaki olumsuzluklardan en fazla etkilenen delil türü biyolojik delillerdir. Biyolojik deliller genellikle mikrobiyal kontaminasyona maruz kalırlar. Olayın tarafları dışında olay yeriyle herhangi bir şekilde irtibatı olan kişinin DNA'sı da olayla alakası olmamasına rağmen olaya dâhil olarak hatalı sonuçlara neden olabilir. Olay yerinde maske, eldiven, bone, galoş, gözlük, siperlik vb. takmayan ve olay yeri inceleme tulumu gibi koruyucu kıyafetler giymeyen bir personelin herhangi bir şeye dokunması, hapşırması ya da öksürmesi halinde kendine ait bir biyolojik delili ortama bulaştırması çok kolaydır. Ayrıca biyolojik materyallerde Hepatit B, AIDS ve COVID-19 gibi bulaşıcı hastalıklara neden olabilecek tehlikeli ve ölümcül mikroorganizma ve virüsler olabilmektedir. Bu nedenle olay yerinin hassasiyetle korunması ve kişisel korunma tedbirlerinin delillerin bulunduğu tüm alanlarda dikkatle uygulanması gerekmektedir (Gunn, 2006).

Biyolojik deliller üzerinde DNA analizi dışında farklı incelemeler de yapılabilmektedir. Kişinin alkol ya da uyuşturucu kullanıp kullanmadığı kimyasal analizlerle tespit edilebilmektedir. Otopsi sırasında alınan mide lavajı (içeriği) ile toksikolojik analizler yapılabilmekte, kan lekesi sıçrama modeli ile olayın nasıl meydana geldiği yeniden kurgulanabilmekte, tırnak altından alınan deri parçaları ya da ultraviyole ışık altında görülebilen bir leke, kıl ya da lif tanesi ile de bir suçun ispatı yapılabilmektedir. Bu nedenle biyolojik bulgular suçlunun tespiti ve olayın aydınlatılmasında kullanılan en önemli kanıtlardır.

Olay yerlerinden toplanan biyolojik materyaller diğer birçok delil türünde olduğu gibi mukayesede kullanılırlar. Ülkemizde tüm verileri kapsayan DNA veri bankası kurulmamıştır. Tüm kurumlar kendi analiz sonuçlarını korumakla beraber biyolojik örnekleri mevzuat gereği belli bir süre sonra imha etmek zorundadırlar. Bu nedenle olay yerlerinden alınan biyolojik örnekler ilgili laboratuvarlara gönderilirken olayın taraflarının da DNA örnekleri mukayese amacıyla alınarak delillerle beraber analize gönderilmelidir. DNA yalnız suçların aydınlatılmasında değil diğer hukuki davalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Babalık tayinleri ve akrabalık ilişkilerinin aydınlatılmasında DNA testi güvenilir bir tespit yöntemi-dir (Açıkgöz vd., 2002).

Adli bilimler alanında moleküler genetik yöntemlerin kullanımı ile günümüzde ve gelecekte işlenebilecek suçların aydınlatılması yolunda bir çığır açılmıştır. Hâlihazırda var olan teknik olanaklarla, kullanılmış bir diş fırçasından sigara izmaritine ve hücre içerebilecek akla gelen her örnekten suçluya ulaşmak mümkün olabilmektedir. DNA incelemelerinde olay yerinde bulunabilecek minimal düzeydeki çok az başlangıç materyali ile çalışılmaktadır. DNA molekülü stabil olduğundan kan grubu antijenleri ve enzimler gibi bozunmaya eğilimli değildir ve teknik hata olmadığı sürece yanlış kişileştirme yapılmaz. Adli bilimlerde kişileştirme, esasen iki biyolojik örneğin genetik materyalinin karşılaştırılması ile anlaşılır. Bu tür karşılaştırmaların sonucunun mahkemede delil olabilmesi ancak kullanılan tekniklerin kabul görmüş bilimsel teknikler olması durumunda mümkündür. Günümüzde başarıyla DNA izolasyonu ve tiplendirmesi yapılabilen biyolojik materyaller kan, kan lekesi, doku, organ, kemik, diş, saç, tırnak, tükürük, idrar, semen ve diğer biyolojik sıvılar şeklinde sıralanabilirken, bitki ve hayvan DNA'sı içeren, bitkisel liflerden üretilen ve özellikle suç aleti olarak kullanılabilen halat, urgan, ip, sicim, çuval vb. kanıtlar ile ipek kumaş gibi ipek böceğinin (*Bombyx mori* L.) salgısından üretilen materyallerin de tam özellikleri belirlenerek nerede yapıldıkları, kimlerin üretilip sattığı, hatta bunları kimin satın aldığı da bulunabilir (Tepebaş, 2019).

Biyolojik Delillerin Sınıflandırılması

Kan

Kan, adam öldürme ve yaralama olayları gibi hayata karşı işlenen suçlarda sıklıkla karşılaşılan deliller arasında yer alır. Yapı itibarıyla mikroorganizmaların üremesi için çok elverişlidir (Lyman, 2002). İnsan vücudunun ağırlığının ortalama % 8,2'sini oluşturan kan sıvıdır ve içinde özelleşmiş hücreler barındırır. Kanın ortalama % 55'ini sıvı kısmı olan kan plazması ve % 45'ini mikroskobik olarak görüntülenebilen hücreler oluşturur. Kan plazması, % 90 oranında su, % 8 oranında protein, % 1 oranında organik asit ve % 1 oranında tuzdan oluşur (Bevel ve Gardner, 2002). Kanın bol miktarda su içermesi, pH seviyesi ve yapısında bulunan proteinler, mikroorganizmaların üremesi için elverişli bir ortam sağlarlar (Gunn, 2006). Mikroorganizmalar salgıladıkları enzimler ile hücre zarını parçalayarak (sindirerek) hücrenin bütünlüğünü bozarlar. Korunmasız hale gelen hücre içi organeller ve DNA'nın yapısı bozulur (Dizdaroglu, 1991). Kanın içinde bulunan DNA molekülü bu mikrobiyal üremeden zarar görür ve parçalanır.

DNA parçalanıp zarar görürse ilgili örnekler suçun aydınlatılmasında işlevsiz hale gelerek delil kaybına neden olur. Bazen de DNA

kanıtı sınırlı miktarda olabilir. Bu durumda da her türlü örnekten sonuç alınabilecek yüksek polimorfik özelliğe sahip markırlar ve teknikler kullanılır. Kan ve kanlı delillere çok sık rastlanmakla beraber az bir miktardan dahi sonuç alınabilmektedir. Uygun koşullarda bekletilmiş ve bozulmamış bir kan lekesi yıllar sonra bile adli analizlerde sonuç verebilir. Ancak uygun olmayan koşullarda (nem, sıcak, kir, toprak ile temas vb.) bekletilen kan örneği birkaç gün içerisinde bozularak delil özelliğini yitirebilir (Karakuş O., 2009).

Silinmiş Kan Lekelerinin Tespiti ve Analizi

Bazı olaylarda olay yeri inceleme öncesinde temizlendiği için kanı gözle tespit etmek mümkün değildir. Luminol ve benzeri çözümler kan kalıntılarını görünür hale getirilebilir. Bazı olaylarda şüpheli veya yakınları tarafından delillerin yok edilmesi amacıyla temizlik yapılır. Kanlı yüzeyleri yıkayıp silebilir hatta bazen olay yerini tekrar boyayarak ve yeniden dekore ederek olaya ait delilleri tamamen yok etmeye çalışabilirler. Çıplak gözle göremeyeceğimiz kan lekelerini görünür hale getirmek için ticari kitler geliştirilmiştir. Sıklıkla kullanılan luminol, hemasein ve bluestar kimyasalları benzer mekanizma ile işlev görür. Bu kitlerde bulunan hidrojen peroksit (H₂O₂) kan ile temas edince karanlık ortamda floresans ışık yayarak görünmeyen kanı görünür hale getirir (Yılmaz, 2013).

Tükürük

Çoğunlukla ağız svabı olarak toplanan tükürük örnekleri, kişiye özgü olan DNA'yı barındırdığı için çok önemlidir. Sigara izmaritlerinde, yemek artıklarında, ısırılmış gıdalarda, şişe ve bardak gibi kapların ağız kısımlarında, kaşık, bıçak, kürdan gibi maddeler üzerinde tükürük örneklerine rastlamak mümkündür. Dil, diş ve dudak ile temas eden cisimlerden pamuklu svap ile alınan tükürük örneğinin yanında mümkün olduğu durumlarda materyaller doğrudan bütün olarak da alınarak laboratuvara sevk edilebilir. İzmaritler, pens ya da cımbızla küllü tamamen boşaltıldıktan sonra alınmalı, ayrı ayrı paketlenerek gerekli bilgileri üzerlerine yazılmalı ve en kısa sürede ilgili laboratuvara gönderilmelidir (Semizoğlu, 2013).

Kıl

Cinsel suçlar, boşuşmalı kavgalar, intihar olayları ve benzeri hayata karşı suçlarda olay yerlerinden kıl örnekleri toplanır. Bazen uyuşturucu tespiti, zehirlenme ve şüpheli ölüm vakalarında da kıl örnekleri toplanmaktadır. Ancak bu örnekler sadece biyolojik analizlerde kullanılmamakta, kimyasal analizler için de işe yaramaktadır. Kişinin ölümünden yıllar sonra bir zehirlenme iddiasında fethi kabir yapılarak ölen kişiden alınan kıl numunelerinden zehirli bir maddeye maruz kalıp kalmadığı anlaşılabilir.

Olay yerlerinde insanlar dışındaki diğer canlılara ait kıllara da rastlanabilmektedir. Özellikle evde hayvan beslenen konutlarda veya bahçeli müstakil evlerde hayvanlara ait kıl ve tüylere de rastlanabilir. Kıl örnekleri fiziksel olarak incelenip veri bankalarıyla karşılaştırılarak hangi canlıya ait oldukları anlaşılabilir.

İnsana ait olduğu belirlenen kıl örneklerinde DNA analizi yapılması isteniyorsa köklü kılların toplanması gereklidir. En değerli kıl örnekleri kök yapısını kaybetmemiş olanlardır. Kıl örneklerinin kök yapılarında hücreler ve dolayısıyla da DNA bulunur. Ancak kılın kök dışındaki kısımlarından mitokondriyal DNA (mtDNA) analizi yapılabilmektedir.

Kıl örneklerini, olay yeri veya kişilerin üzerinden toplarken gözden kaçırmamak gerektiği için mağdurun kıyafetlerinde, vücudunda, tırnak aralarında, genital organının etrafında ve iç çamaşırlarında bulunabilecek kıllar kişinin nakledilmeden önce dikkatle incelenmesi gerekmektedir. Kıllar el değmeden, temiz bir pens kullanılarak kök yapısına zarar verilmeden dikkatlice toplanmalıdır. Kıl örnekleri eğer vücut sıvıları (kan, meni, tükürük, ter vb.) ile karışmış halde bulunuyorsa kuru ve serin bir ortamda kurutulmalıdır. Kıl örnekleri kurutulduktan sonra küçük şeffaf poşetlere konulabilir. Olay yerinde delil kaybını önlemek amacıyla kıl örnekleri temiz kâğıt parçaları içine konulmalı daha sonra da kâğıt zarflar içine konularak zarfın üzerine kılın sayısı, özellikleri (herhangi bir vücut sıvısı ile karışıp karışmadığı) yazılmalıdır. Kıl örnekleri olay yerindeki konumlarına ve durumlarına göre tek tek ya da saç grubu olarak ayrı paketlenmelidir. Toplanan örnekler küçük torbalar içerisine konularak ağızları bantla kapatılıp üzerleri etiketlenerek mühürlenir ve laboratuvara gönderilir. Mukayese amaçlı alınacak kıl örnekleri, başın muhtelif yerlerinden, makas kullanılmadan, elle koparılmak suretiyle, saçın kökleriyle beraber alınır (Semizoğlu, 2016).

Ter

Ter numunelerine çoğunlukla yaz aylarında kullanılan peçetelerde, iç çamaşırlarında, gömleklerin yaka ve bilek kısımlarında, eldiven, şapka, bere, gibi kıyafetlerin iç kısımlarında, direksiyon, bıçak kabzası, tetik, kapı ve tutunma kolu gibi elle tutulan yerlerde rastlanır. Ter hücreleri sadece ürettikleri salgıyı saldıklarından ter salgısında hücre, çekirdek ve dolayısıyla DNA bulunmaz. Ancak, ter silinirken ve vücuttan ayrılırken sürtünme etkisiyle ter sıvısı ile beraber epitel ve deri döküntüleri de atılmış olabilir. Ter, diğer biyolojik deliller gibi mikrobiyal ve fiziksel bozunmaya maruz kalabilir. İçerdiği DNA miktarı az olabileceğinden dikkatle toplanmalı delil kaybına sebep olunmamalıdır.

Burun Akıntısı

Mendil, peçete, maske veya giysiler üzerinde burun akıntısı bulunabilir. Özellikle kış aylarında olay yerlerinden toplanan kullanılmış mendil ve peçeteler DNA barındırabilir. Genellikle başka bir delilin bulunmadığı durumlarda olayın aydınlatılması için bu tür materyaller toplanıp paketlenerek ilgili laboratuvarlara gönderilir.

Cinsel Akıntılar

Cinsel suçlarda istismara uğrayan mağdurun veya şüphelinin vücudunda, iç kıyafetlerinde, havlu, kâğıt peçete, yatak, çarşaf, prezervatif üzerinde biyolojik sıvılar cinsel akıntılar olabilir (Hazelwood ve Burgess, 2009). Bu tür olaylarda delil çöp kutularından toplanmaktadır. Prezervatifin hem iç hem dış yüzeyinde, vajinal ve anal svaplar ile penis svabında erkek veya kadına ait vücut sıvılarına rastlanabilir. Cinsel suçla alakalı olmamakla beraber post-mortem durumlarda da kasların gevşemesi ile meni serbest kalabilir. Meni veya diğer cinsel organlardan salınan sıvılar akışkan halde ise temiz pamuklu beze veya eküvyonlu çubuğa emdirilir. Semen lekesi taşınabilir bir cisim üzerinde ise kuru olduğundan emin olunduktan sonra kâğıt zarflara veya karton kutulara alınarak paketlenir. Taşınmaz eşyalar üzerinde ise kesilerek veya lekelerin büyüklüğüne uygun steril emici yüzeye fizyolojik su yardımı ile transfer edilebilir.

Dışkı

Olay yerlerinden toplanan matteryaller arasında en az tercih edileni gaita örnekleridir. Başka bir delilin bulunmadığı durumlarda olay yerinde bulunan dışkı örneklerinde şüpheli veya mağdura ait DNA bulunabilir. Kanlı ishal veya kabızlık gibi durumlarda kişinin bağırsak duvarında bulunan kan ve epitel dokular koparak dışkı ile beraber atılır. Gaita örnekleri yüksek oranda bakteri barındırdığı için bozulması için kontaminasyona ihtiyaç duymazlar. Bu nedenle çok hassas delillerdir. İki saat zarfında içerdiği DNA degrade olmaya başlar. Bu nedenle küçük miktarda alınan örneklerin hızlı bir şekilde soğuk zincir kutusunda laboratuvara ulaştırılmaları gerekmektedir.

İdrar

Başka bir delil türü elde edilememişse idrar örnekleri delil olarak toplanabilir. Normal şartlarda steril olan idrarda DNA bulunması zordur. Sağlıklı bireylerin idrarlarında parçalanmış atıklar dışında hücre mevcut değildir. Ancak enfeksiyon veya metabolik hastalıklardan dolayı idrarda da DNA bulunabilir. Kadınların idrarında vajinal epitel döküntüsünden dolayı DNA çıkma ihtimali erkeklerle göre daha fazladır. İdrar numunelerinin kimyasal analizleri kişiler hakkında önemli bilgi verirler. Uyuşturucu tespiti, sistemik toksikolojik analiz, ağır metal, pestisid ve ilaç etken madde analizleri yapılarak zehirlenme ve benzeri metabolik faaliyet sonucu atılan atıkların idrardan tespit edilmesi mümkündür.

Doku ve Kemik Parçaları

Uçak ve trafik kazaları ile patlama ve doğal afetler gibi toplu ölüm ve yaralanmaların olduğu olaylarda doku parçalarına sıklıkla rastlanır. Ormanlık alanlarda bulunan cesetler bazen hayvanlar tarafından parçalanarak sadece doku parçalarına ulaşılabilir. Kemik, diş ve benzeri sert dokular çok uzun yıllar DNA analizine elverişli bir şekilde kalabilir. Bazı kazı alanlarında da kemik parçaları yeniden yapılandırılarak (rekonstrüksiyon) ait olduğu kişiler ve ırkları tespit edilebilmektedir. Kaynağı bilinmeyen doku parçalarının her biri, farklı eldiven ve pens yardımıyla toplanmalı, ayrı ayrı paketlenerek soğuk zincir kutusunda olabildiğince kısa sürede laboratuvarlara ulaştırılmalıdır.

Deri Döküntüleri

Omuz başlarında, atkı ve şal üzerinde, başörtüsü, şapka, bere ve yazma içinde sıklıkla kepek ve deri döküntülerine rastlanır. Yatak, battaniye, yastık üzerinde genellikle baş derisi kökenli; halı, çorap, terlik ve ayakkabı içerisinde de ayak derisi kökenli epitel hücrelere rastlanabilir. Olay yerlerinde bulunan kepek ve diğer deri döküntüleri kaybolmayacakları kadar küçük bir zarf içerisine, fırça veya pens yardımıyla toplanarak, ağızları mühürlü şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu örneklerden yüksek miktarda DNA elde edilebilir.

Entomolojik Bulgular

Böcekler, sıklıkla ölüm olaylarında cesetler üzerinde bulunabilen ve ölüm zamanı tespitinde işe yarayan önemli delillerdir (Dix ve Graham, 2005). Böcekler, ceset üzerine farklı çürüme evrelerinde yumurtalarını bırakırlar. Bu yumurtalar ve erginleşen yaşam formları; larva [1. larva, 2. larva, 3. larva], pupa ve ergin böcek olarak ölüm zamanı hakkında fikir sahibi olmamızı sağlar (Karapazarlıoğlu, 2010). Ölüm zamanı tayininde; saat tahminleri cesedin

genel yapısı, soğukluk, ölü morluğu ve katılığı ile ölçülürken gün tahminlerinde böceklerden faydalanılır. Ortamın sıcaklık, nem, yükseklik ve iklim şartları dikkate alınarak böceklerin yaşam döngüleri arasındaki zaman hesaplanarak ölüm zamanı tahmin edilmeye çalışılır (Kondakçı, 2009). Bazen taşınmış olan cesetlerde (ikincil transfer), cesedin bulunmadığı durumlarda, böcekler cesede ait doku ile beslendiklerinden kursaklarından cesede ait DNA bulunabilir (Kondakçı vd., 2009).

Entomolojik bulgular yerinde incelenirken iyi bir fotoğraflama şarttır. Böceklerin alındıkları lokasyon, ortamın nem, rüzgâr, rakım gibi iklim özellikleri ile diğer koşulları, toprak özellikleri, zaman, tarih, cesedin bulunduğu toprak veya zemin, cesedin kıyafetleri not edilmelidir. Ergin sinek veya kın kanatlılar, atrap denen böcek yakalama aletiyle yakalanmalı, %70'lik etil alkol içinde adli entomoloji laboratuvarına gönderilmelidir. Cesedin ağız boşluğu, burun delikleri, göz çukurları ve cinsel organları gibi yumuşak ve nemli kısımlarında sıklıkla rastlanan yumurtalarda %70'lik etil alkol içine konularak etiketlenmeli, pakettikten sonra olay numarası, örneklerin alındıkları yer, tarih, saat, gibi özellikleri paketin üzerine yazılmalıdır. En kısa sürede deliller adli entomoloji laboratuvarına gönderilmelidir.

Botanik ve Narkotik Bulgular

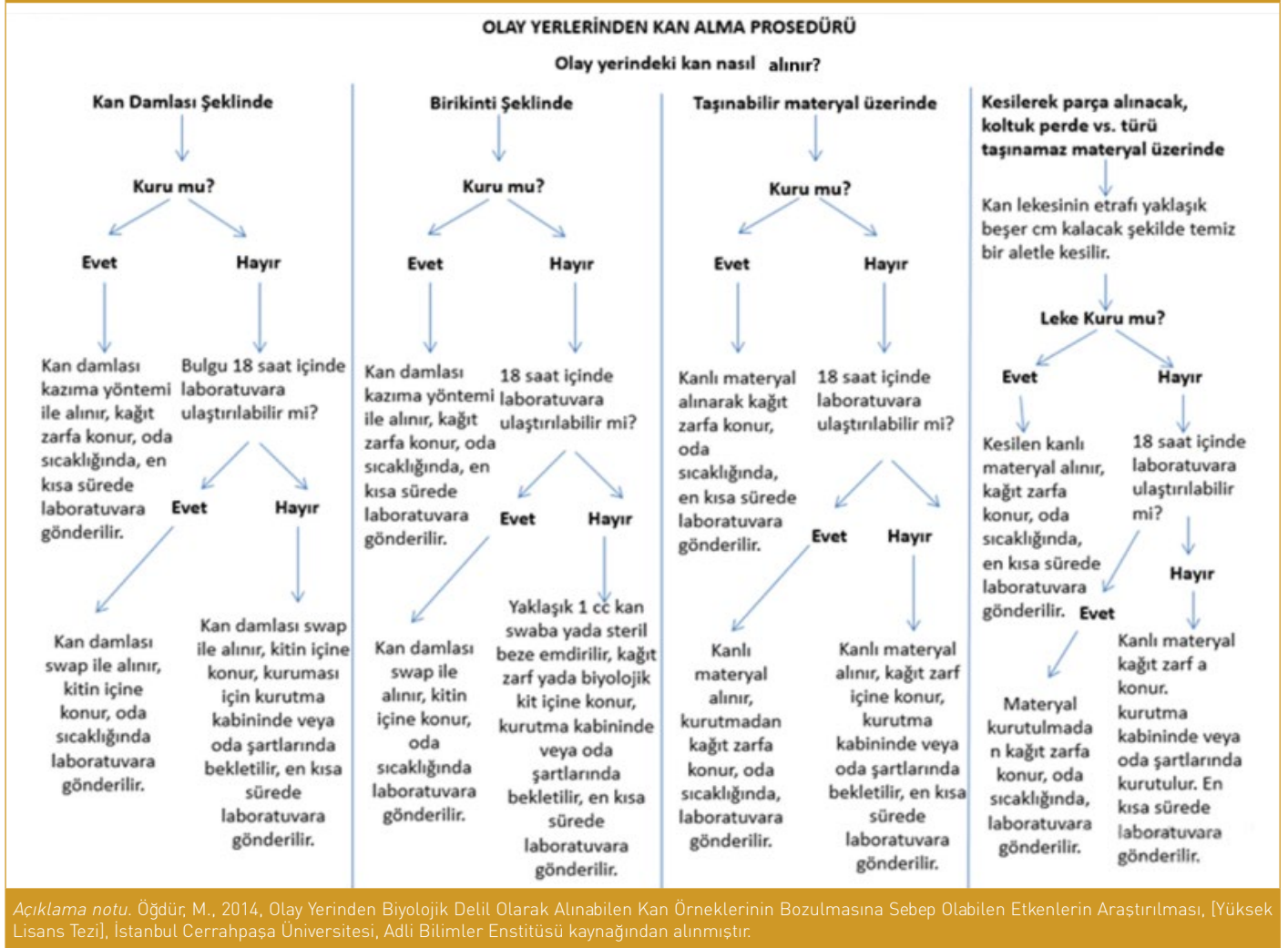
Bitkiler, cinayet, kaza, şüpheli ölüm, insan ticareti, cinsel saldırı, kaçakçılık, uyuşturucu ticareti, mühimmat saklanması ve uluslararası silah ticareti gibi farklı alanlardaki suçların çözümünde delil olarak kullanılırlar. Kök, gövde, dal, yaprak, meyve, çiçek ve tohum gibi bitkilere ait parçalar bize olay yeri ve olay hakkında birçok bilgi verebilir (Graham, 1997). Ceza davalarının yanı sıra hukuk davalarında da botanik ve narkotik ürünün hangi bitki türüne ait olduğunun belirlenmesi ve bitki kalitesinin ölçülmesi gereken durumlarda adli botanik biliminden yararlanılır. Bitki türlerinin geleneksel sınıflandırılması veya ileri biyokimyasal ve moleküler yöntemler kullanılarak bitki türleri tanımlanabilir (Tepebaş, 2019). Bitki materyalleri, herbaryum yöntemleri uygulanarak, iki kâğıt zarf arasına tek kat olarak serildikten sonra nemden korunarak kurutulmalıdır. Kuruyan örnekler kâğıt zarflarda muhafaza edilmelidir. Uyuşturucu ve uyarıcı etki yapan maddeler genellikle bitkilerden üretilir. Bu nedenle narkotik madde imalatında kullanılan bitkilerin yetiştirilmesinin yasal kısıtlamaları vardır. Bu bitkilerin yetiştirildiği ile ilgili ihbar alan kolluğun bitkileri tanınması, uygun şartlarda toplanması ve kurularak analiz için ilgili birimlere göndermesi gerekmektedir.

Palinolojik Bulgular

Ağaçların belli dönemlerinde etrafa yayılan polenleri inceleyen bilim dalı palinoloji, bu bilim dalından adli bilimlerde faydalanılan alan ise adli palinolojidir. Bazı bitkiler belirli bir yere özgü (endemik) olabilmektedir. Bu durumda olayın işlendiği yerin ekolojik özellikleri göz önünde bulundurularak palinolojiden yararlanılır. Her polenin belli bir salınma dönemi vardır. Farklı bir dönemde toplanan polenler olay zamanı hakkında da fikir verebilirler. Polenler mikroskobik boyutta olduklarından kaybolmaları çok kolaydır. Olay yerinden alınan polenlerin küçük beyaz zarflara konularak nemden korunması ve ilgili laboratuvarlara gönderilmesi gerekmektedir. Bozulma riski diğer delillere nazaran daha az olan materyallerdir.

Şekil 3

Biyolojik Delil Toplama Diyagramı



Mikrobiyolojik Bulgular

Olay yerinden toplanan mikroorganizmalar çeşitli suçların aydınlatılmasında çok faydalı olabilirler. Adli mikrobiyoloji laboratuvarına getirilen örnekler; biyosuçlar, gıda zehirlenmeleri, enfeksiyon kökenini belirleme, delil güvenliği (biyolojik, kimyasal vb. delilleri bozan etkenler), şüpheli hastalıklar, enfeksiyon sonucu meydana gelen ölümler (sepsis), mikrobik kökenli yaralanmalarda şüpheleri gidermek amacıyla analiz edilirler. Mikroorganizmalar aynı zamanda olay yeri inceleme ve diğer laboratuvar personeline de zarar verebileceğinden mikrobiyolojik örnek toplarken kişisel korunma tedbirlerine mutlaka uyulması gerekmektedir. Pamuklu çubuğa emdirme veya steril bir kaba transfer edilen mikrobiyolojik örneklerin çok kısa süre içerisinde laboratuvarlara ulaştırılması gerekmektedir.

Biyolojik Delillerin Genel Olarak Toplanma, Saklanma, Paketlenme ve Taşınma Kriterleri

Birçok olayda olay yerlerinden toplanan biyolojik deliller diğer delillere göre daha az miktardadır. Miktarın az olmasıyla beraber bozulmaya elverişli olduklarından doğru bir şekilde alınması ve kayıplara uğramaması çok önemlidir. Bu nedenle biyolojik örnekler, her türlü hasar ve kontaminasyona karşı iyi muhafaza

edilmelidir. Çünkü olay yeri incelemesinin tekrarı birçok olayda mümkün değildir. Bazen yeterli miktarda örnek alındığı zannedilse de incelemeye yetecek kadar DNA'ya ulaşılamaz. Birçok durumda da alınan örneklerin paketlenmesinde yapılan hatalardan dolayı deliller kullanılamaz hale gelirler. Biyolojik deliller, direkt ya da bantla alma, kesme, vakumlama, emdirme, kazıma vs. gibi birçok yöntemle toplanabilir (Horswell, 2004). Sıklıkla kullanılan toplama yöntemleri ve olay yerinden kan alınırken izlenmesi gereken yol Şekil 3'te şematize edildiği şekilde sıralanabilir.

Kesme Yöntemi: Taşınmaz bir yüzey üzerinde bulunan biyolojik leke steril bir aletle kesilerek alınabilir. Yatak, çarşaf, yorgan, koltuk, halı, perde gibi taşınamayacak kadar büyük eşyaların üzerindeki lekeli kısım temiz bir makas veya bisturi yardımıyla en az 5 cm çapındaki temiz ve lekesiz kısım ile beraber kesilmelidir. Eğer aynı eşya üzerinde değişik noktalarda lekeler varsa, farklı makas veya bisturi kullanılarak kesilmeli ve paketleme-nakil işleminde bu detaylar belirtilmelidir (Horswell, 2004).

Kazıma Yöntemi: Olay yerinde bulunan kurumuş biyolojik leke, sert zeminler üzerindeyse kazıma yöntemi ile alınabilir. Kazınan lekeler temiz bir kağıtla alınarak kağıt zarf içerisine doğrudan paketlenmelidir (Bell, 2004).

Emdirme Yöntemi: Olay yerinde bulunan biyolojik delilin, birikinti halinde ise temiz svap çubuğu (pamuk), FTA kartı veya gazlı bez üzerine 2-3 cm'lik bir alanı kaplayacak şekilde emdirilebilir. Leke ıslaksa doğrudan, kuru ise serum fizyolojik ile çözülerek emdirilir. Ancak ıslak materyallerin mutlaka doğal ortamda (gün ışığında) kurutularak laboratuvara gönderilmesi gerekmektedir (Karakuş, 2009). Lekenin emdirildiği bezin çok büyük olmaması gerekir. Çünkü laboratuvarında biyolojik leke bezle beraber özel kimyasallarla ıslatılarak transfer edilir. Kan örnekleri yukarıda sayılan yöntemlere ek olarak FTA kartı adı verilen steril kağıtlara emdirilerek de alınabilir. FTA kartları hem olay yerindeki kanlar için hem de mukayese amaçlı olarak şüpheli ya da müstekiden alınan kan örnekleri için kullanılabilir. FTA kartına emdirilen kan kurutularak paketlenmelidir. Mikroorganizmalar kan içerisinde hızlıca çoğaldığından kurutulmamış kan hızla bozulur. Kurutma işlemi oda sıcaklığında, herhangi bir ısıtıcı ya da fan kullanılmadan kendiliğinden olmalıdır (Gaensslen, 2007).

Materyali Doğrudan Alma Yöntemi: Olay yerinde bulunan kanlı kıyafet, silah, bıçak, bardak, telefon vb. materyaller üzerinden svap almadan doğrudan biyolojik incelemeler laboratuvarına gönderilebilirler. Elbise, bez, bardak, silah, bıçak gibi taşınabilir özellikteki materyallerin her biri ayrı zarflarda paketlenmeli ve kırılabilir materyaller koruyucu kutulara alınarak sabitlemek şartıyla mühür bandıyla kapatılarak doğrudan laboratuvara ulaştırılmalıdır. Dikkat edilmesi gereken en önemli husus kanlı materyallerin kesinlikle plastik poşetlere konulup paketlenmemesi ve tamamen oda sıcaklığında doğal olarak kurutulduktan sonra ilgili laboratuvara ulaştırılması gerektiğidir. Biyolojik deliller toplanırken deliller arasında çapraz bulaş ve kontaminasyon olmamasına özen gösterilmelidir. Her delil mümkünse farklı bir eldivenle toplanmalı, özellikle kıl ya da lif gibi küçük ve hassas örnekleri toplarken pens ve cımbız gibi tek kullanımlık araç gereçler tercih edilmeli veya her defasında bu aletler steril hale getirildikten sonra kullanılmalıdır. Biyolojik delillerin başta mikroorganizmalar olmak üzere diğer olumsuz etkenlerden korunarak laboratuvara ulaştırılması için örneklerin kuru olması hayati önem taşır. Mikroorganizmalar suyun ve nemin olmadığı bir ortamda çoğalamaz ve dolayısıyla biyolojik örnekleri çürütemezler (Öğdür, 2014). Bir hafta bekletilen paket türlerindeki koloni gruplarına bakıldığında sırasıyla kâğıt, bez ve naylon paketlerde üreyen mikroorganizma

Tablo 1

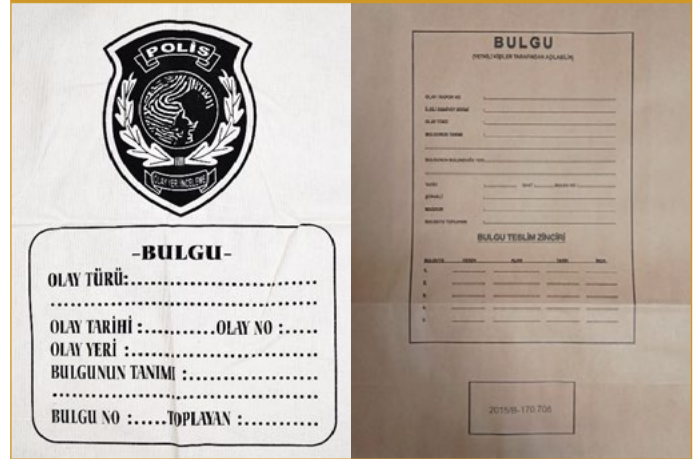
Bir Hafta Bekletilen Paket Türlerinde Üreme Görülen Plak Sayıları

Süre	Üreyen Mikroorganizma Grubu	Paket Türü			Toplam
		Kâğıt	Naylon	Bez	
1 Hafta	Gram Pozitif Kok	3	18	6	27
	Gram Pozitif Çomak	9	27	18	54
	Gram Negatif Çomak	0	6	2	8
	Küf ve Mantar Türleri	14	20	16	50
	Üreyen Plak Sayısı	26	71	42	139
	Oran (%)	18,7	51,1	30,2	100

Açıklama notu. Öğdür, M., 2014, Olay Yerinden Biyolojik Delil Olarak Alınabilen Kan Örneklerinin Bozulmasına Sebep Olabilen Etkenlerin Araştırılması, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü kaynağından alınmıştır.

Şekil 4

Bez Delil Torbası (solda) ve Kâğıt Delil Torbası (sağda)



Açıklama notu. Öğdür, M., 2014, Olay Yerinden Biyolojik Delil Olarak Alınabilen Kan Örneklerinin Bozulmasına Sebep Olabilen Etkenlerin Araştırılması, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü kaynağından alınmıştır.

sayılarının giderek arttığı görülmektedir (Tablo 1).

Anal ve vajinal svaplar pamuklu çubuk (eküvyon) ile steril tüple alınarak ayrı ayrı paketlenmeli ve etiketlenmelidir. Nesep tayini için genellikle aile ve hukuk mahkemeleri tarafından talep edilen kan örnekleri en az 5 ml olacak şekilde EDTA'lı tüplere alınmalı, kapakları iyice kapatıldıktan sonra tüpler nazikçe karıştırılmalı, pihtilaşmanın önlenmesi için EDTA ile karışması sağlanmalıdır.

Biyolojik örnekler toplanırken kesinlikle birbirleriyle temas ettirilmemeli ve ayrı ayrı paketlenmelidir. Biyolojik deliller için en iyi paket türü kâğıt zarflar ya da bez torbalardır (Şekil 4). Bu paketler hava alabildikleri için deliller üzerinde kalan nem zamanla kurur.

Kurutulduktan sonra paketlenen biyolojik örnekleri toplayan birimin, olayın adını, suç ile bulgu numarasını, toplanan yeri, tarihi, saati ve toplayan kişinin bilgilerini yazması gerekmektedir. Bulgu paketleri üzerinde olayla alakalı olabilecek özel bilgilerin yazılmaması soruşturmanın gizliliği açısından önemlidir. Paketlenen deliller laboratuvarlara ulaştırılıncaya kadar mümkünse kurutma kabinleri içerisinde eğer imkânlar buna izin vermiyorsa hava alabilen normal ve kilitli dolaplarda saklanmalı, gönderilinceye kadar ısı, nem, basınç ve benzeri olumsuz etkenlerden korunmalıdır. Delil teslim zinciri, bulgunun olay yerinden alınması ve laboratuvara teslim aşamasına kadarki süreçte devir teslim prosedürü ve tutanaklarını ifade eder. Taşınan her materyalin olayın çözümünde sağlayacağı katkı çok önemli olabilir. Bu nedenle her bulgu çok değerlidir ve çoğu durumda herhangi bir kayıp ya da madde bütünlüğünde bir bozulma olursa bu durumun tafafisinin mümkün olmayacağı unutulmamalıdır. Bu nedenle delillerin zarar görmesi veya kaybolması halinde ilgililer hakkında yasal sorumluluk doğacaktır (Fisher, 2004).

Mukayese amaçlı olarak şüpheli veya olayla ilgili şahıslardan alınan kan ve benzeri numuneler FTA kartı, EDTA'lı tüpler ve benzeri steril malzemelerle sağlık personeli tarafından alınmalı ve olay yerinden alınan delillerin gittiği ilgili laboratuvarlara gönderilmelidir. Ülkemizde canlı bir bedenden genetik inceleme için

alınan biyolojik delillere mahkeme kararı gereklidir. Gecikmesinde sakınca bulunan hallerde bu kararı nöbetçi Cumhuriyet Savcısı vererek 24 saat içerisinde Sulh Ceza Hâkiminin onayına sunar. Onaylanmayan örnekler derhal imha edilir. Polis sorumluluk alanında meydana gelen olaylardan alınan biyolojik delilleri, Ankara ve İstanbul gibi illerde bulunan Kriminal Polis Laboratuvarları Biyolojik İncelemeler Şube Müdürlüğüne, Jandarma sorumluluk alanında meydana gelen olaylardan alınan biyolojik deliller ise en yakın Jandarma Kriminal Laboratuvarlarına PTT kargo veya kurye ile gönderilir (www.cigm.adalet.gov.tr).

DNA Analizi İçin Yeterli Olmayan Örnekler ve Kısıtlamalar

İçinde çekirdek olan her türlü biyolojik örnekten başarılı bir şekilde DNA elde edilebilir. Ancak içinde çekirdek olmayan veya çok az sayıda çekirdek olan gözyaşı, ter, serum, prostat sıvısı ve diğer çekirdek hücresi olmayan vücut sıvıları DNA analizleri için uygun değildir.

Olay yerinde bulunan bir delilin olay yerindeki durumunun belgelenmesi gerekmektedir. Bu ispat türü fotoğraflandırma, kamera kaydı ve olay yeri krokinin çizimi ile olur. Nereden geldiği ispatlanamayan bir örnekten DNA elde edilip mukayeseye elverişli olsa bile örneğin olayla ilişkisi kanıtlanamazsa delil özelliği kazanamaz. Bazı olaylarda atf-ı cürüm (suç yüklemeye) amacıyla olayla ilgisi olmayan kişilerin olaya dâhil edilmeye çalışıldığı ya da mahkeme aşamasında bazı ifadelerin değiştirilerek suçun işlendiği zamanda olay yerinde olmadığını beyan eden birilerinin her zaman olabileceği unutulmamalıdır.

Olay yerinden elde edilen biyolojik materyaller başlangıçta çok kaliteli bir DNA örneğine sahip olabilirler. Ancak incelemeye gönderilecek numuneler yanlış tekniklerle toplanır, kontamine edilir veya analiz sürecine kadar bozulacak bir ortamda muhafaza edilirse delil kaybı mutlaka yaşanacaktır. Üzerinde küf ve bakteriler üremiş delillerde, madde bütünlüğü korunmuş olsa bile mikroorganizmaların sebep olduğu düzeltilemez DNA hasarları meydana gelebilir (Öztunc, 2011).

Karışım (Mix) Örnek, Kontaminasyon (Bulaş), Çapraz Bulaş ve Sekonder Transfer Kavramları

Olay yerlerinden toplanan tek bir örnek içinde birden fazla kişiye ait DNA bulunabilir. Örneğin; cinsel bir saldırı olayında alınan svapta hem şüpheliye hem de mağdura ait DNA örnekleri olabilir. Analiz sonucunda bu biyolojik delilin birden fazla kişiye ait DNA barındırdığı anlaşılırsa buna karışım (mix) örnek adı verilir. Bu örneklerdeki her bir DNA profili ayrıştırılarak sonuç elde edilir. Üç veya daha fazla kişiye ait DNA delillerin analizinde DNA profillerini ayırmak ve doğru yorumlamak çoğu zaman pek mümkün değildir.

Biyolojik delil dışında genellikle adli kolluğun veya hastane/laboratuvar çalışanlarının DNA'ları da delile karışabilir. Analiz sonucunda delil içerisinde ilgisiz bir DNA profili elde edilmesi kontaminasyon varlığını gösterir. Çok sayıda delilin olduğu olaylarda iki farklı delil aynı delil zarfının içine konulursa ya da daha önce başka bir olayda kullanılan ve steril hale getirilmemiş bir malzeme tekrardan kullanılırsa deliller arasında örnek alışverişi oluşacaktır. Bu durumda olayla bağlantıları olmasa bile materyaller üzerinde birbirlerine ait örnekler olacağından deliller kontamine

olmuş sayılır. Bu kontaminasyon türü de adli bilimlerde çapraz bulaş olarak tanımlanır.

Kişilerin birtakım objelere ve farklı kişilere dokunması ile yüzey üzerinde bıraktığı ya da dışarıdan üzerine aldığı primer ve sekonder DNA örnekleri analiz edilerek olayın aydınlatılmasına katkı sağlayabilir. A isimli şahıs B ile tokalaşırken A'ya ait DNA B'ye geçebilir. Bu durumda B'nin elinde A'ya ait DNA vardır. B şahıs C isimli şahıs ile tokalaştığında B'nin elinde misafir olan A'ya ait DNA, C kişinin eline aktarılabilir. A ile C arasında herhangi bir bağ olmamasına rağmen C'den alınan bir svapta A'ya ait DNA'nın çıkması olayına sekonder transfer (ikincil taşınma) denmektedir.

Biyolojik Deliller Üzerinde Yapılan Çeşitli İncelemeler

Öldürme ve yaralama başta olmak üzere birçok olayda yoğun olarak kan elde edilir. Kan genellikle DNA analizi için alınır. Ancak kan damlalarının şekilsel yapısı analiz edilerek kanın kaynağı, yönü, hızı, suç aletinin özellikleri, olayda ateşli silah kullanılıp kullanılmadığı, mağdur ve fail arasında yaşanan olayların tahmini gibi bir takım bilgiler kan model analizi ile tespit edilebilmektedir.

Olayla ilgili toplanan kıl ve lif örnekleri içerdikleri DNA'dan dolayı oldukça değerli delillerdir. Ancak DNA analizleri dışında da mikroskobik incelemeler vasıtasıyla bu örneklerin tanımlamaları yapılarak mukayese örnekleri ile karşılaştırılmaktadır. Kafasına sopayla vurularak yaralama olayının olduğu bir aile içi şiddet olayında mağdur şahsın darp gören kısımdan alınan kıllardaki saç kırılmalarından kafasına kaç kere vurulduğu anlaşılabilir. Yine benzer şekilde bir olayda kafasına yastık bastırılarak ateş edilen maktulün otopsi sırasında kafatasından çıkarılan mermi çekirdeği üzerindeki yastığa ait lifler olayın oluş şekli ve yeri ile ilgili çok önemli ipuçları verebilir. Ülkemizde Kriminal Polis Laboratuvarları'nda lif incelemeleri mikroskobik düzeyde olup liflerin DNA analizlerini içeren bir olgu henüz rapor edilmemiştir. Ancak mikroskobik incelemeler de incelemeyi yapan analistin tecrübesine ve hatta yorumuna bağlı olarak farklı sonuçlar verilmektedir. DNA analizleri ile yapılan identifikasyon (tanımlama) ve mukayese (matching) sonuçları ise %100'e yakın oranda güvenilirdir (Tepebaş, 2019).

Uyuşturucu kullanımı veya ağır metal zehirlenmeleri sonucu meydana gelen toksikolojik ölümlerde saç ve tırnak gibi biyolojik materyaller üzerinde kimyasal analizlerle etken madde tespiti yapılabilir. Ayrıca kıl uzama hızı hesaplandığında da şahsın hangi tarihlerde kaç kere zehirlendiği veya madde kullandığı da tespit edilebilmektedir. Yine narkotik madde kullanımı veya trafikte alkollü araç kullanılıp kullanılmadığı ile ilgili tespit de kan ve idrar analizi ile yapılabilir.

Elleri kanlı bir şahsın çeşitli yüzeylere teması sonucunda gözle görülür bir şekilde parmak izlerini elde etmek mümkün olabilir. Bu gibi kanlı, yağlı ya da boyalı parmak izleri görünür olduklarından fotoğraflama ile belgelendirilmelidir. Daha sonrasında DNA analizi için svap alınacaksa parmak izlerindeki papil hatları tespit edilip fotoğraflandırdıktan sonra svap alınmaya geçilmelidir.

Tarihte parmak iziyle aydınlatılan ilk olay 1892'de Arjantin'de kendi çocuğunu öldürerek suçu başkasına atmaya çalışan bir kadının olay yerindeki kapıda bulunan kanlı parmak izlerinin tespit

edilmesiyle olmuştur. Günümüzde vücut izi geliştirme laboratuvarlarına olay yeri inceleme birimlerince getirilen materyallerden birçoğu latent yani gözle görülemeyen parmak izleri olduklarından buldukları yüzey özelliklerine göre (gözenekli ve gözeneksiz) çeşitli kimyasal teknikler kullanılarak görünür hale getirildikten sonra fotoğraflandırılarak saklanmaktadır.

Adli bilimlerin alt dallarından bir tanesi de adli androlojidir (üroloji bilimi). Cinsel suçlarda ağırlıklı olarak karşımıza semen (meni) lekeleri çıkabilir. Bu lekeler DNA analizi dışında mikroskopik analiz ile de incelenebilir. Yine adli bilimlerin bir diğer alt dalı olan adli tekstil alanında da cinsel istismar, tecavüz, araçla çarpıp kaçma ya da soygun gibi çeşitli suç dallarında karşımıza çıkabilecek endüstriyel ürünlerin kendileri veya fotoğraf ya da kamera görüntülerinden olayda kullanılan eşyalar olup olmadıkları anlaşılabilir. Ayrıca kıyafetler ve halat, urgan, ip gibi boğma aracı olabilecek eşyalar üzerindeki deformasyon ve kesikler de bize olayın intihar mı yoksa cinayet mi olduğu hakkında önemli ipuçları verebilir.

Biyolojik Delillerle İlgili Kolluk/Uzman Hataları ve Kolluk Dışındaki Personelin Farkındalığı

Adli bir olayın meydana geldiği yere ilk yardım, itfaiye, AFAD, Afet Kriminal İnceleme Birimi (AKİ), belediye personeli, cenaze işleri, orman koruma gibi çok farklı alanlardaki personel gelebilmekte ve her biri kendi açısından görevini ifa etmektedir. Hatta bazı toplumsal olaylarda gönüllü vatandaşlar fiili memur sıfatı olarak çalışmalara destek vermektedir. Her ne kadar iyi niyetle müdahale edilmek istense de olayın bir parçası olan kişi ya da nesnelere zarar gelebilmektedir. Örneğin; yaralı bir kişiye müdahale etmeye çalışan sağlık çalışanları, kanaması olan bir hastaya müdahale ederken, birtakım delilleri yanlışlıkla yok ederek delil karartabilmektedirler. Sağlık personelinin önceliğinin hayat kurtarmak olduğu bir gerçektir. Ancak bu işi yaparken aynı zamanda adli bir olayla alakalı temasta bulunulan her şeyin olayın bir parçası olduğu ve delillerin bazen hayati bir öneme sahip olabilecekleri unutulmamalıdır. Örneğin, O.J. Simpson davasında pozitif DNA idantifikasyonu bulunduğu halde, delillerin toplanmasında delil teslim zincirinin kırılması ve hukuka uygunluğunun kesin olmamasından dolayı jüri sanığı suçsuz bulmuştur (Yılmaz, 2019).

Biyolojik deliller toplanırken olay yerinde bulunan bazı materyaller, sağlık çalışanları veya olaya müdahale eden kolluk tarafından bırakılmış olabilir. Eldiven, maske, enjektör, izmarit, su şişesi vb. materyaller sağlık çalışanları ve diğer personel tarafından ortama bırakıldığında olay yeri inceleme uzmanı tarafından olayla alakalı olabilecekleri düşünülerek toplanabilir. Ayrıca olay yerinde kesinlikle bir şeyler yenilip içilmemeli ve tuvalet ihtiyacı bu gibi yerlerde giderilmemelidir. Bu nedenle adli farkındalık eğitiminin adli olaylara müdahale eden tüm personele verilmesi delil güvenliği açısından önem arz etmektedir.

Sonuç

Biyolojik delillerin adli olaylarda ve hukuki anlaşmazlıklarda çok önemli olduğu konusu birçok adli vakanın çözümünde ispatlanmıştır. Elde edilen biyolojik delillerin amacına ulaşması için usülüne uygun olarak toplanması, paketlenmesi, saklanması ve en kısa sürede ilgili laboratuvarlara sevk edilerek doğru bir şekilde analiz edilmesi gerekmektedir.

Bir bulgunun delil niteliği taşıyabilmesi için güvenilir olması en önemli şarttır. Nereden geldiği belli olmayan bir numune mahkeme tarafından delil olarak kabul edilemez. Delil olarak kabul edilmediği için de suçun aydınlatılmasında kullanılamaz. Bu nedenle delillerin olay yerindeki ilk durumundan analiz sonrası imha sürecine kadarki süreçte delilin şartlarına uygun olarak muhafaza edilmesi hem yasal hem de vicdani bir sorumluluktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- Açıkgöz, N., Hancı, İ.H. ve Çakır, H. (2002), DNA Laboratuvarının İşleyişi, *Sted Dergisi*, 11(4): 126.
- Arda, M. (2013), Virüslerin Üretilmesi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, (<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFA79D6F5E6C1B43FF09B7BF3A53757A00>). Erişim tarihi: 28.12.2013.
- Bayrak, F. ve Altunbaş, S. (2013), Olay Yerinden Mahkemeye, (http://www.jandarma.tsk.tr/kriminal/turkish_internet/anasayfa/bilarinde_dosyalar/yazilar_dosyalar/bilarinde2.doc). Erişim tarihi: 24.12.2013.
- Bell, W.R., (2004), Practical Criminal Investigations in Correctional Facilities, p:185, CRC Press, New York.
- Bennett, J.W. (1987), Mycotoxins, Mycotoxicoses, *Mycotoxycology and Mycopathologia*, *Mycopathologia*, 100: 3-5. [\[Crossref\]](#)
- Bertino, A. J. (2012), *Forensic Science Fundamentals & Investigations*. South-Western CENGAGE Learning.
- Bevel, T. ve Gardner R.M., (2002), *Bloodstain Pattern Analysis*, p: 130, CRC Press, Washington DC.
- Bilgehan, H. (1995), *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, s: 425-521, Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir.
- Ceylan, B. (2008), *Ülkemizde Olay Yeri İnceleme Uygulamalarına Genel Bakış ve Mevcut Sistemin Değerlendirilmesi*, [Doktora Tezi], İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Çeza Muhakemesinde Beden Muayenesi, Genetik İncelemeler ve Fizik Kimliğin Tespiti Hakkında Yönetmelik, Madde 20, (<http://www.cigm.adalet.gov.tr/syonetmelikler/yonetmelikmetinleri/genetik.pdf>). Erişim tarihi: 10.10.2012.
- Çomaklı, Ş. E. ve Ayhan, U. (2018), Polis Mevzuatı. Polis Akademisi Yayınları S: 225, Ankara.
- Dix, J. ve Graham, M. (2005), Time of Death, *Decomposition and Identification an Atlas P: 16* CRC Press London.
- Dizdaroglu, M., (1991), Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA, *Free Radic Biol Med*, 10(3-4):225-242. [\[Crossref\]](#)
- Durmuş, K. (2003), *Olay Yeri İncelemesinde ve Örnek Alımında Delilin Devamlılığının Sağlanması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Durmuş, K. (2010), *Olay Yeri İnceleme Uygulamalarında Dokümantasyon Standartlarının Oluşturulması*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Enfert, C. ve Hube, B. (2007), Candida: Comparative and Functional Genomics, *Caister Academic Press*, USA.
- Evet, I.W. ve Weir, B.S. (1998), Interpreting DNA Evidence, *Statistical Genetics for Forensic Scientists*, 98:21, Sinauer Associates, USA.
- Fisher, B.A.J. (2004), *Techniques of Crime Scene Investigation*, p: 208 CRC Press Florida.

- Gaensslen, R. E. (2007), *Blood, Bugs and Plants*, P: 26, Fact on File Press.
- Gordon, R.E., Haynes, W.C. ve Pang, C.H.N. (1973), *The Genus Bacillus, US Department of Agriculture Handbook*, No. 427, Agricultural Research Service, Washington DC.
- Graham, S. A. (1997), Anatomy of the Lindbergh Kidnapping, *Journal of Forensic Science*, 42(3), 368-377. [Crossref]
- Gunn, A. (2006), *Essential Forensic Biology*, p: 7, Wiley and Sons Press, England.
- Güç, Ü., Akyüz, N., Kasımoğlu, Ö. ve Kızır, A. (1987), Kanseri Hastaların Ağız Florasında Görülen Değişiklikler, 21:1-4, İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul.
- Hazelwood, R.R. ve Burgess, A.V. (2009), *Practical Aspects of Rape Investigation*, CRC Press, P: 141.
- Hendrickse, R.G. (1997), Of Sick Turkeys, Kwashiorkor, Malaria, Perinatal Mortality, Heroin Addicts and Food Poisoning: *Research on the Influence of Aflatoxins on Child Health in the Tropics, Ann Trop Med Parasitol* 91 (7): 787-793. [Crossref]
- Horswell, J. (2004), *The Practice of Crime Scene Investigation*, p: 33, CRC Press, Washington DC. [Crossref]
- İlçe, A., Yıldız, D., Baysal, G., vd. (2010), Acil Servislerde Çalışan Sağlık Bakım Personelinin Adli Olgularda Delillerin Korunması ve Saklanması Yönelik Bilgi ve Uygulamalarının İncelenmesi, *Ulusal Travma Acil Cerrahi Dergisi*, 16 (6):546-551, Bolu.
- Kantarcioglu, A.S. ve Yücel, A. (2003), Aspergillus Cinsi Mantarlar ve İnvaziv Aspergilloz: Mikoloji, Patogenez, Laboratuvar Tanımı, Antifungallere Direnç ve Duyarlılık Deneyleri, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 34 (3), İstanbul.
- Karakuş, O. (2009), *Kriminalistik*, S: 8 Adalet Yayıncılık, Ankara.
- Karakuş, O. ve Ünal, B. (2013), *Kriminalistik* (2. Baskı), Karakuş, O. (Eds.), Olay Yeri İnceleme (pp. 3-85), Ankara.
- Karapazarlıoğlu, E. (2010), *Kapalı Ortamda Domuz Karkasları Üzerine Gelen Böcek Türlerinin ve Süksesyonlarının Belirlenmesi ve Bir Örnek Vaka Çalışması*, [Doktora Tezi], Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Kondakci, G.O., Bulbul, O., Shahzad, M.S., vd. (2009), STR and SNP Analysis of Human DNA from *Lucilia sericata* larvae's Gut Contents, Forensic Science International: *Genetics Supplement Series* 2 (2009) 178-179, [Crossref]
- Kondakçı, G.O. (2009), *Adli Bilimlerde Lucilia sericata Larvalarının Kullanımı*, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- Ladd, C. ve Lee, H.C. (2005), *The Use of Biological and Botanical Evidence in Criminal Investigations*, CRC Press, London.
- Ludes, B. ve Keyser, T.C. (2005), *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine*, vol 2, p: 175, Elsevier Ltd. Press, France.
- Lyman, M.D. (2002), *Criminal Investigation The Art and The Science*, p: 103, Prentice Hall Press, 3. Edition, New Jersey.
- Öğdür, M. (2014), *Olay Yerinden Biyolojik Delil Olarak Alınabilen Kan Örneklerinin Bozulmasına Sebep Olabilen Etkenlerin Araştırılması*, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü.
- Öztunç, A. (2011), *Adli Bilimlerde Elle Boğma, Tokat, Yumruk Gibi Şiddetli Temas İçeren Olaylarda Elde Edilen Az Miktardaki DNA'nın Düşük Kopya Sayısı Tekniği ile Tiplendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.
- Samson, R.A. ve Pitt, J. (1990), Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification. P: 478. [Crossref]
- Semizoğlu, İ. (2013), *Kriminalistik* (2. Baskı), Karakuş, O. (Eds.), Biyolojik İncelemeler (pp. 213-266), Ankara.
- Sümerkan, B. (1998), Nozokomiyal Sepsis: *Etiyoloji ve Mikrobiyolojik Tanısı Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 2(4):182-187.
- Tepebaş, Ö. (2019), *Alfred Heilbronn Botanik Bahçesinde Kültüre Alınmış Lif Bitkileri Üzerinde Kriminal Botanik Araştırmalar*, [Yüksek Lisans Tezi], İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Weedn, V.W. ve Hicks, J.W. (1998), The Unrealized Potential of DNA Testing, p: 1-8, *National Institute of Justice, Research in Action*, USA. [Crossref]
- Yılmaz, M., (2013), *Silinmiş Kan Lekelerinin Görüntülenmesinde Yeni Luminol Karışımlarının Hazırlanması ve DNA Üzerindeki Etkilerinin Azaltılmasına Yönelik Analitik Yaklaşımlar*, [Yüksek Lisans Tezi], Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Yılmaz, S.S. (2019), *El Mikrobiyotasının Kişilerin Tanımlanmasında Kullanılmasını Sağlayacak Yeni Bir Metodun Geliştirilmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

BÖLÜM 3
CİNSEL SALDIRI OLGULARINDA
BİYOLOJİK ÖRNEK ALMA

Nurcan HAMZAÖĞLU
Mustafa Fatih YAVUZ

Cinsel Saldırı Olgularında Biyolojik Örnek Alma

Collection of Biological Samples in Sexual Assault Case

BÖLÜM HAKKINDA

Gerçekleşmiş cinsel saldırı olgularının oldukça düşük bir oranı adli birimlere bildirilmektedir. Bu düşük orana neden olan etkenlerden en önemlisi de mağdurun olayı ispatlayamama çekincesidir. Olguların hukuki zemine taşınmasında da engel oluşturan bu durumun çözümünde, yapılacak etkin muayene ve örnek alımı oldukça önem taşımaktadır. Cinsel saldırı olgularında mümkün olan en kısa sürede muayenenin yapılması gerekir. Özellikle saldırı sonrası ilk 24-48 saat içerisinde yapılan muayeneler delil olabilecek bulguların tespitinde son derece etkili sonuçlar vermektedir. Mağdurun ve/veya şüphelinin fiziksel muayenesi ile vücudundan ve vücut boşluklarından alınacak örnekler, giysilerin analizi ile olgular erken dönemde aydınlatılabilmektedir. Kıl, kan, semen, tükürük, deri parçaları gibi biyolojik örnekler, hem cinsel şiddete maruz kalan mağdur hem de şüpheli üzerinde bulunabilir. Sağlık çalışanı, olayın öyküsü ve hasta ile adli muayeneden elde ettiği bilgiler doğrultusunda, olaya dahil olan kişilerden hangi örneklerin alınması gerektiğine karar vermelidir. Hangi bölgeden nasıl örnek alınacağı, nelere öncelik verileceği; olayın özelliğine ve mağdurun yaşına göre değişmektedir. Ancak burada önemli bir nokta da, muayeneyi yapan sağlık çalışanının bu olgularda delil olabilecek bulguları bilmesi ve tanınmasıdır. Yeterli eğitim ve deneyimi olmayan kişiler tarafından yapılan adli tıbbi değerlendirmelerde delil olabilecek bulguların tanınmaması, fark edilmemesi veya usulüne uygun toplanmaması delillerin kaybolmasına yol açmaktadır. Bu sebeple, yeterli eğitimleri almış sağlık personeli ve bu personelin izleyebileceği bir yönergenin olması ve cinsel saldırı kitlerinin bu olgularda rutin olarak kullanımının sağlanması oldukça önemlidir.

Anahtar kelimeler: Cinsel saldırı, biyolojik örnek, delil

ABOUT the CHAPTER

A significantly low rate of sexual assault cases is reported to law enforcement. The primary factor contributing to this low rate is the victim's fear of being unable to prove the incident. Effective examination and sampling are crucial in solving this problem, which also creates obstacles in bringing cases to legal grounds. Examination should be conducted as soon as possible in cases of sexual assault. Especially within the first 24-48 hours after the assault, examinations yield highly efficacious results in identifying evidence. Samples taken from the victim's and/or suspect's physical examination and body cavities, as well as analysis of clothing, can shed light on cases in the early stages. Biological samples such as hair, blood, semen, saliva, and skin fragments can be found on both the victim and the suspect of sexual violence. Based on the history of the incident and information obtained from the medical examination of the patient, healthcare professionals should decide which samples should be taken from those involved in the incident. The choice of which area to sample from and what to prioritize depends on the nature of the incident and the age of the victim. However, an important point here is that the healthcare professional conducting the examination should be aware of and recognize the findings that could be evidence in these cases. Failure to recognize, notice, or collect evidence in accordance with procedures in forensic medical evaluations performed by individuals without sufficient training and experience leads to the loss of evidence. Therefore, it is crucial to have healthcare personnel who have received sufficient training, and a guideline for them to follow, and to ensure the routine use of sexual assault kits in such cases.

Keywords: Sexual assault, biological samples, evidence

Giriş

Kişiyi karşı işlenebilecek en ağır suçlardan biri olmasına rağmen cinsel saldırıların ortaya çıkma oranı oldukça düşüktür. Buna yol açan en önemli faktörlerden biri de "olayı ispatlayamama korkusu"dur. Olguların hukuki zemine taşınmasında engel oluşturan bu durumun çözümünde, yapılacak etkin muayene ve örnek alımı oldukça önem taşımaktadır. Bu aşamada yapılan muayene sonucunda elde edilen bulgular ve toplanan biyolojik örnekler bazen cinsel saldırının varlığını kanıtlamanın ve failin kimliğini tespit etmenin tek yoludur. Bu bölümde muayenenin önemli bir kısmını oluşturan biyolojik örneklerin toplanması ele alınmıştır.



Nurcan Hamzaoğlu¹

M. Fatih Yavuz²

¹ İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Psikoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

² İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Adli Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta: nurcan.hamzaoglu@yeniyuzuil.edu.tr
fyavuz@istanbul.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Hamzaoğlu, N., Yavuz, M. F. (2024). Cinsel saldırı olgularında biyolojik örnek alma. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II içinde* (s. 24-29). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

Cinsel Saldırı Olgularının Değerlendirilmesi

Cinsel saldırı; kişinin rızası olmadan, zor kullanarak (fiziksel şiddet uygulama, tehdit, mağdurda bilinç kaybına yol açacak hileler, kandırma gibi) cinsel içerikli dokunmadan, oral anal veya vajinal penetrasyona kadar giden eylemleri kapsamaktadır.

Ülkemiz açısından sorunun boyutunu görme noktasında bilimsel veriler yol gösterici olmaktadır. Kayı vd. tarafından yaklaşık 700 kadın katılımcı ile yürütülen çalışmada; rıza dışı cinsel içerikli dokunmaya maruz kalma oranı % 39.4, zorla cinsel ilişki girişimine maruz kalma oranı % 8 ve zorla cinsel ilişki mağduru olma oranı % 7.7'dir (Kayı vd., 2000). Bu oranlar sorunun büyüklüğünü göstermekle birlikte, sorunu daha da ağırlaştırılan durum, cinsel saldırı olgularının ortaya çıkma oranlarının çok düşük olmasıdır. Cinayetten sonra kişiye karşı işlenebilecek en ağır suç olan cinsel saldırıların ortaya çıkma oranı % 5-10'dur (Dunn ve ark.,1993; Payne, 1992; Yavuz,2001; Sinclair vd., 2013; Spencer vd.,2020). Toplumun olumsuz yaklaşımı, iddianın ciddiye alınmayacağı korkusu, saldırganın cezalandırılmayacağı düşüncesi, saldırganın misilleme korkusu gibi nedenler olayın ortaya çıkma oranlarının düşük olmasında etkili olan unsurlar olarak sayılabilir. Ancak bu olguların hukuki zemine taşınmasında engel oluşturan bunlar kadar önemli bir başka etken de "olayı ispatlayamama korkusu" dur (Yavuz & Yavuz, 1997; Gölge vd. 2003; Gölge vd., 2013; Jones vd., 2009; Spencer vd., 2017).

Olayın ispatlayamama korkusu, olayda mağdurun sorumluluğunun aranması şeklinde kendini gösteren olumsuz toplumsal yaklaşım kadar olayın ortaya çıkarılmamasına yol açan bir etken olarak kendini göstermekte olup çözümü, adli tıp ve adli bilimler uygulamaları açısından ele alınmalıdır. Olayı ispatlayamama korkusunun çözümünde yapılacak etkin muayene ve örnek alımı oldukça önem taşımaktadır. Yapılan muayenenin üç temel amacı bulunmaktadır:

1. Cinsel saldırı sonrası oluşan fiziksel ve emosyonel hasara ilişkin bulguları saptamak,
2. Cinsel ilişkinin varlığı, derecesi ve sonuçlarını belirlemek,
3. Saldırganın belirlenmesini sağlamak

Cinsel saldırı olgularında mümkün olan en kısa sürede muayenenin yapılması gerekir. Her temas bir iz bırakır yaklaşımından hareketle özellikle saldırı sonrası ilk 24-48 saat içerisinde yapılan muayeneler delil olabilecek bulguların tespitinde son derece etkili sonuçlar vermektedir. Mağdurun ve/veya şüphelinin fiziksel muayenesi ile vücudundan ve vücut boşluklarından alınacak örnekler, giysilerin analizi ile olgular erken dönemde aydınlatılabilmektedir.

Cinsel Saldırı Olgularında Muayene ve Biyolojik Örneklerin Toplanması

Canlıların vücudundan kopan, düşen veya akan her türlü materyal biyolojik örnek olarak adlandırılır. Günümüzde teknolojik ve bilimsel alanda yaşanan gelişmelerle birlikte eser miktarda biyolojik örneklerle bile kimliklendirme yapılabilmektedir (Sweet ve ark., 1997; Yıldız vd., 2003). Ancak biyolojik örnekler özellikleri itibari ile dış müdahaleler veya ortam koşulları nedeniyle kolayca bozulabilecek veya kaybolacak özelliktedir (Sullivan, vd., 2004; Newton, 2013; Evrenkaya, 2019). O nedenle cinsel suç olgularında mağdurun/failin vücudunda veya kıyafetlerinde sıklıkla

karşılaşabileceğimiz kan, tükürük, semen, doku parçası, kıl gibi biyolojik delil niteliği taşıyabilecek örneklerin tespit edilmesi, uygun koşullarda toplanması ve delil teslim zincirine uygun şekilde adli laboratuvara gönderilmesi fail ile mağdur arasında ilişki kurabilmek veya dışlama yapabilmek için önemlidir (Poy & van Oorschot, 2006; Johnson vd., 2012; Newton, 2013) .

Cinsel saldırı olgularında, adli süreçte olayın aydınlatılması için oldukça belirleyici olan biyolojik örneklerin tespit edilmesi, toplanması ve uygun şekillerde adli birimlere veya laboratuvarlara gönderilmesi işleminde önemli bir nokta da, muayeneyi yapan sağlık çalışanının bu olgularda delil olabilecek bulguları bilmesi ve tanınmasıdır. Yeterli eğitim ve deneyimi olmayan kişiler tarafından yapılan adli tıbbi değerlendirmelerde delil olabilecek bulguların tanınmaması, fark edilmemesi veya usulüne uygun toplanmaması delillerin kaybolmasına yol açmaktadır (Acosta, 2002; Magalhaes vd., 2015).

Adli Tıbbi değerlendirme; hastanın kabulü, aydınlatılmış onam, detaylı anamnez, kişinin muayenesi (psikolojik ve fizik muayene), genitoanal muayene, eser delillerin ve biyolojik delillerin toplanması, yara ve bulguların dokümantasyonu, delillerin güvenlik ve gizliliğinin sağlanması ve bulguların incelenip raporlaştırılması aşamalarını içermektedir (Acosta, 2002; Özkök, 2016).

Anamnez Alınması

Cinsel saldırı olgularında muayene öncesi ayrıntılı bir anamnez alınması adli muayene ve örnek alım sürecinde yol gösterici olmaktadır. Kişinin yaşı, kilosuna, özgeçmişi, geçirmiş olduğu hastalıklar, kullandığı ilaçlar, jinekolojik ve obstetrik özgeçmişi gibi detaylı soruların yanı sıra cinsel saldırı olayının tarihi, saati, yeri, penetrasyon olup olmadığı, zorlama olup olmadığı, saldırı sonrası duş alıp almadığı, giysilerin olay anındaki giysiler olup olmadığı, alkol veya herhangi bir madde kullanıp kullanmadığı gibi detaylı sorularla ayrıntılı bir anamnez alınmalıdır. Bu amaçla Sağlık Bakanlığı tarafından hazırlanmış standart formların kullanılması, olaya ilişkin ayrıntılı ve eksiksiz bilgi alınmasını sağlayacaktır.

Muayene

Cinsel şiddet olgularında mağdur ve şüpheli/sanığın muayenesi ve delil elde etmek amacıyla vücudundan biyolojik örnek alınması ile ilgili her ülkenin kendi standartları veya kanun maddeleri bulunmaktadır. Ülkemizde beden muayenesi ve örnek alma işlemleri Ceza Muhakemesi Kanunu'nun (CMK) 75. ve 76. Maddelerinde ve Ceza Muhakemesinde Beden Muayenesi, Genetik İncelemeler ve Fizik Kimliğin Tespiti Hakkındaki Yönetmelikle düzenlenmiştir. Buna göre; cinsel şiddet olgularında mağdurun, şüpheli veya sanığın beden muayenesi ve delil elde etmek amacıyla vücudundan biyolojik örnek alınması sadece hakim talebi ile yapılabilmektedir. Gecikmesinde sakınca bulunan durumlarda savcılık muayene talebinde bulunabilir. Ancak bu durumda 24 saat içerisinde hakim yazılı onayının alınması gerekmektedir. Bu onay alınmadan yapılan muayenelerde elde edilen delil hukuki süreçte geçersiz kabul edilir.

Biyolojik Örneklerin Toplanması

Cinsel suç olgularında muayene genellikle Adalet Bakanlığı Adli Tıp Kurumu'na bağlı merkezler veya üniversitelerin adli tıp

Kısım 1: Adli Bilimlerde Biyolojik Delil Toplama ve İncelenme Süreçleri

anabilim dallarında ya da çeşitli sağlık kuruluşlarının acil servislerindeki adli hekimlik uygulamaları çerçevesinde gerçekleşmektedir.

Şüpheli, mağdur ve olay yerinin birbiriyle yakın temas halinde olması, delil olabilecek biyolojik örneklerin bu kişiler ve ortamlar arasında yer değiştirmesi ile sonuçlanır (Locard prensibi). Kıl, kan, semen, tükürük, deri parçaları gibi biyolojik örnekler, hem cinsel şiddete maruz kalan mağdur hem de şüpheli üzerinde bulunabilir. Sağlık çalışanı, olayın öyküsü ve hasta ile adli muayeneden elde ettiği bilgiler doğrultusunda, olaya dahil olan kişilerden hangi örneklerin alınması gerektiğine karar vermelidir. Hangi bölgeden nasıl örnek alınacağı, nelere öncelik verileceği; olayın özelliğine ve mağdurun yaşına göre değişmektedir. Cinsel suç olgularında biyolojik delil niteliği taşıyabilecek örneklerin başlıcaları; kan, tükürük, semen, kıl, idrar, gaita ve doku parçaları olarak sayılabilir (sweet vd., 1996; Newton,2013; Magalhaes vd., 2015; González vd., 2019).

Çok küçük miktarlarda biyolojik örneklerden DNA izole edilerek kimliklendirme yapılabilmektedir. Fakat biyolojik örnekler sadece DNA analizleri için kullanılmamakta, olgunun özelliğine göre bu örnekler üzerinde makroskopik ve mikroskopik incelemeler, serolojik, toksikolojik ve kimyasal analizler de yapılabilmektedir.

Gelişmiş ülkelerde cinsel suç olgularında biyolojik örnek toplamak için cinsel saldırı kitleri kullanılmaktadır. Bu kitler günümüzde cinsel saldırı türüne, şüpheli veya mağdura göre de çeşitlendirilmiş ve ticari olarak da satılmaktadır. Kitlerin içeriğinde delil zarfları ve etiketler gibi dökümanların yanı sıra muayene örtüsü, steril numune kapları, sürüntü örneği almak için kullanılan swap çubukları, pens, pipet, makas, tırnak makası, enjektör, kan örneği almak için tüp, enjektör, saç ve kıl örneklerini toplamak için kullanılan tarak ve steril su gibi örneklerin toplanması ve korunması için gerekli malzemeler bulunmaktadır (Şekil 1).

Ülkemizde kit kullanımı sınırlı olmakla, sağlık çalışanları servis koşulları ölçüsünde biyolojik örnekleri toplayarak laboratuvara veya adli birimlere göndermektedirler. Uygun koşullarda toplanmayan ve delil teslim zincirine uygun şekillerde transferi

yapılmayan biyolojik örneklerin delil niteliğini kaybettiği unutulmamalıdır. O nedenle, özellikle sağlık kurumlarının acil servislerinde biyolojik örnek toplamak ve ilgili birime göndermek için gerekli olabilecek malzemelerin bulundurulması gerekir.

Cinsel saldırı olgularında toplanan örnekler adli süreçte delil olarak kullanılabileceği için örnek toplama sürecinde adli prosedürlere dikkat edilmelidir. Biyolojik örnekler toplanmadan önce mutlaka kayıt altına alınmalıdır. Toplama ve transfer aşamasında da çapraz bulaşın önlenmesi için gerekli önlemler alınmalıdır. Bunun için, örnekler toplanırken el ağzına ve buruna götürülmemeli, mutlaka maske ve eldiven takılmalı, işlem sırasında yiyecek ve içecek tüketilmemeli ve örneklerin başka biyolojik örneklerle kontaminasyonu engellenmelidir (Sullivan vd., 2004; Raymond vd.,2009; Bozzo vd.,2009).

Biyolojik örneklerin çeşitli faaliyetlere bağlı olarak (yıkama, yemek yeme vb) kontamine olma ve zamana bağlı olarak kaybolma ihtimalleri olmakla birlikte Dünya Sağlık Örgütü tarafından cinsel suç olgularında biyolojik örneklerin toplanabileceği maksimum zaman aralıkları aşağıdaki gibidir (WHO,2015):

- Cilt üzerindeki ısırık izlerinden: 72 saate kadar,
- Ağız içinden: 12 saate kadar,
- Vajinal bölgeden: 5 güne (120 saat) kadar,
- Anal bölgeden: 48 saate kadar,
- İdrar örneği (toksikolojik inceleme için): 5 güne (120 saat) kadar,
- Kan örnekleri (toksikolojik analiz için): 48 saate kadar (sodium fluoride ve potassium oxalate içeren tüplerde)
- Kondom, giysiler gibi eşyalar üzerinden alınacak örnekler; süre sınırı bulunmamaktadır.

Mağdurun vücudunda ve üzerindeki giysilerde saç, kıl, semen gibi şüpheliye ait biyolojik örnekler olabileceği için giysiler beyaz/kahverengi tek kullanımlık steril bir örtü üzerinde çıkarılmalıdır. Kağıt üzerine dökülen örnekler steril bir penset ile toplanabilir ya da tüm örtü parçası katlanıp laboratuvara gönderilebilir. Böylece mağdur üzerinden dökülebilecek örneklerin kaybolması önlenir.

Cinsel saldırı olgularında giysiler biyolojik örnek barındırma ihtimali açısından önemlidir. O nedenle kişinin üzerindeki giysilerin olay anındaki giysiler olup olmadığı anamnezde sorulmalıdır. Giysiler kan, semen, vajinal salgılar vb. biyolojik örneklerin varlığı açısından incelenmelidir. Giysilerde semen varlığını saptamak için mor ötesi (UV) ışık kullanılır. Semen varlığında leke mavi-yeşil floresans vermektedir. Giysiler silkelmemeli, katlanmamalı, üst üste gelecek kısımlarına kağıt yerleştirilmelidir. Böylece lekelerin giysinin diğer yüzeyi veya delil zarfı ile temas etmesi önlenmiş olacaktır. Tüm giysiler ıslak-nemli olmayacak şekilde ayrı ayrı kağıt torbalarla yerleştirilmelidir. İç çamaşırında hijyenik ped varsa çıkarılmamalıdır. Çıkarılmış ise yapışkanlı olan kısım mumlu bir tabaka ile kapatılarak delil zarfına yapışması önlenmelidir. Giysiler ıslak ise delil zarflarına konulmadan önce oda ısısında kurutulmalıdır (Poy & van Oorschot, 2006; Burg vd.,2011; Newton, 2013; Gonzalez vd., 2019).

Vücut yüzeyindeki ısırık izlerinde veya boyun, kulak altı, omuz üst bölümleri, kalçalar, göğüsler ve meme başı etrafı gibi bölgelerde görülen emme lezyonları (love kiss) üzerinde faile ait tükürük kalıntıları olabileceği için steril sürüntü çubukları ile sürüntü örneği

Şekil 1
Cinsel saldırı kit örneği



Açıklama notu. Sex crimes kit, Forensi-Tech Limited, <https://forensi-tech.com/shop/forensic-evidence-collection/sexual-assault-collection-kits/sex-crimes-kit-cc100/> kaynağından alınmıştır.

alınması gerekir (Yıldız vd., 2003; Keating ve Higgs, 1994). Oral penetrasyonun olduğu durumlarda ağız içine ejakülasyon öyküsü varsa sürüntü çubukları ile örnek alınmalıdır. Spermatozoa ve meni, diş ve alt çenenin gingival sınırları arasında toplanmaya meyilli olduğu için, özenli bir şekilde kuru bir sürüntü çubuğu ile bu hattan ve özellikle 1. premolar aralıktan sürüntü alınmalıdır. Ardından bu sürüntü kurutulmalı, kapatılmalı ve etiketlenmelidir. Ek olarak, steril distile su ile ağız içi çalkalanmalı, çalkantı suyu sedimente edilmek üzere steril bir kaba alınmalıdır (Yıldız vd., 2003).

Şüpheliyi tırmalama öyküsü var ise, mağdurun tırnak altlarında kan ve epidermal doku bulunma olasılığı nedeni ile, tırnak altlarındaki doku parçaları temiz bir kürdanla alınmalı, tırnaklar kesilerek delil zarfına konulmalıdır (Dowlman vd., 2010; De Bruin vd., 2012; Newton, 2013).

Mağdurunun pubis bölgesinde, şüpheliye ait kıl, kan, sperm gibi örnekler bulunabilir. Kişinin pubik kılları taranarak elde edilen örnekler steril bir delil zarfına alınmalıdır. Sperm veya kan lekesi varsa steril sürüntü çubuğu ile örnek alınmalıdır. Karşılaştırma için mağdurdan da kıl örnekleri alınmalıdır (Exline vd., 1998; Lavelle, 2005; Newton, 2013; Gonzalez vd., 2019).

Vajina veya anüs boşluğuna penetrasyonun varlığı halinde bu bölgelerden de sürüntü örnekleri alınmalıdır. Vajina muayenesinden önce

hymen açıklığından, vajina girişinden, vajina arka duvarından ve arka forniksten örnek alınmalıdır. Vajina duvarından ve arka forniksten steril sürüntü çubuğu ile örnek alımı sonrasında vajenin 10 cc serum fizyolojik ile yıkama yapılarak örnek alınması da etkili olacaktır. Perianal bölge ve anüsten de sürüntü örnekleri alınmalıdır.

Mağdur bazı maddelerin etkisinde olduğunu belirtiyorsa veya madde etkisi altında görünüyorsa toksikolojik analiz için başvuru süresine bağlı olarak idrar veya kan örneği alınır. Muhtemel ilaç veya madde alımından sonraki 12-14 saat içinde yapılan başvurularda kan örneği alınmalıdır. Daha uzun süre sonra yapılan başvurularda idrar örneği alınması uygun olacaktır.

Saçlardan kimyasal veya toksikolojik analiz yapılacaksa en az 300 mg ağırlığında yaklaşık bir kurşun kalem kalınlığında saç, dibe en yakın mesafeden kesilerek alınmalıdır. Alkol analizi için olay anından itibaren en geç 2 saat içinde Sodyum florür veya EDTA'lı tüplere kan örneği alınmalıdır. Kan alınacak bölgenin çevresi, alkol (etanol, metanol ve izopropanol) içermeyen dezenfektanlarla temizlenmeli ve steril kuru gazlı bez ile kurulmalıdır (Weir, 2001; Hall vd., 2008; Hall ve Moore, 2008; Newton, 2013)

Mağdurun muayenesinde olduğu gibi şüpheli/failin muayenesinde de adli prosedürler kapsamında örnek alınmalıdır. Giysilerde kan ve diğer biyolojik sıvılarla oluşan lekeler, saç ve kıl gibi örnekler

Tablo 1

Cinsel şiddet olgularında yaygın olarak alınan biyolojik ve fiziksel örnekler ve örnek alım teknikleri

	Bölge	Biyolojik Örnek	Örnek Alma Yöntemi	Gereç (steril)	Saklama (serin ortam)	Olay Sonrası Süre
Mağdur	Vücut Yüzevi	Tükürük Kan Semen	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	48-72 Saat
	Pubik bölge	Kan Semen, Kıl	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	48-72 Saat
	Genital bölge	Kan Sperm, Kıl	Sürüntü Vajinal lavaj	Sürüntü Çubuğu, 10 cc enjektör	Kurutulup tüp içerisinde & Lam üzerinde	48-72 Saat
	Anal bölge	Kan Sperm, Kıl	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	24 Saat
	Anüs	Sperm	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu, anoskop	Kurutulup tüp içerisinde	24-48 Saat
	Tırnak altı	Epitel hücresi	Kazıma & kesme	Kürdan & tırnak makası	Steril kap içerisinde	1 hafta
	Ağız içi	Sperm hücresi	Sürüntü Lavaj	Sürüntü Çubuğu & distile su	Kurutulup tüp içerisinde & Lam üzerinde	12-24 Saat
	Giysiler	Kan Semen, Kıl	Sürüntü Kazıma	Sürüntü Çubuğu, bistüri, makas	Steril kap içerisinde	>yıl
	Kan	DNA analizi ve serolojik testler için EDTA'lı tüpe örnek alınır				
Şüpheli	Vücut Yüzevi	Tükürük Kan, Kıl	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	48-72 Saat
	Genital bölge	Kan, Kıl	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	48-72 Saat
	Penis	Tükürük Kan, Vajina epitel hüç.	Sürüntü	Sürüntü Çubuğu	Kurutulup tüp içerisinde	48-72 Saat
	Giysiler	Kan, Kıl	Sürüntü Kazıma	Sürüntü Çubuğu, bistüri, makas	Steril kap içerisinde	>yıl
	Tırnak altı	Epitel hücresi	Kazıma & kesme	Kürdan & tırnak makası	Steril kap içerisinde	1 hafta
		Kan	DNA analizi ve serolojik testler için EDTA'lı tüpe örnek alınır			

Kısım 1: Adli Bilimlerde Biyolojik Delil Toplama ve İncelenme Süreçleri

araştırılmalıdır. Peniste kan, gaita, amilaz ve glikojenden zengin vajinal epitel hücrelerinin araştırılması için sürüntü örneği alınır. Penisten alınacak sürüntü örneği, penis kökü ile glans ve gövde birleşim yerinden, koronal sulkustan alınmalıdır. Zorlamalı oral penetrasyon öyküsü varlığında peniste mağdura ait bukkal hücre araması yapılmalıdır. Tırnak içleri incelenerek örnek alınmalı, saçlar, pubis kılları, bıyık ve sakaldan örnek alınmalıdır. DNA incelemesi, alkol ve madde analizi için de şüpheliden, ağız içi sürüntüsü, kan ve idrar örnekleri alınmalıdır. DNA karşılaştırması için ağız içi sürüntüsü yeterli olsa da kan örneği alınması durumunda EDTA'lı (mor kapaklı) tüplere yaklaşık 2 ml olacak şekilde alınmalı; kurumuş lekeler, distile su ile hafifçe ıslatılmış sürüntü çubukları ile alınmalıdır (Salter ve cook, 1996; Acosta, 2002; Newton, 2013). Cinsel saldırı olgularında yaygın olarak alınan biyolojik ve fiziksel örnekler ve örnek alım teknikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Cinsel saldırı olgusu ile karşılaşıldığında hangi bulguların delil olabileceği ve bu bulguları nasıl belgeleyip toplayacağını bilmesi önemlidir. Bu çerçevede; biyolojik örnekler mümkün olan en kısa sürede ve doğru şekilde toplanmalı, örneklerin kontamine olmasını önlemek için gerekli önlemler alınmalıdır. Toplanan örnekler uygun koşullarda saklanmalı ve transfer edilmelidir. Genel bir kural olarak, sıvılar buzdolabında saklanmalı; diğer her şey kuru tutulmalıdır.

Delil toplamanın zamanlaması ve sırası kritik bir öneme sahiptir. Olgunun özelliğine, zaman aralığına ve öncelik durumlarına göre örnek alma adımları yer değiştirebilmektedir. Ancak uygulama adımlarında sistematik bir sıralama takip edilmelidir. Alınan her örneğin hangi bölgeden alındığı delil zarfının üzerinde mutlaka belirtilmelidir. Tüm delil zarflarının üzerinde; örnek alınan kişinin adı-soyadı ve doğum tarihi, örneği alan görevlinin adı-soyadı, örneğin türü, örneğin alınma tarihi ve zamanını içerecek şekilde uygun ve açık bir şekilde yazılmalıdır.

Aynı derecede önemli olan bir diğer husus da elde edilen bilgi ve bulguların kayıt edilmesi gerekliliğidir. Tüm muayene, örnek alma ve işleme prosedürleri kayıt altına alınmalıdır.

Sonuç

Cinsel saldırı olgularında erken dönemde yapılacak etkin muayene ve örnek alımı olayın aydınlatılmasında son derece etkili olmakta ve adli sürecin sağlıklı işlenmesini sağlamaktadır. Bu sebeple yeterli eğitimleri almış sağlık personeli ve bu personelin izleyebileceği bir yönergenin olması ve cinsel saldırı kitlerinin bu olgularda rutin olarak kullanımının sağlanması oldukça önemlidir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

Acosta, M. L. (2002). Collecting evidence for domestic and sexual assault: highlighting violence against women in health care system inter-

ventions. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 78, S99-S104. [Crossref]

Bozzo, W. R., Colussi, A. G., Ortiz, M. I., vd. (2009). DNA recovery from different evidences in 300 cases of sexual assault. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2(1), 141-142. [Crossref]

Burg, A., Kahn, R., & Welch, K. (2011). DNA testing of sexual assault evidence: The laboratory perspective. *Journal of forensic nursing*, 7(3), 145-152. [Crossref]

Butler, J. M. (2005). *Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers*. Elsevier.

De Bruin, K. G., Verheij, S. M., Veenhoven, M., vd. (2012). Comparison of stubbing and the double swab method for collecting offender epithelial material from a victim's skin. *Forensic science international: Genetics*, 6(2), 219-223. [Crossref]

Dowlman, E. A., Martin, N. C., Foy, M. J., vd. (2010). The prevalence of mixed DNA profiles on fingernail swabs. *Science & Justice*, 50(2), 64-71. [Crossref]

Dunn S.F, Gilchrist V.J. (1993) Sexual Assault. *Family Violence and Abusive Relationships*, 20(2):359-73. [Crossref]

Evrenkaya, M. (2019). *Türkiye'nin Taraf Olduğu Uluslararası Sözleşmeler Kapsamında Biyolojik Delillerin Elde Edilmesi*. (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Exline, D. L., Smith, F. P., & Drexler, S. G. (1998). Frequency of pubic hair transfer during sexual intercourse. *Journal of Forensic Science*, 43(3), 505-508. [Crossref]

Gomes, V., Jardim, P., Taveira, F., vd. (2014). Alleged biological father incest: a forensic approach. *Journal of forensic sciences*, 59(1), 255-259. [Crossref]

González, B. R., Mercado, M. C., Salas, O. S., vd. (2019). Biological Evidence Analysis in Cases of Sexual Assault. In *Biochemical Analysis Tools-Methods for Bio-Molecules Studies*. IntechOpen.

Gökdoğan, M.R. (2008) Cinsel Saldırı Konusunda Çalışan Adli Hemşireye (SANE) Duyulan Gereksinim. *Adli Tıp Bülteni* 13 (2): sayfa 69-77. [Crossref]

Gölge, Z. B., Yavuz, M. F., Korkut, S., vd. (2013). Yetişkin kadın mağdurlarda cinsel saldırı sonrası görülen ruhsal ve sosyal sorunlar. *Adli Tıp Bülteni*, 18(3), 82-91. [Crossref]

Gölge, Z. B., Yavuz, M. F., Müderrisoğlu, S., & Yavuz, M. S. (2003). Turkish university students' attitudes toward rape. *Sex Roles*, 49(11), 653-661. [Crossref]

Hall, J. A., & Moore, C. B. T. (2008). Drug facilitated sexual assault-a review. *Journal of forensic and legal medicine*, 15(5), 291-297. [Crossref]

Hall, J., Goodall, E. A., & Moore, T. (2008). Alleged drug facilitated sexual assault (DFSA) in Northern Ireland from 1999 to 2005. A study of blood alcohol levels. *Journal of forensic and legal medicine*, 15(8), 497-504. [Crossref]

Johnson, D., Peterson, J., Sommers, I., vd. (2012). Use of forensic science in investigating crimes of sexual violence: Contrasting its theoretical potential with empirical realities. *Violence Against Women*, 18(2), 193-222. [Crossref]

Jones, J. S., Alexander, C., Wynn, B. N., vd. (2009). Why women don't report sexual assault to the police: The influence of psychosocial variables and traumatic injury. *The Journal of emergency medicine*, 36(4), 417-424. [Crossref]

Kayı, Z., Yavuz, M. F., & Arıcan, N. (2000). Kadın üniversite gençliği ve mezunlarına yönelik cinsel saldırı mağdur araştırması. *Adli Tıp Bülteni*, 5(3), 157-163. [Crossref]

Keating SM, Higgs DF The Detection of Amylase on Swabs from Sexual Assault Cases. *J Forensic Sci Soc*. 1994; 34: 89-93. [Crossref]

Lavelle, J. (2005). *Forensic evidence collection*. Child Maltreatment: A Clinical Guide and Reference. Giardino and R. Alexander, Eds, 856-860. *Medical Publishing*, St. Louis, Mo, USA, 2005

Magalhães, T., Dinis-Oliveira, R. J., Silva, B., vd. (2015). Biological evidence management for DNA analysis in cases of sexual assault. *The Scientific World Journal*, 2015. [Crossref]

Mann, M. J. (1990). Hair transfers in sexual assault: a six-year case study. *Journal of Forensic Science*, 35(4), 951-955. [Crossref]

Newton, M. (2013). The forensic aspects of sexual violence. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 27(1), 77-90. [Crossref]

Özkök MS. (2016). Cinsel Şiddete Maruz Kalmış Ergen ve Erişkin Hastalarda Tıbbi ve Adli Tıbbi Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri J Foren Med-Special Topics*, 2(2):62-75.

Payne D.(1992) *Crime in Scotland: Findings from the 1988 British Crime Survey*, Edinburgh. Scottish Office

Poy, A. L., & van Oorschot, R. A. (2006). Trace DNA presence, origin, and transfer within a forensic biology laboratory and its potential effect on casework. *Journal of Forensic Identification*, 56(4), 558.

Raymond, J. J., van Oorschot, R. A., Gunn, P. R., vd.. (2009). Trace evidence characteristics of DNA: a preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes. *Forensic Science International: Genetics*, 4(1), 26-33. [Crossref]

Salter, M. T., & Cook, R. (1996). Transfer of fibres to head hair, their persistence and retrieval. *Forensic Science International*, 81(2-3), 211-221. [Crossref]

Sex Crimes Kit (CC100). Forensi-Tech. <https://forensi-tech.com/shop/forensic-evidence-collection/sexual-assault-collection-kits/sex-crimes-kit-cc100/> Erişim Tarihi:10.01.2022

Sinclair, J., Sinclair, L., Otieno, E., vd. (2013). A self-defense program reduces the incidence of sexual assault in Kenyan adolescent girls. *Journal of Adolescent Health*, 53(3), 374-380. [Crossref]

Spencer, C., Mallory, A., Toews, M., vd. (2017). Why sexual assault survivors do not report to universities: A feminist analysis. *Family relations*, 66(1), 166-179. [Crossref]

Spencer, C., Stith, S., Durtschi, J., vd. (2020). Factors related to college students' decisions to report sexual assault. *Journal of interpersonal violence*, 35(21-22), 4666-4685. [Crossref]

Sullivan, K., Johnson, P., Rowlands, D., vd. (2004). New developments and challenges in the use of the UK DNA database: addressing the issue of contaminated consumables. *Forensic science international*, 146, S175-S176. [Crossref]

Sweet, D., Lorente, M., Lorente, J. A., vd. (1997). An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique. *Journal of Forensic Science*, 42(2), 320-322. [Crossref]

Weedn, V. W., & Hicks, J. W. (1998). The unrealized potential of DNA testing (Vol. 2, No. 2). US Department of Justice, Office of Justice Programs, *National Institute of Justice* [Crossref]

Weir, E. (2001). Drug-facilitated date rape. *CMAJ*: 165 (1), 80.

World Health Organization. (2015). Strengthening the medico-legal response to sexual violence (No. WHO/RHR/15.24) //apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/197498/WHO_RHR_15.24_eng.pdf Erişim Tarihi: (15.09.2019)

Yavuz M. F. (2001). Cinsel saldırı olgusuna profesyonel yaklaşımda mezuniyet sonrası eğitimin etkisi. *Adli Tıp Bülteni*, 6 (3): 111-118. [Crossref]

Yavuz, M. F., & MS, Y. (2006). Adli rapor standardizasyonu ve adli raporlarda görülen eksiklikler. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci*, 2(50), 28-33.

Yavuz, M.F (2016). Cinsel Saldırı Olgularında Adli Tıp Açısından Yaklaşım. *Cinsel Suç Kavramı ve Delillendirme* içinde. (s.67-71) (1. Baskı). İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Yayınları.

Yıldız, G., Yavuz, F., Aşidizer, M., & Yavuz, M. S. (2003). Tükürük Kalıntılarından Cilt Sürüntü Yöntemi ile Amilaz Tespiti. *Adli Tıp Dergisi*, 1.

BÖLÜM 4

ADLİ SEROLOJİ

Şükriye KARADAYI
Hüseyin ÇAKAN
Beytullah KARADAYI

Adli Seroloji

Forensic Serology

BÖLÜM HAKKINDA

Adli seroloji, suç mahallinde bulunan vücut sıvılarının analizleriyle ilgilenen adli biyolojinin bir alt disiplini. Olay yerinde sıklıkla bulunan biyolojik kanıtlar; kan, semen, vajinal salgı, tükürük, idrar ve ter olarak sayılabilir. Bu tür vücut sıvılarının doğru bir şekilde tanımlanması, fiziksel ve kimyasal olarak benzer delillerden ayrılması ve kanıtlar ile suçun ilişkisini belirleyerek adli vakanın çözümlenmesine katkı sağlanması büyük önem taşımaktadır. Gerçekleştirilen biyokimyasal ve immünolojik analizlerle bir lekenin vücut sıvısı olarak tanımlanmasında bazı kriterler bulunmaktadır. Bu kriterlerin açıklandığı ve her yöntemin birbirine göre avantaj ya da dezavantajlarının verildiği, metotların ayrıntılı bir şekilde anlatıldığı bir kaynağa ihtiyaç bulunmaktadır. Bu bölümde ilk olarak, vücut sıvılarının tanımlanmasında kullanılan mevcut geleneksel biyoanalitik yöntemler ayrıntılı olarak anlatılacaktır. İlâveten, adli serolojik incelemeler için kullanılan adli ışık sistemleri, raman spektroskopisi, adli proteomikler gibi son yıllarda adli bilimlerde yer alan yeni gelişmeler ve yönelimler ışığında geliştirilmekte olan yeni metotlar tanıtılacak ve adli bilimlerdeki kullanım alanları kapsamlı bir şekilde irdelenecektir.

Anahtar kelimeler: Adli serolojik yöntemler, adli ışık sistemleri, adli proteomikler

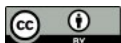
ABOUT the CHAPTER

Forensic serology is a sub-discipline of forensic biology that deals with the analysis of bodily fluid evidence encountered at the crime scene. Biological evidence commonly encountered at the crime scene includes blood, semen, vaginal secretions, saliva, urine, and sweat. It is crucial for these types of bodily fluids to be accurately identified, distinguished from physically and chemically similar evidence, and contribute to the resolution of forensic cases by establishing their connection to the crime. There are certain criteria for identifying a stain as a bodily fluid through biochemical and immunological analyses. A source detailing these criteria, providing advantages and disadvantages of each method, and explaining the methods in detail is needed. In this section, firstly, the existing traditional bioanalytical methods used for the identification of body fluids will be described in detail. Additionally, new methods being developed in the field of forensic science, such as forensic light systems, Raman spectroscopy, forensic proteomics, and other recent advancements and trends, will be introduced in light of recent developments in forensic science. Furthermore, their comprehensive applications in forensic science will be examined.

Keywords: Forensic serological methods, forensic light systems, forensic proteomics

Giriş

Adli olaylar sonrasında elde edilen biyolojik örnekler, olayın tüm aşamalarının aydınlatılmasında ve suçlu/suçluların kimliklendirilmesinde çoğu zaman en güçlü delillerden birini oluşturmaktadır. Olay yerinden elde edilen biyolojik örneklerin, insana ait olup olmadığı ve eğer öyleyse hangi biyolojik sıvı ya da doku tipini işaret ettiğinin tespiti, olay yerinin rekonstrüksiyonu için oldukça önemlidir. Olayın gerçekleştiği yerdeki vücut sıvılarının yerinin saptanması ve sonrasında orijininin belirlenmesi için adli laboratuvarlar öncelikle rutin adli serolojik yöntemlere başvururlar. Adli serolojik çalışmalar, vücut sıvılarının ve dokularının belirlenmesi ve tanımlanması için kullanılan bir grup biyokimyasal ve immünolojik incelemeleri ifade eder. Genellikle de sonraki aşamada DNA profillemeye analize öncülük eder. Adli serolojik yöntemlerin en önemli avantajı, delilin orijininin belirlenmesinin yanı sıra delil niteliği taşımayan örneklerin elimine edilmesini sağlayarak gereksiz yere gerçekleştirilecek DNA analizlerinin önüne geçilmesi ve böylece zaman kaybının ve ekonomik kayıpların önlenmesidir. Rutin uygulamalarda her bir vücut sıvısının tespitinde mikroskopik, kimyasal, immünolojik ve enzimatik yöntemleri kullanılan farklı birçok test bulunmaktadır. Maalesef ki, aynı yöntemle az miktardaki biyolojik örnekten tüm vücut sıvılarının tespitine yönelik yüksek güvenilirlikte bir test henüz rutin uygulamalara girmemiştir. Bununla birlikte son yıllarda adli serolojik yöntemlerle ilgili olarak yeni tekniklerin geliştirilmesine ve mevcut tekniklerin iyileştirilmesine yönelik oldukça umut verici çalışmalar yayınlanmıştır.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Şükriye Karadayı¹

Hüseyin Çakan²

Beytullah Karadayı³

¹ Altınbaş Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Bakırköy, İstanbul,

² Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı,

³ İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Adli Tıp Ana Bilim Dalı, Fatih, İstanbul

E-posta: sukriye.karadayi@altinbas.edu.tr
drhuseyincakan@gmail.com
beykara@iuc.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Karadayı, S., Çakan, H., Karadayı, B. (2024). Adli seroloji. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 31-42). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.

Bu bölümün ilk kısmında vücut sıvılarının tanımlanmasında kullanılan mevcut geleneksel biyoanalitik yöntemler, ikinci kısmında ise adli serolojik incelemeler için son yıllarda adli bilimlerdeki yeni gelişmeler ve yönelimler ışığında geliştirilen ve geliştirilmekte olan yeni metodlar irdelenmiştir.

Biyolojik Delillerin Tanımlanmasında Kullanılan Rutin Adli Serolojik Yöntemler

Kan Tespit Yöntemleri

Kan, kırmızı kan hücrelerinden (eritrositler), beyaz kan hücrelerinden (lökositler) ve protein açısından zengin bir sıvı olan kan plazmasında asılı olarak bulunan trombositlerden oluşan hücreli bir fraksiyondan meydana gelir. Kırmızı kan hücreleri, hacimce tam kanın yaklaşık %40-45'ini oluşturur. Bununla birlikte lökositler ve trombositler, her biri kan hacminin sadece %1'inden daha azına katkıda bulunur. Kanda DNA içeren tek hücre lökositlerdir; kırmızı kan hücreleri DNA içermez. Genel olarak tam bir DNA profili elde edebilmek için yaklaşık 0,1 ml kan yeterlidir (Byard ve Payne-James, 2015). Son yıllarda yeni geliştirilen kitler yardımıyla eser miktardaki örneklerden de identifikasyon amaçlı başarılı DNA izolasyonları gerçekleştirilebilmektedir.

Kırmızı kan hücrelerinin ayırt edici rengi, hemoglobin (Hb) tarafından verilir. Hemoglobin, kırmızı kan hücrelerindeki proteinin %95'inden fazlasını ve kandaki toplam proteinin yarısından fazlasını oluşturur. Normal yetişkin hemoglobini ikisi α zinciri ve ikisi β zinciri olmak üzere dört polipeptit zincirden meydana gelir. Her bir polipeptit zinciri, bir protoporfirin halkası ile bir koordinasyon kompleksi içindeki bir demir iyonundan oluşan hem kısmına sahiptir. Demir iyonu oksidasyon durumuna göre Fe^{2+} veya Fe^{3+} olarak bulunur. Fe^{2+} , O_2 'nin bağlandığı durumdur. Hem, hemoglobine rengini veren pigmenttir ve kırmızı rengin tonunu, demirin oksidasyon durumu belirler. Oksijenli hemoglobin (oksiHb) parlak kırmızıdır, deoksiHb daha mordur ve hemoglobinin oksitlenmiş Fe^{3+} durumundaki demir ile (methemoglobin, metHb) kahverengimsi bir renkte bulunur. Bu formların her biri, görünür aralıkta (400-700 nm) tanınabilir bir absorpsiyon spektrumuna sahiptir.

Kanın adli açıdan tespiti ve tanımlanması için kullanılan ve çoğu rutin uygulamalara geçmiş pek çok yöntem vardır. Bunların büyük kısmı, kandaki hemoglobinin varlığına dayanır.

Kanda Mikroskopik İncelemeler ve Kristal Testleri

Ortamda şüpheli taze bir kan lekesi mevcutsa geleneksel preparat boyama yöntemleri yardımıyla kan içindeki şekilli elemanların tespitine yönelik doğrudan mikroskopik incelemeler yapılabilir. Daha eski şüpheli kan lekeleri için mikroskopik inceleme temelli çeşitli kristallendirme testleri kullanılır. Bunlardan en bilineni *Takayama* testidir. Klorür veya piridin varlığında hemoglobinden hem ekstraksiyonu sonucu mikroskopik inceleme ile tanımlanan belirgin kristallerin oluşumu ile karakterizedir (Saferstein, 1982). Katalitik testlerin aksine, kristal testleri kimyasal oksidanlarla yanlış pozitif sonuç vermez. Ancak diğer hem proteinleri ile yanlış pozitif sonuç verebilir. Bununla birlikte kristal testlerin duyarlılığı göz önüne alındığında, yanlış pozitif reaksiyon görülme oranı daha düşüktür.

Katalitik Testler

Hemoglobinin, hem grupları katalitik peroksidaz aktivitesine sahiptir. Hidrojen peroksit ile katalitik oksidasyonuna dayanan,

renkli bir oksidasyon ürünü vermek üzere peroksidaz aktivitesi için bir dizi hassas test geliştirilmiştir (Gaensslen, 1983). Bu test prosedürü şu basamaklardan oluşmaktadır. Şüpheli leke üzerine bir damla renksiz indikatör boya eklenir ve spesifik olmayan oksidasyonu test etmek için bir dakika beklenir. Daha sonra H_2O_2 eklenir ve pozitif peroksidaz reaksiyonu ile renk değişimi gözlenir. Bazı adli laboratuvarlar, dışkı örneklerinde gizli kan tespiti için geliştirilmiş, ticari test kitlerini kullanır.

Kan büyük alanlar içerisinde aranacaksa, yerini belirlemek için, kemilüminesans bir indikatör boya olan luminol reaktifi veya floresan indikatör boya kullanılır. Her iki reaktif de arama yapılacak alana püskürtülerek uygulanır. Luminol reaksiyonundan kaynaklanan lüminesans tam karartılmış ortamda kısa bir süre için görülür. Süreli pozlama kullanan fotoğraf makineleri ile kaydedilebilir. Kan, floresan floresansı ile de en iyi 450 nm dalga boyunda alternatif bir ışık kaynağı yardımı ile saptanabilir ancak bazen arka plan floresansı sorun oluşturabilir. Tartışmalı olmakla birlikte, bazı çalışmalarda kan tespiti için kullanılan katalitik testlerin çoğunun, DNA tiplemesine olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Tobe, vd., 2007).

Katalitik testlerin hassasiyeti oldukça yüksektir. Ancak kanın tespitinde bazen yanlış pozitif sonuçlar gözlenebilir (Gaensslen, 1983). Yanlış pozitif sonuçlara çeşitli bitki materyalleri, kimyasal oksidanlar ve katalizörler (ağartıcı ve bazı demir, bakır ve nikel bileşikleri) neden olabilmektedir. Yukarıda özetlenen iki aşamalı test prosedürü, bu kategorideki ajanlar tarafından yanlış pozitiflere karşı koruma sağlar. Luminol ve floresan ile yapılan püskürtme testleri tek adımlı testler olup, kimyasal oksidanlar nedeniyle yanlış pozitif verme olasılığı daha yüksek testlerdir. Diğer vücut sıvıları semen (meni), tükürük, ter ve idrar, kan içermedikçe bu katalitik testlerle pozitif reaksiyon göstermezler.

Katalitik testler tarama testleri olarak kabul edilir. Ancak bazı laboratuvarlar kanın görsel görünümünün, güçlü bir pozitif katalitik testle birleştiğinde, kan için doğrulayıcı bir test gerçekleştirme zorunluluğu olmaksızın DNA analizine devam edebileceğini belirtmektedir (Byard ve Payne-James, 2015).

Hemoglobinin Spektrofotometrik Yöntemlerle Tanımlanması

Hemoglobinin çeşitli formları (oxyHb, deoxyHB, metHB, vb.) karakteristik absorpsiyon spektrumlarına sahiptir (Gaensslen, 1983). Bunlar; 400-425 nm aralığında çok güçlü bir absorpsiyon tepesi (Soret bandı) ve 500-650 nm aralığında bir veya iki daha zayıf absorpsiyon tepesi noktasıdır (ve bantları). Dar spektral aralığı ile Soret bandının güçlü tek piki, hemoglobin için karakteristiktir. Bu yöntemle 1 ml' lik örnek ekstraktları, bir mikro spektrofotometre (nano-drop) kullanılarak değerlendirilebilir ve yöntem olay yerinde kullanım için uygundur (Hanson ve Ballantyne, 2010).

Kan Tanımlaması İçin İmmünojenik ve İmmünokromatografik Testler

İmmünojenik testler şüpheli numunenin tür kökenini belirlemeye yardımcı olur. Kanın tür orijini için kullanılan geleneksel presipitin testleri, bir eritrosit membran proteini olan glikoforin A'yı veya hemoglobini hedef alan immünokromatografik analizler ile büyük oranda geliştirilmiştir. Hemoglobin testinin tür özgüllüğü mutlak

değildir; primat hemoglobinleriyle beklenen çapraz reaksiyonlara ek olarak, yaban gelinciği ve diğer bazı primat olmayan türlerden gelen hemoglobinlerde yanlış pozitif sonuçlar gözlenmiştir. Glikoforin A testi için hiçbir çapraz reaksiyon bildirilmemiştir (Byard ve Payne-James, 2015).

Son yıllarda geliştirilen immünokromatografik temelli hızlı kart testleri de ticari olarak bulunmaktadır. Bu testlerin yukarıda bahsedilen tarama testlerine göre kullanımı daha kolay ve pratiktir. Bunlardan bazıları, primat kanını tanımlama için kullanılan Hema Select, ABACard Hema Trace ve Hexagon OBTI gibi immünolojik temelli testlerdir. Hexagon OBTI ile eski ya da degrade materyallerden sonuç almak mümkündür. Fakat yanlış negatif sonuç verebileceği de gözden kaçırılmamalıdır (Johnston, vd., 2008).

Adli Bilimlerde Kan ve Kan Lekeleri Üzerinde Serolojik İnceleme Gerektiren Bazı Özel Durumlar

Menstrüel kan ve periferik kanın ayrımı; kan içeren bir semen lekesi ile karşılaşıldığında, kanın menstrüel kaynaklı kan mı yoksa bir travma sonucu oluşan periferik kan mı olduğunu belirlemek konusunda önemli bilgiler sağlayabilir. Aynı şekilde, bebek öldürme veya bebek istismarı vakalarında, kan lekelerinin cenin kaynaklı olup olmadığının tanımlanmasında da yararlanılabilmektedir.

Menstrüel kan, periferik kana ek olarak endometriyal doku ve servikal mukus içerir. Şüpheli bir menstrüel kan lekesinde endometriyal dokunun varlığı mikroskopik inceleme ile saptanabilir. Aynı şekilde fibrin bozunmasının bir ürünü olan D-dimer, immünolojik analizle saptanabilir. Klinik olarak tromboz tanısı için kullanılan bu analiz, menstrüel kanının tespiti için de kullanılmaktadır (Baker, vd., 2011).

Fetal hemoglobin tespiti, fetal kanın kesin olarak göstergesidir. Fetal hemoglobin, hamileliğin ilk birkaç hafta içinde ortaya çıkar ve doğumdan sonra 4-6 ay boyunca devam eder. Fetal Hb, immünoassay ve elektroforetik hareketlilikteki farklılık ile erişkin Hb'den ayırt edilebilir (Gaensslen, 1983).

Şekil 1

Menstrüel ve periferik kan varlığı ve ayrımı için kullanılan immünokromatografik temele dayanan hızlı kart testi. Testin yorumlanmasında C çizgisi testin çalıştığını, P çizgisi numunenin periferik kan örneği içerdiğini, M çizgisi ise numunenin menstrüel kan örneği içerdiğini göstermektedir. Örnek resimler, yazarların bu konuda yaptıkları çalışmalar kapsamında üretilmiştir ve görüntülerdeki dört test için de analiz edilen numunenin periferik kan örneği olduğu görülmektedir.



Periferik kan ve menstrüel kan ayrımında mikroskopik yöntemlerin yanı sıra geliştirilen immünokromatografik temelli hızlı kart testleri de son yıllarda kullanıma sunulmuştur. Bu testlerin en bilineni SERATEC® PMB testidir (Şekil 1). Test 10 dakika içinde şüpheli bir kan lekesinin periferik kan mı, yoksa menstrüel kan mı olduğunu yüksek bir hassasiyetle gösterebilir.

Bazı olgularda, bir suç mahallindeki veya bir şüphelideki kan lekesinin suç olayından önce mi sonra mı oluştuğu soruları ortaya çıkabilir. Bu ve buna benzer durumlarda kan lekesinin yaşı sorgulanabilir. Eskidikçe kan lekelerinde meydana gelen en belirgin değişiklik, rengin kırmızıdan kahverengiye dönüşmesidir. Bu durum hemoglobinin hemikroma geçiş yapan metHb'ye oksitlenmesiyle oluşur. Bu değişiklikler, 500-650 nm'de Soret bant bölgesinde spektral kaymalarla gösterilir. temsil edilir. Soret bant kayması, 415 nm'deki (oxyHb) absorpsiyon pikinden 406 nm'ye geçiş yapmasıyla karakterizedir. Pik kayma oranı, leke birikimini izleyen ilk 24-48 saat boyunca en yüksektir. Fakat bu spektral değişimin hızı sıcaklık ve nemden etkilenebilir (Hanson ve Ballantyne, 2010).

Kan lekesi yaşını belirlemek için başka yöntemler de önerilmiştir (Bremmer, de Bruin ve van Gemert 2012). Bunlardan en umut verici olanı, zamana bağlı bozulan haberci RNA (mRNA) moleküllerinin geri kazanımını ölçmektir (Anderson, vd., 2005). Bu yöntem kan lekelerinin yaşını hafta düzeyinde ayırt etme potansiyeline sahiptir.

Semen ve Seminal Sıvının Tespiti İçin Kullanılan Serolojik Yöntemler

Cinsel saldırıların adli analizinde en çok iki soruya odaklanır. Bunlardan ilki "cinsel aktivite kanıtı var mı?" ikincisi "saldırgan kimdir?" sorularıdır. İlk soru, muayene sırasında mağdurdan alınan vajinal sürüntüler, oral sürüntüler, anal sürüntüler veya vücut sürüntüleri üzerinde semen tespiti yapılmak suretiyle ele alınır. Giysilerde, yatak çarşaflarında veya diğer yüzeylerde semen lekelerinin saptanması da cinsel temasın kanıtı olabilir. Semen spermatozoa içerdiği tespit edilirse, DNA proşllemesi yapılabilir.

Semen, seminal plazmada süspansiyon edilmiş spermallerden oluşan hücresel bir fraksiyondan oluşur. Seminal plazma, erkek üreme sisteminin yardımcı bezlerinden, esas olarak seminal veziküllerden ve prostattaki salgılardan oluşur. Normal erkek ejakülatı ortalama hacimce yaklaşık 3-4 ml'dir ve yaklaşık 200 milyon sperm içerir. Ejakülat hacimleri ve sperm sayıları önemli ölçüde değişebilir ve bezlerin salgı aktivitesi ve önceki boşalmadan geçen zaman aralığı gibi faktörlere bağlıdır.

Spermatozoa, insan spermindeki ana DNA kaynağıdır. Her sperm hücresi, erkek genomunun haploid bir tamamlayıcısını ve yaklaşık 3 pg DNA'yı taşır. Böylelikle birkaç yüz sperm içeren bir numunenin tam bir DNA profili elde edilebilir (Byard ve Payne-James, 2015).

Diğer vücut bölgelerinden alınan vajinal sürüntü veya sürüntü örneklerinin analizinde, mevcut herhangi bir semenin kurbanın sıvıları ve skuamöz epitel hücreleri ile karışacağı varsayılabilir. Sperm DNA'sı, epitel hücre DNA'sından farklı şekilde ekstrakte edilebilir, bu da ayrılmış sperm ve epitel hücre DNA fraksiyonlarının bağımsız olarak profillenmesine izin verir. Diferansiyel ekstraksiyon işlemi rutin bir protokolle yapılabilir.

Spermatozoanın Mikroskopik Tespiti

Spermatozoanın tespiti, semen varlığının kesin kanıtıdır. Spermatozoa, DNA'yı içeren oval bir baş ve kuyruktan oluşan karakteristik bir morfolojiye sahiptir. Normal bir sperm morfolojik özellikleri Kruger strict parametreleri ve DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü) kriterleri ile belirlenmiştir. Belirlenen kriterlere göre baş uzunluğu 5-6 µm, genişliği ise 2,5-3,5 mikron olmalıdır. Kuyruk boyu yaklaşık 45 mikron civarındadır. Baş ve kuyruk, kırılğan bir boyun ile birbirine bağlıdır. Vajinal sürüntü örneklerinin mikroskopik incelemesinde genellikle spermelerin kuyruk kısımlarının kaybedildiği gözlenir (Allard, 1997). Spermatozoa konvansiyonel ve faz-kontrast mikroskopu ile tespit edilebilmesine rağmen, histokimyasal boyama ile daha kolay görüntülenebilir. Bu yöntem özellikle vajinal epitel hücreleri ve diğer hücre kalıntıları içeren mikroskopik bir alanda sperm ararken değerlidir (Jones, 2005). Sperm lekeleri histokimyasal incelemeler için yaygın olarak hematoksilin/eozin (H&E) ve nükleer hızlı kırmızı/pikroindigokarmin (Noel ağacı lekesi) boyaları ile boyanır. Yeni geliştirilen floresan ile etiketlenmiş bir monoklonal antikör yardımıyla sperm başlarının boyanarak, floresan mikroskopu ile otomatik sperm aramaları yapılabilmektedir (Byard ve Payne-James, 2015).

Semen Testleri

Cinsel saldırı kanıtı, genellikle mikroskopi ile sperm araması yapılmadan önce meni varlığı açısından taranır. Bu amaçla menide vücudun başka yerlerinde olduğundan çok daha yüksek seviyelerde bulunan seminal plazma bileşenlerinin saptanmasına dayanan bir dizi tarama testi geliştirilmiştir. Hali hazırda kullanılan belirteçlerin en önemlilerine aşağıda kısaca değinilecektir. Bu belirteçlerin birçoğu, spermatozoa tespit edilemediğinde semen için bir doğrulama testi olarak kullanılmaktadır (Jones, 2005).

Kolin: Semen bir potasyum iyodür-iyot çözeltisi ile karıştırıldığında belirgin kahverengi kristallerin oluştuğu gözlenir. Florence testi, semen için hızlı bir tahmin testi olarak kullanılır (Hardinge, vd., 2013).

Asit fosfataz (AF): AF androjen kontrolü altında prostatta sentezlenir. İnsan seminal plazmasında, diğer vücut sıvılarından 100-1000 kat daha yüksek seviyelerde bulunur. AF'ler, vajinal sıvılar dahil olmak üzere birçok dokuda düşük seviyelerde görülür (Sensabaugh, 1979). Bazı insan dokularında, bitki ekstraktlarında ve mikroplarda tartararla inhibe edilmeyen diğer AF'ler bulunur; ancak bunlar tipik olarak semenden çok daha düşük seviyelerde bulunur.

AF aktivitesi semen için bir tarama testi olarak kullanıldığında, substrat hidrolizi, bir renk reaksiyonu oluşturur (Brentamin testi). Renk değişimi belirli bir zaman içinde olduğunda test pozitif olarak değerlendirilir (Lewis, vd., 2013). Bu test çarşaf gibi eşyalardaki meni lekelerini bulmak için de kullanılabilir. Test için bir parça filtre kâğıdı steril su ile ıslatılır ve semen varlığı araştırılan lekeye uygulanır, sonrasında reaktif eklenmesiyle yoğun bir mor rengin belirmesi testin pozitifliğini gösterir. (Sensabaugh, 1979).

Prostat spesifik antijen (PSA): PSA (p30 proteini olarak da bilinir) androjen kontrolü altında prostatta sentezlenir. Seminal plazmada diğer vücut sıvılarından çok daha yüksek seviyelerde (410 000 kat) bulunur. Diğer vücut sıvılarında çok düşük ekspresyonu

nedeniyle, prostat kanserinin saptanması için rutin olarak klinik bir belirteç olarak da kullanılır. Bu özgüllük göz önüne alındığında, saptanan düzeylerin diğer vücut sıvılarında bulunan düzeyleri aşması koşuluyla, PSA semen için doğrulayıcı bir belirteç olarak kabul edilir (Hochmester, vd., 1999).

PSA'nın tespiti, lateral akış immüno analizlerine dayalı hızlı kart testleri geliştirilmiştir. Bu yöntem ek olarak, ELISA test kitleri ile PSA kantitatif olarak da analiz edilebilir. Yöntem nadir olarak tükürük ile zayıf yanlış pozitiflik verebilir (Byard vd., 2015).

Seminogelin: Seminogelin, ejakülasyon sonrasında spermatozoayı çevreleyen ve seminal viskoziteyi oluşturan başlıca proteindir. Boşalmayı takiben, pıhtı, proteoliz ile sindirilir. Seminogelin için immünojenik testin, diğer vücut sıvılarından antijenlerle çapraz reaksiyon göstermediği rapor edilmiştir (Pang ve Cheung, 2007).

İlişkiden Sonra Geçen Süre – Koital Sonrası Aralık (KSA)

İlişki sonrası, bir şüpheli iddia edilen saldırı anından önce rızaya dayalı bir cinsel eylemde bulunduğunu iddia ettiğinde veya mağdur iddia edilen saldırıya ilişkin ifadesinin doğruluğu kesin olmadığına önem taşıyabilir. KSA'yı tahmin etmeye yönelik herhangi bir girişim, özellikle cinsel ilişki sırasında vajinada biriken semen miktarı ve vajinal sıvılarla drenaj ve seyreltme nedeniyle vajinadan semen kaybı oranı gibi bilinmeyen değişkenleri içermesi nedeniyle karmaşıktır. Potansiyel KSA göstergeleri arasında, sperm sayısı ve kalitesindeki değişiklikler, AF aktivitesi ve PSA seviyeleri sayılabilir (Jones, 2005).

Spermatozoa sayısı ve kalitesi: Vajinal yaymaların mikroskopik incelemesi bazen hareketli spermatozoayı tespit etmek için mağdurun tıbbi muayenesi sırasında yapılır. Hareketli sperm, yakın KSA'larda bile vakaların sadece küçük bir kısmında gözlenir. Hareketli sperm tespit edildiğinde, genellikle 0-12 saat KSA kabul edilebilir (Allard, 1997). KSA uzadıkça, sperm sayısında genel bir düşüş ve kuyruksuz olarak ortaya çıkan sperm oranında bir artış gözlenir (Allard, 1997).

Asit fosfataz (AF) aktivitesi: Asit fosfataz aktivitesi, artan KSA ile genel bir düşüş gösterir (Sensabaugh, 1979). Ancak, aktivite seviyeleri her KSA'da 100 kat kadar değiştiğinden, herhangi bir kesinlik ile bir KSA tahmini yapmak mümkün değildir. Sıvı AF aktivite seviyelerinin, cinsel birleşmeden 3-6 saat sonra endojen vajinal AF için eşik seviyesinin altına düştüğü kaydedilmiştir.

Prostata özgü antijen seviyesi: PSA düzeylerinin nicel ölçümü, artan KSA ile AF'de gözlemlenenle aynı düşüş modelini sergiler (Graves, vd., 1985). AF'de olduğu gibi, PSA seviyeleri her KSA'da 100 kat kadar değişir. Ancak semendeki PSA seviyesi tespit limitinden yaklaşık 100.000 kat daha yüksek olduğu için, çok yüksek veya çok düşük değerler tespit edildiğinde kantitatif PSA bulguları belirleyici olabilir.

Tükürük

Tükürüğün yaklaşık %99'u su, geri kalanı elektrolitler ve proteinlerden oluşur. Tükürük ayrıca bukkal hücreler içerir. Bu hücrelerden de DNA proşlmesi yapılır. Sigara izmaritleri, çiğnenmiş yiyecekler ve içecek kapları gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen tükürük lekeleri, tam bir DNA profili elde edilmesine olanak verir.

Özellikle, birçok cinsel saldırıda göğüslere, boyuna ve ağız çevresine gerçekleştirilen oral temasın kanıtlanması açısından tükürük sıvısının tespiti önemlidir (Byard ve Payne-James, 2015).

Tükürük için yaygın olarak kullanılan laboratuvar testleri, tükürükte en bol bulunan bir protein olan α -amilaz enziminin saptanmasına dayanır. Alfa-amilaz nişastaların hidrolitik parçalanmasını katalize eder. İnsanlarda tükürük tipi (AMY1) ve pankreas tipi (AMY2) olmak üzere genetik olarak farklı iki α -amilaz tipi vardır. Her iki tip de diğer dokularda çok düşük düzeylerde bulunur. Ayrıca α -amilaz aktivitesi hayvanlarda, bitkilerde ve mikroplarda da bulunur. α -amilaz enzim aktivitesinin saptanmasına dayalı testlerle AMY1'i AMY2'den ayırt edilemez ve insan ile insan olmayan α -amilazlar arasında ayırım da yapılamaz (Jones, 2005). Bununla birlikte, α -amilaz aktivitesi tükürükte diğer vücut sıvılarından yaklaşık 1000 kat daha yüksektir ve bir eşik seviyesinin üzerinde α -amilaz aktivitesinin tespiti (genellikle 1:100 seyreltilmiş taze tükürük), tükürüğün mevcut olduğu kabul edilir. Tükürük lekelerindeki α -amilaz aktivitesi zamanla bozularak testlerin başarısız olmasına neden olur. Bazı durumlarda, saptanabilir bir amilaz aktivitesi içermeyen lekelerden DNA profilleri elde edilebilmektedir. Bu nedenle negatif bir amilaz testi tükürüğün olmadığını göstermez. α -amilaz enzim aktivitesini saptamak için yaygın olarak iki yöntem kullanılır (Jones, 2005). Radyal difüzyon analizi, klasik nişasta-iyot testi kullanılarak agar içine emdirilmiş nişastanın hidrolizini ölçer. Phadebas testi ise çözünmeyen bir boya etiketli nişasta substratından boya salınımını ölçer. Her iki yöntem de basittir ve olası tükürük varlığını tespit eder.

Ticari olarak temin edilebilen iki tükürük tespit testi, özellikle adli uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testlerden SALIlgAE[®] ve RSID[™] tükürük kitlelerinin her ikisi de 10 dakika içinde sonuç verir. SALIlgAE[®] kiti ile renksiz, tescilli bir solüsyona az miktarda tükürük lekesi özü eklenir; amilaz varsa, renksiz çözelti parlak sarı renge dönüşür. RSID[™] tükürük testi, insan AMY1'i için bir yanak akış immünokromatografik formatta hızlı kaset testidir. Bu test, diğer testlerle karşılaştırıldığında daha duyarlı ve özgündür (Pang ve Cheung, 2007).

Diğer Biyolojik Sıvı ve Dokular (İdrar, Dışkı, Vajinal Sıvı, Deri Döküntüsü vb.)

İdrar, %95'in üzerinde su içerir ve geri kalan kısmı esas olarak inorganik tuzlardan ve çözünür metabolik atıklardan oluşur. İdrarın karakteristik rengi, ürobilin ve hemoglobin yıkımının diğer pigmentli ürünlerinden oluşur. İdrarda en bol bulunan protein böbrek kaynaklı Tamm-Horsfall glikoproteinidir. İdrar, epitel hücreleri içerir ve idrar lekelerinden DNA profilleri elde edilebilir (Nakazono, vd., 2005). Üre, kreatinin ve idrar aminleri, idrarın ana bileşenleridir ve idrarın olası tanımlamasını sağlayan renkli nokta testleri ile saptanabilir (Jones, 2005). Tamm-Horsfall glikoproteininin saptanması ise, idrar için en spesifik testtir (Akutsu, vd., 2012).

Dışkı, sindirim sistemi yoluyla atılan vücudun katı atığıdır. Kıvamı, rengi ve kokusu hem diyet hem de sağlık durumunu yansıtır. Görünüm ve koku tek başına dışkı lekelerinin tahmin edilmesini sağlayabilir. Mikroskopik inceleme, ürobilinler ve bunların öncül ürobilinojenleri için uygulanan testler ve dışkıya özgü mikropların saptanmasıyla daha kesin tanımlama elde edilebilir.

Bazı durumlarda, bir nesne veya bir kişi üzerinde vajinal sıvı

izlerinin tespit edilmesi değerlidir. Vajinal sıvıların saptanmasına yönelik geleneksel yaklaşım, vajinal epitel hücrelerinin mikroskopik yöntemle incelenmesidir (Jones, 2005). Bu hücreler glikojen açısından zengindir ve lügol iyot çözeltisi ile güçlü bir şekilde boyanır. Ancak, ağız epitel hücreleri de benzer şekilde boyandığından lügol iyot testi vajinal sıvılar için kesin bir test olarak kabul edilemez. Vajinal sıvıların saptanmasına yönelik yeni iki yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan ilki vajinal sıvılarda belirgin bir şekilde ifade edilen mRNA'ların tanımlanması (Hanson ve Ballantyne, 2010) ve vajinal mikrobiyal floraya özgü *Lactobacillus* türlerinin saptanması ile belirlenir (Fleming ve Harbison, 2010).

DNA profili, çok çeşitli vücut sıvılarından ve dokularından başarılı bir şekilde çıkarılabilmektedir. Bu dokuları belirlemek için bugüne kadar çok az test tanımlanmıştır. Ancak her birinin, gerektiğinde bir tanımlama testi geliştirmek için kullanılabilecek karakteristik bir biyokimyası bulunmaktadır. İlave olarak, adli bilimlerde son yıllarda, bizim vücut alanımızı paylaşan simbiyotik, kommensal ve patojenik mikroorganizmalardan oluşan mikrobiyotalar ile ilgili leke identifikasyonu ve kimliklendirme ile ilgili çalışmaların sayısının da hızla arttığı görülmektedir (Karadayı, vd., 2021, Karadayı, 2021, Gül, vd., 2022). Mikrobiyota çalışmalarının adli bilimlerdeki vaka çözümleri için gelecek vaat ettiği görülmektedir (Gürsoy, vd., 2023, Karadayı, vd., 2023).

Adli Serolojik İncelemeler İçin Yeni Teknikler

Adli bilimler, ceza ve adalet sisteminin sürekli gelişen birimidir. Bu alanda teknolojik gelişmelere paralel olarak yeni yöntemler geliştirilmekte ve eski teknolojilerin iyileştirildiği görülmektedir. Adli serolojide yukarıda anlatılan klasik testler genellikle öncül testlerdir ve bir örneğin vücut sıvısı veya doku orijini hakkında kesin bilgi vermezler (Johnston, vd., 2008) Bu nedenle son yıllarda adli seroloji alanında, mRNA yöntemleri, kompleks ışık kaynağı sistemleri, spektroskopik teknikler (Raman spektroskopisi), biyosensörler ve proteomik dahil olmak üzere farklı yeni teknolojiler geliştirilmiştir (Alvarez, vd., 2004, Juusola ve Ballantyne, 2005, Juusola ve Ballantyne, 2007, Haas, vd., 2009). Bu bölümde gelecek vaat eden yeni geliştirilen ışık kaynağı sistemleri, Raman spektroskopisi ve adli proteomiklerin adli bilimler alanındaki son uygulamaları irdelenecektir.

Gelişmiş Adli Işık Sistemleri

Günümüzde delil niteliğindeki biyolojik lekelerin yerinin tespitinde kullanılan birçok yöntem olsa da, bunların çoğu örnekte DNA hasarı oluşturabilme potansiyelinden ötürü özellikle numunenin az olduğu olgularda delilin kullanılmasını tehlikeye düşürebilmektedir (Szeremeta, vd., 2019, Virkler ve Lednev, 2009). Adli Işık Kaynakları (AIK) 300-900 nm dalga boylarında ışık bantları üreten kuvvetli ışık kaynaklarıdır (Sheppard, vd.,). AIK'lar, lekelerin yeri görselleştirildikten sonra bunların belgelenip basit bir şekilde mahkemeye sunulmasına olanak tanımaktadır (Sheppard, vd., 2017). AIK'lar, incelenen biyolojik lekelerin soğurucu ve fotoluminesans özelliklerine dayanan, delili bozmayan ve invazif olmayan bir yöntemdir (Lee ve Khoo, 2010). Ayrıca, olay yerindeki geniş yüzeylerde daha hızlı tarama gerçekleştirebileceğinden ileri doğrulama yöntemlerinden önce kullanılması zaman tasarrufu sağlamaktadır (Szeremeta, vd., 2019). Özellikle çok az miktarda DNA'nın bulunduğu örneklerde, lekenin yerinin tespitinde

Kısım 1: Adli Bilimlerde Biyolojik Delil Toplama ve İncelenme Süreçleri

kullanılan yöntemin lekede tahribat oluşturmaması büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda AIK'ların tahribatsız yöntem olması sebebi ile DNA bütünlüğüne zarar vermemesi ve suç mahalinde harcanan zamanı azaltması bu yöntemi diğerlerine göre tercih edilebilir kılmaktadır. Cinsel saldırılar sonrasında önemli bir delil grubunu oluşturan biyolojik lekelerin giysiler üzerindeki yerlerinin tespit edilmesinde geliştirilmiş AIK sistemleri önemli bir araç olarak kullanılmaktadır (Karadayı, vd., 2018).

Olay yerinde ve laboratuvar ortamındaki biyolojik lekelerin araştırılmasında kullanılan AIK sistemlerinin farklı dalga boyu ve filtre opsiyonlarının efektif kullanımına imkan sağlayan teknolojiye sahip olması önemlidir. Leke yerinin tespitinde AIK'lar yıllardır kullanılmaktadır, fakat ilk kullanılan adli ışık kaynakları olay yeri kullanımına uygun değildi. Ancak tek bir dalga boyu verebilen bu ışık kaynakları ve filtrelili gözlükler ile lekelerin yeri tespit edilmeye çalışılıyordu. Daha etkili kullanım için farklı lekelerin aynı anda taranabilmesi ve leke yeri tespit edildikten sonrada dahili kamera sistemleri ile kaydedilmesi mümkün değildi. Yıllardır laboratuvarlarda biyolojik lekelerin tespitinde kullanılan geleneksel adli ışık kaynakları sistemlerinin geliştirilmesi bu açıdan önem taşımaktadır (Öner-Kaya, vd., 2023). Bu doğrultuda son yıllarda teknolojiye paralel olarak yeni geliştirilen geniş spektrum aralığında ışık yayabilen, özelleştirilmiş farklı filtrelerin kullanımına imkan sağlayan, kendi görüntüleme ve kayıt sistemleri olan ve

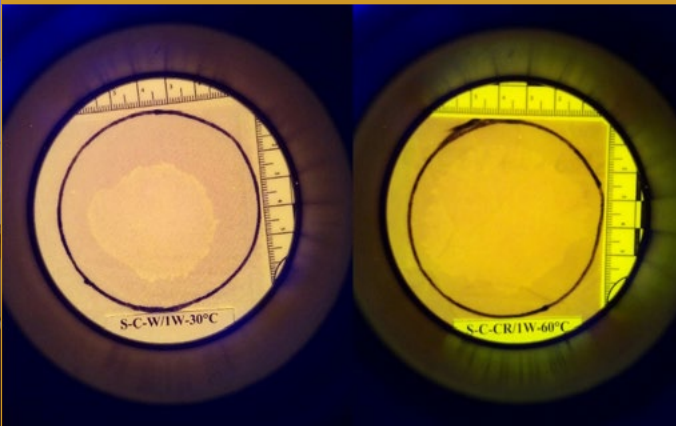
Şekil 2

Olay yeri kullanımına uygun, dahili kayıt özelliği bulunan ve gelişmiş filtre ve ışık sistemlerine sahip Forenscope AIK sistemi (Forenscope, Multispectral UV-VIS-IR Imaging SystemVR, Grimed Ltd, Voor, The Netherlands)



Şekil 3

Farklı koşullar altında gerçekleştirilen yıkamalar sonrasında, gelişmiş bir AIK sistemi olan Forenskop cihazı (Multispectral UV-VIS-IR Imaging SystemVR, Grimed Ltd.) ile incelemelerde semen lekelerinin tespiti



olay yeri kullanımına uygun portatif cihazlar ön plana çıkmaktadır. Bu yeni cihazlar sayesinde kanıtlar olay yerinde kalıcı olarak görünürleştirilebilmekte ve dijital fotoğraf delilin, adli araştırmacıya ve mahkemelere basit ve ayrıntılı bir şekilde sunulması sağlanmaktadır (Sheppard, vd., 2017). Yeni kullanıma sunulan bu cihazların taşınabilir olması, ek bir ekipman gerektirmemesi, kendine ait gelişmiş görüntüleme ve kayıt sistemlerinin olması ve IR dalga boyunda da ışık verebilmeleri gibi özellikleriyle geleneksel olarak kullanılan AIK sistemlerine göre pek çok kullanım avantajları bulunmaktadır (Şekil 2).

Cinsel şiddetin her geçen gün artış göstermesi olay ile ilgili biyolojik delillerin de önemini artırmaktadır. Giysiler üzerindeki semen lekelerinin yeri semenin floresans özelliğinden yararlanılarak AIK sistemleri ile tespit edilebilmekte, bazen de çıplak gözle dahi lekenin yeri görülebilmektedir. Miranda ve ark. (2014) biyolojik bir leke kuruduktan sonra, floresan özelliğinin en az 60 günlük bir süre boyunca sabit kaldığını belirtmektedirler (Miranda, vd., 2014). Fakat cinsel saldırı sonrası özellikle bildirim gecikmiş olgularda, giysilerin çeşitli sebeplerle yıkanmış olma olasılığının göz önünde bulundurularak semen lekeli kumaşlar üzerinde AIK sistemlerinin test edildiği bazı çalışmalar gerçekleştirilmiş ve yeni geliştirilmiş AIK sistemlerinin yıkanmış kumaşlar üzerindeki semen lekelerinin tespitinde etkili olduğu gösterilmiştir (Kobus, vd., 2002, Jobin ve De Gouffe, 2003, Fiedler, vd., 2008, Noël, vd., 2019, Karadayı, vd., 2020, Karadayı, vd., 2021). Karadayı, vd., (2021) tgerçekleştirdikleri çalışmada semen lekelerini değerlendirdikleri görüntülerin % 80'inde yıkama sonrasında seminal lekenin lokasyonunu tespit edebildiklerini bildirmişlerdir (Karadayı, vd., 2021) (Şekil 3).

Noel ve ark. tarafından beyaz koton kumaşlar üzerindeki incelemelerde bir kaç yıkama sonrasında bile semen lekelerinin gelişmiş AIK sistemleri ile belirlenebildiği gösterilmiştir (Noël, vd., 2019). Şu ana kadar yapılan sınırlı sayıda araştırmada yıkanmış giysiler üzerindeki semen lekelerinin yerlerinin tespit edilebilmesinde AIK sistemlerinin daha efektif kullanımının başta yıkama sıcaklığı, kumaş rengi ve kumaş tipi olmak üzere birden fazla faktöre bağlı olduğu bildirilmiştir (Kobus, vd., 2002, Fiedler, vd., 2008, Sheppard, vd., 2017, Karadayı, vd., 2021).

Raman Spektroskopisi

Raman spektroskopisi, neredeyse 90 yıl önce keşfedildiğinden beri birçok farklı uygulamada kullanılan bir analitik araçtır. Raman spektroskopisi, b Numunenin görünür veya yakın kızılötesi bölgesinde radyasyonun esnek olmayan saçılımına dayanan yüksek enerjili fotonları içeren bir titreşim titreşimidir (Doty ve Lednev, 2018). Bir numudedeki molekül ile etkileşime giren ışığın dalga boyu temel alındığında, saçılan ışığın dalga boyunda farklar oluşur ve spektrum ölçülür. Spektrum, değişen yoğunluktaki bir dizi tepe noktasından oluşur. Bu son derece seçici ve neredeyse her bileşimin farklılaşmasına izin veren parmak izi benzeri spektrumlar oluşturur.

Adli bilim uzmanları, şüpheli ile olay yeri arasında bir ilişki kurabilmek ya da bu ilişkinin bulunmadığını gösterebilmek için kanıtların analizinde çok disiplinli teknikler kullanır. Raman spektroskopisi, diğer spektroskopik tekniklerin sınırlamalarının çoğunu ortadan kaldıran çok çeşitli adli örneklerin analizi ve

karakterizasyonu için kullanılan çok yönlü bir tekniktir. Birkaç yeni lazer kaynağının bulunması, holografik ızgaraların geliştirilmesi ve verimli Rayleigh filtrelerinin kullanımı dahil olmak üzere son yıllarda Raman spektroskopisi cihazı teknolojisinde birçok önemli ilerlemeler gerçekleşmiştir.

Birçok tekniğin aksine, Raman analizi numuneyi bozmadığı ve numune hazırlığı gerektirmez. Bu nedenle DNA ekstraksiyonu gibi sonraki analizlerin uygulanmasına imkân tanır. Bunların hepsi adli açıdan son derece önemlidir. Bunun yanı sıra, herhangi bir (katı, sıvı ve gaz) numune analiz edilebildiğinden teknik, numune tipi ile sınırlı değildir. Daha da önemlisi, elde tutulan ve taşınabilir olduğundan doğrudan bir suç mahallinde, polis karakolunda veya kanıtın bulunabileceği veya analiz gerektirebileceği başka bir yerde analiz gerçekleştirilebilir. Taşınabilir Raman spektroskopisi cihazlarının tezgâh üstü cihazlara kıyasla daha az hassas olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, iki kan türü arasında ayırım yapmak için hala yeterli varyasyon olduğu gerçeği, olay yerinde kullanılmak üzere Raman spektroskopisinin yüksek potansiyelini göstermektedir.

Raman spektroskopisinde, farklı dalga boylarına sahip lazer ışığının belirli avantajları ve dezavantajları vardır. 415-nm ve 532-nm gibi UV-görünür lazer çizgileri tipik olarak bu spektral aralıkta elektronik geçişlere sahip moleküllerden Raman sinyalinin rezonans artışına neden olabilir. Ayrıca Raman spektral kütüphanesi hiçbir şekilde MS analizi için kullanılan bazı kütüphaneler kadar kapsamlı veya yaygın olarak kullanılabilir değildir. Bu, geliştirilmesi gereken önemli bir eksikliklerdir (Doty ve Lednev, 2018). Adli ilaç analizi, toksikoloji ve iz kanıt analizinde rutin olarak yapıldığı gibi, bilinmeyenleri bilinenlerle eşleştirmek için spektral kütüphanelerin oluşturulması önemlidir.

2015 yılında Zapata ve ark. (2015) spektrometrik teknikler kullanılarak vücut sıvılarının adli analizi için çeşitli çalışmaları gözden geçirdi (Zapata, de la Ossa & García-Ruiz, 2015, Zapata, Gregório Martins & García-Ruiz, 2015). Sikirzhyski ve ark. (2010), ilk olarak periferik kan, tükürük, meni, ter ve vajinal sıvı dahil olmak üzere beş ana vücut sıvısının farklılaşmasını göstererek Raman spektroskopisi ile vücut sıvılarının analizine öncülük ettiler (Sikirzhyski, Virkler & Lednev 2010). Araştırmacılar ilk aşamada vücut sıvılarını en düşük % 96.4 tahmin doğruluğu ile ayırt edebilirken sonraki aşamada daha karmaşık istatistiksel analizlerin kullanımı ile 2016 yılında yöntemi daha da geliştirdiler ve tahminlerde neredeyse tam doğruluk oranlarına ulaştılar. Periferik kan (Virkler ve Lednev, 2010a, Virkler ve Lednev, 2010b), tükürük (Virkler ve Lednev, 2010b), semen (Virkler ve Lednev, 2009), ter (Sikirzhyski, vd., 2012) ve vajinal sıvının (Sikirzhyskaya, vd., 2012) spektroskopik işaretlerini oluşturmak için çok değişkenli istatistiksel analiz kullandılar. Lednev'in araştırma grubu, bu beş vücut sıvısını tanımlamaya ve ayırt etmeye ek olarak yöntemin, insan ve hayvan kanını (McLaughli, Doty & Lednev 2014a, McLaughli, Doty & Lednev 2014b) ve menstürel kanı periferik kandan (Sikirzhyskaya, Sikirzhyski & Lednev 2012) ayırt edilebileceğini gösterdi. Ayrıca araştırmacılar toz, kum ve toprakla (Sikirzhyskaya, vd., 2013) kontamine olmuş vücut sıvılarını tanımlayabildiler ve kan (McLaughlin, vd., 2013) veya semen (McLaughlin ve Lednev 2015) üzerinde birikebilecek çeşitli substratların ve ayrıca kan karışımlarının ayırımında başarılı oldular.

Suç mahalli birçok kirletici unsurun yer aldığı ortamlardır ve bu nedenle de kontaminasyonlar yaygın olarak görülür. Bir çalışmada, gerçek vakalardaki adli örnekleri taklit etmek için kan lekeleri toz, kum ve toprak ile kirlendi ve bu örnekler raman spektrometrisi ile analiz edildi. Çalışma sonunda araştırmacılar, leke kontamine olduğunda bile kanın Raman spektroskopisi ile başarılı bir şekilde tanımlanabileceğini gösterdiler (Sikirzhyskaya, vd., 2013).

Kan lekeleri eskidikçe belirli spektral değişiklikler meydana gelir. Bu değişimlerin incelenmesi leke yaşının tespitinde yeni bir yaklaşımdır. Doty ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, Raman spektroskopisi ile bir kan lekesinin bir yüzeyde ne kadar süre kaldığını belirlemeye yönelik iki farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar yöntemin bir haftaya kadar ve daha da şaşırtıcı bir şekilde iki yıla kadar kan lekesinin yaşının tahmin edilebildiğini bildirdiler (Doty, vd., 2016, Doty, vd., 2017).

Bir leke eskimiş olsa bile, orta IR bölgesinde Raman spektroskopisi ve ATR-FTIR kullanılarak insan semen ve kanını karakterize etmek gibi bazı çalışmalar yapılmıştır (Zou, Xia & Yang, 2016). Feine ve ark. (2017) Raman spektroskopisi kullanarak prostat spesifik antijen (PSA) tespiti ile idrar bulaşmış bir seminal sıvıda semen varlığını doğruladılar (Feine, vd., 2017). Ayrıca, insan ve hayvan kanı, taşınabilir bir Raman cihazı kullanılarak ayırt edilmiştir (Fujihara, Fujita & Yamamoto, 2017). Raman spektroskopisinin vücut sıvılarının ve mürekkeplerin analizinden elyaflara, patlayıcılara ve ateşli silah kalıntılarına kadar adli uygulamalar için olağanüstü bir teknik olduğu son çalışmalarla kanıtlanmıştır (Doty ve Lednev, 2018).

Gelecekte, Raman spektroskopik yöntemlerinin rutin vaka analizi çalışmalarına dahil edildiğini görebiliriz. Ancak bunun için yöntemin ve metodolojilerin oluşturulabilmesi için zamana ihtiyaç vardır. Bununla birlikte son on yılda kaydedilen önemli ilerlemeler göstermektedir ki Raman spektroskopisi, adli bilimlere için oldukça güvenilir ve avantajlı bir teknik olma yolundadır.

Adli Proteomik

Proteomik, proteomların (bir doku veya bir organizmanın toplam proteinleridir) çevresel veya fizyolojik koşullara yanıt olarak meydana gelen değişimleri inceler (Tyers & Mann, 2003). Proteomik çalışmalar; mikrobiyoloji, hücre ve moleküler biyoloji, botanik, deniz bilimleri, gıda bilimleri, kanser ve immünoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Aebbersold ve Mann, 2003). Proteomiklerin gelişimi, sıvı kromatografisi - kütle spektrometrisi/ kütle spektrometrisi (LC-MS/MS), istatistiksel ve biyoinformatik araçlar dahil olmak üzere bir dizi teknolojiye dayanır (Pedrioli, vd., 2004).

Proteomik çalışmaları son yıllarda, biyolojik sistemleri incelemek için çok güçlü bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. LC-MS/MS tekniğindeki son gelişmeler, numunelerdeki peptitlerin ve proteinlerin yeni nesil dizileme yöntemleri ile karşılaştırılabilir düzeyde hızlı analizlerine olanak sağlamıştır. Spesifik primerler gerektiren polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve antikor ihtiyacı olan immünolojik yöntemlerle karşılaştırıldığında, proteomikler, daha az zaman ve maliyetle analiz yapılabilir. Çünkü bu yöntemle yeni antikolar veya primerlerin geliştirilmesine gerek yoktur (Merkley, vd., 2019). Proteomik, çeşitli peptitlerin ve proteinlerin tek bir çalışmada yüksek özgüllükle tanımlanmasını ve miktarının belirlenmesini mümkün hale getirmiştir (Duong, vd., 2021).

Proteinleri ve onların bağıl bolluklarını ifade eden bir proteom profili, bir örneğin DNA bilgisinden çok daha iyi bir küresel profilini oluşturur. Başka bir deyişle, proteomik, meydana gelen biyolojik süreçleri etkin bir şekilde belirleyebilir (Akcan, vd., 2020).

Geleneksel jel bazlı proteomikler emek gerektiren, yoğun ve zaman alıcı çalışmalar olsa da son yirmi yılda LC-MS/MS bazlı proteomiklerin geliştirilmesi, birkaç saat içinde binlerce peptit ve proteinin ayrılmasına ve analizine imkân sağlamaktadır (Zhang, Wu & Stenoien, 2014). Aynı zamanda, daha yüksek özgüllük, tekrarlanabilirlik, zaman ve maliyet açısından iyi bilinen immünolojik testlerle göre daha avantajlıdır (Pedde, vd., 2017). Adli bilimlerde kan, deri, idrar ve saç gibi çeşitli örneklerden DNA tiplendirilmesiyle kişilerin kimliklendirilmesi en etkin yöntem olmakla daha önce de söylendiği gibi DNA degradasyonunda profillemeye yapılamaz (Merkley, vd., 2019). Bazen DNA, kullanılabilir durumda olabilir (Moini, 2018). Proteomik, henüz adli bilimlerdeki uygulamaları açısından oldukça yenidir. Son yıllarda bu alanda doku ve vücut sıvılarının tanımlanması (Legg, vd., 2017, Kamanna Henry ve Voelcker, 2017), protein toksinlerinin tanımlanması ve miktar tayini (Abd El-Aziz, vd., 2020, Sauvage ve Hardouin, 2020), kimliklendirme (Adeola, vd., 2018, Parker, vd., 2016) ve yabancı suşların ve laboratuvara uyarlanmış bakteri suşları arasındaki ayrıma (Leiser, vd., 2018) odaklanan yeni çalışmalar yayınlanmıştır.

Bu bölümde, özellikle vücut sıvıları (kan, idrar, meni, vajinal sıvı, tükürük), saç, kemik gibi insan örneklerinin analizi için kullanılan adli proteomiklerin son on yıldaki yeni uygulamaları anlatılacaktır.

Vücut Sıvılarının ve Dokularının Tanımlanmasında Proteomlar

Geleneksel DNA analiz yöntemleri ile olay yerinden toplanan insan vücut sıvılarından veya dokularından şüphelinin kimliği belirlenebilir. Bununla birlikte, bir genetik profil tek başına vücut sıvısını veya numunelerin doku tipini (örneğin sıvıların kan, tükürük, vajinal sıvı, meni veya adet kanı olup olmadığını) ayırt edemez. Bazen spesifik vücut sıvılarının veya doku kaynaklarının orijininin belirlenmesi olayın çözümünde oldukça önemlidir. Proteomik, tek bir deneyde çeşitli proteinlerin saptanmasına izin veren ve yalnızca az miktarda numune gerektiren bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca, hedeflenen proteomikler ve geleneksel DNA analizi için kullanılan numune hazırlama prosedürleri birbirine oldukça benzerdir (Whiteaker, vd., 2011).

Vücut sıvılarının kaynağının belirlenebilmesi için öncelikle proteinlerin materyallerden ekstraksiyonu yapılır daha sonra proteinlerin sindirimi gerçekleştirilir ve son olarak da peptitlerin LC-MS/MS yöntemi ile analiz edilir. Proteomik sonuçlarına dayanarak, Van Steendam ve ark. (2013) tarafından 2003 yılında referans bir kütüphane geliştirmişlerdir. Bu referans veri tabanı, farklı biyolojik sıvılar için bir dizi işaretleyici protein içermektedir (Van Steendam, vd., 2013).

Hemoglobin kanda büyük miktarda ve yüksek özgüllükte bulunduğu kan için bir biyolojik belirteci olarak kullanılır (Wild, vd., 2001). Semen belirteç proteinleri semenogelin 1 ve 2, prostata özgü antijen ve prostat asit fosfataz iken, kornülin, involukrin ve kornifin vajinal biyobelirteçlerdir. Alfa-amilaz 1 tükürükte bulunur ve alfa-amilaz 2 meni ve vajinal sekresyonda bulunur. Bu nedenle

alfa-amilaz 1, yüksek miktarda ve özgüllüğü nedeniyle tükürük belirteç proteini olarak kullanılır. Menstrüel kanın biyobelirteçleri ise kandan gelen hemoglobin ve vajinal salgılardan gelen kornülin (Van Steendam, vd., 2013). Plunc-protein, nazal sekresyonlara özgü olduğu için üst solunum yolu salgısında bir biyobelirteç olarak kullanılır. Normal insan idrarında en bol bulunan protein üromodulin iken, alfa-1-mikroglobulin/bikunin öncüsü idrarda da saptanabilir. Bu proteinler kanda bulunduğu için, hemoglobinin yokluğunda idrarı tanımlamak için kullanılabilir (Sun, vd., 2005, Doykov, vd., 2020). İmmüoglobulinler dışkıda saptanabilirler ve hemoglobin yokluğu ile birlikte bu matrisin için belirteç proteini olarak kullanılması mümkündür (Van Steendam, vd., 2013). Oluşturdukları veri tabanına dayanarak Van Steendam ve ark. (2013) menstrüel kan, periferik kan, meni, vajinal sıvı, tükürük, burun salgısı, idrar ve dışkıyı doğru bir şekilde tanımlayabildiler. Ayrıca, karışım haline getirdikleri bazı numuneleri (meni + vajinal sıvı, meni + insan kanı, meni + tükürük, insan kanı + tükürük ve siğir kanı + tükürük gibi) ve gerçek adli örnekler kullanarak bu sıvıların çeşitli karışımlarını tespit edebildiler (Van Steendam, vd., 2013). Bununla birlikte, bu tekniğin, belirli bir hedef vücut sıvısı için çeşitli aday biyobelirteçlerin düşük özgüllüğü ve tutarsız sonuçlardan dolayı bazı dezavantajları vardır. Bu sınırlamaları çözmek için başka çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Legg, vd., 2017).

Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, protein verilerine yapay zekâ teknikleri uygulanarak yüksek doğrulukla farklı doku ve organlar ayırt edilebilmiştir (Kushner, vd., 2018).

Proteomiklere ek olarak, enzimatik sindirim olmaksızın vücut sıvılarında doğal olarak bulunan peptitleri analiz etmek için peptidomikler de uygulanabilir (Duong, vd., 2021). Bu peptitler genellikle endojen proteolitik enzimlerden türetilir. Bu nedenle kütleleri ve yükleri geniş bir aralıkta değişebilir, bu da geleneksel proteomik veri tabanı araştırmasında zorluklara neden olur. Bununla birlikte adli proteomiklerin vücut sıvılarının tanımlanmasında yukarıda bahsedilen başarılarına dayanarak, peptidomiklerin vücut sıvılarından potansiyel peptit biyobelirteçlerini belirlemek için kullanılabilir ve adli bilimlerde uygulanabilir olduğunu söyleyebiliriz (Vitorino, 2018).

Yakın tarihli bir çalışmada, svaplar üzerindeki az miktarda (0.5–5.0 µL) seminal sıvının güvenilir bir şekilde geri kazanıldığı ve saptandığı bildirilmiştir (Brown, vd., 2021). Semenogelin I ve II, prostata özgü antijen ve prostatik asit fosfataz gibi iyi bilinen seminal protein biyobelirteçlerine karşılık gelen seminal sıvı peptit biyobelirteçleri de belirlenmiştir.

Adli proteomik, organ tanımlaması için de kullanılabilir. Örneğin, Dammeier ve ark. (2016) belirli bir merminin hangi organlara nüfuz ettiğini belirlemek için mermilerden doku kalıntılarının proteomik analizini yaptılar (Dammeier, vd., 2016). Bu çalışmada, mermiler farklı siğir organlarına (böbrek, akciğer, karaciğer, kalp ve iskelet kası) ateşlendi. Daha sonra doku kalıntıları toplandı ve proteomik analize tabi tutuldu. Belirlenen proteinlerin listeleri, ilgili organları tahmin etmek için bir yapay zekâ algoritması ile desteklendi. Ancak yöntem, yalnızca tek organdan geçen örnekler için başarılı oldu. Gerçek cinayet vakalarında, bazı mermiler birden fazla organdan geçebilmektedir. Bu nedenle, bu yöntemle birden çok organ tahmin edilemedi.

Yakın tarihli bir çalışmada, otopsi esnasında 46 normal doku ve organdan alınan 117 örneğin proteomik profilinin çıkarılması için LC-MS/MS analizi gerçekleştirildi (Di Meo, vd., 2020). Araştırmacılar, yedi biyolojik sıvının (idrar, seminal plazma, servikal vajinal sıvı, ter, beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı ve meme başı aspirat sıvısı) proteomik verilerini birleştirdi ve 13.028 tane benzersiz insan protein kodlayan genlere karşılık gelen MS/MS spektrumlarını belirlediler. Bu veri seti, her vücut sıvısı ve dokusu için protein biyobelirteçlerini belirlemek için önemli bir veri tabanı olarak kabul görmüştür.

Saç Proteomu

Saç genellikle olay yerlerinde sıklıkla bulunur. Epidermal keratinositlerin keratinizasyonu ile oluşur. Saç, esas olarak moleküller arası disülfidli sarmal proteinler olan bileşenleri nedeniyle fiziksel olarak esnek ve sağlamdır (Lee, vd., 2012). Genellikle farklı çevresel koşullara karşı dayanıklıdır. Bununla birlikte DNA analizi için uygun bir örnek olmayabilir, çünkü DNA, keratinizasyon süreci nedeniyle bozunabilmektedir (Bengtsson, vd., 2012). Adli bilimlerde saç farklı uygulamalarda kullanılabilir. İnsan saçı üzerine yapılan önceki çalışmalarda, Laatsch ve ark.(2014) Kafkasyalılar, Afrikalı-Amerikalılar, Kenyalılar ve Koreliler dahil olmak üzere farklı etnik gruplar arasındaki etnik temelli farklı proteomik profilleri tanımlamak için proteomikleri kullandılar (Laatsch, Durbin-Johnson & Rocke, 2014). Etnik gruplar arasındaki farklılıkların esas olarak saçtaki keratin ile ilişkili protein seviyelerine bağlı olduğu tespit edildi.

Başka bir çalışmada, kişilerin ayırımında kullanılabilir etnik ve biyocoğrafik bilgiler elde etmek için 66 Avrupa-Amerikalı kişide saç gövdesi proteinlerini karakterize etmek için Shotgun proteomikleri kullanılmıştır (Parker, vd., 2016).

Optimize edilmiş proteomik bir yöntemde, saç kullanımıyla bireysel tanımlama gerçekleştirilebilir. Catlin ve ark. (2019) yaptığı çalışmada, özellikle mitokondriyal genom ve proteom profilleri, yüksek uyumlulukla kombine bir iş akışı kullanılarak saç örneklerinden elde edilebilmiştir (Catlin, vd., 2019). Son yıllarda gerçekleştirilen başka bir çalışmada, farklı vücut bölgeleri kılları ile saç proteom profilleri karşılaştırılarak saç ve vücut bölgesi kökenine bakılmaksızın, kılların bireyleri ayırt etmek için kullanılabilirliği ortaya koymuştur (Milan, vd., 2019).

Zhang ve ark. (2020), saç örneklerini yüksek hassasiyetle analiz etmek için jel bazlı bir proteomik yaklaşım önerdi ve saçtan türetilen tüm tanımlanmış peptitleri içeren bir kütüphane oluşturdular (Zhang, vd., 2020).

Nasir ve ark.(2020) tarafından yapılan çalışmada, insan saçındaki keratin peptitlerinin, cinsiyetin (tip II-keratin K81, K83 ve K86 peptitlerini kullanarak) ve etnik kökenin (tip I ve tip II keratin K33b, K81, K83 ve K86 peptitlerini kullanarak) ayırt edilebilmesi için kullanılabilirliğini göstermişlerdir (Nasir, vd., 2020).

Kemik Proteomu

Kemik proteinleri hücre dışı matriste bulunur ve çoğunlukla kolajen proteinlerden oluşur. Kemik kolajenleri, çapraz bağlı yapıları ve kemik matrisinin korunması nedeniyle son derece stabildir (Choi, vd., 2018). Bu nedenle, Buckley ve ark. (2010) koyun ve keçi

kemiği arasında ayırım yapmak için kullanılabilir kolajenden türetilen 33 amino asitli bir peptit olduğunu gösterdiler. Bu peptidin iki tür arasında iki konumda farklılık gösterdiklerini belirttiler (Buckley, vd., 2010).

Wadsworth ve ark. (2014) kemikteki pek çok düşük miktarda protein zamanla bozulurken, eski kemikte kolayca geri kazanılabileceğini tespit ettiler (Wadsworth ve Buckley 2014). Bu çalışmanın bulguları arkeolojik ve paleontolojik kemiklerdeki türleri tanımlamak ve filogenetik çıkarımlar için faydalı olabilir. Sawafuji ve ark. (2017) insan kemik örneklerinde alfa-2-HS-glikoprotein biyolojik yaş arasında güçlü bir negatif korelasyon olduğunu ortaya koydular (Sawafuji, vd., 2017).

Prokopio ve ark. (2018) hem PMI hem de biyolojik yaşı araştırmak için domuz kemikleri üzerinde bir proteomik çalışma gerçekleştirdiler ve ilerleyen PMI ile belirli plazma ve kas proteinlerinde bir azalma tespit ettiler (Prokopio, vd., 2018). Bu bulgulara dayanarak, araştırmacılar alfa-2-HS-glikoprotein ölüm yaşının tahmini için potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini öne sürdüler. Prieto-Bonete ve ark. (2019) 40 farklı kadavradan 40 femur kemiği üzerinde proteomik analiz gerçekleştirdi ve 5-12 yıllık PMI ve 13-20 yıllık PMI arasında ayırım yapılmasına izin veren 32 protein tespit ettiler (Prieto-Bonete, vd., 2019).

Johnston ve ark. (2020) tarafından yapılan bir başka çalışmada (Johnston ve Buckley, 2020), biyolojik yaşı tahmin etmek için sıçanlar ve belirlenen protein biyobelirteçleri kullanılarak tüm iskelet parçalarının proteomunu değerlendirdiler. Araştırmacılar vimentin, osteopontin, matrilin-1, apolipoprotein A-I ve protrombin dahil olmak üzere yaş tahmini için kullanılabilir beş yeni tanımlanmış protein buldular. Protrombin, yaşla birlikte artarken, vimentin, osteopontin, matrilin-1 ve apolipoprotein A-I ters bir eğilim gösterdiğini rapor ettiler. Bu proteinlerin, daha önce bildirilen proteinler (fetuin-A, alfa-1 antitripsin, kromogranin-A, albümin, KNG1, IGFBP5, SERPINF1 ve biglikan) ile iskelet numuneleri için yaş tahmin aracı geliştirme potansiyeline sahip olduğunu bildirildiler.

Sonuç

Vücut sıvılarının tespiti, cezai soruşturmalarda önemli bir husustur ve teknolojiye ilerlemeler arttıkça, vücut sıvılarının tespit etme ve tanımlama çalışmaları da gelişmektedir. Olay yerinde, delil olma potansiyeli bulunan vücut sıvılarının yerini belirlemek ve tanımlamak için hızlı ve kullanımı kolay varsayımsal tarama testleri kullanılmaktadır. Sonraki aşamada ise özellikle laboratuvar inceleme safhasında yıllardır kullanılan ve pek çoğu kullanılmaya devam eden doğrulama testleri mevcuttur. Son yıllarda geleneksel olarak kullanılan mevcut tarama ve doğrulama yöntemlerinin bir kısmı geliştirilmiş ve bunlara bazı yeni yöntemler de eklenmiştir. Özellikle yeni teknolojik imkanlar doğrultusunda geliştirilen geniş spektrum aralığında ışık yayabilen, özelleştirilmiş farklı filtrelerin kullanımına imkân sağlayan, kendi görüntüleme ve kayıt sistemleri olan ve olay yeri kullanımına uygun portatif AIK sistemleri, olay yerindeki delillerin mahkemelere ayrıntılı bir şekilde sunulmasına imkan vermektedir. Aynı şekilde taşınabilir spektrometrelerin ve yorumlama yazılımlarının gelişimi ve Raman spektroskopisi yöntemlerindeki ilerlemeler daha delilin olay yerinden başlayarak yorumlanması konusunda alternatif çözümler

sunmaktadır. Adli serolojik yöntemlere yeni yaklaşımlar sunan proteomik araçların kullanımının yaygınlaşması ile de gelecekte yeni tanımlama yöntemlerinin geliştirilmesine ve benimsenmesine yeni imkân sağlanacağı düşünülmektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

Abd El-Aziz, T. M., Soares, A. G., Stockand, J. D. (2020). Advances in venomics: Modern separation techniques and mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 122352. [Crossref]

Adeola, H. A., Van Wyk, J. C., Arowoto, A., vd. (2018). Emerging diagnostic and therapeutic potentials of human hair proteomics. *PROTEOMICS-Clinical Applications*, 12(2), 1700048. [Crossref]

Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, 422(6928), 198-207. [Crossref]

Akcan, R., Taştekin, B., Yıldırım, M. Ş., vd. (2020). Omics era in forensic medicine: Towards a new age. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 50(5), 1480-1490. [Crossref]

Akutsu, T., Watanabe, K., Sakurada, K. (2012). Specificity, Sensitivity, and Operability of RSID™ Urine for Forensic Identification of Urine: Comparison with ELISA for Tamm Horsfall Protein. *Journal of Forensic Sciences*, 57(6), 1570-1573. [Crossref]

Allard, J. E. (1997). The collection of data from findings in cases of sexual assault and the significance of spermatozoa on vaginal, anal and oral swabs. *Science & Justice*, 37(2), 99-108. [Crossref]

Alvarez, M., Juusola, J., Ballantyne, J. (2004). An mRNA and DNA co-isolation method for forensic casework samples. *Analytical Biochemistry*, 335(2), 289-298. [Crossref]

Anderson, S., Howard, B., Hobbs, G. R., vd. (2005). A method for determining the age of a bloodstain. *Forensic Science International*, 148(1), 37-45. [Crossref]

Baker, D. J., Grimes, E. A., Hopwood, A. J. (2011). D-dimer assays for the identification of menstrual blood. *Forensic Science International*, 212(1-3), 210-214. [Crossref]

Bengtsson, C. F., Olsen, M. E., Brandt, L. Ø., vd. (2012). DNA from keratinous tissue. Part I: hair and nail. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 194(1), 17-25. [Crossref]

Bremmer, R. H., de Bruin, K. G., van Gemert, M. J., vd. (2012). Forensic quest for age determination of bloodstains. *Forensic Science International*, 216(1-3), 1-11. [Crossref]

Brown, C. O., Robbins, B. L., McKiernan, H. E., vd. (2021). Direct seminal fluid identification by protease free high resolution mass spectrometry. *Journal of Forensic Sciences*, 66(3), 1017-1023. [Crossref]

Buckley, M., Kansa, S. W., Howard, S., vd. (2010). Distinguishing between archaeological sheep and goat bones using a single collagen peptide. *Journal of Archaeological Science*, 37(1), 13-20. [Crossref]

Byard, R., Payne-James, J. (2015). Encyclopedia of forensic and legal medicine. *Academic Press*.

Catlin, L. A., Chou, R. M., Goecker, Z. C., vd. (2019). Demonstration of a mitochondrial DNA-compatible workflow for genetically variant peptide identification from human hair samples. *Forensic Science International: Genetics*, 43, 102148. [Crossref]

Choi, N. R., Sándor, G. K., Kim, Y. D. (2018). Efficacy of collagen-based

membranes in alveolar bone augmentation. *Applied Sciences*, 8(11), 2048. [Crossref]

Dammeier, S., Nahnsen, S., Veit, J., vd. (2016). Mass-spectrometry-based proteomics reveals organ-specific expression patterns to be used as forensic evidence. *Journal of Proteome Research*, 15(1), 182-192. [Crossref]

Di Meo, A., Sohaei, D., Batruch, I., vd. (2020). Proteomic profiling of the human tissue and biological fluid proteome. *Journal of Proteome Research*, 20(1), 444-452. [Crossref]

Doty, K. C., Lednev, I. K. (2018). Raman spectroscopy for forensic purposes: recent applications for serology and gunshot residue analysis. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, 103, 215-222. [Crossref]

Doty, K. C., McLaughlin, G., Lednev, I. K. (2016). A Raman "spectroscopic clock" for bloodstain age determination: the first week after deposition. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(15), 3993-4001. [Crossref]

Doty, K. C., Muro, C. K., Lednev, I. K. (2017). Predicting the time of the crime: Bloodstain aging estimation for up to two years. *Forensic Chemistry*, 5, 1-7. [Crossref]

Doykov, I. D., Heywood, W. E., Nikolaenko, V., vd.. (2020). Rapid, proteomic urine assay for monitoring progressive organ disease in Fabry disease. *Journal of Medical Genetics*, 57(1), 38-47. [Crossref]

Duong, V. A., Park, J. M., Lim, H. J., vd. (2021). Proteomics in Forensic Analysis: Applications for Human Samples. *Applied Sciences*, 11(8), 3393. [Crossref]

Feine, I., Gafny, R., Pinkas, I. (2017). Combination of prostate-specific antigen detection and micro-Raman spectroscopy for confirmatory semen detection. *Forensic Science International*, 270, 241-247. [Crossref]

Fiedler, A., Rehder, J., Hilbers, F., vd. (2008). Detection of semen (human and boar) and saliva on fabrics by a very high powered UV-VIS-light source. *The Open Forensic Science Journal*, 1(1), 12-15. [Crossref]

Fleming, R. I., Harbison, S. (2010). The use of bacteria for the identification of vaginal secretions. *Forensic Science International: Genetics*, 4(5), 311-315. [Crossref]

Fujihara, J., Fujita, Y., Yamamoto, T., vd. (2017). Blood identification and discrimination between human and nonhuman blood using portable Raman spectroscopy. *International Journal of Legal Medicine*, 131(2), 319-322. [Crossref]

Gaensslen, R. E. (1983). Sourcebook in forensic serology, immunology, and biochemistry (pp. 149-154). Washington, DC: US Department of Justice, *National Institute of Justice*.

Graves, H. C., Sensabaugh, G. F., Blake, E. T. (1985). Postcoital detection of a male-specific semen protein: application to the investigation of rape. *New England Journal of Medicine*, 312(6), 338-343. [Crossref]

Gül, F., Karadayı, S., Yurdabakan, Z., Özbek, T., & Karadayı, B. (2022). Investigating changes in salivary microbiota due to dental treatment: A metagenomic analysis study for forensic purposes. *Forensic Science International*, 340, 111447. [Crossref]

Gürsoy, N., Karadayı, S., Akmayan, İ., Karadayı, B., & Özbek, T. (2023). Time-dependent change in the microbiota structure of seminal stains exposed to indoor environmental. *International Journal of Legal Medicine*, 1-12. [Crossref]

Haas, C., Klessner, B., Maake, C., vd. (2009). mRNA profiling for body fluid identification by reverse transcription endpoint PCR and realtime PCR. *Forensic Science International: Genetics*, 3(2), 80-88. [Crossref]

Hanson, E. K., Ballantyne, J. (2010). A blue spectral shift of the hemoglobin soret band correlates with the age (time since deposition) of dried bloodstains. *PLoS One*, 5(9), e12830. [Crossref]

Hardinge, P., Allard, J., Wain, A., vd. (2013). Optimisation of choline testing using Florence Iodine reagent, including comparative sensitivity and specificity with PSA and AP tests. *Science & Justice*, 53(1), 34-40. [Crossref]

Jobin, R. M., De Gouffe, M. (2003). The persistence of seminal constituents on panties after laundering. Significance to investigations of sexual assault. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 36(1), 1-10. [Crossref]

- Johnston, E., Ames, C. E., Dagnall, K. E., vd. (2008). Comparison of presumptive blood test kits including hexagon OBTI. *Journal of Forensic Sciences*, 53(3), 687-689. [Crossref]
- Johnston, E., Buckley, M. (2020). Relative protein abundances and biological ageing in whole skeletal elements. *Journal of Proteome Research*, 20(1), 538-548. [Crossref]
- Jones Jr, E. L. (2005). The identification of semen and other body fluids. *Forensic Science Handbook*, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, 329-382.
- Juusola, J., Ballantyne, J. (2005). Multiplex mRNA profiling for the identification of body fluids. *Forensic Science International*, 152(1), 1-12. [Crossref]
- Juusola, J., Ballantyne, J. (2007). mRNA profiling for body fluid identification by multiplex quantitative RT PCR. *Journal of Forensic Sciences*, 52(6), 1252-1262. [Crossref]
- Kamanna, S., Henry, J., Voelcker, N., vd. (2017). "Bottom up" in situ proteomic differentiation of human and non human haemoglobins for forensic purposes by matrix assisted laser desorption/ionization time of flight tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 31(22), 1927-1937. [Crossref]
- Karadayı, B., Karadayı, Ş., Sezgin, N. (2018). Biyolojik delillerin tespitinde kullanılan tarama ve doğrulama testleri ve bu konudaki son gelişmeler. *Türkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences*, 15(2), 80-92 [Crossref]
- Karadayı, Ş., Karadayı, B., Öner, D., vd. (2021). Evaluation of the relationship between the detectability of seminal stains on laundered fabric and stain age. *Medicine, Science and the Law*, 0025802421992916. [Crossref]
- Karadayı, S., Moshfeghi, E., Arasoglu, T., vd.. (2020). Evaluating the persistence of laundered semen stains on fabric using a forensic light source system, prostate-specific antigen Semiquant test and DNA recovery-profiling. *Medicine, Science and the Law*, 60(2), 122-130. [Crossref]
- Karadayı, S., Arasoglu, T., Akmayan, İ., & Karadayı, B. (2021). Assessment of the exclusion potential of suspects by using microbial signature in sexual assault cases: a scenario-based experimental study. *Forensic science international*, 325, 110886. [Crossref]
- Karadayı, S. (2021). Assessment of the link between evidence and crime scene through soil bacterial and fungal microbiome: A mock case in forensic study. *Forensic Science International*, 329, 111060. [Crossref]
- Karadayı, B., Karaismailoğlu, B., Karadayı, S., Arslan, A., Gözen, E. D., & Özbek, T. (2023). The uselessness of using salivary microbiota in forensic identification purposes of a person with recent antibiotic use. *Legal Medicine*, 102338. [Crossref]
- Kobus, H. J., Sileniekis, E., Scharnberg, J. (2002). Improving the effectiveness of fluorescence for the detection of semen stains on fabrics. *Journal of Forensic Science*, 47(4), 1-5. [Crossref]
- Kushner, I. K., Clair, G., Purvine, S. O., vd. (2018). Individual variability of protein expression in human tissues. *Journal of Proteome Research*, 17(11), 3914-3922. [Crossref]
- Laatsch, C. N., Durbin-Johnson, B. P., Rocke, D. M., vd. (2014). Human hair shaft proteomic profiling: individual differences, site specificity and cuticle analysis. *Peer J*, 2, e506. [Crossref]
- Lee, C. H., Kim, M. S., Chung, B. M., vd. (2012). Structural basis for heteromeric assembly and perinuclear organization of keratin filaments. *Nature Structural & Molecular Biology*, 19(7), 707-715. [Crossref]
- Lee, W. C., Khoo, B. E. (2010). Forensic light sources for detection of biological evidences in crime scene investigation: a review. *Malaysian Journal of Forensic Science*, 1(1), 17-28.
- Legg, K. M., Powell, R., Reisdorph, N., vd. (2017). Verification of protein biomarker specificity for the identification of biological stains by quadrupole time of flight mass spectrometry. *Electrophoresis*, 38(6), 833-845. [Crossref]
- Leiser, O. P., Blackburn, J. K., Hadfield, T. L., vd.. (2018). Laboratory strains of Bacillus anthracis exhibit pervasive alteration in expression of proteins related to sporulation under laboratory conditions relative to genetically related wild strains. *Plos one*, 13(12), e0209120. [Crossref]
- Lewis, J., Baird, A., McAlister, C., vd. (2013). Improved detection of semen by use of direct acid phosphatase testing. *Science & Justice*, 53(4), 385-394. [Crossref]
- McLaughlin, G., Doty, K. C., & Lednev, I. K. (2014a). Discrimination of human and animal blood traces via Raman spectroscopy. *Forensic Science International*, 238, 91-95. [Crossref]
- McLaughlin, G., Doty, K. C., & Lednev, I. K. (2014b). Raman spectroscopy of blood for species identification. *Analytical Chemistry*, 86(23), 11628-11633. [Crossref]
- McLaughlin, G., Lednev, I. K. (2015). In situ identification of semen stains on common substrates via Raman spectroscopy. *Journal of Forensic Sciences*, 60(3), 595-604. [Crossref]
- McLaughlin, G., Sikirzhyski, V., Lednev, I. K. (2013). Circumventing substrate interference in the Raman spectroscopic identification of blood stains. *Forensic Science International*, 231(1-3), 157-166. [Crossref]
- Merkley, E. D., Wunschel, D. S., Wahl, K. L., vd. (2019). Applications and challenges of forensic proteomics. *Forensic Science International*, 297, 350-363. [Crossref]
- Milan, J. A., Wu, P.W., Salemi, M. R., vd. (2019). Comparison of protein expression levels and proteomically-inferred genotypes using human hair from different body sites. *Forensic Science International: Genetics*, 41, 19-23. Miranda, G. E., Prado, F. B., Delwing, F., vd. (2014). Analysis of the fluorescence of body fluids on different surfaces and times. *Science & Justice*, 54(6), 427-431. [Crossref]
- Moini, M. (2018). Applications of liquid based separation in conjunction with mass spectrometry to the analysis of forensic evidence. *Electrophoresis*, 39(9-10), 1249-1275. [Crossref]
- Nakazono, T., Kashimura, S., Hayashiba, Y., vd. (2005). Successful DNA typing of urine stains using a DNA purification kit following dialfiltration. *Journal of Forensic Science*, 50(4), JFS2004484-5. [Crossref]
- Nasir, N. M., Hiji, J., Jayapalan, J. J., vd. (2020). Potential use of human hair shaft keratin peptide signatures to distinguish gender and ethnicity. *Peer J*, 8, e8248. [Crossref]
- Noël, S., Lagacé, K., Raymond, S., vd. (2019). Repeatedly washed semen stains: Optimal screening and sampling strategies for DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics*, 38, 9-14. [Crossref]
- Kaya, D. Ö., Karadayı, Ş., Karadayı, B., & Çetin, G. (2023). Evaluation of the detectability of different ages of bloodstains on fabrics in different washing conditions and at various wavelengths. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 94, 102486. [Crossref]
- Pang, B. C. M., Cheung, B. K. K. (2007). Identification of human semenogelin in membrane strip test as an alternative method for the detection of semen. *Forensic Science International*, 169(1), 27-31. [Crossref]
- Parker, G. J., Leppert, T., Anex, D. S., vd. (2016). Demonstration of protein-based human identification using the hair shaft proteome. *PLoS one*, 11(9), e0160653. [Crossref]
- Parker, G. J., Leppert, T., Anex, D. S., vd.. (2016). Demonstration of protein-based human identification using the hair shaft proteome. *PLoS one*, 11(9), e0160653. [Crossref]
- Pedde, R. D., Li, H., Borchers, C. H., vd. (2017). Microfluidic-mass spectrometry interfaces for translational proteomics. *Trends in Biotechnology*, 35(10), 954-970. [Crossref]
- Pedriotti, P. G., Eng, J. K., Hubley, R., vd.. (2004). A common open representation of mass spectrometry data and its application to proteomics research. *Nature Biotechnology*, 22(11), 1459-1466. [Crossref]
- Prieto-Bonete, G., Pérez-Cárceles, M. D., Maurandi-López, A., vd. (2019). Association between protein profile and postmortem interval in human bone remains. *Journal of Proteomics*, 192, 54-63. [Crossref]
- Procopio, N., Williams, A., Chamberlain, A. T., vd. (2018). Forensic proteomics for the evaluation of the post-mortem decay in bones. *Journal of Proteomics*, 177, 21-30. [Crossref]
- Saferstein, R. (1982). Identification and grouping of Bloodstains. *Forensic Science Handbook*. New Jersey: Prentice Hall Inc, 267-96.
- Sauvage, S., Hardouin, J. (2020). Exoproteomics for better understanding Pseudomonas aeruginosa virulence. *Toxins*, 12(9), 571. [Crossref]

- Sawafuji, R., Cappellini, E., Nagaoka, T., vd. S. (2017). Proteomic profiling of archaeological human bone. *Royal Society Open Science*, 4(6), 161004. [\[Crossref\]](#)
- Sensabaugh, G. F. (1979). The quantitative acid phosphatase test. A statistical analysis of endogenous and postcoital acid phosphatase levels in the vagina. *Journal of Forensic Science*, 24(2), 346-365. [\[Crossref\]](#)
- Sheppard, K., Cassella, J. P., Fieldhouse, S., vd. (2017). The adaptation of a 360° camera utilising an alternate light source (ALS) for the detection of biological fluids at crime scenes. *Science & Justice*, 57(4), 239-249. [\[Crossref\]](#)
- Sikirzhytskaya, A., Sikirzhytski, V., Lednev, I. K. (2012). Raman spectroscopic signature of vaginal fluid and its potential application in forensic body fluid identification. *Forensic Science International*, 216(1-3), 44-48. [\[Crossref\]](#)
- Sikirzhytskaya, A., Sikirzhytski, V., Lednev, I. K. (2014). Raman spectroscopy coupled with advanced statistics for differentiating menstrual and peripheral blood. *Journal of Biophotonics*, 7(12), 59-67. [\[Crossref\]](#)
- Sikirzhytskaya, A., Sikirzhytski, V., McLaughlin, G., vd. (2013). Forensic identification of blood in the presence of contaminations using Raman microspectroscopy coupled with advanced statistics: effect of sand, dust, and soil. *Journal of Forensic Sciences*, 58(5), 1141-1148. [\[Crossref\]](#)
- Sikirzhytski, V., Sikirzhytskaya, A., Lednev, I. K. (2012). Multidimensional Raman spectroscopic signature of sweat and its potential application to forensic body fluid identification. *Analytica Chimica Acta*, 718, 78-83. [\[Crossref\]](#)
- Sikirzhytski, V., Virkler, K., Lednev, I. K. (2010). Discriminant analysis of Raman spectra for body fluid identification for forensic purposes. *Sensors*, 10(4), 2869-2884. [\[Crossref\]](#)
- Sun, W., Li, F., Wu, S., vd. (2005). Human urine proteome analysis by three separation approaches. *Proteomics*, 5(18), 4994-5001. [\[Crossref\]](#)
- Szeremeta, M., Drobuliakova, P., Janica, M., vd. (2019). Evaluation of the usefulness of the alternative light source (ALS) in differentiating simulated bloodstains. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 72, 32-37. [\[Crossref\]](#)
- Tobe, S. S., Watson, N., Daeid, N. N. (2007). Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular weight DNA. *Journal of Forensic Sciences*, 52(1), 102-109. [\[Crossref\]](#)
- Tyers, M., Mann, M. (2003). From genomics to proteomics. *Nature*, 422(6928), 193-197. [\[Crossref\]](#)
- Van Steendam, K., De Ceuleneer, M., Dhaenens, M., vd. (2013). Mass spectrometry-based proteomics as a tool to identify biological matrices in forensic science. *International Journal of Legal Medicine*, 127(2), 287-298. [\[Crossref\]](#)
- Virkler, K., Lednev, I. K. (2009a). Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Science International*, 188(1-3), 1-17. [\[Crossref\]](#)
- Virkler, K., Lednev, I. K. (2009b). Raman spectroscopic signature of semen and its potential application to forensic body fluid identification. *Forensic Science International*, 193(1-3), 56-62. [\[Crossref\]](#)
- Virkler, K., Lednev, I. K. (2010a). Forensic body fluid identification: the Raman spectroscopic signature of saliva. *Analyst*, 135(3), 512-517. [\[Crossref\]](#)
- Virkler, K., Lednev, I. K. (2010b). Raman spectroscopic signature of blood and its potential application to forensic body fluid identification. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(1), 525-534. [\[Crossref\]](#)
- Vitorino, R. (2018). Digging deep into peptidomics applied to body fluids. *Proteomics*, 18(2), 1700401. [\[Crossref\]](#)
- Wadsworth, C., Buckley, M. (2014). Proteome degradation in fossils: investigating the longevity of protein survival in ancient bone. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 28(6), 605-615. [\[Crossref\]](#)
- Whiteaker, J. R., Lin, C., Kennedy, J., vd. (2011). A targeted proteomics-based pipeline for verification of biomarkers in plasma. *Nature Biotechnology*, 29(7), 625-634. [\[Crossref\]](#)
- Wild, B. J., Green, B. N., Cooper, E. K., vd. (2001). Rapid identification of hemoglobin variants by electrospray ionization mass spectrometry. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 27(3), 691-704. [\[Crossref\]](#)
- Zapata Arráez, F., Gregório Martins, M. I., García Ruiz, C. (2015). Body fluids and spectroscopic techniques in forensics: A perfect match? *Journal of Forensic Medicine*, 1(101), 1-7. [\[Crossref\]](#)
- Zapata, F., de la Ossa, M. Á. F., García-Ruiz, C. (2015). Emerging spectrometric techniques for the forensic analysis of body fluids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 64, 53-63. [\[Crossref\]](#)
- Zhang, Z., Burke, M. C., Wallace, W. E., vd. (2020). Sensitive method for the confident identification of genetically variant peptides in human hair keratin. *Journal of Forensic Sciences*, 65(2), 406-420. [\[Crossref\]](#)
- Zhang, Z., Wu, S., Stenoien, D. L., vd. (2014). High-throughput proteomics. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 7, 427-454. [\[Crossref\]](#)
- Zou, Y., Xia, P., Yang, F., vd. (2016). Whole blood and semen identification using mid-infrared and Raman spectrum analysis for forensic applications. *Analytical Methods*, 8(18), 3763-3767. [\[Crossref\]](#)

KISIM 2
ADLİ GENETİKTE TARİHSEL GELİŞİM VE
GÜNCEL UYGULAMALAR

BÖLÜM 1

GEÇMİŞTEN GÜNÜMÜZE ADLI GENETİKTE POLİMORFİZM

Gönül FİLOĞLU

Geçmişten Günümüze Adli Genetikte Polimorfizm

Polymorphism in Forensic Genetics from Past to Present

BÖLÜM HAKKINDA

Adli genetikte, akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, kayıp kişilerin bulunması ve bir suçla ilgili failin/faillerin tespitinde polimorfik markırlar kullanılmaktadır. Kişileri birbirinden ayırmak veya ilişkilendirmek için kullanılan bu polimorfik markırlar, kan gruplarından başlayarak eritrosit enzimleri, serum proteinleri ve en nihayetinde DNA düzeyinde çeşitli polimorfizmlere kadar uzanan bir geçmişe sahiptir. Polimorfik gen ürünlerinin sınırlı düzeyde kimlik tespiti yapılabilmesi ve her tür örnekte çelişilmemesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Uzun bir dönemden sonra polimorfik varyasyonların DNA düzeyinde çalışılmaya başlanmasıyla beraber VNTR (Variable Number Tandem Repeat) ve STR (Short Tandem Repeat) gibi tekrar eden dizilerin adli kimliklendirmede kullanılması bir dönüm noktası olmuştur. Ancak çevresel faktörlerle bozunmuş örneklerde tam profil elde edilememesi ve karşılaştırılacak referans örneğin bulunamaması durumunda STR yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, hem daha fazla bilgi veren hem de daha başarılı profillemeye yardımcı olmak için farklı polimorfik lokus arayışına gidilmiştir. SNP'lerin keşfiyle birlikte biyolojik kalıtlardan kişinin dış görünüşüne ait özelliklerin tespit edilebilmesi ile kimliklendirmeye yeni bir boyut kazandırılmıştır. Epigenetik markırlarının adli alanda kullanılmaya başlanmasıyla da kimliklendirmeye yeni bakış açısı kazandırmıştır. Bu bölümde, adli genetiğin zaman içerisinde önemli gelişmelere sahne olmuş polimorfik markırların geçmişten günümüze olan gelişmeleri ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Adli genetik, polimorfizm, kimliklendirme, genetik işaretler

ABOUT the CHAPTER

In forensic genetics, polymorphic markers are used to determine kinship relationships, find missing persons and identify the perpetrator(s) of a crime. These polymorphic markers, which are used to distinguish or associate individuals, have a history starting from blood groups to erythrocyte enzymes, serum proteins and finally to various polymorphisms at the DNA level. Polymorphic gene products have the disadvantages of limited identification and cannot be used in all types of biological samples. After a long period of time, the study of polymorphic variations at the DNA level and the use of repetitive sequences such as VNTR (Variable Number Tandem Repeat) and STR (Short Tandem Repeat) in forensic identification has been a turning point. However, STRs are inadequate when a complete profile cannot be obtained in samples degraded by environmental factors and there is no reference sample to compare. Therefore, different polymorphic loci have been sought to provide both more information and more successful profiling. With the discovery of SNPs, a new vision has been added to identification with the ability to identify features of a person's appearance from biological remains. The use of epigenetic markers in the forensic field has also brought a new perspective to identification. In this chapter, the developments of polymorphic markers, which have witnessed significant developments in forensic genetics over time, from past to present are discussed.

Keywords: Forensic genetics, polymorphism, identification, genetic markers

Giriş

Adli genetikte DNA'nın polimorfik bölgeleri veya polimorfik gen ürünleri (kan grupları, eritrosit enzimleri vb.) kullanılarak akrabalık ilişkilerinin belirlenmesi, kayıp kişilerin bulunması ve bir suçla ilgili failin belirlenmesi mümkündür. Bunun için geçmişte kanda bulunan antijenik yapılar (kan grupları), polimorfik eritrosit enzimleri (EAP, PGM vb.) ve serum proteinleri (GC, TF vb.) kullanılmıştır. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte, kullanılan konvansiyonel yöntemler, yerini DNA analiz yöntemlerine bırakmıştır. Kimliklendirme amacıyla 80'li yılların ortalarından itibaren değişken sayıda tekrar eden diziler (Variable Number Tandem Repeat, VNTR) kullanılmıştır. 90'ların başında ise kısa ardışık tekrar dizileri (Short Tandem Repeat, STR) keşfedilmiştir. Çevresel faktörlerin (ısı, nem, UV ve mikroorganizmalar) etkisiyle bozunmuş biyolojik örneklerde, STR lokuslarıyla tam profil elde edilemediği için son yıllarda hem bu tür sorunlardan üstesinden gelmek hem de kişinin dış görünüşüne ait daha çok bilgi edinmek amacıyla farklı polimorfik lokuslar araştırılmıştır. 2000'li yıllara gelindiğinde ise keşfedilen tek nükleotid polimorfizmi



Gönül Filoğlu

Istanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
E-posta: gfoglul@iuc.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Filoğlu, G. (2024). Geçmişten günümüze adli genetikte polimorfizm. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 45-54). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

(Single Nucleotide Polymorphism, SNP) ile biyolojik kalınlardan kişilerin robotik görüntüsü elde edilmeye çalışılmaktadır. Bu bölümde adli genetikte kullanılan bu polimorfik markırlardan bahsedilecektir.

Polimorfizm ve Genetik Markırlar

Polimorfizm, kişiler ve popülasyonlar arasında farklılığa neden olan ve popülasyonun en az %1'inde görülen genetik değişimlerdir. Bu değişimler, evrim süresince oluşmuş ve kümülatif bir şekilde atalarımızdan aktarılan genetik özelliklerdir. İnsan genomunun yaklaşık %1-2'si protein kodlayan genlerden, geriye kalan kısmı ise RNA genleri, düzenleyici gen bölgeleri ve intronlardan oluşmuştur. Genlerin kodlanan bölgelerindeki dizi değişiklikleri farklı protein çeşitliliğine ve fenotiplerin oluşumuna neden olur. DNA'nın kodlanan bölgeleri organizmanın temelini oluşturan protein ve enzimlerin aminoasit dizilerini belirler. Bu bölgeler nesilden nesile ya hiç değişmezler ya da çok küçük değişimler gösterirler. Evrim süresince meydana gelen değişimler, bir gen lokusunda birden fazla alelin ortaya çıkmasına neden olur.

Polimorfizme neden olan DNA varyasyonları, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), değişken sayıda ardışık tekrar dizileri (VNTR'ler), transpoze edilebilir elementler (Alu tekrarları), yapısal değişiklikler ve kopya sayısı varyasyonları dahil olmak üzere birçok şekilde bulunabilir. DNA polimorfizmleri, tıpta, adli kimliklendirmede, DNA bağlantı analizlerinde, antropolojide ve insan popülasyon yapılarının araştırılmasında kullanılmaktadır (Teama, 2018).

DNA polimorfizminin çalışılmadığı dönemlerde (1990'lardan önce) adli kimliklendirme ve nesep tayininde konvansiyonel genetik markırlar kullanılmıştır. Bu markırlar, genel olarak; kan grubu antijenleri, eritrosit izoenzimleri, serum ve plazma proteinleri, hemoglobin varyantları ve HLA antijenleri olmuştur (Ikemoto, 1995).

Kan Grupları ve Genetik Polimorfizm

ABO, Rh, Luteheran, Lewis, Kidd, Kell, Duffy, MNSs gibi birçok kan grupları bulunmasına rağmen en iyi bilinen ve yaygın kullanılan ABO sistemi ilk kez 1901'de Karl Landsteiner tarafından tanımlanmıştır. Landsteiner, insan kanının yapısındaki farklılıkları bu- larak, uygun olmayan kan nakillerinin tehlikelerini ortaya çıkarmıştır (Owen, 2000). Alyuvarlarda hücre zarının dış katmanına bağlı bulunan antijenlerin türüne göre insanda en az üç kan grubu olduğunu göstermiştir. Bu grupları A, B ve O olarak adlandırmıştır. Kısa bir süre sonra bu sistemin dört fenotip (A, B, O, AB) içerdiğini tespit etmiştir (Cartron & Rouger, 1995). Diğer en çok bilinen kan grubu olan Rh, 1940'ta keşfedildiği Rhesus (Rh) maymun türünden adını almıştır.

Kan grupları, adli bilimlerde birçok olgunun çözümünde kullanılmıştır. Hem babalık davalarında hem de olay yeri veya mağdur üzerinde bulunan kan lekelerinin kan grupları tiplendirilerek kişilerin farklılaştırılması ve ayırt edilmesi mümkün hale gelmiştir (Geserick & Wirth, 2012). ABO kan gruplarının adli alanda kullanılmasıyla, kan gruplarında görülen Bombay fenotipi ve sekretör- lük özelliği önem kazanmıştır.

ABO kan gruplarında görülen Bombay fenotipi, annelik/babalık tayininde önemlidir. Homozigot hh genotipine sahip kişilerde H geni

ifade edilmediği için bu genin ürünü olan enzim de üretilmemektedir. ABO kan grubu antijenlerinin ara ön molekülü (H antijeni) oluşamayacağı için bu kişiler A ve B genlerine sahip olsalar bile A ve B antijenlerini oluşturamayacaklardır. Bu genotipe sahip kişiler *Bombay fenotipi* olarak adlandırılır (Dean, 2005) ve insanların % 0.1'i Bombay genotipine sahiptir. Nesep tayininde babanın veya çocuğun kan gruplarının 0 olması durumunda Bombay tipi araştırılmalıdır (Suraci vd., 2016).

Sekretörlük özelliğini taşıyan kişilerin kan dışında diğer biyolojik sıvılarında kan grubu antijenleri belirlenebilmektedir. ABO kan grubunun sadece kandan değil vücut sıvılarından da tespit edilmesi kimliklendirme için çok önemli olmuştur. Se genini homozigot veya heterozigot olarak taşıyan bireylerde ABO antijenleri eritrositler haricinde vücut sıvılarında da (ter, gözyaşı, tükürük, sperm gibi) bulunmaktadır. Se geni sekretör hücrelerin çalışmasını sağlayan H geninin düzenleyici genidir. Sekretör olmayan (sese) kişiler ise ABO antijenlerini kan haricinde diğer vücut sıvılarında bulundurmazlar (Metgud, 2016).

ABO ve Rh haricinde daha sonraki tarihlerde birçok kan grubu (Lewis, P, Kell, Kidd, Duffy, MNS ve Lutheran) bulunmuştur. Kimliklendirme ve nesep tayininde ABO, Rh ve diğer kan grupları bir arada çalışılarak dahil olma olasılığı artırılmıştır.

Kan grupları antijenik yapıda olduklarından antijen-antikor etkileşimine dayalı aglütinasyon yöntemiyle belirlenmektedir. Antijenik yapılar çevresel koşullardan kolayca etkilediklerinden adli örneklerde kullanımı sınırlı kalmıştır. Kan lekeleri için absorpsiyon-inhibisyon yöntemi geliştirilse de uzun süre kullanılmamıştır. Ayrıca sekretör olmayan kişilerde her biyolojik sıvı ve dokularda da kan grupları belirlenememektedir. Kan grupları, dışlamada iyi olmalarına rağmen dahil etme olasılıkları düşük olduğundan diğer genetik markırlarla beraber kullanılmıştır.

Eritrosit Enzimleri ve Polimorfizm

1949'da kan grubu antijenleri dışında kanda, farklı varyasyonlar gösteren polimorfik protein ve enzimlerin de olduğu bildirilmiştir. Genetik işaret olarak tanımlanan birçok immünolojik ve biyokimyasal sistemler bulunmasına rağmen ancak bir kısmı adli amaçlı kullanılmıştır. En çok kullanılan polimorfik serum proteinleri; hemoglobin haptoglobin, D-vitamini bağlayıcı protein ve transferin olmuştur. En çok kullanılan polimorfik eritrosit enzimleri ise; Eritrosit asid fosfataz (EAP), Fosfoglukomutaz (PGM), Fosfoglukonat dehidrogenaz (PGD), Adenilat kinaz (AK), Adenozin deaminaz (ADA), Glutamat piruvat transaminaz (GPT), Esteraz D (ESD), Glikoksilaz (GLO) ve Peptidaz D (Pep D) olmuştur (Jonakait, 1982).

Polimorfik proteinler, 1955 yılında geliştirilen nişasta jel elektroforezi ile tespit edilmiş, daha sonra kağıt elektroforezi veya jel elektroforezi ile tanımlanması yapılmıştır (Grunbaum, 1977). Örneğin; bir eritrosit enzimi olan fosfoglukomutaz (PGM) enzimi, karbonhidrat metabolizmasında önemli rol oynayan bir transferaz enzimidir. Glukozun 1 ve 6 pozisyonundaki fosfat grubunun transferini hızlandıran bir fosfotransferazdır (Jonakait, 1982). PGM'nin birkaç izozimi (PGM1, PGM2, PGM3 ve PGM4) bulunmaktadır. Bu izozimlerden sadece PGM1 izozimi insanlar arasından varyasyon göstermektedir. Buna göre: bazı kişilerde 1-1, bazılarında 2-1 ve bazılarında da 2-2 olarak toplumda birbirinden ayrılabilen alellere sahiptir. PGM1, farklı kişilerde farklı moleküler formda olduğu

halde aynı fizyolojik reaksiyonu katalizlemektedir. PGM1 alellerinin moleküler ağırlıkları ve yük farklılıklarından yararlanarak elektroforezde tiplendirilebilmektedir.

Polimorfik proteinler veya kan grupları olay yerinden gelen adli örnekler için uygun değildir. Çünkü bu tür örnekler uygun olmayan çevresel koşullara maruz kalabilmektedirler. Söz konusu sistemler de proteinlerden yapılmış olduklarından uygun olmayan çevresel koşullarda kolayca degrade olabilmektedirler. Bu nedenle beklenmiş biyolojik örneklerde çalışılmamaktadırlar. Ayrıca sadece kanda buldukları için kan dışında diğer biyolojik örneklerde de çalışmak mümkün değildir (Jonakait, 1982).

Kan grupları ve polimorfik enzimlerin birlikte kullanıldığı olgularda dahil etme gücü %90-95'lerin üstüne çıkamamaktadır. Bu nedenle bu sistemler haricinde daha yüksek polimorfik özelliğe sahip başka polimorfik markırlarla bir arada çalışılarak dahil etme olasılığı artırılabilmiştir. Bunun için doku transplantasyonunda kullanılan ve çok polimorfik olan İnsan Lökosit Antijeni (Human Leukocyte Antigen, HLA) sistemi kullanılmıştır. DNA polimorfizmi, adli olgularda kullanılabildiği kadar HLA, kan grupları polimorfik enzim ve proteinleri bir arada çalışılmıştır.

İnsan Lökosit Antijeni (HLA)

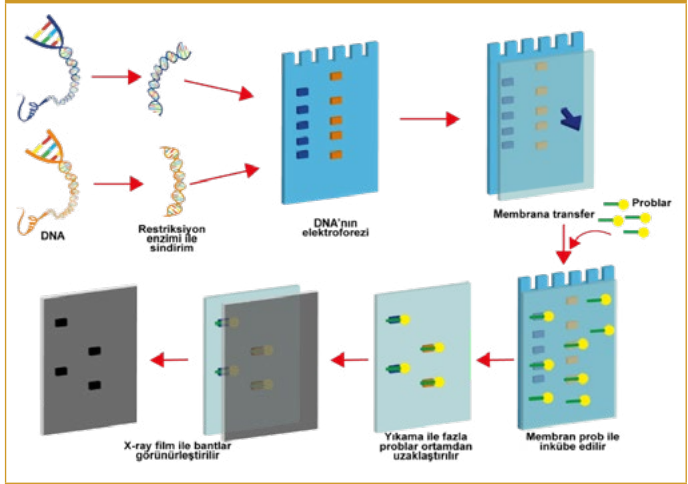
1958 yılında Dausset tarafından tanımlanan HLA, doku organ bağışında verici ve alıcı dokularının uygunluğunu belirleyen bir test markırı olarak kullanılmıştır. 1962'de Rood ve Payne HLA antijenlerinin birden fazla lokus tarafından kodlandığını belirlemişlerdir. Bu lokuslara A ve B lokusu, sisteme ise HLA veya MHC (Major Histocompatibility Complex, Büyük Doku Uygunluk Kompleksi) adını vermişlerdir. 1975'de HLA C ve 1977'de D ve DR lokusları bulunduktan sonra bu lokusların birçok varyasyonu daha tespit edilmiştir. HLA lokusları, çok yüksek polimorfizm gösterdikleri ve toplumda eşleşme olasılıkları çok düşük olduğu için adli kimliklendirmede ve babalık belirlenmesinde kan gruplarıyla birlikte kullanılmıştır. HLA, dahil olmak üzere tüm polimorfik sistemlerle birlikte bir olgudaki dahil olma olasılığı $\geq 99\%$ 'un üstüne çıkmıştır. Ancak sadece kan örneklerinde buldukları ve serolojik yöntemlerle belirlendikleri için çevresel koşullara karşı dayanıksızdır. Bu nedenle olay yeri örneklerinden çok babalık testlerinde kullanılmıştır. DNA tekniklerinin gelişmesiyle birlikte HLA DQA1'i içeren ticari test kiti üretilerek bir süre adli kimliklendirmede kullanılmıştır (Thorsby, 2009).

DNA Polimorfizmi

DNA Parmak İzi

1970'lere kadar moleküler biyolojide, Sanger dizileme tekniği ve Southern blotlama yönteminin geliştirilmesi ile DNA dizi analizi ve DNA polimorfizmlerinin tespiti mümkün hale gelmiştir. 1978'de, β globin geni ile ilgili ilk insan DNA polimorfizmi, bir genetik hastalığı tanımlamak için kullanılmıştır. 1980'de, sınırlandırılmış parça uzunluk polimorfizmi (RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi geliştirilmiştir. RFLP tekniği ile insanlar arasında farklılık gösteren küçük varyasyonların olduğu keşfedildi. 1980'de Southern blotlama tekniğine dayalı ilk polimorfik lokus tespit edildi (Roewer, 2013). 1984'te Alec Jeffreys minisatellitler olarak adlandırılan DNA polimorfizmini tanımlayarak adli alanda kullanılabileceğini gösterdi (Auton vd., 2015; Jeffreys vd., 1985).

Sekil 1
Southern blot yöntemi



Jeffreys'in uyguladığı yöntem; DNA izolasyonu ve restriksiyon enzim sindirimi sonrasında agaroz jel elektroforezinde, DNA parçalarının büyüklüklerine göre ayrılarak naylon veya nitroselüloz membrana transfer (Southern blotlama) edilmesi ve radyoaktif proba hibridize edilmesi ile otoradyograf ile DNA bantlarının görüntülenmesine dayanıyordu (Şekil 1). Bu yöntem "DNA parmak izi" adı verildi (Jeffreys vd., 1985).

Bu polimorfizmle olay yerinde bulunan her türlü biyolojik örneğin çalışılması mümkün hale gelmiştir. Bir lokusta bulunan alel sayısı fazla olduğundan ayırt etme güçleri yüksek ve toplumdaki eşleşme olasılıkları da oldukça düşüktür. DNA, ilk kez 1986'da bir ceza davasında delil olarak kullanıldı. Bu davada iki sene arayla İngiltere, Leicestershire'da iki genç kıza tecavüz ederek öldüren Colin Pitchfork'ün mahkum edilmesine neden olmuştur. Bu olayda mağdurlardan alınan semen örneklerinde saldırganın kan grubunun A olduğu belirlenmişti. Ancak kasabadaki erkeklerin %10'unu bu gruba sahipti. O dönemde yeni keşfedilen ve henüz hiçbir olayda kullanılmamış olan RFLP'ye dayalı VNTR polimorfizminin 5000 erkekte çalışılması sonucunda saldırgan Colin Pitchfork yakalanarak mahkûm edilmişti.

DNA'nın benzersiz olma özelliği anlaşıldıktan sonra adli genetikçiler tüm ilgilerini DNA'ya çevirmiş oldu. Parmak izi gibi benzersiz bir DNA profili elde etmek artık hayal değildi. DNA'nın bir suçla ilgili olarak şüpheliyi dışlamanın yanı sıra olası bir şüpheliyi dahil etmede de çok başarılı olduğu gösterildi. Bu tarihten sonra DNA üzerindeki diğer polimorfik markırlar keşfedilerek adli olguların çözümü sadece DNA'ya dayalı bir şekilde yapılmaya başlandı.

Tekrarlayan Dizi Polimorfizmi. DNA'nın kodlama yapmayan bölgeleri rekombinasyona daha duyarlı olduğu için evrimsel olarak mutasyonlara ve varyasyonlara da açık bölgelerdir. Kodlama yapmayan bölgelerde çok sayıda tekrar eden diziler bulunmaktadır. Bu diziler, makrosatellitler, minisatellitler ve mikrosatellitler olarak sınıflandırılır. *Makrosatellitler*, çok büyük tekrarlardan oluştuğu için adli analizler için uygun değildir. Bu tekrarlar çoğunlukla kromozomların sentromer ve telomer bölgelerinde bulunurlar. *Minisatellitler*, uzun tekrarlara (1-30 kb) ve çok sayıda alellere sahip VNTR lokuslarıdır. Bu nedenle polimorfik düzeyleri ve ayırım güçleri yüksektir ve birkaç lokusla bile benzersiz bir DNA

profili elde etmek mümkündür. DNA parmak izi olarak adlandırılan bu sistemler, 1980'lerin ortalarından 1990'ların başına kadar adli bilimlerde kullanılmıştır (Nakamura vd., 1987). *Mikrosatellitler*; 2-6 baz çiftinin art arda tekrar etmesiyle oluşmuş ve 1 kb' den küçük STR dizilerdir.

VNTR lokuslarının ayırım güçleri çok yüksek olmasına rağmen yüksek miktarda ve degrade olmamış DNA'ya ihtiyaç duymaları, zor ve uzun zaman alan laboratuvar prosedürlerine (Southern blotlama) gerek duyulması ve standardize olmadıkları için laboratuvarlar arası karşılaştırmaları mümkün olmadığı için adli kimliklendirmede kullanılmamıştır (Wyman & White, 1980).

VNTR lokuslarının ayırım güçleri çok yüksek olmasına rağmen uzun süre adli kimliklendirmede kullanılmamıştır. Bunun nedeni, DNA üzerinde çok uzun yer kaplamaları, yüksek miktarda ve kalitede DNA'ya ihtiyaç duymaları, zor ve uzun zaman alan yöntemle çalışılmaları ve standart olmadıkları için de laboratuvarlar arası karşılaştırmaları mümkün olmaması olarak sayılabilir.

1990'ların başlarında laboratuvar uygulamalarının yetersiz olması ve istatistiksel verilerin yetersiz olması yüzünden DNA, mahkemelerde kanıt olarak kabul edilip edilmemesi konusunda kararsız bir dönemden geçmiştir. Ticari şirketler tarafından belirli DNA bölgelerinin çalışılması ve patentlenmesi nedeniyle, laboratuvarlar arasında karşılaştırmalar mümkün olmuyordu. Bu da kalite güvencesi ve standardizasyonu ciddi şekilde tehlikeye sokmuştu. DNA polimorfizminin toplumda eşleşme olasılığının hesaplanmasında, alt popülasyonların veri tabanlarının bulunmaması özellikle olayla ilgili yakalanan şüpheli küçük bir etnik gruptan olduğunda sorunlar yaşanabiliyordu. Özellikle olayla ilgili yakalanan şüpheli küçük bir etnik gruptan olduğunda, alt popülasyonların veri tabanlarının bulunmaması nedeniyle DNA polimorfizminin toplumda eşleşme olasılığının hesaplanmasında, sorunlar yaşanabiliyordu. Bu da DNA'ya karşı olan güveni sarsmıştı. Farklı etnik grupların yaşadığı Amerika da görülen davalarda sanıkların ait olduğu etnik grubun gen sıklığı kullanılmadığı için DNA, kanıt olarak kabul edilmemiştir. DNA parmak izi hakkındaki bilimsel tartışmalar, 1990'larda da devam etti. Bu dönemde STR lokusları keşfedildi ve bundan sonra DNA, mahkemelerde kanıt olarak kullanılmaya başlandı.

PCR Tekniğine Dayalı İlk Üretilen Kitler. DNA'nın belirli bölgelerini çoğaltabilen polimeraz zincir reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) kimyager Kary Mullis tarafından geliştirildi. Mullis, bu çığır açan buluşu ile 1993'te Nobel Kimya Ödülü'nü aldı. PCR ile DNA'dan milyonlarca kopya yapılabilmesi, adli bilimlerde özellikle olay yerinden elde edilen degrade olmuş veya çok az miktardaki DNA'dan kimliklendirme yapılabilmesine olanak sağlamıştır (Mullis, & Faloona, 1987). PCR'nin RFLP'ye göre tekrarlanabilirliği oldukça yüksek ve otomasyona uygundur.

PCR'ye dayalı adli genetikte üretilen ve uygulanan ilk polimorfik DNA lokusu, HLA-DQA1 (AmpliType DQA 1Perkin Elmer Corp, Foster City, CA.) lokusudur. Daha sonra bir VNTR lokusunu içeren AmpliFLP™ D1S80 PCR (Perkin Elmer Corp, Foster City, CA.) kiti üretildi. Aynı dönemde DNA üzerinde 6 polimorfik bölge içeren AmpliType® PM (PolyMarker) kiti (Perkin Elmer Corp, Foster City, CA.) üretildi. Bunu takiben STR lokusları keşfedildi, ticari olarak önce tek ve iki lokuslu sonra da birçok lokusu bir arada içeren multipleks STR kitleri üretildi.

DNA Çalışmalarının İlk Dönemlerinde Standardizasyon ve Akreditasyon Çalışmaları. DNA çalışmalarının başlangıcında birçok laboratuvar patentlerle korunan özel tek lokuslu VNTR problemleri kullandığından, kalite kontrol prosedürlerini/programlarını düzenlemek ve laboratuvarlar arası karşılaştırmaları yapmak imkansızdı. Suçlar arasında bağlantı kurulabilmesi, aynı kişi veya kişiler tarafından işlendiğini ortaya koymak için, olay yerinden toplanan örneklerin ister ülke sınırları içerisinde olsun, ister farklı ülkelerde olsun aynı DNA bölgelerinin çalışılması, yapılan analizlerin birbirleriyle güvenilir bir şekilde karşılaştırılması sağlanmalıdır. Bunun için dünyada farklı şirketlerin DNA tiplendirme kitleri olsa dahi hepsinin ortak DNA lokuslarını içermesi gerekir. Ticari kitlerin gelişmesiyle birlikte hem kalite kontrolleri hem de laboratuvarlar arası karşılaştırmalar mümkün hale gelmiştir. 1996- 1997 yıllarında DNA teknolojisi kullanılarak incelenecek delillerin ne şekilde toplanacağı, transferi ve saklanması gerektiği, analiz yöntemleri ve araştırma, geliştirme konusunda bir standart oluşturulmaya çalışıldı. Bu tarihten sonra DNA verileri deneysel olmaktan çıkmış, hukuka uygun delil olarak kabul edilmiştir.

DNA laboratuvarlarının akredite olmaları ve elde ettikleri DNA profillerinin güvenilir olması için laboratuvarların yeterlilik testlerini yaptırması ve sertifikalarını alması gerekir. 2009 yılında, Avrupa Birliği ve Amerika Bileşik Devletlerinde genetik test yapan laboratuvarlarının ISO IEC 17025: 2005 akreditasyon standardına göre akredite edilmelerini zorunlu hale getirdi. Bunun için tüm dünyada birçok teknik ve bilimsel DNA çalışma grupları kuruldu. Bu gruplardan DNA Analizi Bilimsel Çalışma Grubu (Scientific Working Group on DNA Analysis) ve DNA Advisory Board (DNA Danışma Kurulu)'un yaptığı çalışmalar sonucunda oluşturulan standartlar ile bugün geline seviyenin temelleri atılmış oldu. Günümüzde adli genetik laboratuvarları, raporlarının güvenilirliğini mahkemelere akreditasyon belgelerini sunarak belgelemektedir (Decorte, 2013).

STR Polimorfizmi

Mikrosatellitler veya STR'ler, DNA'nın kodlama yapmayan bölgelerinde 2-10 bp'nin ardışık tekrarlarıyla oluşmuş bir polimorfizm çeşididir. Kişiler arasındaki varyasyonunun nedeni aynı dizinin kişiler arasında farklı sayıda tekrar etmesiyle oluşmaktadır (Edwards vd., 1991; Al Edwards vd., 1992). STR alelleri, tekrar eden birimin sayısı temel alınarak adlandırılır. STR lokusu bir gen içerisinde ise o genin ismiyle (TH01, tirozin hidroksilaz genin 1. intronu) adlandırılır. Ancak gen dışındaki bir STR lokusu (D12S391, D: DNA, 12. Kr. S: single ve 391 lokalizasyonunda) ise o zaman lokusun bulunduğu nokta işaret edilerek bir adlandırma yapılır.

STR'ler, tekrar eden dizinin büyüklüğüne göre ikili, üçlü, dörtlü (di, tri, tetra) olarak sınıflandırılır. Tetranukleotid lokusları hem en az artefakt göstermeleri hem de diğer STR lokuslarına göre daha düşük mutasyon oranına sahip oldukları için adli genetikte tercih edilir. STR lokuslarının mutasyon oranları (10^{-6} ile 10^{-12}) diğer polimorfik markırlara (SNP ve InDel) göre daha yüksektir. Bu nedenle babalık tayininde baba-çocuk uyumsuzlukları görülebilmektedir. Bu tür uyumsuzluklarda diğer polimorfik markırlarla çalışılarak babalık teyit edilmelidir. Ayrıca bu lokuslar çok sayıda alele sahip oldukları için heterozigotluk (≥ 0.8) oranları yüksektir. Bu nedenle ayırım güçleri yüksek ve toplumda eşleşme olasılıkları da düşüktür (Fan & Chu, 2007).

STR polimorfizmi 90'lı yıllardan beri tüm dünyada adli kimliklendirmede ve nesep tayininde kullanılmaktadır. Bu lokusların uzun yıllardır kullanılmasının nedeni polimorfik güçlerinin oldukça yüksek olması, rutinde kullanılan her bir lokusun özelliklerinin (özgünlükleri, mutasyon oranları, alel varasyonları vb.) çok iyi bilinmesi, büyük popülasyonlarda alt popülasyonlarda çalışılmış olması ve güvenilir sistemler olmalarıdır. Ayrıca Dünyada oluşturulan tüm DNA veri bankaları bu sistemlere dayalı olarak yapılmıştır.

STR'lerin keşfinden sonra 2000'li yıllarda genom projesinin tamamlanmasıyla birlikte yeni polimorfik sistemler (SNP ve InDel gibi) bulunmasına rağmen bu lokuslar, STR lokuslarına tamamlayıcı veya ek markırlar olarak kullanılmaktadırlar. İstenmeyen koşullara (UV, nem vb.) maruz kalan biyolojik örneklerde bozunma derecesine bağlı olarak DNA'da kırıklar meydana gelerek daha küçük parçalara ayrılır. Bu tür örneklerde STR lokuslarıyla tam profil elde edilemeyebilir. Bu nedenle ampikon boyu daha küçük olan yeni mini-STR lokusları tasarlanmıştır (Coble & Butler, 2005; Hill vd., 2007). Böylece daha düşük DNA örnekleriyle tam STR profili elde edilebilmektedir. Bu lokuslar DNA veri bankaları için çalışılan çekirdek ana STR lokus setine eklenmiştir.

STR Lokuslarının Analizi. STR profili, DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez sonrasında belirlenmektedir. Elektroforez olarak, ilk dönemlerde poliakrilamid jel elektroforezi kullanılmıştır. Bu yöntemle en fazla üç lokus bir arada çalışılabilirken zamanla multiplex PCR sistemlerinin geliştirilmesi ve optimizasyonun yapılması ile 15-25 lokus bir arada çalışılan ticari STR kitleri geliştirildi (PowerPlex® Fusion 6C System Kit, GlobalFiler™ PCR Amplification Kit vb.). Bu kitlerde FAM, HEX, NED vb. floresan işaretli primerler kullanılarak, PCR ürünleri lazer tarayıcılı ABI genetik analizör cihazında (Applied Biosystems, Foster City, CA) yürütülerek GeneMapper™ gibi analiz programlarında genotip analizi

yapılabilmektedir. Şekil 2 de 15 STR lokusu ve Amelogeninden oluşan AmpFLSTR™ Identifiler™ PCR kitinin (Thermo Fisher Scientific) kapiler elektroforezinde yürütülmüş bir STR elektroforegramı görülmektedir (Butler vd., 2010). Tüm dünyada birkaç ticari firmanın hakim olduğu ve piyasada temel olarak CODIS lokuslarını içeren çekirdek STR lokusları veya daha fazla STR lokusu içeren kitler üretilmektedir. Farklı laboratuvarlar tarafından aynı ticari kitler kullanıldığı için DNA profil verileri farklı laboratuvarlar arasında karşılaştırılabilmektedirler. Bu da iç/dış kalite kontrol çalışmalarının yapılmasını sağlamıştır (Butler, 2015).

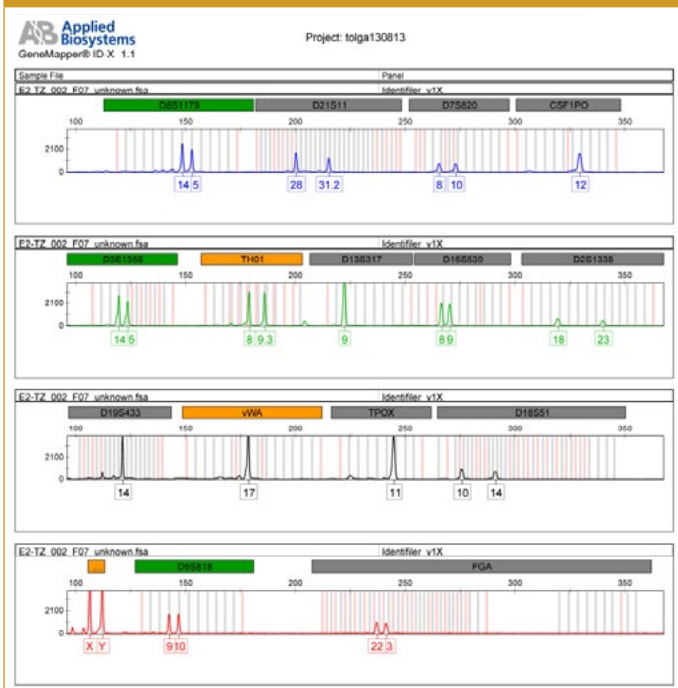
Son yıllarda STR lokuslarını içeren yeni nesil sekanslamaya (Next Generation Sequencing, NGS) dayalı kitler (The Illumina® ForenSeq™ DNA Signature Prep Kit, Precision ID GlobalFiler NGS STR Panels gibi) geliştirilmiştir. Bu yöntemle fragman analizi yerine dizi analizi yapıldığı için STR lokuslarının dizi varyasyonuna bağlı olarak alel sayısı da artmıştır (Filoglu vd., 2017) NGS ile ilgili daha fazla bilgi Kısım 2 Bölüm 2'de bulunmaktadır.

STR polimorfizmi ve DNA Veri Bankaları. STR lokusları çalışmaya başladıktan kısa bir süre sonra Avrupa ve Amerika'da DNA çalışma grupları (EDNAP, SWGDAM vb.) kurularak hem laboratuvarların akredite olmaları hem de standart STR lokuslarının çalışılması konusunda fikir birliği sağlandı. Bu tarihten sonra DNA teknolojisi, yargı sistemi üzerinde büyük bir etkiye sahip oldu. 1995 yılında, Birleşik Krallıkta çeşitli suçlardan mahkum olan kişilerden kıl örnekleri veya ağız içi sürüntü örnekleri alınarak DNA profillerinin çıkarılması ve arşivlenmesi yasal hale getirildi ve bundan kısa bir süre sonra ilk DNA veri tabanı kuruldu. 1996'da FBI, adli DNA profilleri için Birleşik DNA İndeks Sistemi DNA veri tabanı (Combined DNA Index System, CODIS) oluşturmaya başladı. CODIS, yerel, eyalet ve federal soruşturmalara yardımcı olan ulusal bir DNA veri bankasıdır (Norrsgard, 2008). İlk önce CODIS'te; hüküm giymiş suçlular ve olay yerinden alınan ve kime ait olduğu bilinmeyen suçluların örneklerinden oluşmuştu. Daha sonra bu veri tabanı kayıp kişilerin akrabaları ve kimliği belirsiz insan kalıntılarını içerecek şekilde genişletildi. DNA veri bankaları sayesinde hem şüpheli bulunmayan olay yeri örneklerinin failinin belirlenmesi hem de CODIS'te sadece kriminal amaçlı olmayan hayati tehlikesi bulunan asker vb. meslek gruplarının da kimliklendirme amacıyla DNA profilleri arşivlenmektedir. Olay yerinden gelen ve faili belirlenemeyen örneklerde alel paylaşımı ve aktarımından yararlanarak kişilerin akrabalarına ulaşılabilir. Tabii ki bu durum etik hakların ihlali olarak görülmekte ve bunun için birtakım endişeler duyulmaktadır.

CODIS'te kullanılacak STR lokuslarının özellikleri ve hangilerinin olması gerektiği ve bir kişiyi eşsiz kılacak şekilde ayırt etme gücüne sahip olabilmesi için en az kaç tane STR lokus içermesi gerektiği belirlenmiştir. Buna uygun olarak üretilen kitler de çalışma gruplarının önerileri doğrultusunda standartlaştırılmıştır (Butler, 2010). Bundan sonra tüm ticari şirketler tarafından bu lokusları içeren kitler üreterek, dünyada tüm kriminal laboratuvarlarının kullandığı global STR kitlerini oluşturdular. İlk başta 13 olan STR lokus sayısı (CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, vWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 ve D21S11), 2017 yılında 20'ye (D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433 ve D22S1045) çıkartılarak toplumda eşleşme olasılıkları (1 trilyonda 1'e) da düşmüş oldu. Yeni eklenen 7 lokus özellikle degrade örneklerde başarılı profillemeye kabiliyeti bulunan, DNA üzerinde daha

Şekil 2

Kapiler elektroforezde yürütülmüş 15 STR ve Amelogenin bölgesini gösteren örnek bir elektroforegram



az yer kaplayan mini-STR lokuslarından seçilmiştir (Amankwaa, 2020). Yeni nesil sekanslama cihazları ve son dönemde bu sistemlere yönelik oluşturulan kitlerle az miktardaki DNA örneği ile birçok polimorfik sistem tek bir iş akışında çalışabilmektedir. DNA veri bankaları ile ilgili daha fazla bilgi Kısım 2. Bölüm 4’de verilmiştir.

Yeni Nesil Genetik Markırlar

Adli bilimciler, kriminal amaçlı veya kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde ele geçen biyolojik örnekten tam profil elde edebilecek ve kişiyi tanımlayabilecek yeni polimorfik markır keşfetme çabasında dırlar. İnsan genom projesinin tamamlanmasıyla keşfedilen yeni nesil genetik markırlar olarak adlandırılan InDel ve SNP markırları küçük ampliconlara sahip oldukları için her türlü biyolojik örnekten tam profil elde etmek mümkündür. SNP markırları ile kişiyi tanımlayabilecek fiziksel özellikler hakkında bilgi edinmek mümkündür. Epigenetik markırlardan yararlanarak da kişinin yaşı ve biyolojik örneklerin orijini belirlenebilmektedir.

SNP Lokusları. SNP’ler, tek baz çifti değişiminden oluşan bi-allelik varyasyonlar olup, DNA’nın kodlama yapan ve yapmayan bölgelerinde bulunurlar. Kodlama yapmayan bölgedeki SNP’ler fenotipte bir değişiklik oluşturmazken kodlama yapan bölgedeki SNP’ler anlamlı ve anlamsız etkiler oluşturabilirler. SNP’lerin etkiledikleri bölgeye ve yarattıkları etkilere göre değişik alanlarda kullanım alanları bulunmaktadır (Zhao, 2003).

SNP’ler, STR lokuslarına alternatif olarak kimliklendirmede, biyocoğrafik soy analizinde ve fenotip belirlemede (göz, saç, ten rengi, kellik vb.) kullanılmaktadırlar. STR’lere oranla daha düşük genetik çeşitliliğe sahip olmalarına rağmen amplicon boyutları küçük olduğundan, parçalanmış veya eser miktardaki örneklerde amplifikasyon başarısı yüksektir.

SNP markırları otozomal kromozomlarda bulunduğu gibi cinsiyet kromozomlarında da bulunmaktadır. özellikle Y kromozomuna özgü Y-SNP haplotipleri çalışılarak baba soyundan akrabalık belirlenmesi ve atasal soy hakkında bilgi edinmek mümkündür. SNP’ler, mt DNA’da da bulunduğu için gerek mt DNA’nın kodlanmayan (HV1, HV2 ve HV3) bölgeleri gerekse kodlanan bölgelerindeki SNP polimorfizmi çalışılarak anne tarafından akrabalık belirlenmesi veya annelik tayini yapmak mümkündür.

SNP analizinin, uzun sürmesi ve uğraştırıcı olmasından dolayı kriminal laboratuvar rutinde kullanımı sınırlı kalmıştır. Bununla birlikte kişilerin dış görünüşlerine ait bilgi vermesinden dolayı diğer markırlarda olmayan özelliklere sahiptirler (Bulbul, 2020). NGS, cihazlarının kullanılmaya başlanmasıyla birlikte hem SNP hem de diğer polimorfik markırların bir arada tek bir iş akışıyla çalışması mümkündür. SNP markırları ile ilgili daha fazla bilgi Kısım 2. Bölüm 7’de verilmiştir.

InDel Polimorfizmi. Son yıllarda yeni nesil polimorfik markırlar olarak adlandırılan InDel’ler, bir veya birden fazla nükleotidin genom eklenmesi (insersiyon- In) veya çıkarılması (delesyon -Del) sonucu oluşmuş bir polimorfizm çeşididir. İnsan genom projesiyle birlikte 2002 yılında Weber ve ark. tarafından 2000 InDel lokusu keşfedilmiştir. Daha sonra Mills ve ark. tarafından (2006) bu lokusların genomdaki sıklık ve yapılarını ortaya koyan InDel genom haritası çıkartıldı (Mills vd., 2011). Adli genetikte kimliklendirme amaçlı kullanılan InDel polimorfizmi kodlama yapmayan bölgelerde bulunan InDel markırlarıdır. InDel polimorfizmi çoğunlukla bi-allelik olmalarına rağmen multi-allelik de olabilmektedirler.

Adli kimliklendirmede uzun yıllardır STR polimorfizmi kullanılmaktadır. Bu lokusların ayırtılma güçleri dışlama güçleri çok

Tablo 1
InDel markırlarıyla ilgili adli amaçlı geliştirilen paneller

Biyocoğrafik InDel paneli		Otozomal InDel paneli		X -InDel Paneli	
Lokus sayısı	Kaynak	Lokus sayısı	Kaynak	Lokus sayısı	Kaynak
40-InDel	(Bastos-Rodrigues vd., 2006).	38- InDel	(Pereira vd., 2009)	13-X InDel	(Ribeiro-Rodrigues vd., 2009).
48- AIM InDel	(Santos vd., 2010)	40-InDel	(Pimenta & Pena, 2010)	33-X InDel	(Freitas vd., 2010).
46-AIM InDel	(Pereira, vd., 2012)	29-Indel	(Li vd., 2012)	32-X InDel	(Pereira, vd., 2012)
21-AIM InDel	(Zaumsegel vd., 2013)	20-InDel	(Huang vd., 2014)	18-X InDel	(Zhang vd., 2015)
39-AIM InDel	(Lan vd., 2019a).	17-InDel	(Shu Zhang vd., 2018)	27-InDel, 16 X-InDel ve 2YInDel	(Tao vd., 2019)
39-AIM InDel	(Zhang vd., 2021)	50-Indel	(Chen vd., 2019)	22-Indel	(Ozyer, 2023)
56-AIM InDel	(Lan vd., 2023)	32-InDel	(Huang vd., 2020)	38-X InDel	(Chen vd., 2021)
		43-InDel	(Jin vd., 2021)	36-X InDel	(Du vd, 2024)
		57-InDel	(Chen vd., 2022)		
		35- InDel	(Tong vd, 2023)		
		59-InDel	(Fang vd, 2023)		
		36-Indel	(Filoglu vd., 2024)		
		33-InDel	(Avellaneda vd, 2024)		

yüksektir. Ancak olay yerinden gelen örneklerde sıklıkla başarılı DNA profili elde edilememektedir. InDel'lerin en önemli özelliği PCR ürünlerinin STR'ye göre küçük olması ve STR ile tam profil elde edilemeyen biyolojik örneklerde başarılı profillemeye yapabilmesidir. STR'lerin mutasyon oranları InDel'lere göre daha yüksektir (Fondevila vd., 2011; Weber vd., 2002). Bu da babalık tayininde, baba çocuk uyumsuzluğuna neden olmaktadır. InDel'lerin mutasyon oranları düşük olduğundan STR'lerle birlikte veya alternatif olarak çalışılabilir. InDel, SNP gibi küçük ampliconlara sahip olması ve STR gibi basit prosedürlerle çalışılabilmesi açısından STR ve SNP özelliklerini bir arada barındırmaktadır.

InDel markırları, popülasyonlar arasında gen sıklık farklılıkları içerdiğinden biyocoğrafik soy belirlenmesinde de kullanılabilir. Birçok araştırmacı tarafından biyocoğrafik soy analizinde ve kimliklendirmede kullanılmak üzere gerek somatik gerekse X kromozomu üzerinde bulunan InDel polimorfizminden yararlanarak birçok panel geliştirmiştir. Tablo 1'de geliştirilen bu panellerin özellikleri yer almaktadır.

Son dönemlerde gerek kapiller elektroforeze gerekse NGS platformuna uyumlu biyocoğrafik , kimliklendirme ve cinsiyet kromozomlarını (X veY) bir arada içeren çok sayıda lokustan oluşan paneller geliştirilmiştir (Yuvan vd, 2024; Yang vd, 2023)

Epigenetik Markırlar. Adli bilimciler, şüpheli bulunmayan vakalarda faile ait olduğu düşünülen biyolojik kanıttan kişinin fiziksel görünümüne ait bilgi edinmek isterler. Son yıllarda, insanlar arasında ve dokular arasında farklılık gösteren epigenetik markırlardan yararlanılarak, monozyotik ikizlerin ayrılması, yaş tahmini ve dokunun kaynağı belirlenebilmektedir. Epigenetik mekanizmalardan DNA metilasyonu sayesinde döllenmeden itibaren hücrelerin farklılaşması, büyüme gelişme döneminde belli genlerin susturulması veya anlatımının zayıflaması ve diğer genlerin ifadelerinin aktif hale getirilmesi ile epigenetik modellemelerle sağlanmaktadır. DNA metilasyonu, gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir epigenetik markırdır ve adli alanda geniş bir kullanım alanına sahiptir. DNA metilasyonu; sitozin bazının 5 karbonuna metil grubunun eklenmesiyle oluşur. Metillenmiş DNA, genin promotor bölgelerinde CpG adacıkları şeklinde bulunur. CpG bölgelerinin metillenme miktarlarına (hipometilasyon veya hipometilasyon) göre bir metilasyon profili oluşturulur (Vidaki & Kayser, 2018). DNA metilasyonu ile ilgili daha fazla bilgi Kısım 2 Bölüm 7'de verilmiştir.

Cinsiyet Kromozomları ve Genetik Polimorfizm

Polimorfik markırlar (STR, SNP, InDel vb.) hem somatik kromozomlarda hem de cinsiyet kromozomlarında bulunmaktadır. İnsanlarda 23 çift kromozom bulunur bu çiftlerden bir tanesi cinsiyet kromozomları olup kadınlarda XX erkeklerde XY şeklindedir. Bu kromozomların aktarım özelliklerinden yararlanarak bazı özel olguların aydınlatılması mümkündür.

Y kromozomunun büyük bir kısmı (%95) rekombinasyona uğramadığı (NRY, non-recombining region of Y) için babadan oğula mutasyon haricinde değişmeden aktarılır. Onun için baba tarafından akraba tüm erkeklerde Y kromozomu DNA profili aynıdır. Y kromozomu, rekombinasyona uğramadığı için insan göç yollarının belirlenmesi, antropoloji ve soy belirlenmesi ve soylar arası ilişkilerin belirlenmesi ile ilgili çalışmalarda kullanılmaktadır (Kayser, 2017).

Y kromozomunda daha önce belirtildiği gibi SNP, STR ve nadir olarak da InDel polimorfizmi çalışılabilir. STR lokuslarıyla daha çok adli olgular çalışılarak akrabalık ilişkilerinin teyidi veya cinsel saldırı olaylarında bir veya baba tarafından akraba değilse birden fazla erkeğin varlığı belirlenebilmektedir. Y-STR haplotipleri, coğrafi ataları belirlese de çok daha düşük mutasyon oranlarına sahip farklı popülasyon gruplarındaki karakteristik SNP'ler çalışılarak, evrimsel ilişkiler modellenir.

Y kromozomu ile ilgili dünyada çalışılan haplotip verilerinin bulunduğu açık erişilebilir bir Y kromozomu haplotip veri tabanı (Y Chromosome Haplotype Reference Database, YHRD) oluşturulmuştur (www.yhrd.org). Bu veri tabanı 1999'da Charité Üniversitesi'ndeki akademisyenler tarafından 31 adli ve antropolojik kurumla birlikte oluşturulan ve ilk olarak 5000 erkek haplotiple başlatılan Avrupa çapında bulunan çevrimiçi Y kromozomu haplotip referans veri tabanıdır. İlk olarak 13 Y-STR ile başlayan veri tabanı günümüzde 27 Y-STR ve çok sayıda SNP lokusu haplotip verisi içermektedir. Araştırmacılar tarafından gönderilen haplotip verileri veri tabanına yüklenmeden ve yayımlanmadan önce kontrol edilerek sisteme yüklenir. Bugün 1.262 popülasyona ait 269.383 SNP ya da STR profiline çevrimiçi ulaşılabilmektedir. YHRD sisteminde coğrafi ve etnik bilgiler nedeniyle sorgulanan ve bilinmeyen bir erkeğin ataları hakkında çıkarımda bulunmak üzere yararlanabilecek bir kaynak olarak kullanılabilir (Syndercombe Court, 2021).

Y kromozomunun aktarım şekline dayanarak, baba-erkek çocuğun sorgulandığı babalık vakalarında mutasyona bağlı 1 ve 2 lokusta görülen dışlamaların gerçek dışlama olup olmadığını teyit etmek için Y-STR markırları çalışılabilir. Ayrıca babanın ulaşılmadığı olgularda (babanın vefatı ve kaybolması gibi) baba tarafından erkek akrabalarından birinin Y kromozomunun çalışılması ile çocuğun ilgili aileye dahil olduğu söylenebilir. Cinsel saldırılarda erkek ve kadından oluşan karışım DNA örneklerinde kadın DNA'sı erkeğin profilini maskeleyebilir. Oysaki sadece Y kromozomuna özgü primerlerin kullanıldığı profillemede kadın DNA örneği majör durumda olsa bile erkeğin profili belirlenebilmektedir. Böyle bir vakada birden fazla şüpheli erkek varsa, baba tarafından akraba erkeklerin Y kromozomu DNA profili aynı olacağından suçlu karışan akrabaların Y kromozomuna dayalı bir ayırımı yapılması mümkün değildir.

Rutin olgu çalışmaları için geliştirilen ticari kitler, Y-STR polimorfizmi ile ilgili olup floresan deteksiyona dayalı kapiler elektroforeze dayanan kitlerdir. Günümüzde bu kitler NGS'ye uyarlanarak diğer polimorfik markırlarla da (ForenSeq™ DNA Signature prep kit, Illumina gibi) çalışılmaktadır (Filoğlu vd., 2021). Y kromozomu NGS çalışmalarıyla ilgili daha fazla bilgi için "Kısım 2 Bölüm 2'ye bakınız.

X kromozomu, insandaki iki cinsiyet kromozomlarından biridir. Adli genetikte, aktarım özelliğinden yararlanarak bazı özel olgularda kullanılabilir. Örneğin; kız kardeşlerin aynı babadan olup olmadıkları belirlenebilmektedir. Çünkü babada var olan ve annesinden ona aktarılan tek X kromozomunu kız çocuklarına aktardığı için her iki kız kardeş babanın tek X kromozomu DNA profilini taşıyacaklardır. Diğer bir örnekte ise; baba ve kızı arasında bir enest ilişki varsa ve bu ilişkiden bir kız olması durumunda enest ilişki belirlenebilir. Ayrıca babaya ulaşılmadığı vakalarda da yine X kromozomu aktarımından yola çıkarak baba olmadığı halde

babaannenin X kromozomu profilinden yararlanarak kız torunun babası tahmin edilebilir.

X kromozomu için üretilen çeşitli ticari kitler bulunmaktadır. Bu kitler daha çok STR ile ilgili olup son yıllarda teknolojik gelişmeye paralel olarak NGS cihazlarına uyumlu kitlelere dahil edilmiştir (Filoğlu vd., 2021). STR polimorfizmi dışında InDel polimorfizmi ile ilgi son yıllarda X-InDel panelleri geliştirilmiştir (Tablo 1).

mtDNA ve Polimorfizm

Mitochondri organeli, tüm yüksek organizasyonlu canlı hücrelerinde bulunur. Mitokondrilerin temel görevi oksijenli solunum yaparak hücre için gerekli enerjiyi sağlamaktır. Mitochondri bölünerek çoğalır ve hücrenin enerji gereksinimine göre sayısını artırabilir (Cardamone vd., 2018). Genellikle her mitokondride 1-10 arasında değişen sayıda mtDNA bulunur. Her hücre de ise 1-10 000 arasında değişen sayıda mtDNA bulunur. mtDNA'nın kopya sayısının yüksek olmasından yararlanarak çeşitli adli olguların çözümü mümkün olabilmektedir. mtDNA polimorfizmi kullanılarak insan göç yollarının saptanması ve atasal DNA hakkında bilgi edinilmeye çalışılmaktadır. Ayrıca felaket kurbanlarının kimliklendirilmesinde anne tarafından akraba ve annelik saptanması amacıyla kimliklendirme yapılabilmektedir.

İnsan mtDNA'sı ilk olarak Anderson ve ark. (1981) tarafından dizilenmiş ve her bir nükleotid numaralandırılarak tanımlanmıştır. Buna göre mtDNA 165659 baz çifti uzunluğuna sahip çift zincirli (ağır ve hafif) dairesel bir yapıya sahiptir (Anderson vd., 1981). mtDNA'nın adli genetikte kullanılan bölgeleri; kodlama yapmayan kontrol bölgesi (Displacement-loop, D-loop), HV1, HV2 ve HV3 olmak üzere üç çok değişken bölgesidir. Bu bölgelerin baz uzunluğu HV1: 16024-16383, HV2: 73-354 ve HV3: 438-574 tür. mtDNA analizinde genellikle sadece kontrol bölgelerinin (HV1, HV2 ve HV3) dizi analizi yapılır. Bunun yanı sıra kodlayan bölge veya kontrol bölgesinde bulunan SNP polimorfizminin analizi de ek bilgi verici olarak yapılmaktadır. Günümüzde ise NGS ile tüm mtDNA genom analizleri de yapılmaktadır.

mtDNA analizlerinde Cambridge referans dizileri (Revised Cambridge Reference Sequence, rCRS) veya Anderson referans dizileri alınarak, test edilen kişinin mtDNA dizisinin referans diziyeye göre farklılıkları tespit edilir. Bu farklılıkların hem sorgulanan hem de istenen kişinin mtDNA diziyeye karşılaştırılır. Farklılıkların görülmesi dışlama, gözlenmemesi kişilerin anne tarafından akraba olduklarını gösterir.

Nükleer DNA'nın kimliklendirmedeki potansiyeli mtDNA ile karşılaştırılmayacak düzeyde yüksektir. Ancak mtDNA'nın sahip olduğu bazı özgün özellikler onu adli bilimlerde eşsiz kılmaktadır. Bunlardan en önemlisi çevresel koşullara karşı daha dirençli olması ve hücredeki kopya sayısının çok yüksek olmasıdır. Ayrıca tırnak ve saç gibi dokularda nükleer DNA'nın eldesinin zor olduğu dokularda mtDNA tiplendirilebilmektedir. Kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde, toplu ölümlerde ve toplu mezarlarda anne veya anne tarafından akraba erkek veya kadınlarla karşılaştırılarak aranılan kişinin tespiti mümkündür. Çünkü mtDNA rekombinasyona uğramadığı için anne tarafından tüm akrabalarda birbirinin aynıdır (Nilsson M, 2016).

mtDNA nükleer DNA'ya oranla daha sık mutasyona uğrama ve

replikasyon sırasında meydana gelen hataları daha az önleme kabiliyetine sahiptir. Bu nedenle mtDNA'da mutasyon olasılığı yüksektir. Mitokondriler bölünerek sayılarını artırır. Bölünmesi sırasında mutasyon içeren yavru mitokondriler ve mutasyon içermeyen yavru miokondriler (homoplazmi) ya da hem mutasyonu içerenler hem de içermeyen mtDNA'lar aynı mitokondride (heteroplazmi) bulunabilir. Heteroplazmi düzeyi korunarak sonraki kuşaklara aktarılır. Heteroplazmi seviyesinin tespit edilmesi kimliklendirmede büyük önem taşımaktadır (González vd., 2020) (Daha fazla bilgi için Bkz. Kısım 2 Bölüm 2) Heteroplazminin ilk olarak tespit edildiği ve kullanıldığı vaka Rus çarı II. Nicholas'ın kimliklendirilmesinde olmuştur. Çarın kemik örnekleri erkek kardeşinin kemik örnekleri ile karşılaştırılması sırasında belli bir seviyede heteroplazminin varlığı tespit edilmiştir.

Popülasyon Çalışmalarında Polimorfizmin Önemi

Olay yerinde bulunan örneklerin şüphelilerden hangisine ait olduğunun belirlenmesinde ve akrabalık ilişkilerinin ortaya konmasında, DNA profillerinin bilinen ve sorgulanan kişilerle karşılaştırılması yapılarak ilgili örneklerin kişiye ait olduğunu veya akrabalık bağı (babalık, annelik vb.) olup olmadığını belirlemektedir. Bunun için karşılaştırılan iki örnek arasında aynı genotiplerin görülmesi durumunda bu genotiplerin benzersiz olduğunun kanıtlanması önemlidir. Karşılaştırmadaki eşleşmelerin tesadüfi mi yoksa örneğin sahibi olup olmadığı yüksek olasılıkla tespit edilir. Bunun için genotipi oluşturan markırların ilgili popülasyondaki sıklıklarını bilmek gerekir.

Gen sıklıkları kullanılarak istatistiksel olarak iki örneğin aynı kaynaktan gelip gelmediği söylenebilir. Kullanılan istatistiksel hesaplamaların temel olarak "Product Rule" yaklaşımı ile çiftleşmenin rastgele olduğunu ve çoklu STR markırları için alellerin birbirinden bağımsız ayrıldığını yani bağlantı dengesinin olduğu kabul edilerek hesaplama yapılır. Gerek kimliklendirmede gerekse akrabalık tayinlerinde yapılan istatistiksel değerlendirmelerde kişilerin ilgili oldukları popülasyon veya alt popülasyonların gen sıklıkları kullanılmalıdır. STR lokuslarına dayalı olarak alt popülasyonlarla karşılaştırmalar yapmak için yeterli DNA veri tabanı bulunmaktadır. İzole olmuş popülasyonlarda bu çok daha önemli hale gelmektedir. Popülasyon genetikçileri, etnik gruplar arasındaki gen sıklıkları farklılıklarından kaynaklı oluşacak etkilerin minimum olduğunu düşünmektedirler.

Sonuç

Adli bilimlerde kişileri birbirinden farklılaştırabilmek veya ilişkilendirebilmek için kişiden kişiye varyasyon gösteren polimorfik markırlar kullanılmaktadır. Bu markırlar geçmişte kan grupları ile başlamış DNA ürünleri diye adlandırdığımız polimorfik enzim ve proteinleri ile devam etmiş en nihayetinde DNA düzeyinde çalışılmaya başlanmıştır. DNA'nın çok küçük bir bölümü kişiler arasında varyasyon göstermesine rağmen kişileri birbirinden ayırabilecek ve hatta benzersiz kılabilecek nitelikte sonsuz bilgiye sahiptir. Her geçen gün yeni bilgilere ulaşılarak olaya tanıklık eden moleküler görgü şahitlerinden yararlanarak kişilerin, moleküler robotik resmini ortaya koyabilecek yeni polimorfik markırlar keşfedilmektedir. Yakın gelecekte hemen hemen her kriminal laboratuvarında olacak olan NGS cihazları kullanılarak tüm genom analizleri ile aynı DNA'ya sahip monozygotik ikizler dahil olmak üzere kimliklendirmede en üst seviyeye ulaşılabilecektir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

Amankwaa, A. O. (2020). Trends in forensic DNA database: transnational exchange of DNA data içinde *Forensic Sciences Research (C. 5, Sayı 1*, ss. 8-14). Taylor and Francis Ltd. [\[Crossref\]](#)

Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., vd. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, *290*(5806), 457-465. [\[Crossref\]](#)

Auton, A., Abecasis, G. R., Altshuler, D. M., vd. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature* [C. 526, Sayı 7571, ss. 68-74]. *Nature Publishing Group*. [\[Crossref\]](#)

Avellaneda, L. L., Johnson, D. T., Gutierrez, R., vd. (2024). Development of a novel five dye panel for human identification insertion/deletion (IN-DEL) polymorphisms. *Journal of Forensic Sciences*. [\[Crossref\]](#)

Bastos-Rodrigues, L., Pimenta, J. R., & Pena, S. D. J. (2006). The genetic structure of human populations studied through short insertion-deletion polymorphisms. *Annals of Human Genetics*, *70*(5), 658-665. [\[Crossref\]](#)

Bulbul, O., Filoglu, G., Zorlu, T., vd. (2016). Inference of biogeographical ancestry across central regions of Eurasia. *International Journal of Legal Medicine*, *130*(1), 73-79. [\[Crossref\]](#)

Bulbul, O., Zorlu, T., & Filoglu, G. (2020). Prediction of human eye colour using highly informative phenotype SNPs (PISNPs). *Australian Journal of Forensic Sciences*, *52*(1). [\[Crossref\]](#)

Butler, J. M. (2005). *Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers*. Elsevier Academic Press.

Butler, J. M. (2010). *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. İçinde *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Elsevier Inc. [\[Crossref\]](#)

Butler, J. M. (2015). The future of forensic DNA analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *370*(1674). [\[Crossref\]](#)

Cardamone, M. D., Tanasa, B., Cederquist, C. T., vd. (2018). Mitochondrial Retrograde Signaling in Mammals Is Mediated by the Transcriptional Cofactor GPS2 via Direct Mitochondria-to-Nucleus Translocation. *Molecular Cell*, *69*(5), 757-772.e7. [\[Crossref\]](#)

Cartron, J. P., & Rouger, P. (1995). *Blood Cell Biochemistry, Vol. 6: Molecular Basis of Human Blood Group Antigens*. [\[Crossref\]](#)

Chen, L., Du, W., Wu, W., vd. (2019). Developmental validation of a novel six-dye typing system with 47 A-InDels and 2 Y-InDels. *Forensic Science International: Genetics*, *40*(July 2018), 64-73. [\[Crossref\]](#)

Chen, L., Pan, X., Wang, Y., vd. (2021). Development and Validation of a Forensic Multiplex System With 38 X-InDel Loci. *Frontiers in Genetics*, *0*, 1420. [\[Crossref\]](#)

Chen, X., Nie, S., Hu, L., Fang, Y., vd. (2022). Forensic efficacy evaluation and genetic structure exploration of the Yunnan Miao group by a multiplex InDel panel. *Electrophoresis*, *43*(16-17), 1765-1773. [\[Crossref\]](#)

Coble, M. D., & Butler, J. M. (2005). Characterization of New MiniSTR Loci to Aid analysis of degraded DNA. *J Forensic Sci*, *50*(1), 43-53. [\[Crossref\]](#)

Dean, L. Bethesda (2005). *Blood Groups and Red Cell Antigen*, National Center for Biotechnology Information, Chapter 6 The Hh blood group. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2268/>

Decorte, R. (2013). Accreditation in Forensic DNA Analysis. *Encyclopedia of Forensic Sciences*. Elsevier. [\[Crossref\]](#)

Du, W., Zheng, X., Jiang, L., vd. (2024). Forensic characteristics and genetic structure of the Chinese Tibetan population revealed by 38 X-chromosomal InDel loci. *Forensic Science International*, 111961. [\[Crossref\]](#)

Edwards, A. L., Hammond, H. A., Jin, L., vd. (1992). Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*, *12*(2), 241-253. [\[Crossref\]](#)

Fan, H., & Chu, J. Y. (2007). A Brief Review of Short Tandem Repeat Mutation. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, *5*(1), 7-14. [\[Crossref\]](#)

Fang, Y., Liu, Y., Xu, H., & Zhu, B. (2023). Performance evaluation of an in-house panel containing 59 autosomal InDels for forensic identification in Chinese Hui and Mongolian groups. *Genomics*, *115*(1), 110552. [\[Crossref\]](#)

Filoğlu G., Altuncul H., Bulbul O. (2021) *Adli Genetik ve Genetik Kimliklendirme*. Seçkin Yayınevi, ISBN 9789750273063 Birinci Baskı: Kasım 2021, Ankara

Filoglu, G., Sah, I., Dogan, M., vd. (2017). Application of next generation sequencing in forensic science [Yeni nesil dizilemenin adli bilimlerde kullanımı]. *Medicine Science / International Medical Journal*, *6*(1), 1. [\[Crossref\]](#)

Filoglu, G., Sımsek, S. Z., Ersoy, G., C vd. (2024). Epigenetic based age prediction in blood samples: Model development. *Journal of Forensic Sciences*. [\[Crossref\]](#)

Fondevila, M., Pereira, R., Gusmão, L., vd. (2011). Forensic performance of insertion-deletion marker systems. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, *3*, e443-e444. [\[Crossref\]](#)

Freitas, S. C. N., Resque, R. L., Ribeiro-Rodrigues, E. M., vd. (2010). X-linked insertion/deletion polymorphisms: Forensic applications of a 33-markers panel. *International Journal of Legal Medicine*, *124*(6), 589-593. [\[Crossref\]](#)

Geserick, G., & Wirth, I. (2012). Genetic Kinship Investigation from Blood Groups to DNA Markers. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *39*(3). [\[Crossref\]](#)

González, M. del M., Ramos, A., Aluja, M. P., vd. (2020). Sensitivity of mitochondrial DNA heteroplasmy detection using Next Generation Sequencing. *Mitochondrion*, *50*(July 2019), 88-93. [\[Crossref\]](#)

Grunbaum, B. W. (1977). A microanalytical electrophoresis technique for the determination of polymorphic blood proteins for medical and forensic applications. *Mikrochimica Acta*, *68*(3-4), 339-352. [\[Crossref\]](#)

Hill, C. R., Kline, M. C., Mulero, J. J., vd. (2007). Concordance study between the AmpFISTR® MiniFiler™ PCR amplification kit and conventional STR typing kits. *Journal of Forensic Sciences*, *52*(4), 870-873. [\[Crossref\]](#)

Huang, J., Luo, H., Wei, W., vd. (2014). A novel method for the analysis of 20 multi-Indel polymorphisms and its forensic application. *Electrophoresis*, *35*(4), 487-493. [\[Crossref\]](#)

Huang, Y., Liu, C., Xiao, C., vd. (2020). Development of a new 32-plex InDels panel for forensic purpose. *Forensic Science International: Genetics*, *44*(July 2019), 102171. [\[Crossref\]](#)

Ikemoto, S. (1995). Searching for genetic markers in the fields of forensic medicine and human genetics. *Japanese Journal of Legal Medicine*, *49*(6), 419-431.

Jeffreys, A. J., Wilson, V., & Thein, S. L. (1985). Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. *Nature*, *314*(6006), 67-73. [\[Crossref\]](#)

Jin, R., Cui, W., Fang, Y., vd. (2021). A Novel Panel of 43 Insertion/Deletion Loci for Human Identifications of Forensic Degraded DNA Samples: Development and Validation. *Frontiers in Genetics*, *12*, 210. [\[Crossref\]](#)

Jonakait, R. N. (1982). Will Blood Tell Genetic Markers in Criminal Cases? *Citation Emory Law Journal*, *31*(4), 833-912. https://digitalcommons.nyls.edu/fac_articles_chapters

Lan, Q., Li, S., Cai, M., vd. (2023). A self-developed AIM-InDel panel designed for degraded DNA analysis: forensic application characterization and genetic landscape investigation in the Han Chinese population. *Genomics*, *115*(3), 110620. [\[Crossref\]](#)

Li, C., Zhang, S., Li, L., vd. (2012). Selection of 29 highly informative InDel markers for human identification and paternity analysis in Chinese Han population by the SNPlex genotyping system. *Molecular Biology Reports*, *39*(3), 3143-3152. [\[Crossref\]](#)

- Kayser M. (2017). Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. *Hum Gen.* 136(5):621-35. [Crossref]
- Lan, Q., Shen, C., Jin, X., vd. (2019a). Distinguishing three distinct biogeographic regions with an in-house developed 39-AIM-InDel panel and further admixture proportion estimation for Uyghurs. *Electrophoresis*, 40(11), 1525-1534. [Crossref]
- Li, C., Zhang, S., Li, L., vd. (2012). Selection of 29 highly informative InDel markers for human identification and paternity analysis in Chinese Han population by the SNPlex genotyping system. *Molecular Biology Reports*, 39(3), 3143-3152. [Crossref]
- Metgud, R. (2016). Evaluation of the Secretor Status of ABO Blood Group Antigens in Saliva among Southern Rajasthan Population Using Absorption Inhibition Method. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*. [Crossref]
- Mills, R. E., Pittard, W. S., Mullaney, J. M., vd. (2011). Natural genetic variation caused by small insertions and deletions in the human genome. *Genome Research*, 21(6), 830-839. [Crossref]
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction (ss. 335-350). [Crossref]
- Mullis, K.B. (1993). Nobel Lecture: The Polymerase Chain Reaction. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/lecture/> [Crossref]
- Nakamura, Y., Leppert, M., O'Connell, P., vd. (1987). Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science*, 235(4796), 1616-1622. [Crossref]
- Nilsson, M., Andréasson-Jansson, H., Ingman, M., vd. (2008). Evaluation of mitochondrial DNA coding region assays for increased discrimination in forensic analysis. *Forensic Science International: Genetics*, 2(1), 1-8. [Crossref]
- Norrsgård, K. (2008). Forensics, DNA Fingerprinting, and CODIS | Learn Science at Scitable. *Nature Education* 1(1):35.
- Ozyer, S., Uslu, Z. S., Sapan, T. U., vd. (2023). The development of the novel 22 X-indel multiplex system for forensic genetics. *Legal Medicine*, 62, 102224. [Crossref]
- Owen, R. (2000). Karl Landsteiner and the First Human Marker Locus. *Genetics*, 155(3), 995-8 [Crossref]
- Pereira, R., Phillips, C., Alves, C., vd. (2009). A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. *Electrophoresis*, 30(21), 3682-3690. [Crossref]
- Pereira, R., Phillips, C., Pinto, N., vd. (2012). Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. *PLoS ONE*, 7(1). [Crossref]
- Pereira, R., Pereira, V., Gomes, I., vd. (2012). A method for the analysis of 32 X chromosome insertion deletion polymorphisms in a single PCR. *International Journal of Legal Medicine*, 126(1), 97-105. [Crossref]
- Pimenta, J. R., & Pena, S. D. (2010). Efficient human paternity testing with a panel of 40 short insertion-deletion polymorphisms. *Genetics and molecular research : GMR*, 9(1), 601-607. [Crossref]
- Ribeiro-Rodrigues, E. M., Dos Santos, N. P. C., Dos Santos, Â. K. C. R., vd. (2009). Assessing interethnic admixture using an X-linked insertion-deletion multiplex. *American Journal of Human Biology*, 21(5), 707-709. [Crossref]
- Roewer, L. (2013). DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. *Investig Genet*, 4(1), 22. [Crossref]
- Santos, N. P. C., Ribeiro-Rodrigues, E. M., Ribeiro-dos-Santos, Â. K. C., vd. (2010). Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. *Human Mutation*, 31(2), 184-190. [Crossref]
- Zhang, S., Zhu, Q., Chen, X., Zhao, Y., vd. (2018). Forensic applicability of multi allelic InDels with mononucleotide homopolymer structures. *Electrophoresis*, 39(16), 2136-2143. [Crossref]
- Suraci, N., Mora, M., & Suraci, N. P. (2016). Bombay blood phenotype: Laboratory detection and transfusions recommendations. *International Journal of Blood Transfusion and Immunohematology*, 6, 8-11. [Crossref]
- Syndercombe Court, D. (2021). The Y chromosome and its use in forensic DNA analysis. *Emerg Top Life Sci.* 24; 5(3): 427-441. [Crossref]
- Tao, R., Zhang, J., Sheng, X., vd. (2019). Development and validation of a multiplex insertion/deletion marker panel, SifalInDel 45plex system. *Forensic Science International: Genetics*, 41(April), 128-136. [Crossref]
- Teama, S. (2018). DNA Polymorphisms: DNA-Based Molecular Markers and Their Application in Medicine. *Genetic Diversity and Disease Susceptibility*. InTech. [Crossref]
- The Dna Revolution - The Dna Wars Are Over | The Case For Innocence | FRONTLINE | PBS. (1996). <https://www.pbs.org/wgbh/pages/frontline/shows/case/revolution/wars.html>
- Thorsby, E. (2009). A short history of HLA. *Tissue Antigens*, 74(2), 101-116. [Crossref]
- Yang, C., He, M., Liu, C., vd. (2023). Adli uygulamalar için yoğun paralel sıralama kullanan 114 InDels içeren özel bir panelin geliştirilmesi ve doğrulanması. *Elektroforez*, 44 (21-22), 1704-1713. [Crossref]
- Yuan, X., Wang, X., Lan, Q., vd. (2024). Using two self-developed InDel panels to explore forensic traits and ancestral components in the Hui group. *Genomics*, 116(1), 110756. [Crossref]
- Vidaki, A., & Kayser, M. (2018). Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. *Forensic Science International: Genetics*, 37(July), 180-195. [Crossref]
- Weber, J. L., David, D., Heil, J., vd. (2002). Human diallelic insertion/deletion polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 71(4), 854-862 [Crossref]
- Wyman, A. R., & White, R. (1980). A highly polymorphic locus in human DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(11 1), 6754-6758. [Crossref]
- Xie, T., Xu, H., Zhao, C., vd. (2023). Forensic Validation Studies of a Novel 35-InDel Multiplex Polymerase Chain Reaction System. *Journal of Forensic Science and Medicine*, 9(4), 303-308. [Crossref]
- Zaumsegel, D., Rothschild, M. A., & Schneider, P.M. (2013). A 21 marker insertion deletion polymorphism panel to study biogeographic ancestry. *Forensic Science International: Genetics*, 7(2), 305-312. [Crossref]
- Zhang, S., Sun, K., Bian, Y., vd. (2015). Developmental validation of an X-Insertion / Deletion polymorphism panel and application in HAN population of China. *Nature Publishing Group*, July, 1-7. [Crossref]
- Zhang, X., Shen, C., Jin, X., vd. (2021). Developmental validations of a self-developed 39 AIM-InDel panel and its forensic efficiency evaluations in the Shaanxi Han population. *International Journal of Legal Medicine*, 135(4), 1359-1367. [Crossref]
- Zhao, Z., Fu, Y. X., Hewett-Emmett, D., vd. (2003). Investigating single nucleotide polymorphism (SNP) density in the human genome and its implications for molecular evolution. *Gene*, 312: p. 207-13. [Crossref]

BÖLÜM 2

ADLİ BİLİMLERDE YENİ NESİL DİZİLEME

Güven TOKSOY
Evrin KÖMÜRCÜ-BAYRAK
Burçak VURAL

Adli Bilimlerde Yeni Nesil Dizileme

Next Generation Sequencing in Forensic Sciences

BÖLÜM HAKKINDA

Yeni Nesil Dizileme (YND) teknolojisinin kullanımı, sağlık ve yaşam bilimlerinin ötesine geçerek adli bilimlerde de yerini almıştır. Bu bölümde, YND teknolojilerinin ve metodolojilerinin kapsamlı bir analizi, adli incelemelerdeki uygulamaları ve günümüzde karşılaşılan sınırlılıkları ile birlikte sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Moleküler genetik, varyant, yeni nesil dizileme, moleküler kimliklendirme

ABOUT the CHAPTER

The use of NGS technology has extended beyond health and life sciences and has made its way into forensic sciences. A thorough analysis of NGS technologies and their methodologies is presented in this chapter, along with an examination of their application in forensic investigations and the limitations they currently face.

Keywords: Molecular genetics, variant, next generation sequencing, molecular identification

Giriş

DNA'nın yapısının belirlendiği 1953 yılından bugüne kadar geçen zaman içerisinde moleküler genetik alanında çok hızlı teknolojik gelişmeler yaşanmıştır. Özellikle insan genom projesinde kullanılan DNA dizileme teknolojisi bunların başında yer almaktadır. Birinci nesil dizileme olarak adlandırılan zincir sonlandırma yöntemine dayalı Sanger dizileme, 1977 yılında Frederick tarafından geliştirilen ve 1980 yılında Nobel Kimya Ödülü'ne layık görülen bu yöntemde, *in vitro* DNA replikasyonu esnasında DNA polimeraz tarafından sentezlenen zincire rastgele bir dideoksinükleotid eklenmesiyle meydana gelen fragmanların analizi ile nükleotid dizilimi belirlenmektedir (Sanger ve Coulson, 1975). 1985 yılında, Sanger dizileme yöntemi geliştirilerek floresan boya kullanıldığı otomatik jel sistemleri kullanılmaya başlanmıştır. 1986 yılında DNA dizilemesi için kapiller elektroforeze (KE) dayanan otomatik sistem geliştirilmiştir. Bu dizileme cihazları sayesinde DNA dizilemesi yapmak daha hızlı hale gelmiştir. 2000 yılında ikinci nesil dizileme (second generation sequencing) olarak ifade edilen ve fragmanların aynı anda dizilemesine imkan veren yeni nesil dizileme (YND) (Next Generation Sequencing, NGS) kullanıma girmiştir. YND litaretürde alternatif olarak kitlesel paralel dizileme (MPD) (Massive Parallel Sequencing, MPS) olarak da isimlendirilmektedir. YND platformları yüksek hacimde paralel dizileme yaparak milyonlarca DNA fragmanını eşzamanlı bir şekilde dizilemektedir. Bu sayede tüm genomun bir günden kısa sürede dizilenmesi mümkündür. Jel kullanılmayan ve nükleotid dizilemenin eşzamanlı yapılabildiği YND platformlarında farklı teknikler kullanılabilir. Üçüncü nesil dizileme (third generation sequencing) olarak sınıflandırılan daha yüksek verimle daha küçük başlangıç materyaliyle amplifikasyona ihtiyaç duymadan uzun dizi okumalarına imkan veren "tek molekül dizileme" yaklaşımı ile dizileme teknolojilerindeki gelişmeler devam etmektedir (Kchouk, 2017).

YND öncelikli olarak tıbbi genetik alanında kullanılmaya başlanmıştır. Bugün YND teknolojisi kullanılarak tüm genom dizileme ve mikro-dizilim analizleri ile tek gen hastalıkları yanı sıra kompleks hastalıklarla ilgili de tüm genom ilişkilendirme çalışmaları (Genome-Wide Association Study, GWAS) ve fenom ilişkilendirme (Phenome-Wide Association Study, PheWAS) çalışmaları hızla artmaktadır (Hebbring, 2013; Semmes, 2020). Bu çalışmalar, tıbbi genetikte hastalıklara neden olan yani hastalık patogeneğinde rol oynayan aday genleri ve bu genlerdeki varyasyonları belirlememize olanak sağlamaktadır. Böylece hastalık tanı, ilerleyişi ve tedaviye cevap için çeşitli moleküler belirteçlerin keşfi hızlanmıştır. Bu gelişmeler sayesinde kişiselleştirilmiş tıp daha da önem kazanmıştır.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Güven Toksoy¹

Evrım Kömürcü-Bayrak¹

Burçak Vural²

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,

Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel

Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Ana Bilim

Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta: guven.toksoy@istanbul.edu.tr

ebayrak@istanbul.edu.tr

vburchak@istanbul.edu.tr

Bu bölümü alıntıyla / Cite this chapter as:
Toksoy, G., Kömürcü-Bayrak, E., Vural, B. (2024). Adli bilimlerde yeni nesil dizileme. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 51-67). İstanbul: İÜC Üniversite Yayinevi.

(Janitz, 2008). Günümüzde YND teknolojisi, tıbbi genetik alanı dahil olmak üzere tüm sağlık ve yaşam bilimlerinin neredeyse tüm alanlarında uygulanmaktadır.

Adli bilimler alanına YND teknolojilerinin girişi nispeten yavaş olmuştur. Bunun nedenlerinden biri yeni nesil dizileme cihazları ve kitlerinin akredite olmaması ve Sanger dizileme ile karşılaştırıldığında yeni nesil dizileyicilerin daha yüksek dizileme hata oranlarına sahip olmasıdır. Diğer bir neden ise adli laboratuvarlarda altın standart olarak kabul edilen PCR- KE'nin kullanıldığı kısa ardışık tekrar dizileri (Short Tandem Repeat, STR) analiz sisteminin otomatize olmasıdır. Son gelişmeler nükleik asit analizlerin kalitesini önemli ölçüde iyileştirmiş ve YND, araştırma laboratuvarları yanında, tanı laboratuvarları ve adli laboratuvarlarında uygulamaya girmiştir. Bu bölümde, adli incelemelerde kullanılan ve geliştirilmekte olan YND yaklaşımları hakkındaki güncel bilgiler verilmiştir.

Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri

İnsanda kalıtımı aktaran materyal olan DNA'nın yapısının 1953'de keşfedilmesi ve 1977 yılında Fredrick Sanger ve arkadaşlarının zincir terminasyon yöntemi ile aynı yıl Allan Maxam ve Walter Gilbert'in kimyasal degradasyon yöntemi ile iki yeni DNA dizileme tekniğini yayımlaması (Sanger ve Coulson, 1975; Maxam ve Gilbert W, 1977) genetik çalışmalarda DNA'nın yapısının keşfinden sonraki yeni moleküler çağı başlatmıştır. Sanger dizileme uygulamasının daha basit olması, ticari firmaların sonraki yıllarda KE ve dizileme sistemlerini bu teknik üzerine geliştirmeleri nedeni ile bu yöntemin halen ortalama 700 bazlık gen bölgesinin dizilenmesinde yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır. Maxam-Gilbert tekniği araştırma çalışmalarında nadiren kullanılan bir teknik olduğu için kullanımı sınırlı kalmıştır. İnsan Genom Projesinde, 3 milyar baz içeren insan haploid genomu Sanger dizileme tekniği kullanılarak uzun bir sürede dizilenebilmiştir (<https://www.genome.gov/human-genome-project/Completion-FAQ>).

İnsan genom dizisinin okunması genetik bilgiye dayalı araştırmalarda çığır açmıştır. Ancak, insan genomunun büyüklüğü sebebiyle dizileme çalışmalarında, Sanger dizilemenin izin verdiği maksimum 800 bc'lık okumalarla uygun kalitede diziler elde edilebildiğinden kullanımı pratik olmamıştır. Dolayısıyla bu teknik, 1990'lı yılların başından itibaren yarı otomatik KE sistemleriyle kolay hale gelmiş, günümüzde de yüksek verimin gerekmediği ya da küçük bölgelerin dizilenmesinde ve fragman çalışmalarında halen altın standart olarak kullanılmaya devam etmektedir. Sanger dizilemenin otomatik olarak yapılabildiği KE cihazları maksimum 96 kapiller içeren sınırlı kapasiteleri nedeni ile aynı anda 96 farklı dizi okunmasına olanak vermektedir. Bu sınırlama genom büyüklüğü için çok önemli bir problemdir. Dizilenecek bölge büyüdükçe işgücü, sarf maliyeti ve dizileme zamanı artmaktadır. Sanger dizileme ve Maxam Gilbert dizileme teknolojileri "*birinci nesil dizileme*" olarak adlandırılmaktadır. 90'lı yıllarda insan genom dizilemesinin ~2.7 milyar dolar tutan büyük maliyeti bilim insanlarını dizileme teknolojilerinin geliştirilmesine yönlendirmiştir. Bu çalışmalar, iki farklı dizileme metodolojisi olarak ürün vermiştir. İlki, hibridizasyon yöntemi ile dizileme tekniklerinin birlikte kullanılmasıdır. Bu yöntemde dizisi bilinen hedeflere özgün hazırlanan sentetik oligonükleotidlere örnek DNA'sının hibridizasyonu ve bu bilginin işlenmesi ile tek nükleotid polimorfizmi (Single

Nucleotide Polymorphism, SNP) ya da delesyon duplikasyon gibi büyük boyutlu genomik doz değişiklikleri hakkında bilgi edinilmesi sağlanmıştır (Mirzabekov, 1994; Drmanac, 2002). Hibridizasyon yöntemi ile dizi bilgisine ulaşmak halen mikrodizin (mikro-array) çalışmaları ve revers dot blot tekniklerinde kullanılmaktadır. Diğer gelişme, nükleik asit dizisinin her bir bazının sentez sırasında okunmasına olanak sağlayan sentez yolu ile dizileme yöntemidir. Bu yaklaşımda, Sanger dizilemede olduğu gibi 75 baz ile 600 baz arasında parçalar halinde DNA dizi okumaları sağlanmaktadır. Teknolojinin nanometrik boyutlarda tasarımlara ve piko-litrelik miktarlarda reaksiyonlar oluşturulabilmesine olanak tanınması, ek olarak da bilgisayar sistemlerinin GB (GigaByte) ve TB (TeraByte) seviyesindeki verileri hızla çözümlemesi sayesinde, aynı anda milyonlarca küçük parçalı dizi bilgisinin özel tasarımlı cihazlarla oluşturulması ve incelenmesi mümkün olmuştur. Bu teknolojik atılıma, "*Yeni Nesil Dizileme teknolojileri*" adı verilmektedir. YND teknolojileri, dizileme öncesi amplifikasyonla dizilenecek örneğin çoğaltıldığı ikinci nesil dizileme ve amplifikasyona ihtiyaç duymayan üçüncü nesil dizileme olarak ayrılmaktadır (Kchouk, 2017).

Sanger dizilemede her bir baz, reaksiyondaki aynı pozisyonda sonlanmış tüm fragmanlarından derlenmiş konsensus baz bilgisinden elde edilmektedir. Örnek içerisinde aynı pozisyonda farklı bazlar varsa sonuç IUPAC (The International Union of Pure and Applied Chemistry) kodları (Johnson, 2010) ile miks baz olarak adlandırılır. Oysa YND ile her okunan dizideki baz bilgisi ayrı fragmanlardan (üçüncü nesil dizileme) ya da bu fragmanlardan elde edilmiş monoklonal dizilerden (ikinci nesil dizileme) elde edilir. Bu durum, örnekte bulunan farklı alel ya da hücrelerden gelmiş tüm değişimlerin ayrı ayrı okunmasını sağlamaktadır. Bu nedenle her bir okunmuş dizi üzerindeki baz, A, G, C ve T bazlarından biri ile isimlenmiş olur. Her bir fragmanın ayrı okunması %1'den düşük orandaki mozaiklikleri saptamaya olanak sağlar. Oysa Sanger dizilemede, heterozigotluğu saptama oranı özel ayarlamalar ile dahi %15'in altına inememektedir. Bunun yanı sıra Sanger dizilemede tek bir örnekten okunabilir kalitede 800 bazlık bir konsensus dizi bilgisi alınırken ikinci nesil dizileme teknolojisinde 75-600 baz boyundaki milyonlarca dizi okuması, üçüncü nesil dizilemede ise 5-75 kilobaz uzunluğunda milyonlarca okuma bilgisi elde etmek mümkündür. YND teknikleri Sanger dizileme ile karşılaştırılmayacak kadar yüksek hızda milyarlarca baza kadar çıkabilen dizileme bilgisi üretebilmektedir. YND, birkaç kilobaz uzunluktan sonraki dizileme maliyeti Sanger dizilemeye göre oldukça ucuzdur. Bu bu avantaj dizilenecek bölgenin büyüklüğü arttıkça daha önemli hale gelmektedir.

Yirmibirinci yüzyılın başlarında kullanıma giren YND teknolojileri her geçen gün güncellenmektedir. YND'de ilk geliştirilen ticari platform, Roche 454 sistemidir. Bu sistemde polimerazın nükleotidleri bağlaması esnasında ortaya çıkan pirofosfatın saptanmasını temel alan dizileme yöntemine yönelik bir teknoloji üzerine kurulmuştur ve bu sistemde pirosekanlama yöntemi kullanılmıştır (Margulies, 2005). Birkaç yıl sonrasında daha güncel ve maliyet olarak daha uygun teknolojilerin ortaya çıkmasıyla piyasadan çekilmiştir. Aynı yıl içerisinde Applied Biosystems'in geliştirdiği ligasyon tabanlı dizileme teknolojisi içeren SOLID sistem kullanıma sunulmuştur (Janitz, 2008). Ancak bu sistem de kısa bir dönemden sonra maliyet yüksekliği nedeni ile piyasadan çekilmiştir. Benzer şekilde üçüncü nesil dizileme sistemi olarak kabul edilen

Tablo 1*İkinci nesil dizileme platformlarının temel teknik özelliklerinin karşılaştırılması*

ÖZELLİK	ILLUMINA				ION TORRENT (THERMO FISHER SCIENTIFIC)				MGI			QIAGEN
	iSeq	MiseQ	Nextseq 550-1000- 2000	Novaseq 6000	PGM	Genexus	S5	S5XL	DNBSEQ- G50	DNBSEQ- G400	DNBSEQ- T7	Gene Reader
Maksimum okuma uzunluğu	2x150 bp	2x150 bp	2x300 bp	2x250bp	400	400	400	400	150 bp	200 bp -400 bp	150 bp	100bp-150 bp
Teorik olarak okunabilecek baz sayısı	1.2 Gb	7,5 Gb	120- 360Gb	80Gb- 6TB	2 Gb	6 Gb	26 Gb	26 Gb	150 Gb	1,44 Tb	6 Tb	7,2 Gb
Çalışma süresi	9,5-19 saat	4-24 saat	4-55 saat	12-30 saat	2,5-5 saat	2,5-5 saat	2,5-5 saat	2,5-5 saat	9-40 saat	37-109 saat	24-30 saat	45 saat
Template yöntemi	Solid faz amplifikasyon				Emülsiyon PCR				Solid faz amplifikasyon			Emülsiyon PCR
Dizileme yöntemi	Sentez sırasında solid yüzeyde dizileme				Baz bağlanması sırasında açığa çıkan hidrojen iyonu ölçümü ile dizileme				Sentez sırasında solid yüzeyde dizileme			Sentez sırasında solid yüzeyde dizileme

Açıklama notu. <https://www.illumina.com/systems/sequencing-platforms.html>, <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing.html>, <https://en.mgi-tech.com/products/>, <https://www.qiagen.com/kr/resources/resourcedetail?id=8381fae0-6819-4182-ab5d-d045533c3387&lang=en> kaynaklarından uyarlanmıştır.

Helicos Biosciences'in Helicos dizileme sistemi, tek molekül dizileme tabanlı olup işaretli nükleotidlerin sinyal okumasına dayalı bir teknolojiye dayanmaktaydı. Ancak bu sistem de okuma hatalarının yüksekliği ve rekabeti karşılayamaması nedeni ile üretimden kalkmıştır.

Günümüzde Roche, Solaris ve Helicos'un çekilmesi sonrası YND teknolojilerinde ikinci nesil dizilemede Illumina, Ion Torrent, MGI ve Qiagen Gene Reader sistemleri, üçüncü nesil dizileme teknolojisi olarak da PacBio ve Nanopore sistemleri kullanılmaktadır. Her iki nesil için de temel teknik karşılaştırmalar, Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

İkinci nesil ve üçüncü nesil dizileme sistemleri arasında iki temel fark bulunmaktadır. Bunlardan ilki, kütüphane hazırlığı aşamasında ikinci nesil dizilemelerde amplifikasyon basamağı vardır. Çalışılacak örnek DNA template aşamasında klonal amplifikasyona tabi tutulmaktadır. Bu durum polimeraz hataları ve genetik diziye bağlı olarak gözlenen amplifikasyon veriminin değişkenliği gibi nedenlerle teknik problemler oluşturma potansiyeli taşımaktadır. Oysa üçüncü nesil dizilemede, örnek ön amplifikasyona alınmadığından dizilemede amplifikasyona bağlı hatalardan kaçınılmaktadır. YND nesillerindeki diğer fark okuma uzunluğudur. İkinci nesil dizilemede, maksimum 600 baz uzunluğunda (Thermo Fisher Scientific- Ion Torrent Cihazı) fragman okuması alınabilse de çalışmaların çoğunun yapıldığı Illumina sisteminde maksimum 300 baz uzunluğunda okuma yapmak mümkündür. Bu okuma uzunlukları teorik uzunluklar olup bir çan eğrisi şeklinde daha uzun diziler olduğu gibi kısa diziler de elde edilebilmektedir. Okunan dizilerin kısa olması ya da okuma sonrası gerçekleştirilen düşük kalitedeki bazların 3' uçtan başlayarak yeterli kalitede okuma alanına kadar kırılması nedeni ile işlenmiş kısa dizilerde olduğu gibi farklı uzunlukta fragmanlarla biyoinformatik aşamaya

geçilmektedir. Kısa dizilerin haritalanmasında, farklı sistemlerde farklı algoritmalar kullanılıyor olsa da her zaman problem olabilmektedir. Üçüncü nesil dizileme teknolojileri ile çok daha uzun fragman okumaları gerçekleştirilmektedir. Bu uzunluklar örneğin parçalanma (degradasyonu) oranı ile ters orantılıdır. Ne kadar bozunmamış örnek elde edilirse dizi okumaları da doğru orantılı olarak uzun olmaktadır. Teorik olarak, Oxford Nanopore teknolojisinde →4 Mb'a kadar, PacBio sisteminde 200 Kb'a kadar tek parça fragmanlar okunabildiği bildirilmiştir (<https://nanoporetech.com/products/comparison>; Kraft ve Kurth, 2019). Okunan dizi parçaları ne kadar uzun olursa genomik haritalama o kadar yüksek özgünlükte yapmak mümkündür. Ayrıca lokasyon değişikliklerinde uzun okumaların hassasiyeti çok yüksektir. Üçüncü nesil dizilemede temel problemlerden birisi yüksek hata oranları, kitlerin güncellenmesi ve uygulamada yapılmış olan akılcı teknik gelişmelerle %10'lardan %1'lerin altına düşmüştür. Bu durum, üçüncü nesil dizilemenin yavaş yavaş rutin uygulamalarda kullanımını arttıracaktır.

Yeni Nesil Dizileme Metodolojisi

YND çalışmaları planlama sonrası uygun örnekleme gerektirmektedir. Örneğin, uygun dokudan uygun miktarda nükleik asit materyalinin elde edilmesi zorunludur. Eğer yeterli miktarda örnek yoksa (örneğin tek hücre çalışmaları, blastomer vb.) kütüphane aşamasından önce amplifikasyon basamağı eklenebilmektedir. Bu basamak, polimeraz hataları ve kullanılan amplifikasyon yöntemine göre hata olasılığı taşımaktadır. Ayrıca, tüm genom düzeyinde yapılan çalışmalarda dizi içeriğine bağlı polimeraz performansı değişken olabilmektedir. RNA temelli çalışmalarda, RNA izolasyonu, zenginleştirme ve cDNA çevirimi işlemleri, kütüphane basamağından önce hedeflenen RNA dizilemesine uygun yöntemlerle yapılmış olmalıdır. Benzer şekilde metilom çalışmalarında,

Tablo 2

Üçüncü Nesil dizileme platformlarının temel teknik özelliklerinin karşılaştırılması

ÖZELLİK	PacBio			Oxford-Nanopore			
	Sequel System	Sequel II System	Sequel Ile System	MinION	GridION	PromethION 24	PromethION 48
Fragmanbaşına maksimum okuma uzunluğu *	8-15 Kb*			4 Mb*			
Teorik olarak okunabilecek baz sayısı*	15Gb*	100Gb*	100Gb*	50 Gb	250 Gb	7 Tb'a kadar	Up to 14 Tb'a kadar
Çalışma süresi	20 saat	30 saat		72 saat			
Dizileme teknolojisi	Nükleotidlerdeki farklı floresan işaretli nükleotidlerin polimeraz reaksiyonu sırasında okunması			Nanometrik portlardan DNA'nın geçmesi sırasında oluşan elektrik akım farkına bağlı okuma			

*Hazırlanan örneğin kalitesi ile ilişkili olarak değişmektedir.

Açıklama notu. <https://www.pacb.com/sequencing-systems/>, <https://nanoporetech.com/products/specification> kaynaklarından uyarlanmıştır.

örneğin yakalama (capturing) işlemi, restriksiyon enzim kesimi ya da bi-sülfid çevrimi ile hazırlanmış olmasını gerektirmektedir. Teorik olarak herhangi bir ön işlemden geçmiş ya da geçmemiş tek ya da çok kaynaktan elde edilmiş bir nükleik asit materyalinin kütüphane aşamasına alınıp YND ile dizilenmesi mümkündür. YND çalışmalarında temel olarak iki tip çalışma yapılmaktadır. Bunlar;

- Hedeflenmiş dizileme (targeted sequencing)
- Hedef gözetmeksizin dizileme (Non-targeted sequencing)

YND ek olarak, 4 ana basamak içermektedir. Bunlar;

- Kütüphane hazırlanması (library preparation)
- Taslak hazırlanması (template preparation)
- Dizileme (sequencing)
- Biyoinformatik analiz

Bu basamaklar çalışılan platforma, kullanılan kitlerin versiyonuna göre değişkendir. Üçüncü nesil dizilemede amplifikasyon basamağı bulunmaz, taslak (template) hazırlığı yoktur, ancak kütüphane hazırlığı hem ikinci hem de üçüncü nesil dizilemede bulunmaktadır.

Kütüphane Hazırlanması

Kütüphane hazırlığı, örnekten nükleik asit materyalinin eldesi, platforma ve dizilenecek büyüklüğe uygun parçalara ayrılması, uçlarına her örneğe özgün barkod olarak görev yapan oligonükleotidlerin sistemde taslak hazırlığı ve dizilemede kullanılacak adaptör oligonükleotidlerin ve çalışmanın biyoinformatik değerlendirmesinde gerekli ek bilgilerin toplanacağı oligonükleotidlerin eklenmesi basamaklarını içermektedir.

Kütüphane hazırlığında hangi basamakların kullanılacağı konusunda aşağıdaki sorular cevaplanmalıdır. Bunlar;

- Doğru örnek ya da dokuya karar verme
- Uygun izolasyon tekniğine karar verme

Çalışmanın yapılacağı örnek, hazırlık basamakları için belirleyicidir. Basamaklar aşağıdaki senaryolar göz önüne alınarak ve

istenilen dizileme planına göre oluşturulmaktadır. Bunlar;

- Örneğin tek kaynaktan (birey ya da genom) olup olmaması,
- Tek ya da çok kopya olması, hücreler (tüm genomu içerir)
- Hücre dışı sıvı ya da materyallerden (parsiyel ve parçalanmış genom) elde edilmesi

Kütüphane;

- Gerekli ise DNA'nın fragmentasyon basamağı, amplifikasyon ya da yakalama (capturing) ile istenilen bölge ya da dizilerin örnekteki diğer kısımlardan ayrılarak zenginleştirilmesi
- barkod ve adaptör gibi özgün dizilerin eklenmesini ve
- Gerekli ise istenilen boyutlardaki fragmanların diğerlerinden ayrıştırılması (size selection) basamaklarını içermektedir

Çalışmada hedeflenmiş dizileme yapılacaksa genomik bilginin istenmeyen dizilerinden kurtulmak için ya hedefe özgün yakalama işlemi ya da hedefe spesifik primerler ile amplifikasyon işlemi yapılarak genomik havuzdan istenilen bölgenin çoğaltılarak zenginleştirilmesi sağlanır. Amplifikasyon basamağı bir daha fragmentasyon gerektirmeyen tek tek ya da çoklu kısa polimeraz zincir reaksiyonu (PCR, Polymerase Chain Reaction) ya da uzun PCR ve arkasından istenilen büyüklükte parçalama işlemi kullanılarak hedeflerin zenginleştirilmesi yapılmaktadır. Üçüncü nesil dizilemede hedeflenmiş dizileme yapılacaksa direkt yakalama ya da uzun PCR işlemi ile hedefi diğer genomik bölgelerden ayırma yoluna gidilmektedir. Uzun PCR'nin temel avantajı olan uzun okumaları kaybetmemek için parçalama işleminden ya da örneğin herhangi bir aşamada parçalanmasından kaçınılır. Bu nedenle izolasyon teknikleri nükleik asidin mümkün olduğunca bütün kalması sağlanacak şekilde seçilmektedir.

YND işlemi yapılan örneğin çoklu kaynak ya da genomdan gelmesi durumunda örnek havuzundaki tüm genetik materyal dizi bilgisine yansıtıldığından ya hedeflenmiş dizileme yapılmalı ya da biyoinformatik olarak ayırım yapılmalıdır. Örneğin birden fazla genom içeren bir DNA havuzundan hedef gözetmeksizin dizileme yapılırsa havuzdaki her genoma ait bilgi okunacaktır. Bu durumda özellikle kısa okumalarda yanlış haritalama riski taşımaktadır.

Ancak bu işlemin özellikle uygulandığı NIPT (Non-Invasive Prenatal Test) çalışmaları gibi çalışmalar da bulunmaktadır (Srebniak, 2020). Genomik bilgileri ayırt edebilecek dizi bilgisi varlığına haritalama mümkündür. Birçok bakteri kaynağından elde edilmiş bir DNA havuzunda 16S RNA dizilerinin haritalanması ile metagenomik çalışmalar yapılabilmekte hatta moleküler barkodlamanın klonal olarak kullanılması ile kantitatif olarak örnek havuzundaki her bakteri ya da benzer şekilde viral bilginin toplanması mümkün olabilmektedir (Borthong, 2018).

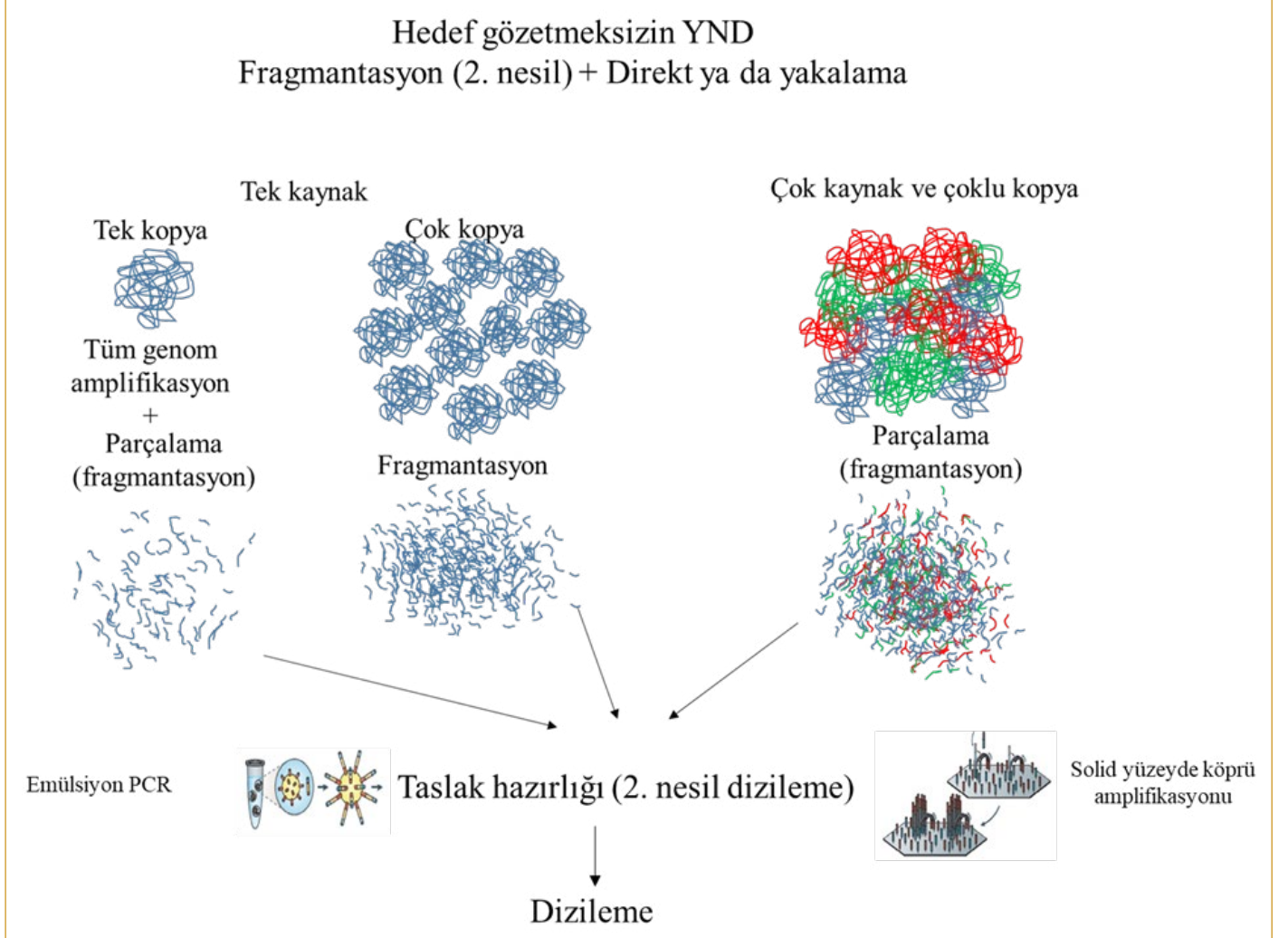
Hedef gözetilmeden YND: Örnekteki nükleik asit havuzu direkt olarak barkod ve adaptör kullanılarak dizilenmektedir. İkinci nesil dizilemede, barkod ve adaptör dizilerin eklenmesinden önce örnek parçalanma işlemine alınmaktadır. Üçüncü nesil dizilemelerde parçalama işlemi yapılmamakta, örnek barkod ve adaptör eklendikten sonra direkt barkod ve adaptör bağlanması gerçekleştirilip dizileme işlemine geçilmektedir (Şekil 1).

Hedeflenmiş YND: Dizilenmek istenen hedef bölgelerin örnek havuzundan ayrıştırılması gerekmektedir. Bunun için kullanılan iki temel yol (McCombie, 2019);

- **Yakalama tekniği:** Çip olarak adlandırılan mikrodizin tekniklerinde olduğu gibi solid yüzeylere ya da boncuklara, hedef dizilere eşlenik sentetik DNA parçaları bağlanmaktadır. Örnek, bu metaryallerle hibridize edilerek havuzda bulunan istenen dizileri içeren DNA parçaları istenmeyenlerden ayrılarak zenginleştirilmiş olur (Şekil 2).
- **PCR amplifikasyonu:** Tek ya da çoklu PCR primerleri, dizilenmek istenen hedeflere spesifik olarak tasarlanmaktadır. Çalışılacak örnek çok kaynaklı (birden fazla genom vb.) DNA materyali içeriyorsa primer tasarımlarının istenen genoma spesifik olması gerekir. Yapılan PCR işleminde istenilen bölgeler çoğaltılarak zenginleştirme sağlanmaktadır. Bilgisayar tabanlı tasarımlarla yapılan çoklu PCR tasarımları, günümüzde tek bir PCR reaksiyonunda 24.000 hedefin aynı anda çoğaltılmasına (24k plex) olanak verecek şekilde geliştirilmiştir. Bu tasarımlar kısa ampikon elde edilecek şekilde tasarlanmışsa, PCR ürününde parçalanma işlemi yapılmadan direkt adaptör ve barkod bağlanarak taslak hazırlama (ikinci nesil) aşaması yapılmaktadır. Üçüncü nesil dizilemede uzun okuma istendiğinden ya da hedef bölgeye özgün kısa PCR tasarımlarının yapılması mümkün değilse uzun PCR (long PCR)

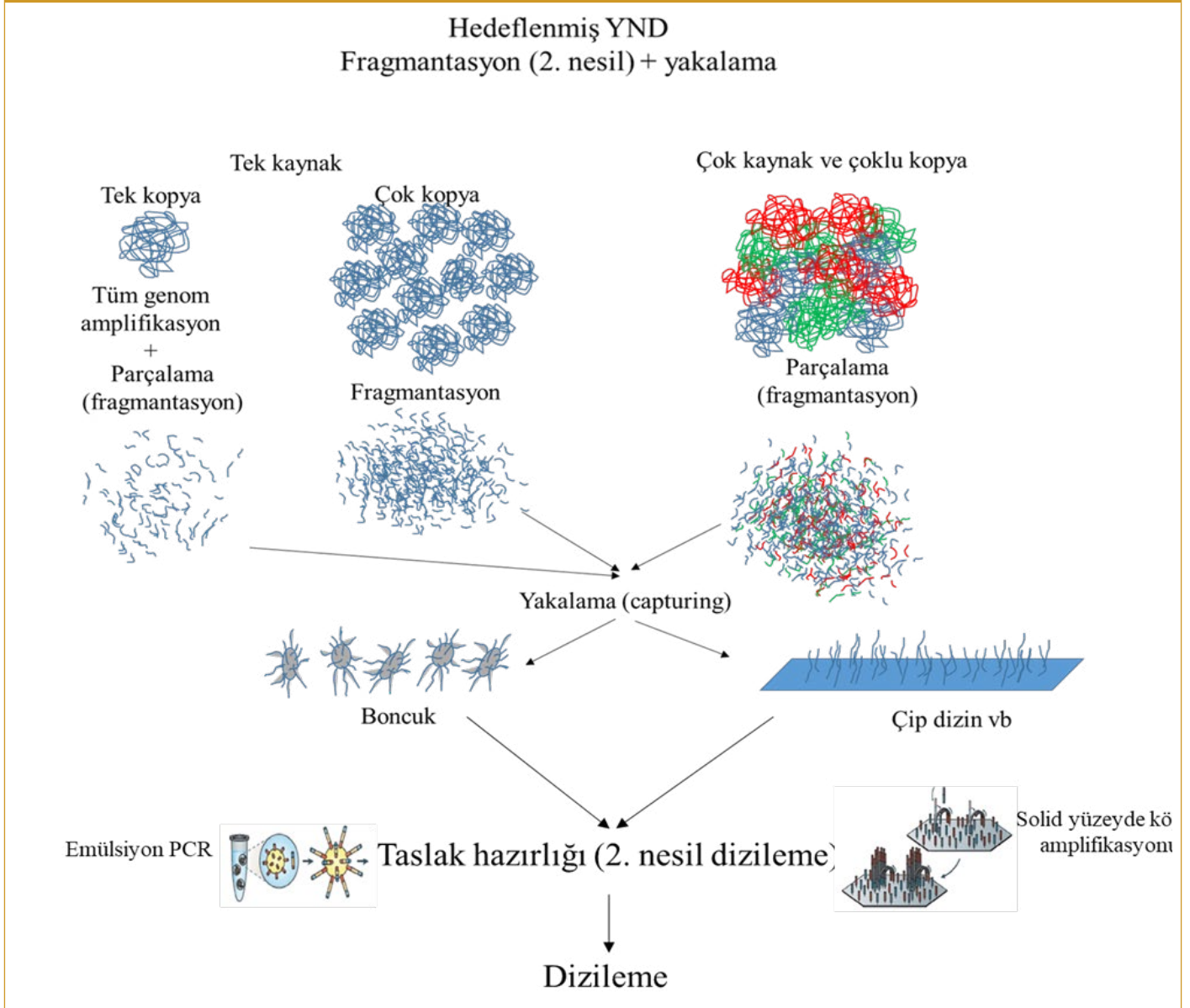
Şekil 1

Hedef gözetilmeden YND işleminde ikinci nesil dizileme yapılıyorsa, örnek nükleik asit havuzu parçalanma işlemi uygulandıktan sonra zenginleştirme yapılarak dizileme işlemine alınırken, üçüncü nesil dizilemede amplifikasyon basamağı atlanarak dizileme işlemine geçilir.



Şekil 2

Hedeflenmiş YND işleminde ikinci nesil dizileme yapılıyorsa, örnek nükleik asit havuzu parçalama işlemi uygulandıktan sonra hedef bölgeler boncuk, çip ya da dizin yöntemi ile hibridizasyon temelli ayrıştırma uygulanarak istenmeyen dizilerden arındırılır ve ikinci nesil dizileme yapıyorsa taslak oluşturularak, üçüncü nesil dizilemede amplifikasyon basamağı olmadan dizileme işlemine alınır. Zenginleştirme yapılarak dizileme işlemine alınırken, üçüncü nesil dizilemede amplifikasyon basamağı atlanarak dizileme işlemine geçilir.



tasarımları ile de hedef bölge zenginleştirilmektedir (Şekil 3 ve 4) (Slatko, 2018).

Taslak Hazırlanması

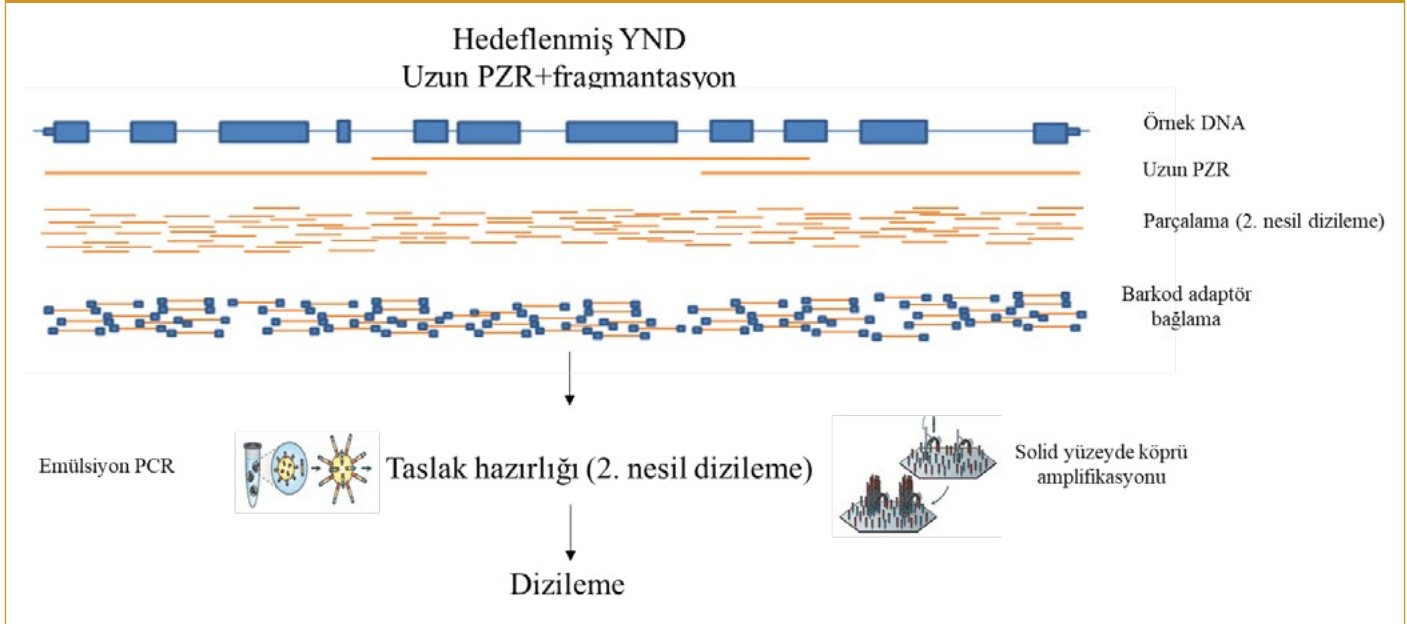
İkinci nesil dizileme sistemlerinde kütüphane hazırlığı sonrası örnekten elde edilen her bir DNA fragmanı için çalışılan platforma uygun klonal amplifikasyon işlemi gerçekleştirilir. Bu işlem dizileme sırasında polimeraz enzimi tarafından gerçekleştirilen her bir bazın bağlanması ile ortaya çıkan reaksiyon ürününün (floresan ışık, iyon yükü, kemilüminesan ışık) ölçülebilir şiddette elde edilmesini sağlamak için gereklidir. Her bir fragmandan elde edilen klon aynı anda aynı baz bağlandığı için çoğaltılmış ölçülebilir bir tepki ortaya çıkmaktadır. Bu işlem Illumina sisteminde solid yüzeyde tek bir klonun tepkisi, Ion Torrent sistemlerinde ise boncuk

üzerinde çoğalmış tek bir klonun tepkisine karşılık gelmektedir.

Boncuklar üzerinde emülsiyon PCR işlemi kullanılarak yapılan amplifiye edilmiş klonal taslak oluşturma yönteminde (Ion Torrent, Gene reader), belirli sayıda sisteme özgün adaptörlere eşlenik olan küçük oligonükleotidlerin bağlandığı boncuklar kullanılmaktadır. Bu boncuklarla optimal dansitede dizilenecek DNA fragmanı birleştirilmekte ve bir yağ emülsiyonu ile PCR işlemi reaksiyon çözeltileri (polimeraz, dNTP, tampon vb) karıştırılmaktadır. Bu işlemde kullanılan cihaz, yağ içerisinde her birine ortalama 1 adet boncuk ve bir adet fragman sığabilecek küçüklükte köpük oluşturur. Köpüğün içinde PCR karışımı, boncuk ve fragman olduğu halde ısı döngü işlemi başlatılarak her bir köpük içerisinde, ayrı bir PCR işlemi gerçekleşen reaktör olarak çalışmaktadır. Isıl döngü aşamasından sonra her bir köpük içerisine

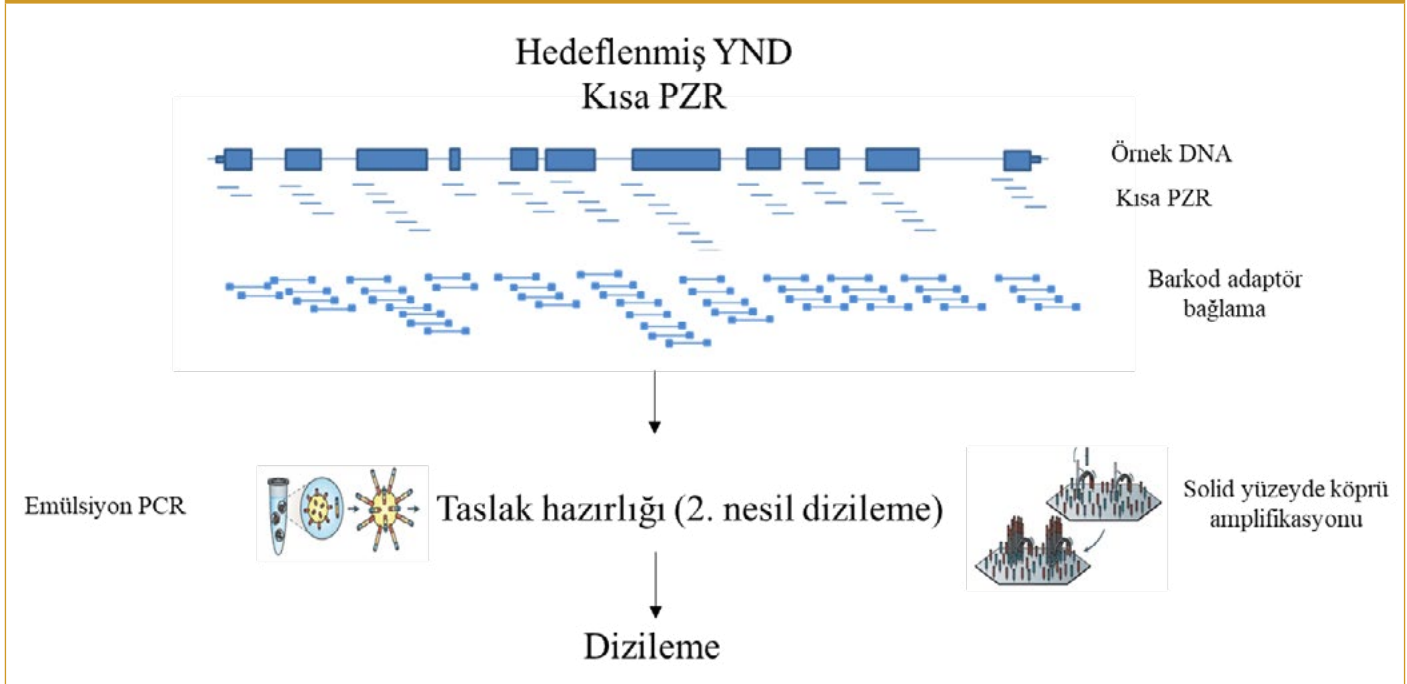
Şekil 3

Uzun PCR kullanılarak yapılan hedeflenmiş YND işleminde ikinci nesil dizileme yapılıyorsa, PCR işlemi sonrası PCR ürünleri örnek nükleik asit havuzu parçalama işlemi uygulandıktan sonra barked adaptör bağlanır ve ikinci nesil dizileme işlemi yapılıyorsa taslak hazırlığı ve sonrası dizileme işlemine alınır. Üçüncü nesil dizilemede parçalama ve amplifikasyon basamağı olmadan dizileme işlemine alınır.



Şekil 4

Kısa PCR kullanılarak yapılan hedeflenmiş YND işleminde ikinci nesil dizileme yapılıyorsa, PCR işlemi sonrası PCR ürünlerine barked adaptör bağlanır ve ikinci nesil dizileme işlemi yapılıyorsa taslak hazırlığı ve sonrası dizileme işlemine alınır. Üçüncü nesil dizilemede amplifikasyon basamağı olmadan dizileme işlemine alınır.



ilk giren fragmanın, boncuklarda binlerce kopyasından oluşan klonu elde edilebilmektedir (Şekil 5). Solid yüzeyde amplifikasyon yönteminde ise lam ya da çip yüzeyi gibi özel olarak hazırlanmış yüzeylere sisteme özgün adaptörlere eşlenik olan oligonükleotidler bağlanmakta ve uygun yoğunlukta örnek DNA fragmanları hibridize edilmektedir. Optimal aralıklarla dağılım sağlanmış ve hibridize olmuş örnek DNA'ları bu yüzey üzerinde PCR ile klonal

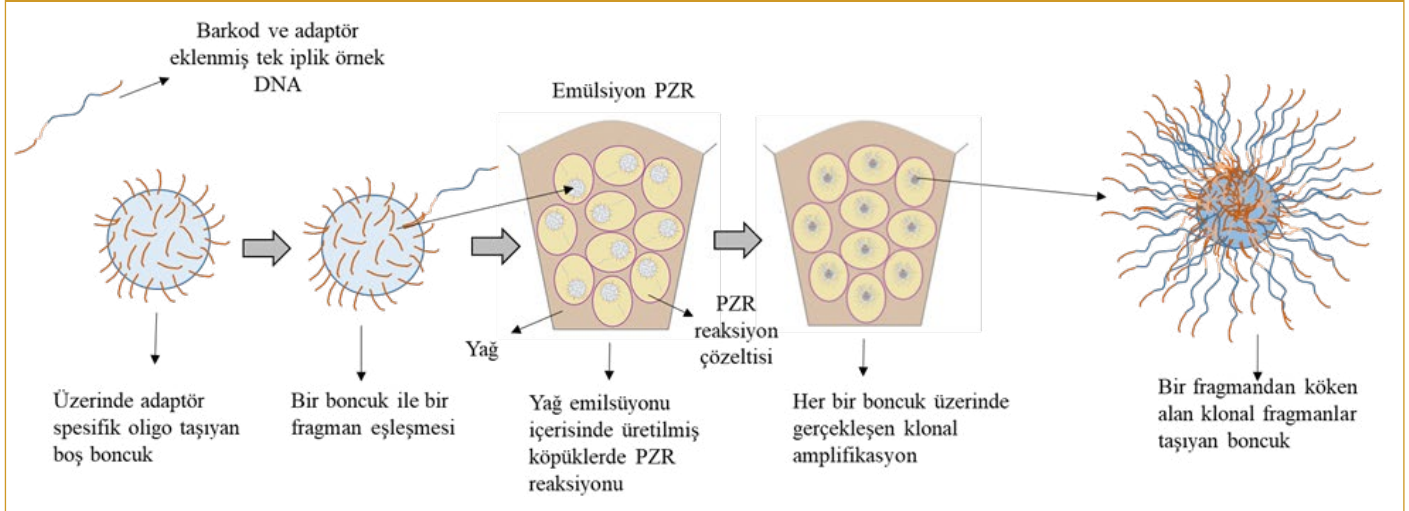
amplifikasyonu yapılmaktadır (Şekil 6) (Zhong, 2021; Toksoy, 2020).

Dizileme

İkinci nesil dizileme platformlarında solid yüzeyde (Illumina) ya da boncuk üzerinde (Thermo Fisher Scientific, Ion Torrent) yapılan taslak (template) amplifikasyon işlemi sonrasında dizileme

Şekil 5

Emülsiyon PCR işlemi ile taslak oluşturma.



işlemine geçilmektedir. Uzun okuma yapan üçüncü nesil dizileme platformlarında kütüphane hazırlığı sonrası taslak oluşturulmakta ve direkt dizileme işlemi uygulanmaktadır.

Illumina teknolojisinde dizileme, dört farklı renkte floresan boya ve tekrar çözülebilir 3' sonlandırıcılar ile modifiye edilmiş dört ayrı nükleotidin, taslak diziyi eklenmesi ile elde edilen dizi bilgisinin saptanması ile gerçekleştirilmektedir (Guo, 2008; Bentley, 2008) (Şekil 7).

Thermo Fisher Scientific Ion Torrent teknolojisinde ise, klonal amplifikasyonla aynı dizi kopyasını içeren boncukların üzerinden nükleotidler sırası ile geçirilerek dizilenmektedir. Bir boncuk üzerindeki dizi klonuna uygun baz bağlandığında tüm klonda bir H⁺ iyonu çıkışı olmaktadır. Sistem, boncuğun bulunduğu kuyucuktaki sensör ile bu H⁺ iyonunu algılamakta ve ilgili bazı o kuyucuğa not etmektedir. Her nükleotid arasında yıkama yapılmakta ve ortamın H⁺ yükü (yani pH'yi) nötralize edilmektedir. Yıkama sonrasında,

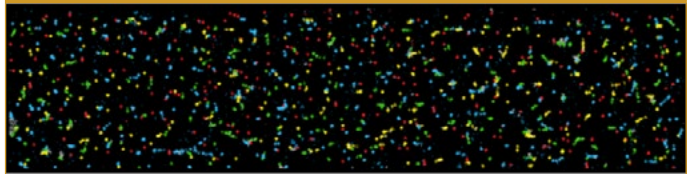
sırası ile diğer üç baz ile aynı işlem tekrar edilmektedir. Bu 4'lü sikluslarla her kuyucuk için baz bağlanması gerçekleştiğinde, dizi bilgisi derlenmiş olmaktadır (Şekil 8) (Zhong, 2021).

Biyoinformatik Analiz

YND çalışmaları ile elde edilen veriler çok fazla olduğundan, verilerin işleme, örneklere göre ayırma, haritalama, filtreleme ve analiz gibi dizileme sonrasındaki tüm biyoinformatik aşamalarda, konvansiyonel çalışmalara göre çok daha fazla bilgisayar desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. YND çalışmalarında verinin işlenebilir

Şekil 7

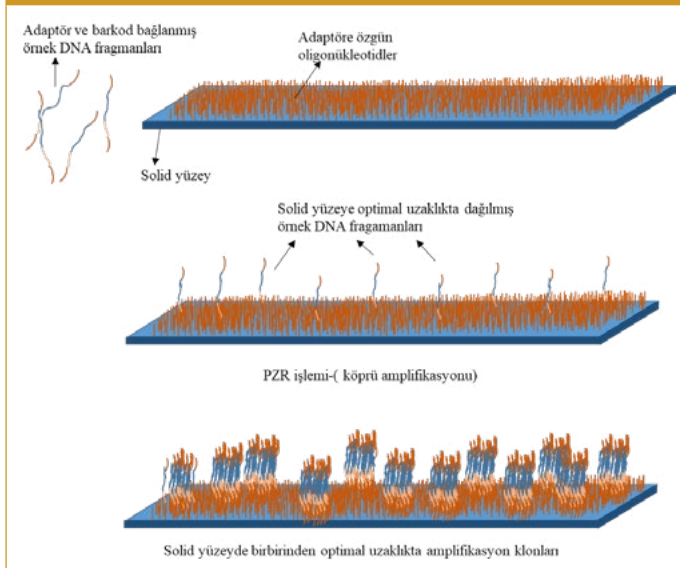
Her bir klon bağlanan nükleotidin floresan renginde ışıma gösterir. Her bir nükleotid eklenmesi ile derlenen baz bilgisi o klon için dizi bilgisini verir.



Her bir klon bağlanannükleotidin renginde ışıma gösterir. Her bir nükleotid eklenmesi ile derlenen baz bilgisi o klon için dizi bilgisini verir.

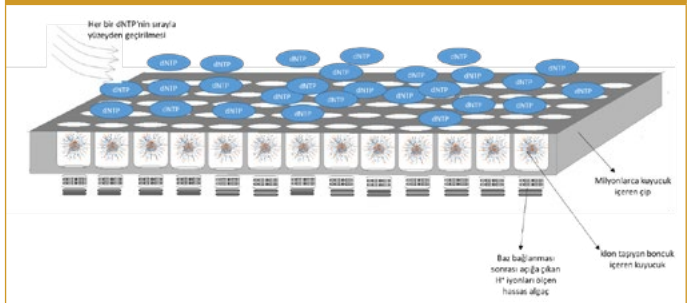
Şekil 6

Solid yüzeyde klonal amplifikasyon



Şekil 8

Her bir kuyucukta klonal olarak çoğalmış fragmanları taşıyan boncuklar dNTP bağlandığında H⁺ iyonu açığa çıkarır ve kuyucuk altında bulunan algıçlar iyon ölçümü yaparak o kuyucu için dizi bilgisini derler.



hale gelmesi ve sonuçların yorumlanmasından önce bir dizi biyoinformatik analiz yapılması gerekmektedir. Bunun için ham veriden baz adlandırması, okunan fragmanların kalite analizi ve 3' uçtan 5' uca doğru kötü bazların kırılması, okunan dizilerin haritalanması ve sonrasında ilgili genotiplerin belirlenmesi (varyant belirleme) basamakları bulunmaktadır. Bu işlemler, belli iş akışı dahilinde otomatik ve platformlara özgün olarak gerçekleştirilmektedir. Bu işlem sonrası elde edilen genotip verisi, özellikle adli tıp uygulamalarında ticari olarak kullanılan kitle özgün analiz programları ile yorumlanmaktadır. Kurumsal (in house) tasarlanan ve optimize edilen adli tıp uygulamalarının analiz algoritması, geliştiricinin tecrübesi ve çalışma optimizasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Bulbul ve Filoglu, 2018; Kwon, 2021; Jäger, 2017; Pang, 2020).

Kimliklendirme amaçlı yapılan çalışmalarda, varyantların ya da STR bölgelerinin fragman çalışılan popülasyon frekansı bilgilerinin kullanıldığı istatistiksel hesaplamalar ile sonuca gidilmektedir. Soy ve fenotip çalışmaları çalışmaya özgün kullanılan varyantlar, veri setlerindeki fenotipik ya da atasal bilgiler ışığında yorumlanması gerekmektedir (Hiroaki, 2015; Pang, 2020; Salvo, 2019). Kimliklendirme çalışmalarında YND yaklaşımları, konvansiyonel fragman tabanlı elektroforez çalışmalarına göre birçok farklı avantaj sağlamaktadır. Bunlar;

- STR tekrar sayısı farklarının ölçüldüğü ve fragman uzunluklarına bağlı yapılan elektroforez tekniklerinde, tekrar dizisi içerisinde ve komşu alanlarında bulunan motiflerin olası insersiyon ve delesyonların maskelenmesi olasılığı bulunmaktadır. YND teknolojisi kullanıldığında hem STR bölgeleri hem de bu bölgelerdeki her bir dizinin baz içeriğini görme olanağı verdiğinden maskelenmiş baz değişimlerinin de gösterilmesini ve daha etkin bir ayırım gücüne erişilmesini sağlamaktadır (Devesse, 2020).
- Birçok örneğin aynı anda çalışılabilmesine olanak vermektedir.
- Klasik fragman tabanlı STR analizlerinde karışık örneklerin ayırımını yapmak zordur. YND ile örnek karışımında bulunan farklı kaynaklı DNA örneklerinin çok düşük karışım örneklerinde bile saptanabilmektedir (van der Gaag, 2016).
- Kötü kalitede, degrade olmuş, düşük miktar ya da mikrobiyal karışımlar içeren örneklerden genomik profil ve metagenomik analizler yapmak mümkündür (Jordan ve Mills, 2021).

Adli tıp çalışmalarında baz belirleme, düşük kaliteli bazların dizi parçalarından çıkarılması (kırılma), haritalama ve varyant belirlenmesi basamakları kit markalarından ve tasarımından bağımsız olarak kullanılan dizileme platformuna özeldir (Børsting, 2015). Ancak, anotasyon ve son analiz aşamasında çalışma kitleri ve hedeflerine göre yaklaşım değişmektedir. Genel olarak bu çalışmalar ticari kitler ile yapılmakta, bu kitlere özel analiz çözümleri ile verilmekte ve uygulanmaktadır (Müller, 2020). Az da olsa kendi "in-house" tasarımı ile çalışan merkezler de mevcuttur. In-house adli tıp çalışmalarında, lokus tasarımından analiz aşamasına kadar başarılı bir optimizasyona ve validasyon gereksinimine ihtiyaç duyar (Kwon, 2021; Jäger, 2017; Pang, 2020). Ticari kitler, analiz aşamalarını kendi analiz program çözümleri ile sunmaktadır. Ancak başarılı bir in-house ya da açık kaynaklı yazılımlar kullanmak da mümkündür (Huszar, 2021; Wang, 2020). STR ve/veya SNP tabanlı ticari kitlerde Avrupa ya da Amerika popülasyonlarında

sıklıkla polimorfik özellik gösteren lokuslar tercih edilmektedir. Ancak bu lokusların bir bölümü farklı popülasyonlarda yeterli ayırım gücü taşımayabilir. Bu nedenle çalışılacak popülasyonun genotipik varyasyonları ile oluşturulmuş in-house kitler etkin bir ayırım gücü gösterebilirler. YND ile yapılan ve farklı SNP lokuslarının tasarımının kullanıldığı mikrohaplotip yaklaşımı adli uygulamalarda fragman analizlerine göre üstünlük taşımaktadır (Kidd, 2013; Kidd, 2014; Kidd, 2018; Hiroaki, 2015; Pang, 2020) (detaylı mikrohaplotip bilgisi için Bkz. Bölüm 5.7).

STR lokuslarının hedef alındığı bir kitle analiz sonrası ilgili örnek de bulunan tüm profiller otomatik olarak verilmektedir. Böylece, farklı örneklerdeki ortak profiller karşılaştırılabilmektedir. Dizileme sonrası STR tekrarlı dizilerin başarılı bir şekilde ayrıştırılması için Converge (Thermo Fisher Scientific), ForenSeq Universal Analysis Software (Verogen) gibi birçok analiz programı geliştirilmiştir.

Adli Bilimlerde Yeni Nesil Dizileme Teknolojisinin Kullanım Alanları

YND teknolojisinin adli tıp alanında kullanıma girmesi, bu alanda yeni bilimsel stratejilerin ortaya çıkmasına neden olmuş ve adli olaylardaki çözüm süreçleri için bir devrim yaratmıştır. YND'nin kullanılması ile olay yerinden toplanan biyolojik örneklerden çeşitli tipte önemli bilgiler elde edilebilmektedir. YND teknolojisi uygulanarak, tek bir alandan toplanan farklı kaynaktan gelmiş karışık içerikteki biyolojik örneklerden elde edilen dizileme bilgilerinde farklı analizler ile ayırım ve tanımlama yapılabilmektedir. Ayrıca aynı örnekte STR'ler, SNP'ler, cinsiyet kromozomları ve mitokondriyal genomlar hatta epigenetik bilgilere ait birden fazla sonuç elde edilebilmektedir. Biyolojik delillerden elde edilen nükleik asit dizileme bilgileri ile diğer verilerin entegre edilmesiyle, şüphelinin STR ile kimliklendirilmesinin yanında şüphelinin biyocoğrafik soyunun ve fenotipinin de belirlenmesi mümkün olmaktadır (Syndercombe Court, 2021a; Syndercombe Court, 2021b; Guan, 2021; Haddrill, 2021). SNP'ler adli genetikte dört farklı amaçla kullanılmaktadır. Bunlar; kimliklendirme, nesep tayini, biyocoğrafik soy ve fenotip tahminidir (Budowle ve van Daal, 2011). Aynı zamanda, vahşi yaşamda hayvanlar üzerinden işlenen suçların aydınlatılması gibi örneklerde olduğu gibi insan dışı canlılarda da kriminal amaçlı kullanılabilir (Kitpipit, 2017). İnsan dbSNP veritabanında alel frekans bilgilerinin geniş kapsamda olması SNP'lerin adli tıp uygulamalarında kullanımına olanak vermiştir. Türlerimize özgün SNP'lerin kullanımı için her bir türün SNP veritabanı bilgilerinin oluşturulması gerekir (Jordan ve Mills, 2021). Kimliklendirme amaçlı SNP lokuslarını içeren kitlerin tasarımında kullanılan SNP'lerin seçimi önemlidir. Bu seçimde alelik frekansların belli oranda olması, dialektik olması, farklı kromozomlar da bulunması ya da 10 Mb'dan uzak olması, intronik bölgelerden seçilmesi Hardy-Weinberg kurallarına uygun ve bağlantı dengesizliğine uyan SNP'lerin seçilmesi istatistiksel açıdan kitle ayırım gücünü yükseltmesi açısından önem taşımaktadır (Lan, 2020).

YND yöntemleri temel olarak, standart analizlerle elde edilebilen DNA, mRNA ve küçük RNA dizilemeleri ile bütün bir genom veya hedeflenmiş yaklaşım kullanılarak tüm nükleik asit türlerinin dizilenmesini sağlamaktadır. Ek olarak, uzun kodlamayan RNA'lar ve snoRNA'nın (küçük nükleolar RNA) gibi spesifik RNA alt tiplerinin yanı sıra metillenmiş DNA'nın daha büyük ölçekli dizilemesi,

YND yöntemleri ile mümkündür. STR ve SNP gibi çok sayıda genetik belirtecin eşzamanlı olarak analiz edilmesine paralel olarak hedeflenen mRNA ve küçük RNA'ların da analizlerinin mümkün olması, YND'yi adli laboratuvarlarda çok güçlü ve nispeten kolay uygulanabilir bir araç haline getirmiştir (Şekil.9) (Ballard, 2020). Son on yılda ise RNA analizinin, doku ve vücut sıvısı tanımlaması, ölüm zamanının belirlenmesi gibi pek çok uygulamada, adli analizlere imkan yaratmıştır. RNA çalışmaları, esas olarak her ortamda bulunan RNAaz'lar tarafından degradasyona yakınlığı nedeniyle daha zor olsa da, kullanışlılığı sebebiyle daha fazla önem kazanmıştır. Özellikle son teknolojik gelişmelerle ve çok az miktarlardaki örneklerin özel amplifikasyon teknikleri ile zenginleştirilebilmeleri sayesinde, adli incelemelerde YND kullanımları ile ilgili çalışmaların sayıları gün geçtikçe artmaktadır (Ballard, 2020). Daha da önemlisi, yüksek verimli YND dizileme teknikleri büyük miktarda veri üretmektedir. Bu verilerin çözümlenmesi de moleküler bileşenler arasındaki ilişkilerin sistematik olarak anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır. Böylece araştırma alanlarında farklı soruların cevabını bulmamıza olanak sağlamaktadır.

Bugün insan örneklerinin yanında insana ait olmayan örneklerde DNA, RNA ve epigenetik analizleri uygulanarak elde edilen nükleik asit analiz sonuçları, delil olarak adli olaylarda kullanılmaktadır. İnsan kaynaklı olan ve olmayan örnekleri içeren adli alandaki DNA analizi uygulamaları arasında; kimliklendirme, babalık tayini, soy tayini, antik DNA ile kemik ve dişlerden kimliklendirme, nesli tükenmekte olan türlerin ve yaban hayatı konu alan adli olayların çözümü, çevresel örneklerdeki DNA üzerinden çeşitli kanıtların değerlendirilmesi, postmortem interval belirlenmesi, mikrobiyom DNA analizi, virüs, bakteri gibi organizmalarda tiplendirme, DNA üzerinden göz rengi gibi fenotip belirleme, biyocoğrafik soy tayini, RNA tiplemesi ile vücut sıvılarının tayini, metagenomik-pangenomik çalışmalar yer almaktadır.

Y Kromozom Analizleri

Y kromozomu, insan hücrelerinin çekirdeğinde bulunan insan cinsiyet kromozomlarından biridir. Erkeğe özgü Y kromozomunun

yaklaşık %95'i rekombinasyona uğramaz ve bu nedenle babadan oğula korunmuş bir şekilde kalıtılır. Bu nedenle, genetik bilgi ile soy ağacı arasında güçlü bir bağlantı sağladığı için disiplinler arası genetik-soy ağacı araştırmaları için güçlü bir belirteçtir. Y kromozomu tek ebeveynli doğası nedeniyle cinsel saldırı; kayıp kişiler; afet mağdurlarının kimliklendirilmesi; karmaşık akrabalık analizi gibi adli olgularda kullanılmaktadır (Jobling ve Tyler-Smith, 1995).

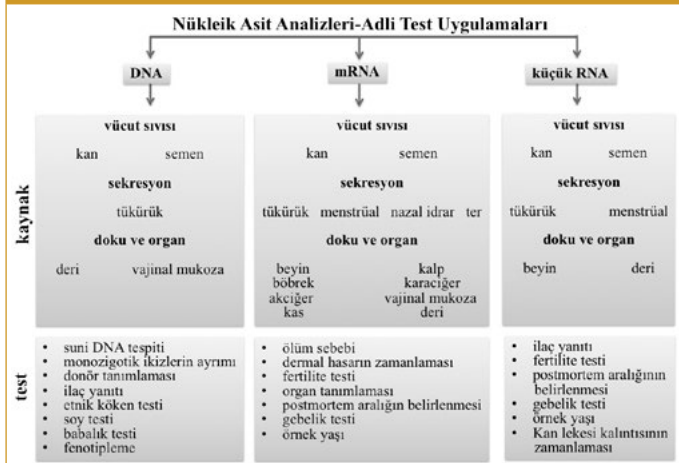
Adli genetikte en yaygın olarak hızlı mutasyona uğrayan (10^{-4} ila 10^{-2} mpg) çoklu alelik varyasyonlar gösteren Y-STR belirteçleri kullanılmaktadır (Gettings, 2015; Butler ve Hill, 2012). Y-STR dizi varyantlarının, adli vaka çalışmasında babayla ilişkili erkeklerin belirlenmesinde yardımcı olup olmayacağını belirlemek için yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda YND teknolojisi de yerini almıştır. Yakın zamanda 64 baba-oğulun Y-STR lokusları, YND teknolojisi ve KE yöntemi ile çalışılarak karşılaştırılmıştır. KE ile gözlemlenen 13 mutasyon YND ile doğrulanmış ve akrabalık ilişkisi olmayan erkekler arasındaki izometrik dizi varyantları saptanarak, YND kullanarak Y-STR'leri dizilemenin ayırım gücünü artırabileceği gösterilmiştir (Bredemeyer, 2021).

Adli bilimlerde kullanılan bir diğer Y-kromozomu belirteci olan Y-SNP'ler ise yavaş mutasyona (gen başına ortalama 10^{-8} ila 10^{-9} mutasyon, mpg) uğrayan, insan soyunu tahmin etmenin yanı sıra evrimsel göç kalıplarını incelemede kullanılan tek baz varyasyonlu bi-alelik belirteçlerdir (Balanovsky, 2017; Butler, 2012; Nachman, 2000). Bugüne kadar, Uluslararası Genetik Geneoloji Derneği insan Y-kromozom Tarayıcısı veri tabanına göre 700.000'den fazla Y-SNP belirlenmiştir (International Society of Genetic Genealogy Human Y-chromosome Browser, ISOGG YBrowse) (ybrowse.org/gb2/gbrowse/chrY). YND gibi yüksek verimli analiz teknikleri, bu sayının sürekli artmasını sağlamaktadır.

Son on yılda yüksek verimli yeni YND teknolojisinin hızla ilerlemesi genetik araştırmalarda devrim yaratmıştır. YND kullanılarak yapılan CSY-Seq analizi ile, hem Y-SNP hem de Y-STR analizleri ile aynı anda birden fazla örnekte çalışılabilmektedir. Yakın zamanda evrim belirteçleri olarak yavaş mutasyona uğramış Y-SNP'leri ve baba-soy (patrilineage) belirteçleri olarak hızlı mutasyona uğramış Y-STR'lerini eşzamanlı olarak tanımlayan ilk kapsamlı Y kromozomu-spesifik hedefli yeniden dizileme panelini (CSYseq) kullanıma sunulmuştur (Claerhout, 2021). CSYseq paneli, 1.279 nesli kapsayan 65 köklü soy ağacına dağıtılan 130 erkeğin eşleştirilmiş uç dizilimi ile doğrulanmış olup, dünya çapında 1.443 insan evrimsel Y-subhaplogrup soyunu tanımlamak için 9.014 filogenetik bilgilendirici Y-SNP de dahil olmak üzere 15.611 Y-SNP'yi içermektedir. Ek olarak, CSYseq paneli, yakın baba akrabalarını bireyselleştirmek için 81 yavaş, 68 orta, 27 hızlı ve 26 hızlı mutasyona uğramış Y-STR dahil olmak üzere 202 Y-STR'yi hedef almaktadır. Bu panelindeki belirteçler, yüksek ortalama okuma sayısını (Y-SNP = 717, Y-STR = 150), kolay yorumlamayı, güçlü ayrımcılık kapasitesini ve Y kromozomu özgüllüğünü kapsamaktadır. CSYseq, farklı zaman ölçeklerinde yapılan evrimsel soyları tanımlamak, uzak aile bulmak ve yakından ilişkili erkekleri ayırt etmek için önemlidir. Bu nedenle, bu panel, evrimsel, popülasyon, moleküler, tıbbi ve adli genetik alanındaki disiplinler arası araştırmalarda çok çeşitli genetik-soy uygulamaları için değerli benzersiz olarak hizmet vermektedir.

Şekil 9

Adli tip testlerinde nükleik asit analizinin en yaygın uygulamaları.



Açıklama notu. Ballard, D., Winkler-Galicki, J., Weso y, J., 2020, Massive parallel sequencing in forensics: advantages, issues, technicalities, and prospects. Int J Legal Med. 134(4):1291-1303 kaynağından uyarlanmıştır.

Mitokondriyal DNA Analizleri

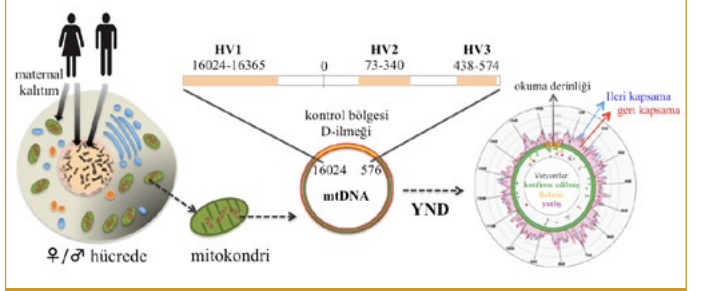
Tüm ökaryotik hücrelerde (eritrositler hariç) enerji sağlayan bir organel olarak bulunan mitokondrielerin sayısı hücrenin enerji ihtiyacına göre değişkendir. Her bir mitokondri ise yaklaşık 2-5 adet histonsuz, çift sarmallı ve dairesel mitokondriyal DNA (mtDNA) molekülüne sahiptir (Şekil 10). Hücre içerisinde sayısının fazlalığı ve kendi replikasyon sistemine sahip olması, mtDNA kopyaları arasında değişkenlik sağlayan yeni varyantların ortaya çıkmasını sağlar. Bu nedenle, bir hücrede, dokuda veya bireyde farklı mitokondriyal genotipler bir arada bulunabilir; bu durum heteroplazmi olarak bilinir. Adli örneklerin eşleştirmelerinde mitokondriyal heteroplazminin analizi kimliklendirmede önemlidir. MtDNA dizilemesi kullanılarak mitokondriyal heteroplazmi ile ilgili en iyi bilinen adli araştırmalarından biri, son Rus Çarı II. Nicholas Romanov da dahil olmak üzere Rus kraliyet ailesinin tanımlanmasıdır (Ivanov, 1996).

Adli genetik laboratuvarlarında klasik mtDNA analizlerinde mtDNA'nın kodlama yapmayan kontrol bölgesinin (CR) konvansiyonel Sanger dizilemesi yapılmıştır. Adli analizde en yaygın olarak dizilenen CR bölgesi içinde hiperdeğişken (hipervariable, HV) üç alan mevcuttur, 16024'ten 16365'e uzanan HV1 bölgesi, 73'ten 340'a kadar olan HV2 bölgesi ve 438 ile 574 arasındaki ise diğerlerinden daha fazla değişkenlik gösteren HV3 bölgesidir (Syndercombe Court, 2021a) (Şekil 10). Ancak, Sanger dizileme yöntemi uygulama hızı, verimlilik, çözünürlük ve maliyet sınırlamalarına ve eşzamanlı olarak çok sayıda örneğin analiz edebilme kısıtlılıklarına sahiptir (González, 2020; Syndercombe Court, 2021a). Artık günümüzde, adli vakalarda, YND'ye dayalı paralel kısa dizilemeler, bir referans örnek ile karşılaştırarak mtDNA'daki heteroplazmik varyantların belirlenmesi için kullanılabilir ve hassas eşleştirmeler ile ayırımı sağlayarak yüksek filogenetik çözünürlük ile tüm mitokondriyal genomu (mitogenom) tanımlayabilmektedir (Syndercombe Court, 2021a). Kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde, sıklıkla kalıntıların bozulmuş olmasından dolayı nükleer DNA yetersiz olduğunda, mtDNA analizi kullanılmakta ve Sanger dizilemeye kıyasla YND kullanıldığında başarı oranı önemli ölçüde artmaktadır (Cuenca, 2020). mtDNA'nın YND analizlerinde, kontrol bölgesi veya mtDNA genomun tümünün dizilenebildiği yaklaşımlar kullanılabilir olup, tüm mtGenom'ları kapsayan haplogrupların (mitokondriyal haplotip testi, mitotyping) belirlenmesi ile adli soruşturmanın sonuçlanması mümkün olabilmektedir (Holt, 2021).

YND uygulamaları ile mitokondriyal heteroplazmi tespitinin duyarlılığı %1'den daha düşük ve hatta %0,5 seviyesine ulaşmış, Sanger dizileme ile belirlenemeyen varyantların tespit edilmesi mümkün olmuştur (Kloss-Brandstätter, 2015; Li, 2015). Bununla birlikte, düşük seviyeli varyantların tespiti, YND'de bile kolay değildir. YND platformlarında okumalar, hizalamadan (alignment) sonraki ve montajlama (assembling) sırasında veya sonrasında dizi hataları (artefaktlar) ve biasları nedeniyle daha fazla rastgele ve sistematik hatalar gözlenebilmektedir (Abnizova, 2017). Bu hatalar, çok düşük seviyede güvenilir bir heteroplazmi ile dizi kirliliği (noise) arasında ayırım kapasitesinin azalmasına sebep olabilir (Just, 2015). YND ile elde edilen verilerin analizinde, heteroplazminin varlığını doğrulamak için güçlü biyoinformatik yaklaşımların gerekli olduğu belirtilmektedir (Syndercombe Court, 2021a). Bu durumda, Sanger dizilemesinin doğruluğu ve okuma

Şekil 10

Adli kimliklendirmede yaygın olarak incelenen mtDNA'nın kontrol bölgesi (D-ilmeği) içinde yer alan hiperdeğişken bölgelerin (HV1, HV2 ve HV3) şematik olarak gösterilmesi ve mtDNA'nın YND ile analizi.



Açıklama notu. Syndercombe Court, D., 2021a, Mitochondrial DNA in forensic use. Emerg Top Life Sci. 5(3):415-426 kaynağından uyarlanmıştır.

uzunluğunun daha büyük olması sebebiyle, YND'ye göre avantajlı olduğunu da öne sürenler mevcuttur (Verma, 2017).

Günümüzde adli tıp araştırmalarında çeşitli YND platformları ve sistemleri kullanılarak YND'nin mtDNA analizlerinin etkinliği tamamen kanıtlanmıştır, ancak güvenilir ve verimli bir veri değerlendirme halen önemli bir husustur (Melchionda, 2020). YND sistemlerinde hangi kit tasarımı ve uygulaması kullanılırsa kullanılsın DNA testlerinin adli kalite güvence standartlarına uygunluğu önem taşır (Scientific Working Group 2016, Federal Bureau of Investigation 2020). Ek olarak, adli kullanım için tasarlanmış yazılımlar ile yapılan değerlendirmelerde, revize edilmiş Cambridge referans dizisi (rCRS) veya küresel adli bilim topluluğu tarafından kabul edilen standartlaştırılmış terminolojiyi kullanarak otomatik mtDNA varyantları analiz edilmektedir (Scientific Working Group 2019). MtGenom YND veri değerlendirmesi için çok sayıda biyoinformatik araç geliştirilmiş olsa da halen hiçbirisi mükemmel değildir ve adli araştırmalarda tam bir veri değerlendirilmesi ile heteroplazmik varyantların belirlenmesi için ikincil bir analiz gerekebilmektedir (Melchionda, 2020).

YND ile Mitokondriyal Heteroplazminin Tespit ve Yorumunda Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Adli laboratuvarlarda çalışılan biyolojik materyallerin çoğu zaman hasar görmüş DNA'ya sahip olduğu bilinmektedir. DNA hasarına örnek saklama koşulları, indükleyici ajanlara maruziyet veya düşük kaliteli numune olması, mtDNA analizlerini etkileyen faktörlerdir ve YND ile varyant tespitini etkileyebilmektedir. DNA hasarının karakterizasyonuna dair yapılan daha önceki çalışmalar, kontrol DNA'sının maruz kaldığı farklı sıcaklık ve pH'daki kimyasallara dayalı kinetik deneylerle sınırlıydı. Daha yakın zamandaki moleküler seviyedeki çalışmalarda ise, ultraviyole radyasyon, oksidasyon, depurinasyon ve deaminasyon indüklemesi ile DNA hasarı karakterize edilmektedir (Rathbun, 2017). DNA hasarına sebep olan koşullar kötüleştiğinde dizi okumalarında, en sık %1-2'sinde gözlenen yanlış anlamlı varyant sayılarında artış olabilmekte ve bu durum gerçek heteroplazminin ayırt edilmesinde sorun teşkil etmektedir. Ancak, YND yaklaşımı ile mtDNA heteroplazminin analizinde, DNA hasarı gibi önemli durumları kapsayan heteroplazmik varyantların çağırılmasında, varyant raporlama eşiklerinin ve yorumlama kriterlerinin oluşturulmasını gerektirmektedir (Rathbun, 2017).

Adli bilimde YND uygulaması sırasıyla, bilinmeyen bir örneğin mtDNA haplotipinin belirlenmesi, heteroplazmi olup olmadığının belirlenmesi ve bu bilgileri referans örneklerle karşılaştırılması şeklindedir. Ancak DNA hasarına dayalı analizlerde, çoğunlukla karışık baz çağrılarına dayalı konumlara sahip oldukları göz önüne alındığında, haplotip belirlemenin ve karşılaştırmaların bozulmadan kalabildiği ortaya konmuştur (Rathbun, 2017). Bununla birlikte, heteroplazmi analizine DNA hasarının etkisinin olmadığından emin olmak için dikkatli bir inceleme gerekir. Genel olarak adli ve klinik araştırmalarda YND ile mtDNA'nın heteroplazmi analizlerinin güvenilirliğinin artırılması, DNA örneklerinin uygun şekilde depolanmasını, bozulmuş numunelerle ilişkili verilerin tekrar analizini, düşük frekanslı varyantlar için artan raporlama eşliğini (%5), transisyon: transversiyon (TS:TV) oranlarının değerlendirilmesini ve/veya şüpheli SNP tanımlanması ile elde edilen haplotip bilgilerinin filogenetik analizini içeren bir yaklaşım uygulanmasına bağlıdır (Rathbun, 2017).

Heteroplazmi tespiti ve yorumunda hesaba katılması gereken bir başka önemli konu, mitokondriyal kaynaklı nükleer dizi eklemelemin (nuclear insertions of mitochondrial origin, NUMT'ler) varlığıdır. NUMT'ler, örnekleri analiz etmek için kullanılan teknik stratejiye bağlı olarak yanlış heteroplazmi varyantlarının saptamasına yol açabilecek mtDNA ile yüksek derecede benzerliğe sahip nükleer DNA (nDNA) dizilerini temsil eder. Sanger dizilime ile mtDNA'yı analiz eden çalışmalarda, NUMT kontaminasyonunun numunenin özelliklerine ve doku tipine bağlı olabildiği ve standart laboratuvar teknikleri ile yapılan amplifikasyonda NUMT'lerin kontaminasyon riski yaratıp yaratmadığına dair görüş ayrılıkları mevcuttur (González, 2020). Ancak YND'de, Sanger dizileme ile algılanamayan nDNA ile ortak amplifikasyon seviyesi kolaylıkla tespit edilebilmektedir. Bu durumda, bazı çalışmalarda \leftarrow %2 tespit seviyesi kullanılarak gözlenen mtDNA heteroplazmik varyantlarının NUMT varlığı nedeniyle yanlış pozitif olabileceğini ileri sürülmektedir (González, 2020).

Sonuçta literatürde kullanılan YND platformlarına göre, kullanılan teknolojik yaklaşımın özelliklerine bağlı olarak heteroplazmi saptama limitleri belirlenmiştir (González, 2020). Bu çalışmalarda, elde edilen dizileme derinliğine bağlı olarak düşük varyant tespit sonuçlarının tutarlı olduğu belirtilmektedir. Buna göre Illumina teknolojisinde, derinliğe bağlı olarak farklı heteroplazmi tespit limitleri rapor edilmiştir: %10 (76X) (Li, 2010) ile ~%2-3 (500X ve 1170X arasında) (Goto, 2011; Li ve Stoneking, 2012; González 2020), ~%1,5 (16700X) (He, 2010) ve %1 (35000X) (Kloss-Brandstätter, 2015). Bununla birlikte, diğer çalışmalar, %1 (1785X) (Tang ve Huang, 2010) ile %0.5-1 (5000X ve 8000X arasında) (McElhoe, 2014) ve %0.5 (3458X) (Li, 2015) arasında değişen daha düşük derinlikte çok düşük frekanslı varyantları saptayabilmektedir. Bu nedenle, özellikle çok düşük seviyelerde tespit edilebilecek varyantlar için, güvenilir bir heteroplazmi tespiti sağlanmasında heteroplazmi tespit limitinin oluşturulması önemlidir. Ayrıca, heteroplazmi saptama limitinin oluşturulması, NUMT ile ortak amplifikasyon riskinin azaltılmasına katkı sağlamaktadır (González 2020). Ek olarak, NUMT ve mtDNA'nın birlikte amplifikasyonunda hatalı sonuçları engellemek için detaylı bir primer tasarımının yapılması önem taşımaktadır (González, 2020).

Yeni Nesil Dizileme ile Epigenetik Analizler

Adli incelemelerde kullanılan genel yaklaşım, şüphelilere ait

referans materyaller mevcut olduğunda yapılan karşılaştırmalardır. Ancak referans örneğin olmadığı durumlarda yeni ipuçları sağlamak için araştırmacılar, kanıt örnekten fenotipik özellikleri, DNA ve epigenetik belirteçleri kullanarak tahmin etmeye çalışmaktadır. Şimdiye kadar, en iyi araştırılan dış görünüş özellikleri, göz, saç ve ten rengi yanı sıra biyocoğrafik soy ve yaşdır. Bir leke donörünün (veya herhangi bir numune donörünün) kronolojik yaşı ile ilgili bilgiler, birçok açıdan adli incelemeler için temel niteliktedir ve bu nedenle, araştırmacılar tarafından daha ayrıntılı olarak incelenmiştir (Parson, 2018).

Epigenetik DNA Metilasyon Analizi

Adli araştırmalarda yaş tahmini, kimliği belirsiz bir kişi hakkında bilgi sağlanmasında önemli bir rol oynar ve böylece potansiyel kişilerin listesi daraltılır. Bir bireyin en önemli dış görünüş özelliklerinden (external visible characteristics, EVC'ler) biri yaşdır. Bazı moleküler tabanlı yöntemlerde de (bireyler arası farklılıklar, mitokondriyal DNA'daki 4977nt-delesyon ve telomer uzunluğunun belirlenmesini etkileyebilmektedir) çeşitli sınırlılıklar mevcuttur. Ancak, epigenetik mekanizmalardan biri olan yaşa bağlı DNA metilasyonu, güvenilir bir yaş tahmini için kullanılabilir (Guan, 2021; Koop, 2021). Bugüne kadar test edilen farklı metodolojik yaklaşımlar arasında, seçilmiş DNA belirteçlerinin (CpG bölgeleri) metilasyonuna dayalı analizi, görgü tanığı raporlarına göre \pm 3-4 yıllık tahmin doğrulukları sağlayabilmektedir (Parson, 2018). DNA metilasyon modellerinin analizine dayalı yaş tahmini, son birkaç yılda adli araştırmaların odak noktalarından biri olmuştur (detaylı bilgi için Bkz. Bölüm 5.7)

Günümüzde, CpG bölgelerini analiz etmek için en yaygın olarak kullanılan yöntem, bisüfit dönüştürülmüş DNA'nın dizi analizidir. YND insan metilasyon sistemleri ile büyük bir metilasyon paterni verisi oluşturulabilmektedir ve bunlara genellikle epigenetik çalışmalar için yaş öngören testler geliştirmek için zengin bir kaynak sağlayan genel veri tabanlarından doğrudan erişilebilmektedir (Parson, 2017).

Adli incelemelerde, yaşayan bireylerin DNA örnekleri taze numunelerden elde edildiği için DNA miktarı ve kalitesi açısından sorun olmamaktadır. Ancak YND ile postmortem epigenetik yaş tahmini için CpG bölgelerinin metilasyon miktarlarının belirlenmesini sağlayacak kalitede DNA eldesi için hangi tip numune türlerinin uygun olduğu bir başka önemli husustur (Koop, 2021). Postmortem vakalarda, kan örneği yanı sıra yeterli miktarda DNA mevcut olduğu sürece, bukkal sürüntülerin DNA metilasyon analizi için uygun ve toplanması kolay bir kaynak olduğu belirlenmiştir. Ancak epigenetik yaş tahmininde ileri düzeyde bozulmuş postmortem numunelerden elde edilen çok düşük miktardaki DNA örneklerinin çalışılmadığı belirtilmektedir (Koop, 2021).

Bu teknik problemler nedeniyle, postmortem uygulamada güvenilir bir epigenetik yaş tahmini için farklı bozulma aşamalarında olan vakaların çeşitli dokularında ve çeşitli DNA metilasyon belirteçlerini içeren kombinasyonları araştıran daha fazla çalışma verisine ihtiyaç vardır (Becker, 2020). Sonuç olarak, adli laboratuvarlar arasında bu testlerin tekrarlanabilirliğini geliştirmek için adli epigenetik analizlerin standart iş akışlarının hazırlanması gerekli görülmektedir.

Küçük RNA'ların Analizi

Küçük RNA'lar, türler boyunca korunan kısa, 18-21 nükleotid uzunluğunda moleküllerdir. Küçük RNA profili, tek başına adli analiz olarak bilgilendirici olmasa da, numune kaynağının belirlenmesi ile ilgili adli bilgiler sağlayabilmektedir (Ballard, 2020). MikroRNA'lar (miRNA), küçük kodlamayan RNA'ların bir alt grubudur ve hem hücre içinde hem de hücre dışına aktarılarak diğer hücrelerde gen ekspresyonunun düzenleyicileri olarak rol oynayan epigenetik faktörlerden biridir. Ekstrasellüler miRNA'lar, apoptotik cisimler, mikroveziküller ve ekzozomlar gibi vezikül benzeri moleküllerde bulunur ve bazen proteinlerle birleşirler (özellikle AGO2). miRNA'ların bu özellikleri, RNAaz degradasyonundan korunmasını sağlayarak biyolojik sıvılardaki stabiliteyi arttırmaktadır (Turchinovich, 2011). Vücut sıvısı tanımlaması veya orijinin belirlenmesi için yapılan çok sayıda çalışmada, YND dahil farklı yöntemler ile miRNA profilleri yapılmış ve adli olarak venöz kan, menstural kan, semen, vajinal salgı ve tükürük olarak beş vücut sıvısında kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Praihirunkit, 2020). Herhangi bir doku veya sıvıdan elde edilen tüm RNA profillemeleri, doku/sıvı tipi hakkında bilgi sağlamakta, aynı zamanda küçük RNA ekspresyon paterni değiştiği için bireyin sağlık durumu, kanser dahil birçok hastalık hakkında da ek bilgilere ulaşılabilir. Uzun kodlamayan RNA'lar dahil olmak üzere birçok farklı RNA alt tipi için benzer çalışmalar yapılmaktadır (Ballard, 2020).

Adli incelemeler için geliştirilmeye çalışılan miRNA profillemelerinde en ideal strateji, vücut sıvılarında farklı şekilde eksprese edilen miRNA'lardan oluşan ve bilinmeyen örneklerin tanımlanmasını sağlayacak şekilde oluşturulmasıdır. Bazı çalışmalarda bu stratejiyi başarmak için, çeşitli model analizleri geliştirilmiştir ve bazıları da önceki çalışmalarla örtüşen miRNA'ları belirteç olarak kullanmıştır. Genel bir değerlendirme olarak, bu çalışmaların sonucunda, tüm panellerin genel olarak kanın ve semenin belirgin bir şekilde tanımlanmasına izin verdiği, buna karşın aday miRNA'ların vajinal sekresyon ve tükürük ile daha az ilişki gösterdiği belirtilmektedir. Sonuçta, adli olguların incelemesinde, kan ve semen tanımlaması için miRNA belirteçlerinin kullanılabilirliği sürdürülmektedir (Praihirunkit, 2020).

Günümüzde, adli olarak ilgili vücut sıvılarının tanımlanması kullanılan diğer bir genetik sistem ise mRNA temelli analizlerdir. mRNA analizlerinde; DNA/mRNA'nın birlikte ekstraksiyonu, mRNA profilinin oluşturulması, veri yorumlaması ve DNA/mRNA ortak analizinin yapılabilmesi bu genetik sistemlerin miRNA'ya göre daha fazla tercih edilmesini sağlamıştır (Haas, 2012; Carnovali, 2017; van den Berge, 2017; Haas, 2011; Haas, 2013). Ancak, farklı laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda miRNA belirteçleri belirlenmiş olsa da, miRNA/mRNA'ların ortak analizinin yapılmasının vücut sıvısı tanımlamasındaki yaklaşımın kapasitesini en üst düzeye çıkarabileceği ileri sürülmektedir (Praihirunkit, 2020). Nükleik asit ekstraksiyonu aşamasında, birkaç çalışmada, adli olarak ilgili vücut sıvılarındaki miRNA'ların standart DNA ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak DNA ile birlikte ekstrakte edilebildiği gösterilmiştir (Omelia, 2013; van der Meer, 2013; Lewis, 2019). YND stratejisi ile birleştirildiğinde, mRNA'lar ve küçük RNA'ları da içeren kaliteli bir total RNA ile birlikte DNA ekstraksiyonu (Watanabe 2020), özellikle örnek miktarları sınırlı olduğunda vücut sıvılarının tanımlanması ile ilgili protokolünün geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Yeni Nesil Dizileme ile Mikrobiyom Analizleri

Birbiri ile ilişkili bireylerin veya grupların tamamındaki genomik bilgi koleksiyonlarına pangenomik denilmektedir ve genomik karşılaştırmalarda YND yaklaşımı kullanılmaktadır (Hu, 2011; Jordan, 2021). Bu konuda yapılan ilk çalışmada, 2005 yılında mikrobiyal popülasyonun içeriği belirlenmiştir (Tettelin, 2005). Bu ilk çalışmalardaki pangenom anlayışı, bir asıl genom ve bir de ilave (dispensable) genom tarif edilmektedir. Asıl genom, analiz edilen gruptaki (bir tür veya cins gibi) tüm bireyler tarafından paylaşılan genleri, ilave genom ise genellikle grup arasında sadece kısmen paylaşılan tüm diğer genleri içermektedir. Bir grup genomdaki çeşitliliğin ve korunmuşluğun ortaya çıkarılması, SNP filogenetik ağaçlar ve çoklu dizi hizalamaları (multiple sequence alignments) ile kümelendirilerek mümkün olabilmektedir. Özellikle insan genomlarında pangenomik analizler için grafiksel modellerin geliştirilmesi üzerine araştırmalar sürmektedir (Outten, 2021). Metagenom ise bir çevre örneğinde, potansiyel olarak birçok farklı organizmanın içindeki tüm genomik içerik olarak açıklanmaktadır (Outten, 2021).

Mikrobiyomik ve metagenomikler ile ilgili yapılan araştırmalar, genomik dizileme teknolojisindeki, mikrobiyal örnekleme yöntemlerindeki ve biyoinformatikteki gelişmelerle hız kazanmıştır (Robinson, 2021). Bu araştırma sahası, insanların çevrelerindeki ortamlarla sürekli etkileşime girmesi ve vücutlarında kişisel özgülüğe sahip çeşitli mikrobiyal topluluklara ev sahipliği yapması sebebiyle, insan ve çevresel mikrobiyal profillerin analizleri ile birey ile ilgili bilgiler elde edilebildiğinden adli bilimlere için önemli bir potansiyel olarak değerlendirilmiştir (Robinson, 2021) (detaylı bilgi için Bkz. Bölüm 3.4). Tüm genom dizileme yöntemleri ile ilgili genomlar arasındaki benzerliklerin ve farklılıkların analizlerinin adli bilimlerde kullanımları halen araştırma safhasındadır.

Adli bilimlerde mikrobiyal profil oluşturma, mikrobiyal imzalara sahip bireylerin tanımlanmasında kullanılmak üzere gelişmekte olan bir alandır. Nükleer DNA eldesi için mevcut standart işletim prosedürlerini (standard operating procedures, SOP'ler) kullanan bir adli laboratuvar ortamında numuneler arasında mikrobiyal transferin gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini belirlemek, bu tür prosedürlerin mikrobiyal profil oluşturma için uygunluğunu değerlendirmek ve adli amaçlar için mikrobiyal profil oluşturma potansiyel sınırlamalarını belirlemek önemlidir. Bu incelemeler için yüzey sürüntüleri, kişisel koruyucu ekipmanın (PPE) dış yüzeyleri, doğrudan el temasından aktarılan mikrobiyotaya içeren materyaller üzerinde yapılabilir ve mikrobiyotaya transferleri YND yaklaşımları ile tespit edilebilmektedir (Neckovic, 2021).

İnsan mikrobiyomu, vücudunda var olan tüm canlı organizmalardan oluşur ve bakteri taksonlarının alt tür seviyesi de dahil olmak üzere her bireye özgü insan mikrobiyomunun mevcut olduğu kabul edilmektedir. Bundan dolayı, suç faaliyetleriyle bağlantılı şüphelileri ve/veya mağdurları belirlemek, ilişki kurmak veya dışlamak için insan mikrobiyomunun örneklenmesi ve analiz edilmesi bir potansiyel oluşturur. Mikrobiyomlar oral, bağırsak ve cilt ortamlarında ve bir kişiyi çevreleyen havada dahi tanımlanmış olsa da, cilt mikrobiyomları spesifik bakteri topluluğu nişlerini içerir. Bu nişler analiz edildiğinde, hangi vücut bölgesinin örneklediğine bağlı olarak farklı mikrobiyal profiller oluşturabilir (Neckovic, 2021).

Adli araştırmalarda, bir kişinin ölümünden sonra geçen sürenin belirlenmesi genellikle soruşturmasının önemli bir parçasıdır ve bunun tahmin doğruluğunu arttırmak için, araştırmacılar, YND yaklaşımlarını kullanarak tanatomikrobiyom (postmortem mikrobiyom) incelemeleri de yapmaktadır (Javan, 2016; Burcham, 2019; Robinson, 2021; Jordan, 2021). Ölümünden sonra, mikrobiyotanın kolonizasyonu artmaktadır ve ölüm zamanının belirlenmesine yardımcı olabilecek belirli organlarda önemli değişikliklere sebep olmaktadır (Adserias-Garriga, 2017).

Adli Araştırmalarda Mikrobiyal Profillemede Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Adli araştırma ortamında, YND uygulamaları ve analizlerinde kontaminasyonun (teknisyenlerden, reaktiflerden veya laboratuvar ortamında adli mikrobiyom örneklerinin mikrobiyotasından) ve istenmeyen mikrobiyal transferin (örneğin, kanıt materyalleri, laboratuvar yüzeyleri veya ekstraksiyon tüpleri arasında) engellenmesi gerekmektedir. Bu risklerin saptanabilirlik sınırlarını değerlendirmek, adli ortamlarda çalışan personelin mikrobiyal benzerliğini belirlemek ve analizlerde negatif kontrol örnek olarak kullanılabilmelerini sağlamak için mikrobiyal profillemelerinin yapılması gerekmektedir. Özellikle geliştirilmiş yazılımlar ile dekontamine edilmiş dizileme verilerinin etkisi ve geniş katımlı iyi karakterize edilmiş negatif kontrol profillemeleri, adli araştırmalar için gerekli görülmektedir (Neckovic, 2021). Ancak, personel mikrobiyotasının analizlerden eliminasyonu için mikrobiyom veritabanı oluşturulmasının bir personelin mikrobiyal profilinin nükleer DNA profilinin aksine zamanla değişebildiği göz önüne alındığında, insan DNA veritabanı ile aynı değere sahip olamayacağı görüşü hakimdir (Neckovic, 2021). Adli mikrobiyal profil oluşturmaya yönelik uygulamalarda özellikle kadavralarda mikrobiyal profilleme işleminin gerekliliklerini ve kişisel koruyucu ekipman (personal protective equipment, PPE) giymenin önemini belirten SOP'ler halen netlik kazanmamıştır. İnsan sağlığı ile ilgili araştırmalardaki mikrobiyom analizlerinin standardizasyon eksikliğine ilişkin endişeler, mikrobiyom çalışmaları arasında tekrarlanabilirliği sağlamak amacıyla belli bir ölçüye kadar ele alınmıştır (Sinha, 2017). Sonuç olarak, adli bilimlerde mikrobiyal profil oluşturmanın potansiyel uygulamalarına artan ilgi göz önüne alındığında, numune almak, ekstrakte ve analiz etmek, ek olarak araştırma numunelerine istenmeyen ek mikrobiyal transfer ve kontaminasyonu en aza indirmek için kullanılan yöntemlerin geliştirilmesi, mikrobiyal profillemenin etkinliğini arttırmak için gerekli görülmektedir. Bu sorunların üstesinden gelmek için araştırmalar devam etmektedir ve mikrobiyom temelli kanıtların gelecekte adli soruşturmalara katkıda bulunabileceği öngörülmektedir.

Sonuç

Adli davalarda ilk DNA analizlerinin kullanılmaya başlanmasının üzerinden yaklaşık otuz yıl geçmiştir. Bugün artık YND teknolojilerinin kullanıldığı DNA analiz sonuçları mahkemelere kanıt olarak sunulmaya başlanmıştır. YND adli mercilere suçları çözmek için yeni fırsatlar sunmaktadır ve YND'nin adli bilimlerdeki geçerliliğine ait veriler hakemli dergilerde yayınlanmaktadır. YND, ceza davalarına, kitlesel felaketselere ve kayıp kişilerin adli davalarına kadar farklı olaylarda başarıyla uygulanmaktadır.

YND'nin adli bilimlerde etki yaratmaya başlaması ancak 2010'lu yıllardan itibaren olmuştur (Minogue, 2019). YND şu anda insan

kanı, yanak, kemik veya diş örnekleri kullanılarak kimliklendirme, fenotipleme ve soy uygulamaları için kullanılmaktadır (Jäger, 2017). Birleşik DNA İndeks Sistemi (CODIS) aramaları için Amerika Birleşik Devletleri ceza adalet sisteminde insan genotipleme verilerini toplamak için onaylanan ilk YND kiti 2019'da onaylanmıştır (Verogen medya açıklaması, 2019). YND'nin insan genotipleme uygulanmasındaki ilerlemeye paralel olarak, YND'nin adli uygulamalar için mikroorganizma türlerinin karakterize edilmesinde faydalı olduğu bulunmuştur (Minogue, 2019).

1980'li yılların başında adli bilimlerde kullanılmaya başlanan DNA analizlerinin, adli bilim alanındaki gelişimine tarihsel olarak bakıldığında erken dönem HLA-DQ α ve tek lokuslu STR belirteçlerinin PCR yöntemi ile belirlendiği çalışmalar yer almaktadır. Bu dönemde Türkiye'de farklı kurumlar DNA analizlerinin adli tıp alanına girmesi için çalışmalara başlamıştır. Türk toplumuna ait HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBG β , D7S8 ve GC ve bazı STR belirteçlerine ait alel sıklıkları uluslararası dergilerde yerini almıştır (Vural, 1998a; Vural, 1998b; Aşcıoğlu, 2002). Aynı dönemde elde edilen bu veriler kullanılarak Adli Tıp Kurumu ve İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü işbirliği ile HLA-DQ α ve diğer lokuslar adli tıpta babalık tayini davalarında kullanılmıştır (Vural, 2002). Ülkemizde artık adli genetik analizler, Adli Tıp Enstitüleri, Emniyet ve Jandarma adli genetik laboratuvarlarında en son DNA teknolojileri kullanılarak hizmet vermeye devam etmektedir. Adli bilimlerdeki yer alan bilim insanlarımız araştırmalarını uluslararası platformlarda sunmakta ve ayrıca adli bilimlerde kullanılmak üzere kitler geliştirmektedir (Bulbul ve Filoglu, 2018).

YND'nin adli bilim alanındaki YND kullanımını artarken gözden kaçırılmaması gereken sorunlar da bulunmaktadır. Alonso ve ark. (2017) çalışmasında, YND sistemi kullanan 17 farklı laboratuvar dan elde edilen geri bildirimler değerlendirildiğinde yeni teknolojinin kullanımına ait temel zorluklar arasında en yaygın dört problemi saptamıştır. Bunlar;

- İsimlendirme ve raporlama standartlarının eksikliği,
- Halihazırda [DNA Veritabanı](#) alt yapısıyla uyum eksikliği,
- Yeni bilgiler ile detaylanan istatistiksel hesaplamaları destekleyecek popülasyon verilerinin henüz oluşmaması
- YND sistemini ile elde edilen bilgilerin kullanımında yasal prosedürlerin tamamlanmamış olması şeklinde bildirilmiştir (Alonso, 2017).
- Ayrıca üzerinde durulması gereken konular arasında finansman, eğitim, istatistik, genetik mahremiyet endişeleri, kontaminasyon sorunları, numune takibi, akreditasyon, vaka çalışması ve mahkemeler tarafından kabul görmektedir.

YND-tabanlı STR allelleri için isimlendirme standardize edilmelidir. Yeni tanımlanan allellerin istatistiksel değerlendirmelerini gerçekleştirmek için izoallelleri veya kabul edilmiş prosedürleri raporlamak için herhangi bir konvansiyon henüz yoktur. YND verilerini analiz etmek için istatistiklerin geliştirilmesi ve tek tip raporlama terminolojisi ile kullanılması gerekmektedir. Tıpkı herhangi bir yeni teknoloji tanıtıldığında olduğu gibi, YND içinde standart işletim prosedürlerinin (SOP'ler) geliştirilmesi ve cihaz ve yöntemin dahi doğrulamalara tabi tutulması gerekmektedir (Elkins ve Zeller, 2021). Suç mahallinden başlayarak, araştırmacıların uygun örnekleri toplamak veya hangi örneklerin laboratuvara gönderilmesinin en uygun olduğuna karar vermek için YND'nin

gücünün ve sınırlarının bilinmesi gerekmektedir. Diğer konular arasında YND'nin analiz hızı (Gilchrist, 2015) ve verilerin aşırı yorumlanmasını önlemek için analitik eşik (analytical threshold, AT) tanımlanması (Young, 2017) sayılmaktadır. Örnek olarak, AT'yi tanımlamak için ham YND verilerini ve arka plan kirliliğini daha fazla analiz etmek için FASTQ dosyaları, Verogen UAS yazılımı yerine STR'ye ait Razor yazılımı ve Python komut dosyaları kullanılarak analiz edilebilir (Young, 2017).

YND ile ilgili olarak ele alınması gereken bir diğer konu da maliyettir. Adli DNA analizinin maliyetlerini düşürmek için sektörde daha fazla rakibe ihtiyaç vardır. Laboratuvarların hazırlık süresini ve operatörler arası değişkenliği azaltmak için daha fazla otomasyona yatırım yapılması ve uygulanması gerekmektedir. Merkezi adli genetik laboratuvarlarının yakın bölgelere/ilçelere hizmet verebilmesi ülkenin ekonomisine katkı sağlayacaktır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

Abnizova, I., te Boekhorst, R., Orlov, Y. (2017). Computational errors and biases in short read next generation sequencing. *J. Proteomics Bioinform* 10: 1-17. [\[Crossref\]](#)

Adserias-Garriga, J., Quijada, N.M., Hernandez, M., vd. (2017). Dynamics of the oral microbiota as a tool to estimate time since death. *Mol Oral Microbiol.* 32(6):511-516. [\[Crossref\]](#)

Alonso, A., Müller, P., Roewer, L., vd. (2017). European survey on forensic applications of massively parallel sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 29:e23-e25. [\[Crossref\]](#)

Aşcıoğlu, F., Akyüz, F., Çetinkaya, U., vd. (2002). Turkish population data on nine short tandem repeat loci: HumCSF1PQ, HumTH01, HumTPOX, HumFES/FPS, HumF13B, HumVWA, D3S1358, D7S820, D16S539. *Forensic Sci Int.* 126:252-3. [\[Crossref\]](#)

Balanovsky, O. (2017). Toward a consensus on SNP and STR mutation rates on the human Y-chromosome. *Hum Genet.* 136(5):575-590. [\[Crossref\]](#)

Ballard, D., Winkler-Galicki, J., Weso y, J. (2020). Massive parallel sequencing in forensics: advantages, issues, technicalities, and prospects. *Int J Legal Med.* 134(4):1291-1303. [\[Crossref\]](#)

Becker, J., Mahlke, N.S., Reckert, A., vd. (2020). Age estimation based on different molecular clocks in several tissues and a multivariate approach: an explorative study. *Int J Legal Med.* 134(2):721-733. [\[Crossref\]](#)

Bentley, D.R., Balasubramanian, S., Swerdlow, H.P., vd. (2008). Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature.* 456(7218):53-9. [\[Crossref\]](#)

Börsting, C., Morling, N. (2015). Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 18:78-89. [\[Crossref\]](#)

Borthong, J., Omori, R., Sugimoto, C., vd. (2018). Comparison of Database Search Methods for the Detection of Legionella pneumophila in Water Samples Using Metagenomic Analysis. *Front Microbiol.* 9:1272. [\[Crossref\]](#)

Bredemeyer, S., Roewer, L., Willuweit, S. (2021). Next generation sequencing of Y-STRs in father son pairs and comparison with traditional capillary electrophoresis. *Forensic Sciences Research, Ahead-of-Print,* 1-6. [\[Crossref\]](#)

Budowle, B., van Daal, A. (2008). Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques.* 44(5):603-8, 610. [\[Crossref\]](#)

Bulbul, O., Filoglu, G. (2018). Development of a SNP panel for predicting biogeographical ancestry and phenotype using massively parallel sequencing. *Electrophoresis.* 39(21):2743-2751. [\[Crossref\]](#)

Burcham, Z.M., Pechal, J.L., Schmidt, C.J., vd. (2019). Bacterial Community Succession, Transmigration, and Differential Gene Transcription in a Controlled Vertebrate Decomposition Model. *Front Microbiol.* 10:745. [\[Crossref\]](#)

Butler JM. (2015). The future of forensic DNA analysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 370(1674):20140252. [\[Crossref\]](#)

Butler, J.M. (2012). Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology.* 704 p.

Butler, J.M., Hill, C.R. (2012). Biology and genetics of new autosomal STR loci useful for forensic DNA analysis. *Forensic Sci Rev.* 24(1):15-26.

Carnevali, E., Lacerenza, D., Severini, S., vd. (2017). A GEFI collaborative exercise on DNA/ RNA co-analysis and mRNA profiling interpretation. *Forensic Sci Int Genet.* 6:E18-E20. [\[Crossref\]](#)

Claerhout, S., Verstraete, P., Warnez, L., vd. (2021). CSYseq: The first Y-chromosome sequencing tool typing a large number of Y-SNPs and Y-STRs to unravel worldwide human population genetics. *PLoS Genet.* 17(9):e1009758. [\[Crossref\]](#)

Cuenca, D., Battaglia, J., Halsing, M., vd. (2020). Mitochondrial Sequencing of Missing Persons DNA Casework by Implementing Thermo Fisher's Precision ID mtDNA Whole Genome Assay. *Genes (Basel).* 11(11):1303. [\[Crossref\]](#)

Devesse, L., Davenport, L., Borsuk, L., vd. (2020) Classification of STR allelic variation using massively parallel sequencing and assessment of flanking region power. *Forensic Sci Int Genet.* 48:102356. [\[Crossref\]](#)

Drmanac, R., Drmanac, S., Chui, G., vd. (2002) Sequencing by hybridization (SBH): advantages, achievements, and opportunities. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 77:75-101. [\[Crossref\]](#)

Elkins, K.M., Zeller, C.B. (2021). 1st Edition Next Generation Sequencing in Forensic Science A Primer, ISBN 9781032072043 Published by CRC Press. [\[Crossref\]](#)

Federal Bureau of Investigation. (2020). Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories. Available online: <https://www.fbi.gov/file-repository/quality-assurance-standards-for-forensic-dna-testing-laboratories.pdf/view> (accessed on 1 September 2020).

Gettings, K.B., Aponte, R.A., Vallone, P.M., vd. (2015). STR allele sequence variation: Current knowledge and future issues. *FSI: Gen.* 18:118-30. [\[Crossref\]](#)

Gilchrist, C.A., Turner, S.D., Riley, M.F., vd. (2015). Whole-genome sequencing in outbreak analysis. *Clin Microbiol Rev.* 28(3):541-63. [\[Crossref\]](#)

González, M.D.M., Ramos, A., Aluja, M.P., vd. (2020). Sensitivity of mitochondrial DNA heteroplasmy detection using Next Generation Sequencing. *Mitochondrion.* 50:88-93. [\[Crossref\]](#)

Goto, H., Dickins, B., Afgan, E., vd. (2011). Dynamics of mitochondrial heteroplasmy in three families investigated via a repeatable re-sequencing study. *Genome Biol.* 12(6):R59 [\[Crossref\]](#)

Guan, X., Ohuchi, T., Hashiyada, M., vd. (2021). Age-related DNA methylation analysis for forensic age estimation using post-mortem blood samples from Japanese individuals. *Leg Med (Tokyo).* 53:101917. [\[Crossref\]](#)

Guo, J., Xu, N., Li, Z., vd. (2008). Four-color DNA sequencing with 3'-O-modified nucleotide reversible terminators and chemically cleavable fluorescent dideoxynucleotides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105(27):9145-50. [\[Crossref\]](#)

Haas, C., Hanson, E., Anjos, M.J., vd. (2012). RNA/DNA co-analysis from blood stains--results of a second collaborative EDNAP exercise. *Forensic Sci Int Genet.* 6(1):70-80. [\[Crossref\]](#)

Haas, C., Hanson, E., Anjos, M.J., vd. (2013). RNA/DNA co-analysis from human saliva and semen stains--results of a third collaborative EDNAP exercise. *Forensic Sci Int Genet.* 7(2):230-9. [\[Crossref\]](#)

Haas, C., Hanson, E., Bär, W., vd. (2011). mRNA profiling for the identification of blood--results of a collaborative EDNAP exercise. *Forensic Sci Int Genet.* 5(1):21-6. [\[Crossref\]](#)

- Haddrill, P.R. (2021). Developments in forensic DNA analysis. *Emerg Top Life Sci.* 5(3):381-393. [Crossref]
- He, Y., Wu, J., Dressman, D.C., vd. (2010). Heteroplasmic mitochondrial DNA mutations in normal and tumour cells. *Nature.* 464(7288):610-4. [Crossref]
- Hebbring, S.J. (2014). The challenges, advantages and future of phenotype-wide association studies. *Immunology.* 141(2):157-65. [Crossref]
- Hiroaki, N., Koji, F., Tetsushi, K., vd. (2015). Approaches for identifying multiple-SNP haplotype blocks for use in human identification. *Leg Med (Tokyo).* 17(5):415-20. [Crossref]
- Holt, C.L., Stephens, K.M., Walichiewicz, P., vd. (2021). Human Mitochondrial Control Region and mtGenome: Design and Forensic Validation of NGS Multiplexes, Sequencing and Analytical Software. *Genes (Basel).* 12(4):599. [Crossref]
- <https://nanoporetech.com/products/comparison>
- <https://www.genome.gov/human-genome-project/Completion-FAQ>
- Hu, B., Xie, G., Lo, C.C., vd. (2011). Starckenburg SR, Chain PS. Pathogen comparative genomics in the next-generation sequencing era: genome alignments, pangenomics and metagenomics. *Brief Funct Genomics.* 10(6):322-33. [Crossref]
- Huszar, T.I., Gettings, K.B., Vallone, P.M. (2021). An Introductory Overview of Open-Source and Commercial Software Options for the Analysis of Forensic Sequencing Data. *Genes (Basel).* 12(11):1739. [Crossref]
- Ivanov, P.L., Wadhams, M.J., Roby, R.K., vd. (1996). Mitochondrial DNA sequence heteroplasmy in the Grand Duke of Russia Georgij Romanov establishes the authenticity of the remains of Tsar Nicholas II. *Nat Genet.* 12(4):417-20. [Crossref]
- Jäger, A.C., Alvarez, M.L., Davis, C.P., vd. (2017). Developmental validation of the MiSeq FGx Forensic Genomics System for Targeted Next Generation Sequencing in Forensic DNA Casework and Database Laboratories. *Forensic Sci Int Genet.* 28:52-70. [Crossref]
- Janitz, M. (2008). Next-Generation Genome Sequencing: Towards Personalized Medicine. Edited by Copyright WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. [Crossref]
- Javan, G.T., Finley, S.J., Abidin, Z., vd. (2016). The Thanatobiome: A Missing Piece of the Microbial Puzzle of Death. *Front Microbiol.* 7:225. [Crossref]
- Jobling, M.A., Tyler-Smith, C. (1995). Fathers and sons: the Y chromosome and human evolution. *Trends Genet.* 11(11):449-56. [Crossref]
- Johnson, A.D. (2010). An extended IUPAC nomenclature code for polymorphic nucleic acids. *Bioinformatics.* 26(10):1386-1389. [Crossref]
- Jordan, D. and Mills, D. (2021). Past, Present, and Future of DNA Typing for Analyzing Human and Non-Human Forensic Samples. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9, 172 [Crossref]
- Just, R.S., Irwin, J.A., Parson, W. (2015). Mitochondrial DNA heteroplasmy in the emerging field of massively parallel sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 18:131-9. [Crossref]
- Kchouk, M., Gibrat, J.F., Elloumi, M. (2017). Generations of Sequencing Technologies: From First to Next Generation. *Biol Med (Aligarh)* 9: 395. [Crossref]
- Kidd, K. K., Pakstis, A. J., Speed, W. C., vd. (2013). Microhaplotype loci are a powerful new type of forensic marker Forensic Science International: *Genetics Supplement Series*, 4 (1), e123-e124. [Crossref]
- Kidd, K. K., Pakstis, A. J., Speed, W. C., vd. (2018). Selecting microhaplotypes optimized for different purposes. *Electrophoresis*, 39 (21), 2815-2823. [Crossref]
- Kidd, K.K., Pakstis, A.J., Speed, W.C., vd. (2014). Current sequencing technology makes microhaplotypes a powerful new type of genetic marker for forensics. *Forensic Sci Int Genet.* 12:215-24. [Crossref]
- Kitpipit, T., Thongjued, K., Penchart, K., vd. (2017). Mini-SNaPshot multiplex assays authenticate elephant ivory and simultaneously identify the species origin. *Forensic Sci Int Genet.* 27:106-115. [Crossref]
- Kloss-Brandstätter, A., Weissensteiner, H., Erhart, G., vd. (2015). Validation of Next-Generation Sequencing of Entire Mitochondrial Genomes and the Diversity of Mitochondrial DNA Mutations in Oral Squamous Cell Carcinoma. *PLoS One.* 10(8):e0135643. [Crossref]
- Koop, B.E., Mayer, F., Gündüz, T., vd. (2021). Postmortem age estimation via DNA methylation analysis in buccal swabs from corpses in different stages of decomposition—a “proof of principle” study. *Int J Legal Med.* 135(1):167-173. [Crossref]
- Kraft, F and Kurth, I. (2019). “Long-read sequencing in human genetics” *Medizinische Genetik*, vol. 31, no. 2, pp. 198-204. [Crossref]
- Kwon, Y.L., Kim, B.M., Lee, E.Y., vd. (2021). Massively parallel sequencing of 25 autosomal STRs including SE33 in four population groups for forensic applications. *Sci Rep.* 11(1):4701. [Crossref]
- Lan, Q., Fang, Y., Mei, S., vd. (2020). Next generation sequencing of a set of ancestry-informative SNPs: ancestry assignment of three continental populations and estimating ancestry composition for Mongolians. *Mol Genet Genomics.* 295(4):1027-1038. [Crossref]
- Lewis, C.A., Layne, T.R., Seashols-Williams, S.J. (2019). Detection of microRNAs in DNA Extractions for Forensic Biological Source Identification. *J Forensic Sci.* 64(6):1823-1830. [Crossref]
- Li, M., Schönberg, A., Schaefer, M., vd. (2010). Detecting heteroplasmy from high-throughput sequencing of complete human mitochondrial DNA genomes. *Am J Hum Genet.* 87(2):237-49. [Crossref]
- Li, M., Schröder, R., Ni, S., vd. (2015). Extensive tissue-related and allele-related mtDNA heteroplasmy suggests positive selection for somatic mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112(8):2491-6. [Crossref]
- Li, M., Stoneking, M. (2012). A new approach for detecting low-level mutations in next-generation sequence data. *Genome Biol.* 13(5):R34. [Crossref]
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., vd. (2005). Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature.* 437(7057):376-80. [Crossref]
- Maxam, A.M., Gilbert, W. (1977). A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 74(2):560-564. [Crossref]
- McCombie, W.R., McPherson, J.D., Mardis, E.R. (2019). Next-Generation Sequencing Technologies. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 9(11):a036798. [Crossref]
- McElhoe, J.A., Holland, M.M., Makova, K.D., vd. (2014). Development and assessment of an optimized next-generation DNA sequencing approach for the mtgenome using the Illumina MiSeq. *Forensic Sci Int Genet.* 13:20-9. [Crossref]
- Melchionda, F., Stanciu, F., Buscemi, L., (2020). Searching the undetected mtDNA variants in forensic MPS data. *Forensic Sci Int Genet.* 49:102399. [Crossref]
- Minogue, T.D., Koehler, J.W., Stefan, C.P., vd. (2019). Next-Generation Sequencing for Biodefense: Biothreat Detection, Forensics, and the Clinic. *Clin Chem.* 65(3):383-392. [Crossref]
- Mirzabekov, A.D., (1994). DNA sequencing by hybridization--a megasequencing method and a diagnostic tool? *Trends Biotechnol.* 12(1):27-32. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0167-7799(94)90008-6)
- Müller, P., Sell, C., Hadrys, T., vd. (2020). Inter-laboratory study on standardized MPS libraries: evaluation of performance, concordance, and sensitivity using mixtures and degraded DNA. *Int J Legal Med.* 134(1):185-198. [Crossref]
- Nachman, M.W., Crowell, S.L. (2000). Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. *Genetics.* 156(1):297-304. [Crossref]
- Neckovic, A., van Oorschot, R.A.H., Szkuta, B., vd. (2021). Investigation into the presence and transfer of microbiomes within a forensic laboratory setting. *Forensic Sci Int Genet.* 52:102492. [Crossref]
- Omelia, E.J., Uchimoto M.L., Williams, G. (2013). Quantitative PCR analysis of blood- and saliva-specific microRNA markers following solid-phase DNA extraction. *Anal Biochem.* 435(2):120-2. [Crossref]
- Outten, J., Warren, A. (2021). Methods and Developments in Graphical Pangenomics. *J Indian Inst Sci.* 24:1-14. [Crossref]
- Pang, J.B., Rao, M., Chen, Q.F., vd. (2020). A 124-plex Microhaplotype Panel Based on Next-generation Sequencing Developed for Forensic Applications. *Sci Rep.* 10(1):1945. [Crossref]
- Parson, W. (2018). Age Estimation with DNA: From Forensic DNA

- Fingerprinting to Forensic (Epi)Genomics: A Mini-Review. *Gerontology*. 64(4):326-332. [Crossref]
- Praihirunkit, P (2020). miRNAs: Perspective towards the use for body fluid identification. *Siriraj Medical Journal* 72(6): 512-526. [Crossref]
- Rathbun, M.M., McElhoe, J.A., Parson, W., vd. (2017). Considering DNA damage when interpreting mtDNA heteroplasmy in deep sequencing data. *Forensic Sci Int Genet*. 26:1-11. [Crossref]
- Robinson, J.M., Pasternak, Z., Mason, C.E., vd. (2021). Forensic Applications of Microbiomics: A Review. *Front Microbiol*. 11:608101. [Crossref]
- Salvoro, C., Faccinnetto, C., Zucchelli, L., vd. (2019). Performance of four models for eye color prediction in an Italian population sample. *Forensic Sci Int Genet*. 40:192-200. [Crossref]
- Sanger, F, Coulson, A.R. (1975). A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 94(3):441-8. [Crossref]
- Scientific Working Group (2016) on DNA Analysis Methods. Validation Guidelines for DNA Analysis Methods. Available online: https://1ecb9588-ea6f-4feb-971a-73265dbf079c.filesusr.com/ugd/4344b0_813b241e8944497e-99b9c45b163b76bd.pdf [accessed on 23 July 2019].
- Scientific Working Group (2019) on DNA Analysis Methods. Interpretation Guidelines for Mitochondrial DNA Analysis by Forensic DNA Testing Laboratories. Available online: https://1ecb9588-ea6f-4feb-971a-73265dbf079c.filesusr.com/ugd/4344b0_f61de6abf3b94c52b28139bfff600ae98.pdf [accessed on 23 July 2019].
- Semmes, E.C., Vijayakrishnan, J., Zhang, C., vd. (2020). Leveraging Genome and Phenome-Wide Association Studies to Investigate Genetic Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 29:1606-14. [Crossref]
- Sinha, R., Abu-Ali, G., Vogtmann, E., vd. (2017). Assessment of variation in microbial community amplicon sequencing by the Microbiome Quality Control (MBQC) project consortium. *Nat Biotechnol*. 35(11):1077-1086. [Crossref]
- Slatko, B.E., Gardner, A.F., Ausubel, FM. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. *Curr Protoc Mol Biol*. 2018;122(1):e59. [Crossref]
- Srebniak, M.I., Knapen, M.F.C.M., Govaerts, L.C.P., vd. (2020). Social and medical need for whole genome high resolution NIPT. *Mol Genet Genomic Med*. 8(1):e1062. [Crossref]
- Syndercombe Court, D. (2021b). The Y chromosome and its use in forensic DNA analysis. *Emerg Top Life Sci*. 5(3):427-441. [Crossref]
- Syndercombe Court, D. (2021a). Mitochondrial DNA in forensic use. *Emerg Top Life Sci*. 5(3):415-426. [Crossref]
- Tang, S., Huang, T. (2010). Characterization of mitochondrial DNA heteroplasmy using a parallel sequencing system. *Biotechniques*. 48(4):287-96. [Crossref]
- Tettelin, H., Massignani, V., Cieslewicz, M.J., vd. (2005). Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: implications for the microbial "pan-genome". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102(39):13950-5. [Crossref]
- Toksoy, G., Uludağ Alkaya, D., Bagirova, G., vd. (2020). Clinical and Molecular Characterization of Fanconi Anemia Patients in Turkey. *Mol Syndromol*. 11(4):183-196. [Crossref]
- Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, vd. (2011). Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*. 39(16):7223-33. [Crossref]
- van den Berge, M., Carracedo, A., Gomes, I., vd. (2014). A collaborative European exercise on mRNA-based body fluid/skin typing and interpretation of DNA and RNA results. *Forensic Sci Int Genet*. 10:40-48. [Crossref]
- van der Gaag, K.J., de Leeuw, R.H., Hoogenboom, J., vd. (2016). Massively parallel sequencing of short tandem repeats-Population data and mixture analysis results for the PowerSeq™ system. *Forensic Sci Int Genet*. 24:86-96. [Crossref]
- van der Meer, D., Uchimoto, M.L., Williams, G. (2013). Simultaneous analysis of micro-RNA and DNA for determining the body fluid origin of DNA profiles. *J Forensic Sci*. 58(4):967-71. [Crossref]
- Verma, M., Kulshrestha, S., Puri, A. (2017). Genome Sequencing. *Methods Mol Biol*. 1525:3-33. [Crossref]
- Verogen medya açıklaması (2019): Verogen media release. FBI approves Verogen's next-gen forensic DNA technology for National DNA Index System (NDIS). May 2, 2019. <https://verogen.com/ndis-approval-of-miseq-fgx/>.
- Vural B, Atliolu E, Özbek U, vd. (2002). Ülkemizde DNA analizi (HLAD-QA1, LDLR, GYPA,HBGG ve GC lokusları) ile değerlendirilen ilk paternite olguları. *Adli Tıp Bülteni*, 7(1): 5-13, [Crossref]
- Vural, B., Atlioglu, E., Kulusayin, Ö., vd. (1998). Turkish population data on the HLA-DQ α , LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, and GC loci, *Int J Legal Med*, 111(1):43-5. [Crossref]
- Vural, B., Poda, M., Atlioğlu, E., vd. (1998). Turkish population data on the short tandem repeat locus TPOX. *Int J Legal Med*. 111(2):105-6. [Crossref]
- Wang, D., Tao, R., Li, Z., vd. (2020). STRsearch: a new pipeline for targeted profiling of short tandem repeats in massively parallel sequencing data. *Hereditas*. 157(1):8. [Crossref]
- Watanabe, K., Akutsu, T. (2020). Evaluation of a co-extraction kit for mRNA, miRNA and DNA methylation-based body fluid identification. *Leg Med (Tokyo)*. 42:101630. [Crossref]
- Young, B., King, J.L., Budowle, B., vd. (2017). A technique for setting analytical thresholds in massively parallel sequencing-based forensic DNA analysis. *PLoS One*. 12(5):e0178005. [Crossref]
- Zhong, Y., Xu, F, Wu, J., vd. (2021). Schubert J, Li MM. Application of Next Generation Sequencing in Laboratory Medicine. *Ann Lab Med*. 41(1):25-43. [Crossref]

BÖLÜM 3

KAYIP KİŞİLERİN DNA-BAZLI YÖNTEMLERLE KİMLİKLENDİRİLMESİ

Cemal GÜRKAN
Gülbanu ZORBA
Damla KANLIADA

Kayıp Kişilerin DNA-Bazlı Yöntemlerle Kimliklendirilmesi

Identification of Missing Persons Using DNA-Based Methods

BÖLÜM HAKKINDA

Her yıl on binlerce insan silahlı çatışmalar, şiddet olayları, insan ticareti ve doğal afetler sebebiyle veya bu tür olayların tetiklediği düzensiz göçler sırasında kaybolmaktadır. Böylesi bir durumda, söz konusu kayıp şahsın akıbetinin belirsizliği ile karşı karşıya kalan aileler için bazen yıllarca süren duygusal yük ve akabinde ortaya çıkan kaçınılmaz bürokratik sorunlar dayanılmaz bir hal alabilir. Adli genetikte herhangi bir olay yerindeki bir insan kalıntısından alınan bir örneğin söz konusu şahsın muhtemel yakın biyolojik akrabalarından alınan örnek(ler)le kimliklendirme amacıyla ilişkilendirilebilmesi için DNA profillendirilmesi ve eşleştirilmesi yapılmaktadır. Söz konusu kayıp şahıslar olduğunda ise bu tür DNA-bazlı yöntemlerle kimliklendirmeler sırasında genelde ilave zorluklarla karşılaşılır. Örneğin, söz konusu insan kalıntılarının ileri derecede çürümüş ve/veya vücut bütünlüğünün büyük ölçüde zarar gördüğü durumlarda kimliklendirmelerde sıkça kullanılan görsel teşhis metodu artık mümkün olmamaktadır. Ayrıca, bu gibi örneklerde özellikle geçen zamanın da etkisiyle DNA miktarında ve kalitesinde yaşanan problemler giderak artmakta ve bununla paralel bir şekilde olası kontaminasyon etkilerinin daha da dikkatli bir şekilde göz önünde tutulması gerekmektedir. Bu gibi durumlarda kimliklendirme ancak disiplinlerarası bir yaklaşımla mümkün olabilmektedir. Her halükarda, kayıp şahısların DNA-bazlı metotlarla kimliklendirmeleri sırasında temelde üç aşamalı bir süreç takip edilmektedir: (1) kayıp şahsa ait olduğu düşünülen kalıntılardan (ör. kemik veya diş) genetik analizler için uygun örnek seçilmesi ve bun(lar)dan DNA profili elde edilmesi, (2) elde edilen insan kalıntısının DNA profili ile muhtemel biyolojik akraba örneklerinden elde edilen DNA profillerinin varsayılan akrabalık ilişkileri çerçevesinde karşılaştırılması ve eğer mümkünse eşleştirilmesi, ve (3) bu şekilde eşleşen DNA profillerinin ilgili popülasyon verileri eşliğinde istatistiki değerlendirmelere tabi tutularak öngörülen kimliklendirmenin olasılık hesaplamalarının yapılması.

Bazı durumlarda DNA-bazlı metotlar kullanılarak sadece eldeki insan kalıntılarının kimliklendirilmesine değil söz konusu insan kalıntılarının tekrardan bir araya getirilmesine de katkı sunulabilir (ör. Birden fazla insan kalıntısının karmaşık bir şekilde bulunduğu toplu mezarlarda). Bu bölümde ısrarla altı çizilen bir nokta, özellikle kayıp şahısların kimliklendirilmeleri sürecinin sadece DNA-bazlı metotlarla mümkün olamayacağı, bilakis bu sürecinin güvenli bir şekilde başarıyla tamamlanabilmesi için birçok adli bilim dalının katkısının gerektiğidir.

Anahtar kelimeler: Bilimsel uzlaş, DNA profili eşleşmesi, DNA profili veritabanları, referans örnekleri

ABOUT the CHAPTER

Tens of thousands of people go missing every year because of armed conflicts, violent events, human trafficking and natural disasters or during irregular migrations triggered by such events. When confronted with the uncertainty regarding the fate of a missing person, the emotional burden that sometimes last many years and the inevitable bureaucratic hurdles that follow may become unbearable for the families in such situations.

In forensic genetics, DNA profiling and matching is carried out for identification purposes to link a sample taken from the human remains in a crime scene and those taken from the presumably biological relatives of the person in question. When the subject matter is a missing person, additional difficulties are often encountered during such identifications using DNA-based methods. For example, when the human remains are extremely decomposed and/or the body integrity is largely compromised, visual recognition, which is often used during identifications, is no longer a possibility. Furthermore, problems with the DNA amount and quality in such samples become more and more prominent, particularly with the passage of time, and hence effects of potential contamination should also be taken into account more carefully. In such situations, identification may only be feasible with an interdisciplinary approach. In any case, basically a three staged process is followed during the identification of missing persons using DNA-based methods: (1) selection of the suitable sample(s) for genetic analyses from the remains (e.g. bones or teeth) that are thought to be belonging to the missing person, and generation of DNA profiles from these samples, (2) in light of the presumed familial relationships, comparison and when possible matching of the human remains' DNA profile with those obtained from the potential biological relatives' samples, and (3) calculation of the probability for the identification made, following the statistical assessment of the matched profiles in this manner using the respective population data.

In certain circumstances, the use of DNA-based methods may not only allow the identification of the human remains but also contribute to the re-assembly of the human remains (e.g. in mass graves with intermingled human remains belonging to more than one person). In this chapter, it has been underscored repeatedly that identification of missing persons in particular would not be possible by DNA-based methods alone, but instead, contributions from various forensic disciplines would be required so as to complete the process successfully and properly.

Keywords: Scientific reconciliation, DNA profile matching, DNA profile databases, reference sample



Cemal Gürkan^{1,2}

Gülbanu Zorba³

Damla Kanlıada¹

¹ DNA Laboratuvarı, Kayıp Şahıslar Komitesi Kıbrıslı Türk Üye Ofisi, Lefkoşa, KKTC

² Dr. Fazıl Küçük Tıp Fakültesi, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Gazimağusa, KKTC

³ Kayıp Şahıslar Komitesi Kıbrıslı Türk Üye Ofisi, Lefkoşa, KKTC

E-posta: cemal.gurkan@emu.edu.tr

gulbanu83@yahoo.com

damla0330@gmail.com

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as: Gürkan, C., Zorba, G.G., Kanlıada, D. (2024). Kayıp kişilerin dna-bazlı yöntemlerle kimliklendirilmesi. G. Filoğlu & Ö. Bütöl (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 66-74). İstanbul: İÜ Üniversite Yayınevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

Giriş

Her yıl on binlerce insan silahlı çatışmalar, çeşitli şiddet olayları, insan ticareti ve doğal afetler sebebiyle veya bu tür olayların akabinde gerçekleşen düzensiz göçler sırasında kaybolmaktadır. Kayıp kişilerin akıbetleri, yaşanan olayların da doğası gereği gerçekleşen karmaşa ortamında hemen anlaşılacak veya yıllarca belirsiz kalabilmektedir. Sonuç olarak bu şekilde kaybolan kişilerin gerçekleşen olaylar sonrasında en azından belli bir süre hayatta olup olmadıkları dahi bilinmemektedir. Ayrıca, hayatta olan kayıp kişilerin yetişkin bireyler olmamaları veya yetişkin olsalar bile sağlık sorunları veya ileri yaşlılık sebebiyle etkin bilince sahip olmamaları onların bulunmasını engelleyen faktörler olarak karşımıza çıkabilmektedir.

Kayboluşlarının sebebi ne olursa olsun, sevdiklerinin hayatta olup olmadıklarının belirsizliği ile karşı karşıya kalan aileler için, bazen yıllarca süren duygusal yük dayanılmaz bir hal alabilir. Ayrıca kayıp kişinin akıbetinin belirsizliği sebebiyle bir ölüm belgesinin bile alınmaması yakınları için önemli idari ve mali sonuçlar da doğurabilir. Kayıp yakınlarının sevdiklerinin akıbetini bilme hakkı da yaşanan travma sonrası ortaya çıkan yasal süreci de etkileyebilmekte ve bazen de buna yön verebilmektedir. Bu bölümde kayıp kişilerin DNA-bazlı yöntemler kullanarak, disiplinlerarası bir yaklaşımla kimliklendirilmeleri sürecinden bahsedilecektir.

Kayıp Kişilerin DNA-Bazlı Yöntemlerle Kimliklendirilmesi

Günümüzde bir olay yerinden toplanan örnek(ler)le belli bir bireyden alınan bir örneği direkt olarak veya herhangi bir kişiden alınan bir örnekle onunla yakın biyolojik akrabalık durumu olabilecek diğer kişi(ler)den alınacak örnek(ler)le ilişkilendirebilmek için DNA profillendirilmesi ve eşleştirilmesi yapılmaktadır (Bkz. Bölüm 2.1). Genelde olay yeri inceleme ve akrabalık testlerinde elde edilen örnek(ler) bir veya birkaç referans örneği ile karşılaştırılır (ör. olay yeri ve şüpheli), çünkü bu tür analizlerde sorgulanan biyolojik ilişki çeşidi/yakınlığı çoğunlukla sınırlıdır (ör. çocuk ve muhtemel baba) (Bkz. Bölüm 2.5). Kayıp kişilerin kimliklendirilmelerinde ise aynı anda olay yerinden elde edilen muhtemelen farklı kişilere ait olabilecek çok sayıda örneğin yine tercihen çok sayıda referans örnekleri ile karşılaştırılmaları gerekebilir (Butler, 2011, 2015). Muhtemel kayıp kişilere ait olabilecek biyolojik kalıntıların çeşitliliği ve eski olması da büyük farklılıklar gösterebilmekte ve buna paralel bir şekilde kullanılacak genetik analizlerin karmaşıklığı da artabilmektedir. Kayıp kişinin kimliklendirilmesinde, kişisel eşyalardan (ör. diş fırçası, tarak) veya çok yakın biyolojik akrabalarından (ör. anne, baba, çocuk) referans DNA örneklerinin alınması ve bunların olay yeri örneğinden elde edilen DNA profilleriyle karşılaştırılması tercih edilse de bu durum her zaman mümkün olamamaktadır (Butler, 2011; Ge vd., 2011). Genel olarak, kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde izlenen prosedürler farklılıklar gösterse de temelde üç aşamalı bir süreç izlenmektedir:

İnsan Kalıntılarında DNA Profili Elde Edilmesi

İnsan kalıntılarının kimliklendirilme süreci elde edilen kalıntıların bulunduğu fiziki koşullara ve bu kalıntıların söz konusu koşullarda ne kadar zaman kaldığına göre şekillenebilmektedir. Örneğin, rutin adli olaylarda, elde edilen insan kalıntılarının ölen kişinin

muhtemel akrabaları ya da tanıdıkları tarafından görsel olarak teşhis edilmesi, genelde kayıp kişilerin dosyalarında olduğu gibi cesedin ileri derecede çürüdüğü veya vücut bütünlüğünün büyük ölçüde zarar gördüğü durumlarda mümkün olmamaktadır. Bu gibi durumlarda kimlik tespiti amacıyla farklı bilim dalları kullanılarak disiplinlerarası bir kimliklendirme yaklaşımı mümkün olabilmektedir. Ölüm sonrası dönemin (*post-mortem interval*, PMI) ne kadar uzun olduğu ve söz konusu cesedin ölümün gerçekleşmesinin ardından bulunma sürecine kadar geçen sürede, içinde bulunduğu koşulların belirlediği doğal çürümenin ne aşamada olduğu, kimliklendirme çerçevesinde hangi bilim dallarının devreye gireceği konusunda da belirleyici olmaktadır. Her ne kadar insan kalıntılarının kimliklendirilmesi sırasında DNA profillemesine dayalı yöntemlerin kullanımı genelde kritik bir aşama olarak öne çıksa da, diğer bilim dallarının katkısı olmadan bu sürecin sağlıklı bir şekilde tamamlanması beklenemez. Örneğin, bir cesedin çürümesinin ileri aşamalarında ortaya çıkan iskeletleşmiş kalıntılarının kimliklendirilmesinde adli arkeolog ve adli antropologların topladığı olay yeri verileri ve genetik analizler ile ön kimliklendirme ve disiplinlerarası bir uzlaşma süreciyle yapılır (Zorba ve ark, 2020a).

İnsan kalıntılarının kimliklendirilmesi amacıyla yapılan DNA profilleme analizlerinde tam olarak hangi tür biyolojik örneklerin kullanılacağı, ölüm sonrası dönemin uzunluğu ve şartları belirleyici olmaktadır. Çürümenin çok erken aşamalarında kan, ağız içi sürüntüsü ve hatta kas gibi bazı yumuşak dokuların kullanımı mümkün olmakla beraber, çürümenin ileri aşamalarında bu tür örneklerde gerçekleşen DNA degradasyonu göz önüne alınarak, DNA'nın daha fazla korunmuş olabileceği kırıkdak, kemik ve diş gibi dokulardan alınan örneklerin kullanımı söz konusu olmaktadır (Calacal vd., 2015).

DNA profillemesi amacıyla seçilen örneklerin toplanması, paketlenmesi ve laboratuvara ulaştırılması aşamalarının her biri büyük bir titizlikle, bu konuda deneyimli ve eğitilmiş personel tarafından yapılmalıdır. Çünkü biyolojik delillerin bütünlüğü sıcaklık, nem, güneş ışınları gibi çevresel faktörlere karşı son derece hassastır (Houck ve Siegel, 2010). Örneğin, iskeletleşmiş insan kalıntılarının söz konusu olduğu bir oğuda DNA profillemesi amacıyla kullanılacak kemik ve/veya diş gibi biyolojik örneklerin normalde adli antropologlar tarafından seçilmesi gerekmektedir. Adli antropologlar bu tür genetik analizler için örnek seçerken cesedin çürüme şeklini de göz önünde tutarak birden fazla ve farklı bölgelerden iskelet parçasını seçerler. Çoğunlukla insan iskeletinden örnekleme yapılırken yoğun kortikal yapıya sahip uzun kemiklerden 4-6 cm'lik pencere şeklinde kesit alınmaktadır (Prinz ve ark, 2017). Ölüm sonrası dönemde çevresel koşullardan daha az etkilendiği bilinen diş örneklerinin köklü olanları tercih edilmektedir (Ricaud vd., 2005; Alakoc ve Aka, 2009; Milos vd., 2007). Şu ana kadar kabul gören görüşlerin aksine yoğun kemik dokularına kıyasla süngerimsi kemik dokularının DNA analizleri için daha elverişli olduğunu rapor eden çalışmalar da bulunmaktadır (Mundorff ve Davoren, 2014; Zorba vd., 2016).

Genetik analizler için toplanan biyolojik örneklerin gerek toplanması gerekse saklanması ve laboratuvara ulaştırılması sırasında göz önünde tutulması gereken ve kritik öneme sahip risk kontaminasyon olasılığıdır. Kontaminasyon, bir biyolojik örnekten elde edilmesi hedeflenen DNA profilinin farklı ve hedeflenmeyen

başka bir biyolojik örnekten kaynaklanan DNA profili ile karışım şeklinde olması, hatta DNA profili tarafından baskılanmış olması durumudur. Diğer bir deyişle, bir kemik örneğinden elde edilen DNA profili kontaminasyon sebebiyle birden fazla kişinin DNA profillerinin karışımı şeklinde karşımıza çıkabilmekte ve hatta kemik örneğinden elde edilen DNA profilinin çok zayıf olması durumunda sadece kontaminasyon kaynaklı DNA profili elde edilebilmektedir. Bu da hatalı sonuçlara ve dışlamalara neden olmaktadır.

Kontaminasyon, olay yeri örneklerinin birbirleriyle temasıyla veya bu örnekleri toplayan, hazırlayan veya taşıyan personelin temasıyla ortaya çıkabilir. Kontaminasyon, delile olan güveni yok edebileceğinden, bu olasılığı en aza indirmek amacıyla delillerin ilk elde edildiği yer olan olay yeri incelemelerinden başlanarak, sürecin her aşamasında koruyucu kıyafetler giyilmesi, eldiven kullanılması ve delillerin başka bir delil, ya da nesnel(er) ile temasının kesilmesi ve tüm delillerin ayrı ayrı paketlenmesi son derece önemlidir.

Kan ve ağız içi sürüntü gibi çoğunlukla yaşayan bir bireyden veya vücut bütünlüğünü henüz kaybetmemiş bir cesetten alınan örneklerde herhangi bir dekontaminasyon işlemine tabi tutulmadan DNA izolasyonu yapılabilir. Ancak, hem ölüm sonrası dönemin muhtemelen daha uzun olması sebebiyle, hem de bu tür örneklerin toplanması öncesi ve sonrasında kontaminasyon olasılığının daha fazla olması sebebiyle kemik ve diş örneklerinden DNA izolasyonu öncesinde muhakkak bir dekontaminasyon işlemi uygulanmalıdır (Edson ve ark, 2004). Bu gereklilik, ölümün üzerinden geçen sürenin uzun olması ve büyük oranda DNA degradasyonunun gerçekleşmiş olacağı da göz önünde alındığında, daha yeni gerçekleşen bir kontaminasyonun söz konusu olduğu örnekte tamamen yanlış bir DNA profili elde etme olasılığı mümkündür. Dekontaminasyon işlemleri sırasında amaç mümkün olduğunca DNA'ya zarar vermeden çevresel kontaminasyon kaynaklı DNA bulaşlarını örnekten uzaklaştırmaktır (Yang ve Watt, 2005). Dekontaminasyon uygulamaları sırasında kemik örnekleri, korteks kalınlıklarına veya süngerimsi doku oranlarına bağlı olarak DNA'larını koruyabilmektedirler. İskeletleşmiş insan kalıntılarında diş ve kemik örneklerinden yeterli miktarda ve kalitede DNA elde edilmemesinin nedeni bu örneklerde yüksek oranda kalsiyum bulunmasından kaynaklanmaktadır. DNA, kalsiyum içerisinde hapsolmuş bir şekilde korunarak bulunmaktadır. Bu nedenle kemik ve diş örneklerinden DNA izolasyonu öncesinde dekalsifikasyon ya da demineralizasyon aşaması olması gerekmektedir. Hatta bunun da öncesinde DNA'ya zarar vermemek için çok soğuk bir ortamda (ör. sıvı azot soğutmalı bir sistemde) mekanik bir şekilde toz haline getirilmesi gerekmektedir (Loreille vd. 2007).

Kullanılan örnek türü ne olursa olsun, güncel DNA profillemesinde yapılan analizlerde DNA miktarları yetersiz kalmaktadır. Bu sorun, 1980'lerin ortasında moleküler biyolojide bir mihenk taşı olarak tanımlanan polimeraz zincir reaksiyonunun (*polimerase chain reaction*, PCR) keşfiyle aşılabilmektedir. PCR ile çok küçük miktarda DNA kullanılarak, çeşitli sentetik bileşenler (serbest nükleotidler ve hedef genomik bölgeye özgü primerler/ nükleotid dizinler, vs) ve biyolojik katalizör özelliğine sahip DNA polimeraz kullanılarak analizi istenen genomik bölgelerin çok kısa bir sürede ve neredeyse sınırsız bir şekilde çoğaltılması mümkün olabilmektedir (Rudin ve Inman, 2002).

İnsan Kalıntılarında ve İlgili Referans Örneklerinden Elde Edilen DNA Profillerinin Eşleştirilmesi

Kayıp kişilere ait olabilecek insan kalıntılarında başarıyla DNA profili elde edilmesi, ilgili referans örneklerinden paralel bir şekilde elde edilen DNA profilleri olmaması durumunda tek başına kimliklendirme için yeterli değildir. Diğer bir deyişle, kayıp kişiden elde edilen DNA profilinin kime ait olabileceği, sadece kaynağı kesin bir şekilde bilinen referans örnek(ler)inden elde edilen DNA profil(ler)i ile yapılan karşılaştırma(lar) sonrasında belirlenebilir.

DNA profillemesine dayalı kimliklendirmelerde kullanılan başlıca iki tip referans örneği vardır:

- Bulunan kalıntıların muhtemel sahibine ait olduğu kesin bir şekilde bilinen örnek (ör. arşivlenmiş kan, doku, göbek bağı vs. örneği veya diş fırçası, tarak vs. gibi kişisel nesnelere alınan örnekler) ve/veya alternatif olarak;
- Bulunan kalıntıların muhtemel sahibinin yakın biyolojik akrabalarından toplanan örnek(ler).
- Kullanılacak her bir referans örneği ve kalıntılardan toplanan örneklere paralel bir şekilde DNA izolasyonu yapılarak ve akabinde de DNA profili elde edilerek karşılaştırmalar yapılması gerekmektedir.

Kayıp bir kişinin kimliklendirilmesinde söz konusu kalıntılardan elde edilen DNA profil(ler)inin kime ait olduğu kesin bir şekilde bilinen başka DNA profil(ler)i ile *direkt olarak eşleşmesi* veya söz konusu bireyle öne sürülen biyolojik akrabalık derecesine sahip diğer bireylerden elde edilen DNA profilleriyle *uyumlu* olması gerekmektedir. Örneğin, bulunan kalıntılardan elde edilen DNA profili ile bu kalıntıların ait olduğu düşünülen kişinin kesin bir şekilde bilinen diğer örnek(ler)inden elde edilen DNA profili tamamen aynı olmalı veya diğer bir deyişle direkt olarak eşleşmelidir. Alternatif olarak, kalıntılardan elde edilen DNA profili ile bu kalıntıların ait olduğu düşünülen kişinin biyolojik annesi ve/veya babası ve/veya çocuğundan alınan bir örnekte elde edilen DNA profili, örneğin bir otozomal STR profili ise, analiz edilen her bir lokusta bir alel paylaşımına sahip olmalıdır. Otozomal STR'ye dayalı DNA profilleri kullanılarak elde edilen kalıntıları kimliklendirmek için anne, baba ve çocuk gibi birinci derece biyolojik akrabaların da ötesinde akrabalarından örnek kullanmak için çok daha karmaşık alel paylaşımı senaryolarını göz önünde bulundurmak gerekecektir (Tablo 1). Ayrıca, kalıntıların kimliklendirilmesi için söz konusu bireyin ikinci, üçüncü veya daha uzak biyolojik akrabalarından alınan referans örneklerinde otozomal STR analizlerinin yanında anne tarafından kalıtılan mitokondriyal ve/veya baba tarafından kalıtılan Y-kromozomal belirteçleri kullanılarak da kimliklendirmeye yardımcı ek bilgiler sağlanabilir (Butler, 2011).

Kayıp bir kişiye ait olabilecek insan kalıntılarında elde edilen bir otozomal STR profili ile bu kalıntıların sahibi olabilecek bir kişiye ait olduğu bilinen nesnelere veya bu kişinin anne, baba veya çocuk gibi birinci derece yakınlarından toplanan örneklerden elde edilen otozomal STR profili ile karşılaştırmalar yapmak göreceli olarak kolay olmaktadır. Ancak, birden fazla kayıp kişi bulunması durumunda ve/veya örnek toplanan biyolojik akrabaların yakınlığı azaldıkça, daha karmaşık analizlere ve bu analizleri yapmak için de özgün bilgisayar yazılımlarının kullanımını gerektiren ailesel taramalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tür analizleri

Tablo 1

Akrabalık testlerinde kullanılabilir referans örnekler ile kimliklendirilmeye çalışılan bireyin ortak atadan kalıtılan alel paylaşım olasılıkları

		Tek Bir Lokusta, Aynı Ortak Atadan Kalıtılan Alel Paylaşım Olasılığı			
		Akrabalık Derecesi	0 Alel	1 Alel	2 Alel
Kesinlik Derecesi	Yüksek	Anne veya Baba ve Çocuk	0	1	0
		Kardeşler	¼	½	¼
		Yarı – Kardeşler	½	½	0
		Amca / Hala / Teyze / Dayı - Yeğen	½	½	0
		Büyükbaba / Büyükanne - Torun	½	½	0
Düşük	1. Derece Kuzen	¾	¼	0	

Açıklama notu. Fung, W.K., & Hu, Y.Q., 2008, Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation. Wiley kaynağından uyarlanmıştır.

kolaylaştırmak için çalışılan her bir örneğin türüne göre elde edilen profillerin ayrı ayrı eklenerek güvenle saklandığı 'Kemik/Dış DNA Profilleri Veritabanı', 'Referans DNA Profilleri Veritabanı' ve toplanan örneklerde olası personel kaynaklı bulaş(lar)ın erken tespiti için 'Eleme DNA Profilleri Veritabanı' oluşturulmaktadır. İhtiyaç duyulduğunda, farklı veritabanlarında bulunan DNA profillerinin birbirleriyle sistematik bir şekilde karşılaştırmalar yapılarak eşleşmelerin veya varsayılan biyolojik akrabalık çerçevesinde uyumların olup olmadığına bakılması gerekir (Butler, 2015). Örneğin, 'Kemik/Dış DNA Profilleri Veritabanı' ve 'Eleme DNA Profilleri Veritabanı' ile yapılan karşılaştırmalarla elde edilen yeni DNA profillerinin gerçekten de örnekleme yapılan insan kalıntılarında mı ait olduğunu, yoksa araştırmanın herhangi bir aşamasında görevi gereği veya tesadüfen bu örneklerle direkt veya indirekt fiziksel temas sağladığı bilinen diğer bireylerden kaynaklanan bulaş(lar) sebebiyle olup olmadığı belirlenebilmektedir. Bu ilk aşamanın ardından, araştırma sürecinde oluşabilecek bir bulaştan kaynaklandığı yönünde herhangi bir şüphe bulunmayan DNA profillerinin aranan hangi kayıp kişiye ait olabileceği sorgulanabilmektedir ki bu da cesedin sahibi olduğu bireye ait olabilecek, kanıtlanmış başka örnek(ler)den elde edilen DNA profili ile veya çoğunlukla 'Ailesel Referans DNA Profilleri Veritabanı' ile yapılan karşılaştırmalarla mümkün olabilmektedir.

Herhangi iki DNA profilinin karşılaştırılması sonucunda dört farklı durum ortaya çıkabilir:

(a) Eşleşen profiller, karşılaştırılan iki DNA profili arasında analiz edilen her genetik öğede, tamamen aynı veriler elde edilmekte ve bu sebeplerle her iki DNA profili de muhtemelen aynı bireyden kaynaklanmaktadır;

(b) Uyumlu veya dışlanamayan profiller, karşılaştırılan iki DNA profili arasında analiz edilen her genetik öğede varsayılan biyolojik akrabalık ilişkileri ile açıklanabilen muhtemel bir kalıtsal bağlantı bulunmaktadır (Tablo 2.3.1.),

(c) Karşılıklı dışlanan profiller, karşılaştırılan iki DNA profili

arasında analiz edilen her genetik öğede varsayılan biyolojik akrabalık ilişkileri ile uyum göstermeyen farklılık(lar) bulunmaktadır;

(d) Belirsiz, karşılaştırılan iki DNA profili arasında analiz edilen her genetik öğede eşleşme, dahil etme veya dışlama durumunun kesin bir şekilde belirlenememesi durumunda daha ileri analizler veya halihazırda yapılan analizlerin tekrarını gerektirmektedir.

Eşleşen/Uyumlu DNA Profillerinin İstatistiksel Analizi ve Değerlendirilmesi

Günümüzde rutin bir şekilde kullanılan DNA profillemesi ile en az 15 otozomal STR lokusunun analizi yapılmaktadır. Bu da tek yumurta ikizleri haricindeki tüm bireyleri birbirinden ayırabilmektedir. Örneğin, 15-lokus otozomal STR içeren AmpflSTR Identifiler (Thermo Fisher Scientific, A.B.D.) sistemi kullanıldığında rastgele seçilen iki Kıbrıslı Türk bireyde aynı DNA profiline rastlanma olasılığı 4.6×10^{17} 'de 1 olarak belirlenmiştir. Bu sayı aynı zamanda bu toplumda rastgele eşleşme olasılığını da (*random match probability*, rmp) verir (Gürkan vd., 2015).

İki farklı DNA profilinin uyumlu olması ve direkt eşleşmelerin değerlendirilmesi daha kolay olmakla beraber, yapılan ailesel taramalar çerçevesinde iki birey arasında var olan olası bir biyolojik akrabalık nedeniyle gözlemlenen alel paylaşımını değerlendirmek genelde daha karmaşık istatistiksel analizleri gerektirmektedir (Bkz. Bölüm 2.5). En basit dille, karşılaştırılması yapılan iki farklı bireyin DNA profillerinde aynı lokuslarda gözlemlenen alel paylaşımının; bu iki birey arasında var olan bir biyolojik akrabalık derecesi sebebiyle mi, yoksa bu iki bireyin ait oldukları toplumda, bu lokuslardaki alellerin çok sıklıkla görülmesinden dolayı mı olduğunun ayırt edilmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, dünyada hemen hemen tüm toplumlarda rastgele seçilen, ama kendi aralarında akraba olmadıkları bilinen bireylerde popülasyon genetiği çalışmaları yapılarak, bu toplumlarda adli genetik çalışmalarının istatistiksel olarak değerlendirilmelerinde kullanılmaktadır.

İnsan Kalıntılarının Bir Araya Getirilmesi

Birden fazla bireye ait özellikle iskeletleşmiş insan kalıntılarının olması durumunda kimliklendirme çalışmalarında adli arkeologların ve adli antropologların yaptıkları analizler daha da büyük önem kazanmaktadır. Örneğin ölüm sonrası dönemde bu kalıntılarının bilinçli müdahalelerle ve/veya çevresel faktörlerin etkisiyle karışmaları kimliklendirme çalışmaları sırasında paralel başka bir çalışmanın da yapılmasını kaçınılmaz kılar. İskeletleşmiş insan kalıntılarının vücut bütünlüklerinin yeniden sağlanması hem kayıp kişilerin yakınları açısından büyük önem taşımakta hem de kimliklendirmenin eksiksiz yapıldığının teyidi açısından da bir gereklilik olarak karşımıza çıkmaktadır. Kalıntılarının birden fazla bireye ait olması ve birbirleriyle karışık bir şekilde olmaları durumunda adli antropologlar DNA profillemesi için kemik/dış örnekleri alırken, farklı vücut kısımlarının da bir araya getirilmesi için örneklemeler yapmak zorunda kalırlar (aynı bireye ait kafatası ile gövdeyi birleştirme amaçlı gibi). Bu çerçevede, önceki başlıkta bahsedildiği şekilde her bir dosyada 'Kemik/Dış DNA Profilleri Veritabanı', 'Referans DNA Profilleri Veritabanı' ve 'Eleme DNA Profilleri Veritabanı' aralarında karşılaştırmalar yapılmadan önce 'Kemik/Dış DNA Profilleri Veritabanı' içerisinde direkt eşleşmelerin olup olmadığına bakılmalıdır. Böylece, aynı bireyden kaynaklanan kemiklerin bir araya getirilmesi de mümkün olabilmektedir.

Kayıp Kişilerin Kimliklendirilmelerinde Disiplinlerarası Yaklaşımın Önemi

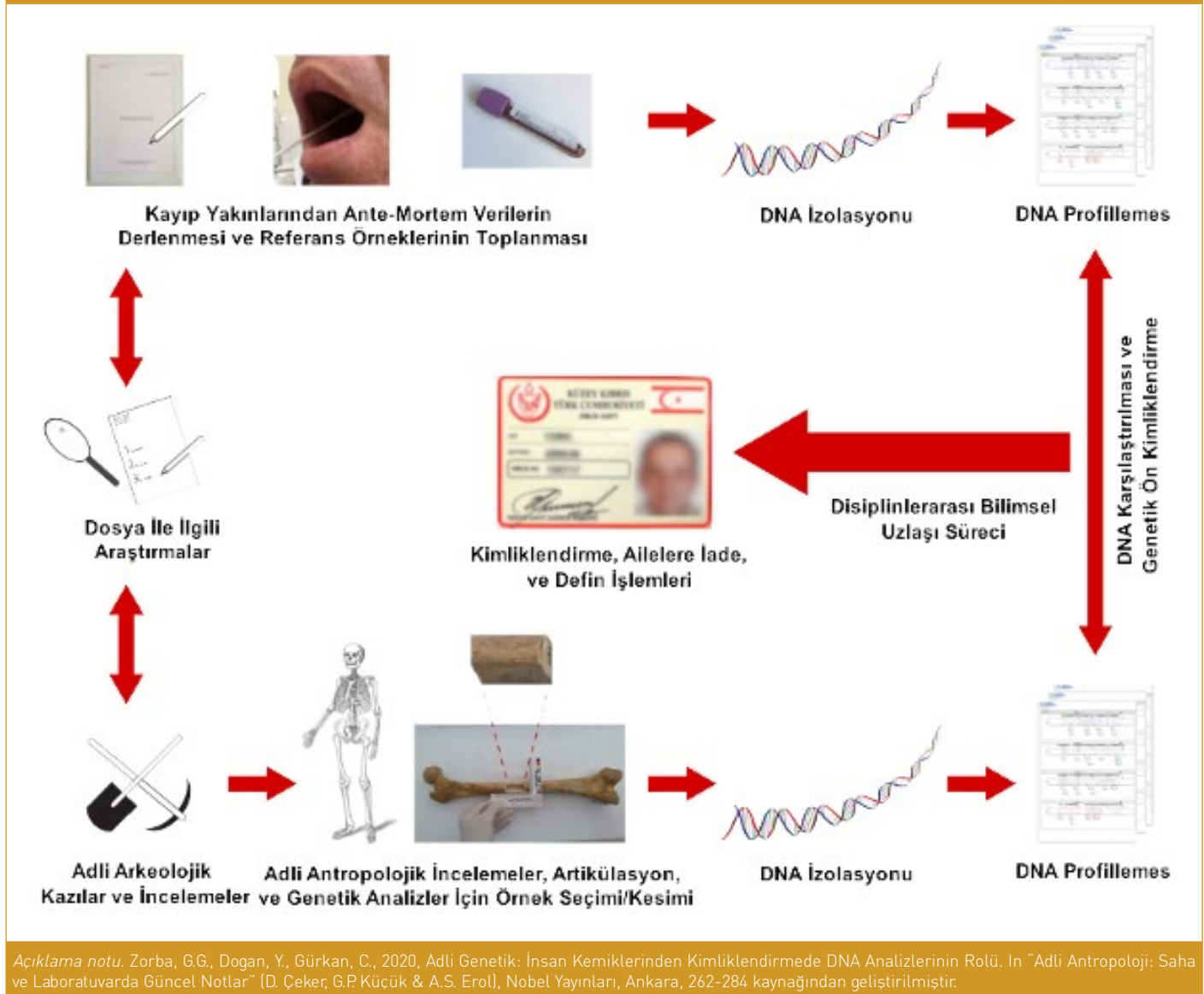
İnsan kalıntılarının kimliklendirilme sürecinin güvenli bir şekilde başarıyla yapılabilmesi için birçok bilim dalının katkısı gerekmektedir. Her ne kadar DNA profillemesi ile insan kalıntıları ve referans örnekleri karşılaştırılarak ön kimliklendirme yapmak mümkün olsa da, en son kimliklendirilmenin yapılabilmesi için kayıp kişilerin nasıl kaybolduğu, nerede gömülü oldukları ve nasıl bulduklarını raporlayan adli arkeologların; yaş, boy, cinsiyet, ölüm öncesi travma gibi karakteristiklerini raporlayan adli antropologların ve dosyaya göre diğer adli uzmanların da katılımıyla disiplinlerarası bir bilimsel uzlaşma sürecinin tamamlanması gerekmektedir. Diğer bir deyişle, kayıp kişilerin kimliklendirilmelerinde bu disiplinlerarası bilimsel uzlaşma süreci, söz konusu kayıp kişi ile ilişkili mevcut tüm bilgilerin kapsamlı bir şekilde göz önünde bulundurulması ve karşılaştırılması gerekmektedir. Bu bağlamda, pozitif bir kimliklendirme yapabilmek için ilgili arazi/

gözü yeri araştırmalarından gelen bilgilerin (ör. olası gömü yeri), iskelet kalıntılarının topraktan çıkarılması sırasında elde edilen arkeolojik bulgularla ve sonrasında antropolojik ve genetik analizlerden elde edilen bilgiler eşliğinde, olgunun bilinen gerçekleri (tıbbi kayıtlar, askeri kayıtlar, ailelerden alınan bilgiler vb.) ile tutarlı olduğunda ve tüm alternatifler ortadan kaldırıldığı zaman mümkün olabilmektedir. Şekil 1'de çoğunlukla 1963/64 ve 1974'te kaybolan toplamda 2000 kadar Kıbrıslı Rum ve Kıbrıslı Türk kayıp kişilerin kimliklendirilmesi için gerçekleştirilen Kıbrıs Kayıp Şahıslar Komitesi çerçevesinde de izlenen bu tür disiplinlerarası kimliklendirme prosedürleri grafiksel bir şekilde özetlenmektedir (Zorba vd., 2020a & b).

Kimliklendirme sürecinin tamamlanabilmesi için istatistiki değerlendirmelerin de yapılması gerekir. Genelde, bir kimliklendirmenin varılan bilimsel uzlaşma sonrası rapor edilebilmesi için, dosyaya özgü akrabalık olasılığı gibi bir sonsal olasılık değerinin rapor edilmesi gerekmektedir (genetik rapor). Bu sonsal olasılık

Şekil 1

Kıbrıs Kayıp Şahıslar Komitesi Projesi çerçevesinde gerçekleştirilen kimliklendirmelerde izlenen disiplinlerarası prosedür



değerinin mahkemelerce kabul edilebilmesi için de en az 99.95% olması gerekmektedir. Sonsal olasılığın hesaplanabilmesi için de, genelde adli arkeologlar ve araştırmacılar tarafından elde edilen bilgilerle oluşturulan dosyaya özgü önsel olasılık (genetik olmayan kanıtlara dayalı hesaplama) değerine ihtiyaç duyulmaktadır ki, bu da aranan felaket kurbanlarının toplam sayısı, açılan mezarın çıkması beklenen kişi sayısı, açılan mezarın daha önce açılıp açılmamış olması gibi DNA profillemesi dışındaki verilerin bir araya getirilmesiyle mümkün olabilmektedir.

Çoklu Kayıp Kişilere Özgü Durumlar ve Zorlu Vakalar

Kimlik tespiti sürecinde, genelde DNA analizlerine dayalı akrabalık (*kinship*) analizi çok güvenilir bir yaklaşım olmasına rağmen, bu yaklaşımda bazı sınırlamalar olabilmektedir. Tüm aile bireylerinin dahil olduğu veya aynı biyolojik aileden birden fazla bireyin dahil olduğu toplu mezarlarla çalışırken, bu sınırlamalar daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Örneğin, eğer aranmakta olan iki kayıp kişi kardeş ve aynı cinsiyete sahiplerse, sadece bu iki kardeşin anne, baba gibi ortak biyolojik akrabalarından alınan örneklerle bireysel seviyede kimliklendirilmesi DNA profillemesi yöntemiyle mümkün olmamaktadır. Diğer bir deyişle bu tür bir dosyada aynı baba ve anneden iki kardeşi diğer kayıp kişilerden ayırt etmek mümkün olmakla beraber, bu iki kişiyi tam olarak belirleyebilmek için ek genetik bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tür ek genetik veriler kayıp kişilerin biyolojik çocuklarının bulunması durumunda çocuklarından alınacak referans örneklerle sağlanabilmektedir. Alternatif olarak, kayıp kişilerin kendilerine ait olduğu kesin bir şekilde bilinen referans örnekler de kullanılabilir. Aynı cinsiyete sahip iki kardeşin kimliklendirilmesi, yapılacak antropolojik analizlerle biyolojik profilinin tahmini ile de mümkün olabilir. Örneğin akrabalar/kardeşler arasındaki biyolojik farklılıkların belirlenmesi yoluyla (ör. yaş, boy ve/veya bireysel özellikler). Bunlara ek olarak güçlü araştırma bilgileri, bir vakanın kimlik tespitine yönelik sonraki adımları belirlemek için kritik öneme sahiptir.

Bazı durumlarda sadece yüksek oranda karışmış, küçük parçalara ayrılmış ve bütünlüğünü kaybetmiş kemiklerle kimlik tespiti yapılmak zorunda kalınabilir. Bazen de antropolojik ve genetik analizlerden hiç sonuç alınamadığı durumlarda veya bilimsel verilerin olmadığı durumda kimliklendirme ya çok zor yapılabilir ya da yapılamaz. Tüm bu sınırlamalar ve zorluklar göz önüne alındığında, kimlik tespiti en iyi şekilde, disiplinlerarası bir yaklaşım ile elde edilen tüm mevcut bilgilerin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi ve karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilebilir.

Ailelerin Bilme (Bilgi Edinme) Hakkı

Kayıp yakını olmanın aileler üzerindeki etkileri büyüktür. Aileler, sevdiklerinin ölü mü diri mi olduğunu ve nerede olduklarını bilmek isterler. Kayıp kişilerin araştırılmasında, yaşayan aileler için en kötü sonuç bile belirsizliği ortadan kaldıracığı için önemlidir (Robins, 2019). Kayıp kişinin kalıntılarının tespiti, yalnızca ölümün tespiti ile ilgili yasal sorunları ele almakla kalmaz, aynı zamanda hayatta olan akrabalarının, sevdikleri kişinin akıbetini kesin olarak bilmelerini ve bunun sonucunda gelenekleri ile uygun şekilde, istedikleri gibi bir cenaze töreni gerçekleştirmelerini sağlar. Bu hayatta olan akrabaların acılarını hafifletir ve sevdikleri kişiyi istedikleri gibi defnederek onurlandırır.

Sonuç

Kayıp kişilerin kimliklendirilmesi ile ilgili bilimsel çalışmaların kullanılmasının yüzlerce yıllık bir geçmişi olmakla beraber, 1980'li yıllarda keşfedilen adli genetik yöntemlerinin artık standart bir şekilde kullanılmaya başlanmasıyla daha hassas ve hızlı bir şekilde dosyaların sonuçlandırılması mümkün olmaktadır. Bir taraftan, DNA profillemesi yöntemleriyle tek yumurta ikizleri hariç teorik olarak tüm bireyleri ayırt etmek artık kolayca mümkün olmakla beraber, kimliklendirme amacıyla ilgili ve güvenilir referans örneklerinin temini kritik bir öneme sahiptir. Diğer taraftan, kayıp kalıntılarının kimliklendirilmesini zorlaştıran diğer kritik bir etken ise eldeki kalıntılardan DNA profillemesi amacıyla elde edilen DNA'nın kalitesidir. Bu da DNA'nın biyolojik degradasyon, yüksek ısı, okside edici kimyasallar ve morötesi ışığa karşı hassasiyeti sebebiyle devamlı bir şekilde saldırı altındadır. Tüm bu sebeplerle, kayıp kişilerin kimliklendirilmesi için disiplinlerarası bir yaklaşımla olay yeri örneklerinin bir an önce korunmaya alınması, ilgili referans örneklerinin toplanması ve analizlerin gerçekleştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Teşekkür: Şekil 1'de kullanılan femur kemiği fotoğrafı için Dr. Deren Çeker'e, şeklin hazırlanmasında yardımlarından dolayı Dr. Hüseyin Sevay'a teşekkür ederiz. Bu şekilde kullanılan iskelet çizimi artık telif hakları çerçevesinde değerlendirilmeyen bir kaynaktan alınmıştır (Brehm 1890).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- Alakoc, Y. & Aka, P. (2009) "Orthograde entrance technique" to recover DNA from ancient teeth preserving the physical structure. *Forensic Sci Int* 188(1-3): 96-98. [\[Crossref\]](#)
- Brehm, A.E. (1890) *Brehms Thierleben*. Allgemeine Kunde des Tierreichs. 3rd edition. Leipzig, Wien, Austria: *Bibliographisches Institut*.
- Butler, J.M. (2011). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Elsevier.
- Butler, J.M. (2015). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Academic Press.
- Calacal G., Apaga D., Salvador J., vd. (2015) Comparing different post-mortem human samples as DNA sources for downstream genotyping and identification. *Forensic Sci Int Genet*, 19: 212-220. [\[Crossref\]](#)
- Edson, S., Ross, J., Coble, M., vd. (2004) Naming the Dead - Confronting the Realities of Rapid Identification of Degraded Skeletal Remains. *Forensic Sci Rev* 16(1): 63-90.
- Fung, W.K., & Hu, Y.Q. (2008). *Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation*. Wiley. [\[Crossref\]](#)
- Ge, J., Budowle, B., & Chakraborty, R. (2011). Choosing Relatives for DNA Identification of Missing Persons. *Journal of Forensic Sciences*, 56(s1), S23-S28 [\[Crossref\]](#)
- Gurkan, C., Demirdov, D., Yamaci, R., vd. (2015) Population genetic data for 15 autosomal STR markers in Turkish Cypriots from Cyprus. *Forensic Sci Int Genet* 14: e1-3. [\[Crossref\]](#)
- Houck, M. & Siegel, J. *Fundamentals of Forensic Sciences* (2010). 2nd edition.: Elsevier USA. [\[Crossref\]](#)

Loreille, O., Diegoli, T., Irwin, J., vd. (2007) High efficiency DNA extraction from bone by total demineralization. *Forensic Sci Int Genet* 1(2): 191-195. [Crossref]

Milos, A., Selmanovic, A., Smajlovic, L., vd. (2007) Success rates of nuclear short tandem repeat typing from different skeletal elements. *Croat Med J* 48(4): 486-493.

Mundorff, A. & Davoren, J. (2014) Examination of DNA yield rates for different skeletal elements at increasing post mortem intervals. *Forensic Sci Int Genet* 8(1): 55-63. [Crossref]

Prinz, M., Carracedo, A., Mayr, W.R., vd. (2007) DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Sci Int Genet*, 1(1): 3-12. [Crossref]

Ricaut, F., Keyser-Tracqui, C., Crubezy, E., vd (2005) STR-genotyping from human medieval tooth and bone samples. *Forensic Sci Int*, 151(1): 31-35. [Crossref]

Robins, S. (2019) Analysis of Best Practices on the Identification of Missing Migrants: Implications for the Central Mediterranean. Central Mediterranean Route Thematic Report Series. International Organization

for Migration. Geneva.

Rudin, N. & Inman, K. (2002) *An Introduction to Forensic DNA Analysis. 2nd edition*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press. [Crossref]

Yang, D. & Watt, K. (2005) Contamination controls when preparing archeological remains for ancient DNA analysis *Journal of Archeological Sciences* 32: 331-336. [Crossref]

Zorba, G., Eleftheriou T., Engin I., vd. (2020b) Forensic identification of human remains in Cyprus: The humanitarian work of the Committee on Missing Persons in Cyprus (CMP). *Forensic Science and Humanitarian Action: Interacting with the Dead and the Living*. First Edition. Editor(s):Roberto C. Parra, Sara C. Zapico, Douglas H. Ubelaker. John Wiley & Sons [Crossref]

Zorba, G., Papaioannou, K., Barranco, A., vd. (2016) Identifying the Missing in Cyprus. *In The 27th International Symposium on Human Identification Minneapolis*, Minnesota, USA.

Zorba, G.G., Dogan, Y., Gürkan, C. (2020a) *Adli Genetik: İnsan Kemiklerinden Kimliklendirmede DNA Analizlerinin Rolü*. In "Adli Antropoloji: Saha ve Laboratuvarda Güncel Notlar" (D. Çeker, G.P. Küçük & A.S. Erol), Nobel Yayınları, Ankara, 262-284.

BÖLÜM 4

DNA VERİ BANKALARI

Tuğba ÜNSAL SAPAN

DNA Veri Bankaları

DNA Databases

BÖLÜM HAKKINDA

Adli amaçlı DNA analizi yapan laboratuvarlarda; olay yerinden elde edilen bulgular üzerindeki DNA, şüpheli DNA'sı ile karşılaştırılarak, şüphelileri olaydan dışlama ya da dahil etme prensibine dayalı işlemler gerçekleştirilmektedir. Eğer DNA'lar eşleşirse, şüphelinin olay yeri ile bağlantısı kurulur. Fakat olayda herhangi bir şüpheli yoksa olay yerinden elde edilen DNA'nın kime ait olduğu sorusu yanıtız kalabilmektedir. Şüphelinin tespiti ya da kitlesel bir felaket sonucu tanınmayacak haldeki vücutların kime ait olduğunun tespiti ile yakınlarına teslim edilmesini temin etmek amacıyla bir veri bankasının bulunması büyük kolaylık sağlamaktadır. Bu nedenle adli laboratuvarların birçoğu kendilerinin incelediği olaylardan elde ettiği DNA verilerini bir veri bankasına dönüştürmenin gerekli olduğunu düşünmektedir.

DNA veri bankaları kriminal laboratuvarlarda elde edilen DNA profillerini elektronik olarak arşivleyip, diğer DNA profilleriyle karşılaştırmaya izin veren veri tabanı sistemleridir. Bu veri bankaları aynı kişi tarafından işlenmiş farklı zamandaki suçlarda elde edilen DNA profillerinin arşivde bulunan DNA profilleri ile karşılaştırılmasına da olanak sağlayarak suçlar arasındaki bağlantı da kurulabilmektedir.

DNA veri bankaları ülkelerin yasal düzenlemeleri çerçevesinde oluşturulabilen bir sistem olup, ülkemizde hali hazırda yasal bir DNA veri bankası bulunmamaktadır. Bunun yanı sıra yasal olarak DNA veri bankasına sahip ülkelerin bazılarında saklanan DNA verileri sadece hükümlülerin veya ağır suçlardan hükümlü olan kişilerin DNA profillerinden oluşurken, bazılarında ise her birey ya da 18 yaşını doldurmuş her kişinin DNA'sı alınarak profilleri saklanmaktadır. Bu bölümde DNA veri bankalarının ülkelere göre yapılanması ve kapsamı üzerinde durulmuştur.

Anahtar kelimeler: Adli biyoloji, adli DNA analizleri, DNA veri bankaları

ABOUT the CHAPTER

In forensic genetic laboratories, the DNA on the findings obtained from the crime scene is compared with the DNA of the suspect, and procedures based on the principle of excluding or including suspects from the incident are carried out. If the DNA matches, the suspect is linked to the crime scene. However, if there is no suspect in the incident, the question of who the DNA obtained from the crime scene belongs to may remain unanswered. The existence of a databank is a great convenience in order to identify the suspect or to ensure that unrecognizable bodies from a mass disaster are identified and returned to their relatives. For this reason, many forensic laboratories consider it necessary to convert the DNA data obtained from the cases they examine into a data bank.

DNA databases are database systems that electronically archive DNA profiles obtained in crime laboratories and allow comparison with other DNA profiles. These databases also allow DNA profiles from crimes committed by the same person at different times to be compared with the DNA profiles in the archive, thus establishing a link between the crimes.


DNA databanks are a system that can be established within the framework of the legal regulations of countries, and there is currently no legal DNA databank in our country. In addition, in some countries with legal DNA databanks, the DNA data stored consists only of DNA profiles of convicts or people convicted of serious crimes, while in others, the DNA of every individual or every person over the age of 18 is taken and their profiles are stored. This chapter focuses on the organization and scope of DNA databanks according to countries.

Keywords: Forensic biology, forensic DNA analysis, DNA databases

Giriş

Adli bilimlerde temel amaç, suçlu-mağdur-olay yeri veya yerlerini birbirine bağlayacak somut kanıtların ilişkisini bulmaktır. Adli bilimlerin alt disiplinlerinden olan adli genetik bilim dalı bu ilişkiyi kurmak için DNA analizlerinden yararlanır. Bir olay yerinde insan ile alakalı neredeyse her bulgudan DNA elde edilebilir. Kan, semen, tükürük, vajinal sıvı, kepek, deri döküntüleri, dışkı, idrar, kıl, tırnak gibi her türlü biyolojik örnekten DNA elde edilerek suçlu mağdur ve olay yeri arasındaki bağlantı kurulabilir. DNA analizleri hırsızlıktan, cinsel saldırıya ve cinayete kadar her türlü suçun soruşturmasına yön verebilecek niteliktedir (Wond, 2008). Bugün birçok suç türünün araştırılması ve suçlunun tespiti için standart bir teknik haline gelen bu incelemeler, 1980'li yılların ortalarında DNA'nın adli



Tuğba Ünsal Sapan 

Üsküdar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Adli Bilimler Bölümü; Üsküdar Üniversitesi, Bağımlılık ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
E-posta: tugba.unsalsapan@uskudar.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Ünsal Sapan, T. (2024). DNA veri bankaları. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 75-85). İstanbul: İÜC Üniversite Yayinevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atif 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

soruşturmalarında kullanılabilirdiğinin kanıtlanmasının ardından faileri olay yerleri ile ilişkilendirmede önemli aşamalar kat etmiştir. Bu sayede her yıl dünyada binlerce dava çözüme ulaşarak suçlular cezalandırılıp, masumlar serbest bırakılmaktadır (Bond, 2007; Butler, 2012).

DNA analizlerinde, olayla ilgili bir şüpheli varsa olay yerinden elde edilen biyolojik delil ile şüphelinin DNA'sı karşılaştırılarak sonuca gidilebilir. Ancak şüphelinin olmadığı durumlarda elde edilen biyolojik delillerin analiz edilmesi suçu kimin işlediğine dair herhangi bir sonuç vermeyecektir. Böyle durumlar için DNA profillerinin içinde bulunduğu bir veri tabanının varlığı suçun aydınlatılmasında önem arz etmektedir. Aynı zamanda toplu felaketlerde tanınmayacak halde olan kişilerin doğru bir şekilde kimliklendirilmesi ve doğru ailelere teslim edilmesi açısından da DNA veri bankaları büyük önem taşımaktadır (Miller vd., 2003).

Veri bankalarına ait dünyadaki ilk adım Birleşik Krallık'ta 1994 Ceza Adaleti ve Toplum Düzeni Kanununda (The Criminal Justice and Public Order Act) suç faaliyetinden şüphelenilen kişilerden biyolojik örnek alınması için düzenlenmeler getirilmesiyle atılmıştır. Ardından 1995 yılında resmi olarak "Birleşik Krallık Ulusal DNA Veritabanı" (The UK National DNA Databank, NDNAD) adıyla bir DNA veritabanı kurulmuş ve faaliyete geçmiştir.

ABD'de ise 1994 yılında DNA veri bankaları felaket mağdurlarının kimliklendirilmesini yapabilmek amacı ile ilk kez gündeme gelecek kurulmuş, 1997 yılında "Birleşik DNA İndeks Sistemi" (Combined DNA Index System, CODIS) adıyla faaliyete geçmiştir (Balding & Dnnelly, 1996; Goodwin vd., 2011, Kumar vd., 2021).

DNA veri tabanı sistemlerinin oluşturulması eyalet veya ülkeye göre değişiklik göstermektedir. 2019 yılında INTERPOL'e dahil üye 190 ülkeden 130 ülkenin dahil edildiği ve ülke birimlerine sorularak yapılan araştırmaya göre, 89 ülkenin ceza soruşturmalarında DNA profillemeye yaptığı, 7 Afrika, 10 Amerika, 13 Asya ve 40 Avrupa ülkesi olmak üzere 70 ülkenin suçlulara ait DNA veri bankasının bulunduğu, 31 ülkede de ayrıca kayıp şahıslarla ilgili özel bir veri tabanının olduğu rapor edilmiştir (Cyranoski, 2020; INTERPOL, 2019).

Adli DNA Veri Bankalarının Kapsamı

Adli DNA veri bankaları oluşturmanın ortak amacı, suçlunun kimliğinin belirlenerek suçun aydınlatılmasını sağlamaktır. Çoğu ülkenin adli DNA veri tabanları genellikle iki tür profil içerir:

1. Hüküm giymiş suçlulardan ve/veya tutuklulardan alınan referans örneklerine ait DNA profilleri,
2. Olay yerinden toplanan ve kime ait olduğu bilinmeyen kaynaklardan gelen DNA profilleri.

Tipik bir adli DNA veri tabanı aramasında, hükümlü ve tutuklu profilleri ile bilinmeyen bir kişiye ait adli DNA profili; "aradığımız kişi bu veri tabanındaki hükümlüler arasından biri mi?" sorusuna yanıt aramak üzere karşılaştırılır. Genellikle bu karşılaştırmalarda eşleşme olup olmadığına bakılır. Bu eşleşmeler soruşturmanın gelişmesi açısından çok önemlidir. En büyük DNA veri tabanına sahip iki ülke Çin ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'dir. Mayıs 2013'te, Çin 20 milyon DNA profiline sahip olduğunu ve adli amaçlı veri tabanı karşılaştırmalarında 410.000 eşleşme yakaladıklarını

belirtirken; ABD 12 milyon DNA profiline sahip olup, 185.000 eşleşme yakalamıştır. Ayrıca DNA veri bankasına sahip ülkelerin karşılaştırma yapmak için adli veri tabanları dışında, kayıp kişiler ve insan kalıntılarına ait DNA profilleri arşivi de ülke politikasına göre tutulabilmektedir. Kayıp kişilere ait tutulan veri tabanı kişilerin bulunmasında önemli bir yer tutmaktadır.

Çin'de 2013 yılında insan ticaretinde kullanılan 2455 çocuk DNA veri bankasındaki kayıp kişiler listesiyle eşleştirilerek kurtarılmıştır. ABD'de ise 2012'de, Ulusal Kayıp ve Kimliği Belirsiz Kişiler Sistemi (The US National Missing and Unidentified Persons System, NamUs) sayesinde 3499 kayıp kişi vakası DNA veri bankası karşılaştırmalarıyla başarılı bir şekilde çözülmüştür (Ge vd., 2014).

DNA veri bankalarının suç aydınlatma ya da kayıp kişileri kimliklendirme başarıları önemli yer tutsa da hızla büyüyen veri bankaları DNA profil ağında rastlantısal eşleşmelerin olabilme potansiyellerinden söz konusu olabilmektedir. Özellikle sınırlı sayıda lokusta (13 STR) oluşturulan DNA profilleri ile sıkıntılar yaşanabilmektedir. Bu sebeple DNA veri bankalarının yeni kimliklendirme lokuslarını da içermesi ve aile taraması gibi ek yöntemlerle desteklenmesi gerekir (Ge vd., 2011; Ge vd., 2012).

CODIS (Combined DNA Index System, Birleşik DNA İndeks Sistemi)

İngiltere'de ilk DNA veri bankası oluşturma girişiminden sonra bu alanda ikinci adım Amerika Birleşik Devletleri'nde atılmıştır. Federal Soruşturma Bürosu (Federal Bureau of Investigation, FBI) laboratuvarı, şiddet içeren suçların çözümünde, kayıp kişileri bulmada, şüphelinin tespit edilemediği durumlarda profil araştırılmasında kullanmak, suçu önlemek amacıyla her laboratuvarında aynı gen bölgelerinin çalışılması, ortak bir dil oluşmasını sağlamak için 1997'de CODIS DNA veri bankasını geliştirmiştir (FBI Criminal Justice Information Service, 2017; Miller vd., 2003).

CODIS veri arşivi üç dizinden oluşmaktadır:

Adli Dizin: Olay yeri inceleme sonucu toplanan ama çözülemeyen suçların örneklerinin profilini kapsar.

Suçlu Dizini: Belirli şiddet içerikli suçlardan hükümlü kişilerin profilini kapsar. Veri tabanlarının genişletilmesi sebebiyle tüm tutuklanan kişilerin profilleri ekleniyor.

Kayıp kişiler ve biyolojik akrabaları, kayıp bildirisi yapılan şahısların biyolojik akrabalarının profilini kapsar.

CODIS; yerel, eyalet ve federal olarak hiyerarşik düzeydeki suç laboratuvarlarının bağlantısını sağlar. Bu düzen şu şekilde işler;

Yerel: Yerel düzeyde, DNA profillerinin hepsi Yerel DNA Veri Bankasına (Local DNA Index Systems, LDIS) kaydedilir.

Eyalet: Eyalet düzeyinde kaydedilen bilgiler Eyalet DNA Veri Bankasına (State DNA Index Systems, SDIS) aktarılır. Aktarım sonrası SDIS eyaletteki laboratuvarlar arasında profillerin paylaşımına olanak tanır. Eyaletler ve yerel kurumlar bu veri tabanını yasal kurallara uygun şekilde işletir.

Federal: Federal düzeyde Ulusal DNA Veri Bankası (National DNA Index System, NDIS), CODIS veri tabanına katılan

laboratuvarlardaki profillerin uluslararası paylaşımına imkân sağlar.

Adli DNA Veri Bankalarında Kullanılan Kimliklendirme Lokusları

CODIS sistemi özellikle uçak kazalarında, uluslararası kitlesel felaketlerde kişilerin doğru ailelere teslim edilmesine, uluslararası aranan kişilerin yakalanması ancak her yerde ortak kullanılan DNA bölgeleri sayesinde başarılabilir. Bu sebeplerle CODIS kurulduğunda FBI tarafından 13 STR bölgesi belirlenmiştir. Bunlar; D3S1358, VWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, TH01 ve CSF1PO'dur. O günden itibaren tüm dünyada ortak olarak aynı STR bölgeleri ile kimliklendirme yapılmış ve veri tabanlarında 13 bölge üzerinden karşılaştırma yapılmıştır. Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi hızla büyüyen veri bankalarının DNA profil ağında rastlantısal eşleşmelerin potansiyeli açısından FBI ve Ulusal Standart ve Teknolojiler Enstitüsü (National Institute of Standard and Technologies, NIST) yeni strateji belirleyerek bunu önlemek üzere ilk olarak lokus sayısını artırmayı önermiştir. 13 STR lokusu ile çıkılan yolda, Birleşik Krallıkta

Adli Bilimler Servisi (Forensic Science Services) ve INTERPOL gibi kuruluşların veri tabanları için seçilen diğer lokuslar (D1S1656, D2S441, D2S1338, D10S1248, D12S391, D19S433, D22S1045) da dahil edilerek 2017 yılı itibarı ile kimliklendirmede kullanılan STR lokusları yirmiye çıkmıştır. Günümüzde DNA veri bankalarında yer alan DNA profili en az 20 STR bölgesiyle oluşturulmakta ve bu veriler karşılaştırılmaktadır (Crouse vd., 2019; Hill vd., 2013; Guo vd., 2014; Miller vd., 2003).

Yine benzer şekilde adli DNA veri bankalarını geliştirmek için önerilen bir diğer stratejisi de CODIS STR'leri dışında aile taraması ve nesep tayini için kullanılan ve halihazırda geliştirilmiş olan yeni genetik marklıların veri bankalarına dahil edilerek karşılaştırmada kullanılması olmuştur. Bu amaçla NDIS, CODIS'in belirlediği STR bölgeleri dışında Y-STR ve mtDNA analiz verileri de veri tabanında bulundurmaya başlamıştır. Nesep tayini, soy bağı, kısmi kimliklendirme gibi durumlarında da bu genetik işaretlerin karşılaştırılması kolaylık sağlamaktadır (Crouse vd., 2019; FBI Criminal Justice Information Service, 2017; Goodwin vd., 2007). Mevcut olarak kullanılan Y-STR bölgeleri Çin popülasyonu için ayırım gücü çok yüksek olmadığından, Çin Kamu Güvenliği Bakanlığı (The China Ministry of

Tablo 1
Polis soruşturmasında DNA analizi kullanan ülkeler

	Afrika Ülkeleri	Amerika Ülkeleri	Asya Ülkeleri	Avrupa Ülkeleri	
	Botsvana	Aziz Lucia	Avustralya	Almanya	İsviçre
	Burkina Faso	Amerika Birleşik Devletleri	Bahreyn	Andorra	İtalya
	Cezayir	Bahamalar	Bruney	Arnavutluk	İzlanda
	Fas	Bermuda	Hindistan	Avusturya	Karadağ
	Gana	Bolivya	Irak	Azerbaycan	Kıbrıs
	Güney Afrika	Brezilya	Japonya	Belarus	Kuzey Makedonya
	Mısır	Honduras	Katar	Belçika	Letonya
	Namibya	Guatemala	Kazakistan	Birleşik Krallık	Litvanya
	Seyşeller	Kanada	Kore Cumhuriyeti	Bosna Hersek	Lüksemburg
	Sudan	Kosta Rika	Kuveyt	Bulgaristan	Macaristan
	Tunus	Nikaragua	Lübnan	Çek Cumhuriyeti	Malta
		Panama	Malezya	Danimarka	Monako
		Sint Maarten	Suudi Arabistan	Ermenistan	Norveç
		Şili	Singapur	Estonya	Polonya
			Timor Leste	Finlandiya	Portekiz
			Türkmenistan	Fransa	Romanya
			Ürdün	Gürcistan	Rusya
			Vietnam	Hırvatistan	San Marino
			Yeni Zelanda	Hollanda	Sırbistan
				İrlanda	Slovakya
				İspanya	Slovenya
				İsrail	Türkiye
				İsveç	Yunanistan
Toplam	11	13	19	46	
Genel Toplam	89				

Açıklama notu. INTERPOL, 2019, Global DNA Profiling Survey. Kasım 25, 2021 tarihinde <https://www.interpol.int/content/download/15469/file/INTERPOL%20Global%20DNA%20Profiling%20Survey%20Results%202019.pdf> kaynağından alınmıştır.

Tablo 2*DNA veri bankasına sahip ülkeler*

	Afrika Ülkeleri	Amerika Ülkeleri	Asya Ülkeleri	Avrupa Ülkeleri	
	Botsvana	Aziz Lucia	Avustralya	Almanya	İsveç
	Cezayir	Amerika Birleşik Devletleri	Irak	Arnavutluk	İsviçre
	Fas	Bahamalar	Japonya	Avusturya	İtalya
	Güney Afrika	Bermuda	Katar	Azerbaycan	İzlanda
	Mısır	Bolivya	Kazakistan	Belarus	Karadağ
	Sudan	Brezilya	Kore Cumhuriyeti	Belçika	Kıbrıs
	Tunus	Guatemala	Lübnan	Birleşik Krallık	Kuzey Makedonya
		Honduras	Malezya	Bulgaristan	Letonya
		Kanada	Singapur	Çek Cumhuriyeti	Litvanya
		Panama	Suudi Arabistan	Danimarka	Lüksemburg
		Şili	Ürdün	Estonya	Macaristan
			Vietnam	Finlandiya	Malta
			Yeni Zelanda	Fransa	Norveç
				Gürcistan	Polonya
				Hırvatistan	Portekiz
				Hollanda	Romanya
				İrlanda	Rusya
				İspanya	Sırbistan
				İsrail	Yunanistan
Toplam	7	10	13	40	
Genel Toplam	70				

Açıklama notu. INTERPOL, 2019, Global DNA Profiling Survey. Kasım 25, 2021 tarihinde <https://www.interpol.int/content/download/15469/file/INTERPOL%20Global%20DNA%20Profiling%20Survey%20Results%202019.pdf> kaynağından alınmıştır.

Public Security, MPS) mevcut Y-STR veri tabanına ek olarak, kendi laboratuvarlarında kullandıkları ulusal kitin bölgelerini içeren ek Y-STR veri tabanı oluşturmuştur. Y-STR veri tabanları sayesinde aydınlatılan suçlarla yapılan istatistiklerde: Şiddet suçlarının çoğunlukla erkekler tarafından işlendiği sonucuna varılmıştır (Cinsel saldırıların %99'u, soygunların %88'i, cinayetlerin %88,8'i erkekler tarafından işlenmiştir). Beklendiği gibi, DNA veri tabanlarındaki DNA profillerinin çoğu erkeklere aittir. Örneğin, Amerika'da Teksas Eyaleti SDIS'nin %87'si; Çin Guangdong Eyaleti DNA Veri tabanının %86'sı erkek profil oluşturmaktadır (Ge vd., 2014).

Dünyada Genelinde Adli DNA Veri Bankaları

INTERPOL, üye ülkelerdeki DNA kullanımını ve DNA veri tabanlarını izlemek için her iki yılda bir Küresel DNA Profili Araştırması yürütür. 2019'da INTERPOL'ün Ulusal Merkez Bürosunun (National Central Bureaus, NCBs) yayınladığı raporda; 194 üyesinin 2018 sonu itibarıyla DNA bankası ve çalışmalarıyla ilgili rapora göre: üye ülkelerden 89'u polis soruşturmalarında DNA profillemesini kullandığını (Tablo 1), 70'i bir DNA veri tabanına sahip olduğunu (Tablo 2), 31'i özel bir kayıp şahıs DNA veri tabanına sahip olduğunu, 83'ü Y-STR analizi kullandıklarını ve 34'ü ise mitokondriyal DNA analizi kullandıklarını bildirmiştir (INTERPOL, 2019).

Afrika – Orta Doğu DNA Veri Bankaları

Güney Afrika'nın DNA Suç İstihbarat Veri bankası (National Forensic DNA Database of South Africa, NFDD) 1998 yılında kurulmuştur.

NFDD'nin genişletilmesi için düzenlenen yeni mevzuat ise 2015 yılında kabul edilmiştir. NFDD'deki DNA profillerin toplam sayısı 2016 yılı itibarı ile 90 milyonun üzerinde olup; olay yerinden gelen örnekler, tutuklulara ait, hükümlülere ait, suçlulara ait, soruşturma için alınan örnekler, elimine edilen örnekler ve kayıp şahıslar ile tanımlanamayan insan kalıntılarına ait olmak üzere 7 kategoride kayıt altına alınmaktadır. Botsvana 3300, Namibya ise 1338 DNA profilini içeren veri tabanına sahiptir (Kumar vd., 2021).

Mısır'ın 4162, Tunus'un 17.070, Lübnan'ın 23.000, Suudi Arabistan'ın 909.745 ve Bahreyn'in 69.609 DNA profiline sahip veri tabanları bulunmaktadır. İsrail Polisi DNA İndeks Sistemi (Israel Police DNA Index System, IPDIS), 2007'de kurulan İsrail ulusal DNA veri tabanıdır. IPDIS'te toplamda 491.380 DNA profili bulunmaktadır. Bu veri tabanında suçluların yanı sıra DNA analizi yapan personelin ve dışlanan kişilere ait ayrı bir veri tabanı da bulunmaktadır (INTERPOL, 2019; Kumar vd., 2021).

Interpol 2008 raporunda İran, Kuveyt, Birleşik Arap Emirlikleri ve Katar sırasıyla 10.000, 14.591, 24.370 ve 2500 DNA profiline sahip olduğu belirtilmiştir. Yine aynı raporda Ürdün veri tabanının 2000 yılında kurulduğu ve 14.104 DNA profili içerdiği yer almaktadır. Cezayir, Kenya, Ruanda, Uganda, Somali ve Seyşeller DNA veri tabanını kurmayı planlamaktadırlar (Kumar vd., 2021).

Amerika DNA Veri Bankaları

Amerika Birleşik Devletleri'ne ait ilk ulusal DNA veri tabanı 1989

yılında DNA Analiz Yöntemleri Teknik Çalışma Grubu (Technical Working Group on DNA Analysis Methods, TWGDAM) tarafından kurulmuştur. Ancak günümüzde faaliyetini sürdüren CODIS 1994 yılında FBI tarafından kurulmuştur. Ülke çapında bulunan tüm laboratuvarlar Ceza Adaleti Bilgi Sistemleri Geniş Alan Ağı ile kurulmaktadır. Ceza Soruşturma Araştırmaları için üç indeks kullanılmaktadır:

- Hüküm giymiş kişilerin profillerini kayıt altında tutmak için suçlu indeksi,
- Tutuklanmış şüpheli ve/veya suçluları kayıt altında tutmak için tutuklular indeksi,
- Suç mahallinden elde edilmiş DNA profilleri için adli indeksi.

Bu indekslere ek olarak; olay yerinden örnek toplayan kişilere ait personel indeksi, karışım DNA profili elde edilmiş suçlu indeksi, bozulmuş veya birden fazla kişiye ait karışık DNA örnekleri için kısmi profil indeksi bulunmaktadır. Ulusal Kayıp Kişi DNA Veri Tabanı (CODIS) 2000 yılında FBI tarafından NDIS düzeyinde kurulmuştur.

CODIS mp; tanımlanamayan insan kalıntı indeksi, kayıp kişi indeksi ve kayıp kişilerin akrabaları indekslerine sahiptir. Ulusal Adalet Enstitüsü tarafından finanse edilmekte olan Kuzey Teksas Üniversitesi İnsan Kimliği Merkezi tanımlanamayan insan kalıntıları üzerinde nükleer DNA, Y-STR ve mitokondriyal analizler yapmaktadır. ABD askerleri için, insan kalıntılarının tanımlanmasına destek olma amaçlı, Savunma Bakanlığına ait Savunma Bakanlığı Serum Deposu bulunmaktadır.

Brezilya'da dönüş anlamına gelen yani "*Caminho de Volta*" kayıp çocuklar için olan veri bankası 2004 yılında kurulmuştur. 2013 yılında Brezilya Federal Polisi, Brezilya Entegre Profil Bankaları Ağını (Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos, RIBPG) Caminho de volta'ya ek olarak kurulmuştur. RIBPG, Brezilya'nın her yerinden olmak üzere 20 laboratuvarı bünyesinde bulundurmaktadır. Brezilya hükümeti ceza davalarını, cinsel saldırı davalarını ve kayıp kişi aramalarını sonuca ulaştırabilmek için ülke genelinde CODIS gibi tüm eyaletlerden gelen DNA verilerinin toplandığı veri tabanı kurmayı planlamaktadır (Kumar vd., 2021).

Kanada Ulusal DNA Veri Tabanı (Canadian National DNA Database, NDDDB) 1998 yılında kurulmuş, ancak 2000 yılında DNA Tanımlama Yasası ile Kanada Kraliyet Atlı Polisi (Royal Canadian Mounted Police, RCMP) tarafından faaliyete geçirilmiştir. Kanada Ceza Kanununda yapılan değişiklik sonucunda hüküm giymiş kişilerden kan, ağız içi sürüntü ya da saç örneklerinin alınması öngörülmüştür: NDDDB'nin dört indeksi bulunmaktadır:

- Hüküm giymiş kişilere ait DNA profillerini içeren suçlu indeksi (Convicted Offender Index, COI),
- Olay yerinden elde edilen DNA profillerini içeren olay yeri indeksi (Crime Scene Index, CSI),
- Mağdurlar indeksi (Victims Index, VI),
- Gönüllü bağışçılar indeksi (Voluntary Donors Index, VDI).

COI ulusal düzeyde işletilirken CSI yerel adli laboratuvarlar tarafından işletilmektedir. NDDDB'de, DNA profilleri CODIS STR'lerine ait profilleri içermektedir ve 535.236 profile kadar kayıt tutmaktadır (Kumar vd., 2021; Milot vd., 2003). 2018 yılında RCMP tarafından Ulusal Kayıp Kişiler DNA Programı (NMPDP) başlatılmıştır.

Bu program 500.000 DNA profili barındırmaktadır. NMPDP'nin suçlular dışında üç DNA indeksi bulunmaktadır:

- Kayıp kişilere ait eşyalardan elde edilen DNA profillerini içeren Kayıp Kişiler İndeksi (Missing Persons Index, MPI),
- İnsan kalıntılarında elde edilen DNA profillerini içeren İnsan Kalıntıları İndeksi (Human Remains Index, HRI),
- Kayıp kişilerin yakınlarının DNA profillerini içeren Kayıp Kişilerin Akrabaları İndeksi (Relatives of Missing Persons Index, RMI).

RMI'nin hiçbir suç indeksi ile ilgisi yoktur, yalnızca MPI ve HRI'ye karşı arama yapmakla sınırlıdır (Kumar vd., 2021).

Şili Ulusal Veri Tabanları (Sistema Nacional de Registros de, SNDD) 2004 yılında kurulmuştur ve beş farklı veri tabanına bölünmüştür:

- Belirli ağır suçlardan hüküm giymiş kişiler için suçlu veri tabanı,
- Suçlu veri tabanıyla birleştirilmiş olan ağır suçlar nedeniyle suçlanan ve karara tabi kişiler için sanık/şüpheli veri tabanı,
- Olay yerinde bulunan ve tanımlanamayan biyolojik materyalleri içeren delil veri tabanı,
- İtirafçı ve mağdurlara ait veri tabanı,
- Kaybedilen veya kişiler tarafından infaz edilen kişilerin profillerinin bulunduğu veri tabanı

Suçlu, sanık/şüpheli ve delil veri tabanlarında bulunan DNA profilleri; suçlunun ölümü, şartlı tahliyesi veya salıverilmesine bağlı kalmaksızın 30 yıl boyunca saklanmaktadır. Mağdur veri tabanında, suçun faili ya da failleri tespit edilene kadar profil örnekleri veri tabanında saklanmaktadır. Kaybedilen veya kişilerce infaz edilen kişilerin bulunduğu veri tabanında kişiler bulunup kimliklendirilene kadar profilleri saklanmaktadır. SNDD toplam 78.733 DNA profili bulundurmaktadır ve CODIS yazılımını kullanmaktadır (Kumar vd., 2021).

Arjantin Adalet Bakanlığında 2011 yılında iki bağımsız DNA veri tabanı oluşturmak üzere yasa çıkarılmıştır. Bu veri tabanında;

- Büyük suçlardan hüküm giymiş kişilerin genetik verilerini içeren DNA veri tabanı. Bir suçla itham edilen kişiler, mahkumiyetleri kesinleşinceye kadar bu veri tabanına dâhil olmamaktadır.
- Çözülmemiş vakalardan elde edilen genetik bilgileri içeren DNA veri tabanı. Çözülmemiş herhangi bir ceza davasında toplanan her kanıttan elde edilen DNA profilleri ulusal veya il hâkimi tarafından emredildiği takdirde veri tabanına eklenmektedir. Bu DNA veri tabanı, kayıp çocukların ailelerine ait DNA profillerini de içermektedir.

2016 yılında Arjantin'in Mendoza eyaletinde oluşturulan dijitalleştirilmiş DNA profil kaydı, 30.507'si mahkumlara ait olmak üzere toplamda 40.652 DNA profiline sahiptir (Kumar vd., 2021; Penacino, 2008).

El Salvador'da 2006 yılından bu yana, bulunan Ölü ve Kayıp Göçmenlerin Akrabaları Komitesi (Committee of Relatives of Dead and Missing Migrants of El Salvador, COFAMIDE) Arjantin Adli Antropoloji Ekibi (Argentine Forensic Anthropology Team, EAAF)

Kısım 2: Adli Genetikte Tarihsel Gelişim ve Güncel Uygulamalar

ve Salvador hükümetinin bir araya gelmesi ile Meksika'daki sadece kayıp göçmenler için arşiv oluşturulmuştur (Kumar vd., 2021).

Bermuda, 2005 yılında 6.620 profile sahip bir DNA veri tabanı kurmuştur. Aynı zamanda suçlu DNA veri tabanı ve genel popülasyon veri tabanı olmak üzere iki DNA veri tabanına sahiptir.

Kolombiya, 2008 yılında kurduğu DNA veri tabanında 6.833 kişinin profili bulunmaktadır. Kosta Rika, Küba ve Ekvator'da da DNA veri tabanı oluşturulması planlanmaktadır (Kumar vd., 2021).

Avrupa DNA Veri Bankaları

Birçok kuruluş DNA veri bankalarını teşvik etmek ve geliştirmek için Avrupa Birliği veri tabanı oluşturmak üzere çalışmaktadır. Örneğin: Avrupa DNA Profillemeye Grubu (European DNA Profiling Group, EDNAP) Avrupa genelinde veri paylaşımı için sistematik prosedürler oluşturmak amacıyla 1988'den beri varlığını sürdürmektedir. Benzer şekilde Avrupa Adli Bilimler Enstitüleri Ağı (The European Network of Forensic Science Institutes, ENFSI) adli uygulamaları standart hale getirmek ve Avrupa Birliği (AB) uyum standardizasyonu için çalışmaktadır. AB DNA Profillemeye Teknikleri Standartları, (Standardisation of DNA Profiling Techniques in the European Union, STADNAP) gibi suçlulara ait en iyi veri paylaşımı uygulamalarına fon sağlamaktadır (Bianchi & Lio, 2007).

Avrupa, ENFSI DNA çalışma grubu, tüm AB üye devletlerinin adli DNA veri tabanının oluşturulmasına gerektiğine karar vermiştir. Bunu için standartlar belirlemiştir. Bu çalışmalar kapsamında Avrupa Birliği Konseyi 1997 yılında Avrupa'nın tümünde DNA veri bankalarının kurulması kararı almıştır. AB üyeleri arasında adli DNA verilerinin paylaşımı ve veri alışverişi için 2008 yılında Prüm Anlaşması imzalanmıştır. Prüm Anlaşması (Schengen III Anlaşması olarak da bilinir) 2005 yılında Avusturya, Belçika, Fransa, Almanya, Lüksemburg, Hollanda ve İspanya tarafından imzalanan bir anlaşmadır. Ancak, Prüm anlaşmasını Yunanistan, İrlanda ve İtalya kabul etmemektedir (Kumar vd., 2021). ENFSI kapsamlı bir çalışma yürüterek AmpFISTR™ SGM Plus™ (Thermo Fisher Scientifics), AmpFISTR® Profiler Plus® (Thermo Fisher Scientifics) ve AmpFISTR COfiler PCR Amplification (Thermo Fisher Scientifics) ticari kitlerini kullanarak 24 Avrupa ülkesi popülasyonu STR alel frekansını belirlemişlerdir. ENSFI, DNA STR Popülasyon Veri Tabanı (ENFSI, DNA WG STR Population Database) olarak bilinen arşiv Avrupa ülkeleri genelini kapsayan ve ülke bazında popülasyon ayırt etmeksizin, Avrupa ve diğer popülasyonların karşılaştırılmasında ve olasılık hesaplarında kullanılmaktadır (Bianchi & Lio, 2007).

AB üyesi ve aday üye ülkeler arasında veri bankalarında verilerin imhası gibi birçok alanda farklılıklar bulunmaktadır. DNA profillerinin saklanma kriterleri açısından Belçika sadece ağır suçlarda mahkûmiyet kesinleştikten sonra veri tabanına profilleri kaydetmektedir. *İngiltere* dışında hemen hemen tüm AB ülkeleri beraat kararını takiben profilleri yok etmektedir. *Fransa*'da çocukların ve protestocuların DNA verileri de dahil edilerek veri tabanı hızla büyümüştür ve veriler 40 yıl boyunca silinmeden saklanmaktadır. Örneklerin imhası konusunda da *Almanya* soruşturma ve kovuşturmanın devamını takip etmeksizin DNA profilini elde ettikleri anda DNA örneklerini yok etmektedir. İtalya'da ise DNA profilleri eğer kişi beraat etmediyse en az 20 yıl en fazla 40 yıl saklanmaktadır (Bianchi & Lio, 2007; INTERPOL, 2019; Marchese vd., 2013).

Hollanda, 1997 yılında kurulan Ulusal Adli Tıp Kurumu (Nederlands Forensisch Instituut, NFI) tarafından ceza davaları ve kayıp kişiler için bir DNA veri bankası kurmuştur. NFI'nin 2017 yıllık raporuna göre bankada 351.912 DNA profili bulunmaktadır. İlk kurulduğunda veri tabanında olay yerinden gelen örnekler, şüpheliler, hükümlüler ve ölen kurbanlara ait DNA profilleri bulunurken daha sonra kimliği belirsiz, kayıp kişiler ve kayıp kişilerin yakınlarının profilleri de eklendi (Nederlands Forensisch Instituut, 2019).

Almanya'nın DNA veri bankası (Bundeskriminalamt, BKA) Wiesbaden, 1998'de Alman Federal Polisi tarafından kurulmuş ve 1.213.331 DNA profiline sahiptir. Uluslararası DNA alışverişine açık olan Almanya'da çeşitli sivil toplum kuruluşları "DNA Toplama Çılgınlığını Durdurun!" kampanyası ile eylem yaparak, 2011 yılında uluslararası DNA veri alışverişinin iptal edilmesi için Alman Adalet Bakanı'na açık bir mektup göndermiştir ancak hala Prüm anlaşması veri paylaşımı devam etmektedir.

Avusturya İçişleri Bakanlığı, DNA veri bankası da mevcut olup 384.098 DNA profilinden oluşmaktadır (Kumar vd., 2021).

İtalya ulusal DNA veri bankası, (Banca dati nazionale del DNA, IT-NDNADB), 2009 yılında kurulmuş ve karşılaştırma için CODIS yazılımını kullanmaktadır. ITNDNADB, DNA profillerinin ve biyolojik örneklerin verilerini ve depolanmasını korumaya yönelik güvenlik önlemleriyle, AB üye ülkeleri arası DNA veri paylaşımının tutarlı olmadığını dile getirmektedir (Marchese vd., 2013).

Belçika DNA veri bankası, 1999 yılında Ulusal Kriminalistik ve Kriminoloji Enstitüsü tarafından kuruldu. Bu bankada olay yerinden elde edilen ve hüküm giymiş kişilerin DNA profilleri bulunmaktadır. Ancak şüpheli DNA profilleri için herhangi bir veri tabanı oluşturulmamıştır (De Moor, 2018).

Estonya 2004 yılında, **İrlanda** ise 2013 yılında DNA veri tabanını kurmuştur. 1999 yılında Ulusal Soruşturma Bürosu (National Bureau of Investigation, NBI) gözetiminde **Finlandiya** Ulusal DNA Veri Tabanı kurulmuştur. Estonya ve Finlandiya da herhangi bir suçtan hüküm giymiş veya şüphelilerden reşit olmayan bireylerden zorla DNA örnekleri toplanmaktadır.

Fransa ulusal DNA veri tabanı (Fichier National Automatisé des Empreintes Génétiques, FNAEG) 1996 yılında oluşturulmuştur. Bu veri tabanı Fransız nüfusunun %5'ini oluşturan 4.247.382 profil içermektedir. Başlangıçta sadece cinsel suçlarla ilgili vakalardan elde edilenlerden alınırken 2003 yılından beri neredeyse tüm suç tiplerini kapsayacak şekilde genişletilmiştir (Global Summary 2020; INTERPOL, 2011).

Yunanistan hükümeti 2008 yılında ulusal veri tabanının kurulması için bir yasa çıkarmıştır. Bu yasaya göre yalnızca şiddet suçlarında hüküm giymiş kişilerin DNA profilleri veri bankasına kaydedilmiştir. Ancak yasa, 2009 yılında, tutuklanan ya da bir suçla itham edilmiş kişilerin, beraat etmiş olsa bile, ulusal DNA veri tabanına dahil edilmesine izin verecek şekilde değiştirilmiştir (Voultos vd. 2011).

Güney Kıbrıs'ın ulusal DNA veri tabanı 1998 yılında, **Hırvatistan**'ın ulusal DNA veri tabanı 2000 yılında ve **Çek Cumhuriyeti**'nin ulusal DNA veri tabanı 2001 yılında kurulmuştur. Her bir veri tabanı sırasıyla 51.093, 16.706 ve 253.085 profil içermektedir. **Bulgaristan**

DNA veri tabanı 1999 yılında kurulmuş ve 17.055 profil içermektedir. **Macaristan**, 2004 yılında DNA veri tabanını kurmuş ve 212.196 profiline sahiptir (INTERPOL, 2011).

Portekiz etik konseyi (Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida, CNECV) olarak da bilinen Portekiz DNA veri bankası 2005 yılında kurulmuştur. Yalnızca suçlu DNA profilini içermektedir. 2013 yılında yayımlanan Portekiz basın raporuna göre Portekiz DNA veri tabanı 5.393 DNA profiline sahiptir (Kumar vd., 2021).

Romanya, Ulusal Adli Genetik Veriler Sistemi (National System of Judicial Genetic Data, NSDGJ) 2008 yılında kurulmuştur. NSDGJ üç alt bölüme ayrılmıştır: Faillerin ve azmettiricilerin kişisel verilerini içeren veri tabanı, olay yerinden elde edilen soruşturma veri tabanı, kişilerin profilleri ve belirlenemeyen olay yeri örneklerini içeren için DNA profili veri tabanı. 2011 yılında yayımlanan Interpol raporuna göre NDSGJ'de 8.000 referans DNA profili bulunmaktadır (Kumar vd., 2021).

Slovenya 37.531, **Slovakya** 96.203 ve **Lüksemburg** 10.358 DNA profiline sahip olduğunu 2011 yılında Interpol'e bildirmiştir (INTERPOL, 2011). 1998 yılında **İsveç**'de kurulan DNA veri tabanında 201.900 profile sahiptir. **İspanya** 527.163 DNA profiline sahip DNA veri tabanını 2007 yılında kurmuştur (INTERPOL, 2011; Kumar vd., 2021).

Avrupa Birliği Üyesi Olmayan Devletler ve DNA Veri Bankaları

Prüm Antlaşması; Avrupa Birliği üyesi olmayan **Norveç**, **İzlanda**, **İsviçre** ve Lihtenştayn tarafından DNA verilerinin paylaşımı ve veri değişimi için imza atılmıştır. Norveç veri tabanında 109.180 DNA profili ve İsviçre veri tabanında 268.417 DNA profili bulunmaktadır. 2008 yılında İzlanda Ulusal Polis Temsilcisi ve Adalet Bakanlığı tarafından iki adli veri tabanı oluşturulmuştur. Bunlar; hüküm giymiş kişilerin ve olay yerinde bulunan ve kimliği belirlenemeyen genetik profiller veri tabanlarıdır.

2019 yılında yayımlanan Interpol raporuna göre **Kuzey Makedonya** kendi DNA veri tabanında 27.545 DNA profili bulundurmaktadır. **Belarus** DNA veri tabanında 336.408 DNA profili bulunmaktadır (Council of the European Union, 2018; INTERPOL, 2019; Kumar vd., 2021).

Rusya'ya ait olan Federal Genom Bilgisi veri tabanı (Federal database of genome information, FDBGI) 2009 yılında kurulmuştur. Bu veri tabanı gönüllü ve zorunlu genomik kayıtları bulundurmakta ve 734.373 DNA profilini içermektedir. Zorunlu genomik kayıtlar; tüm cinsel suçlar kategorisinin dışında kalan ciddi ve ağır suçlara ait hükümlü kişiler, soruşturma sırasında biyolojik materyalleri toplanmış kimliği belirsiz kişiler ve kimliği belirsiz cesetlerin DNA profillerinden oluşmaktadır (INTERPOL, 2011; Kumar vd., 2021; Perepechina, 2018).

Birleşik Krallık, en önde gelen adli DNA veri tabanı olan Ulusal Suç İstihbarat DNA veri tabanını (National Criminal Intelligence DNA Database, NDNAD) 1995 yılında kurmuştur. NDNAD hizmeti, 2007 yılında, veri işlemlerini sürdürmek ve verilen bütünlüğünü sağlamak amacıyla Ulusal Polisliği Geliştirme Ajansı'na atanmıştır. 2001 Ceza Adaleti ve Polis Yasasına göre, DNA analizi için onay verilmesi ancak katalog suçlarla itham edilen kişilere

uygulanırken; 2003 Ceza Adaleti Yasası nedeniyle İngiltere ve Galler'de 10 yaşından büyük, herhangi bir suça karıştığı için tutuklanmış kişilerden de örnek toplanmaya başlanmıştır. 2012 yılı Özgürlüklerin Korunması Yasasından sonra, suçsuz bulunan ve/veya suçlanmayan 1,7 milyondan fazla masum yetişkin ve çocukların DNA verileri silinmiştir ve toplamda sistemde bulunan 7,7 milyondan fazla DNA örneği imha edilmiştir (Kumar vd., 2021).

İskoçya'da bulunan Dundee Polis Adli Bilim Laboratuvarındaki Ulusal DNA veri tabanı bölümü, toplanan verileri Birleşik Krallığa ait NDNAD'ye bildirmektedir. Isle of Man, diğer adıyla Mann Adası Polis Teşkilatı Bilimsel Destek Departmanı ile birlikte Jersey ve Guernsey Polisi de topladıkları verileri NDNAD'de depolamaktadır (Kumar vd., 2021; Johnson & Williams, 2004).

Türkiye polis soruşturmalarında DNA analizlerinden sıklıkla yararlanmaktadır. Ancak hâlihazırda yasal bir DNA veri bankası yoktur. 2007 yılında "*DNA Verileri ve Türkiye Milli DNA Veri Bankası*" Kanun Tasarısı hazırlanarak meclise sunulmuştur. Ancak hala DNA veri bankaları kanunlaşmış değildir (Gönenç & Aslanova, 2018).

Avustralya DNA Veri Bankaları

Yeni Zelanda, Ulusal DNA profili veri bankası 1996 yılında kurulmuştur. Bu veri bankasının çalışmalarını Çevre Bilimi ve Araştırma Şirketi (Environmental Science and Research, ESR) sürdürmektedir. 1995 yılından önce, hüküm giymiş ve ceza evinde olan mahkumlardan veri bankası için zorunlu örnek toplanmasının yapıldığı 1995 Suç Araştırmaları Beden Örnekleri Yasası genişletilerek 2004 yılında mevzuatta düzenlemeler ile DNA veri tabanı genişletilerek iki tane veri tabanı oluşturulmuştur. Bunlardan biri kayıtlı suçluların ve gönüllülerin profilleri diğeri ise faili meçhul davalara ait profilleri içeren olay yeri örneklerinin bulunduğu veri tabanı olan DNA Profilleri Veri Bankasıdır. (DNA Profile Databank, DNAPD) (Kumar vd., 2021; Smith & Mann, 2015). Cezai Soruşturma Beden Örnekleri Değişikliği Yasasının 2010 yılında yürürlüğe girmesi ile birlikte mevzuat değiştirilmiş ve genişletilmiştir. Mevzuatın değiştirilmesi ile tutukların profillerini içeren Geçici Veri Bankası (Temporary Databank, TD) oluşturulmuştur. Kişilerin hüküm giymesi halinde profiller, DNAPD'ye transfer edilmektedir. 2013 yılında Yeni Zelanda, ABD ile veri anlaşması imzalayarak her ülkenin, belirtilmiş koşulları altında otomatik arama için bir diğeri ülkenin parmak izi veri tabanına erişimi sağlanmıştır. Bu anlaşma ile her iki ülkede de bir eşleşme bulunursa adresler, mahkumiyetler, olaya iştirak eden kişiler ve takma adlar gibi daha fazla bilgi paylaşılmaktadır. 2021 yılı itibarı ile DNAPD'de 237.269 DNA profili bulunmaktadır. Olay yeri örneklerinin DNAPD ile analizi ve entegrasyonu için veri tabanının büyük ölçüde yeni nesil sekanslama teknolojisine genişletilmesi planlanmaktadır (Flaus, 2013; Harbison vd., 2000; Kumar vd., 2021).

Avusturalya'da 2001 yılında Avusturalya Suç İstihbarat Komisyonu tarafından geliştirilmiş üç DNA veri tabanı bulunmaktadır:

- Avusturalya Federal Polisi tarafından işletilmekte olan kanun uygulama amaçlarına yönelik DNA veri tabanı,
- Afet Kurbanı Kimliklendirme (Disaster Victim Identification database, DVI) veri tabanı,
- Avustralya Ulusal Suç Araştırma (National Criminal Investigation DNA database, NCIDD) veri tabanı.

2014 yılı itibari ile NCIDD'de 830.000 DNA profili bulunmaktadır. NCIDD ailesel arama, akrabalık eşleştirme, mtDNA ve Y-STR profillerini 2015 yılından itibaren veri tabanına dahil etmeye başlamıştır. Avusturalya başbakanlığı uluslararası DNA veri alışverişini desteklemek amacıyla 2014 yılında İngiltere, ABD ve Kanada arasında olan pilot programa dahil olmuştur (Kumar vd., 2021; Smith & Mann, 2015).

Asya DNA Veri Bankaları

Çin, Adli Bilimler Enstitüsü Genetik Laboratuvarı, 2004 yılında DNA veri tabanı kurmuştur. 2017 yılında Çin Kamu Güvenliği Bakanlığı (Ministry of Public Security, MPS) tarafından Y-STR veri tabanı oluşturulmuştur. Çin nüfusunun etnik yapısına uygun şekilde ayırım gücünü artırmak için ek STR lokusları içeren DNA veri tabanı 2020 yılı itibariyle bünyesinde 80 milyon DNA profili bulunmaktadır. Bu veri tabanı; olay yeri indeksi, şüpheli/sanık/tutuklu indeksi ve ölüm sebebi bilinmeyen kişiler indeksi olup, kayıp ve göçmen çocuklar veri tabanına ek olarak kayıp kişiler ve mağdur/gönüllü indeksine de yer verilmesi planlanarak oluşturulmuştur.

Çin'in özel idari bölgesi olan **Hong Kong**, 2001 yılında CODIS yazılımını kullanarak kendi bölgesel adli DNA veri tabanını kurmuştur. Hong Kong polis gücü yönetmeliğine göre yalnızca ciddi suçlar için numune toplanıp adli analiz yapılabilmektedir. Ayrıca sonra da DNA içeren numunelerin imha edilmesi gerekmektedir (Kumar vd., 2021).

Japonya Ulusal Polis Teşkilatı (National Police Agency, NPA) 2004 yılında DNA veri tabanını oluşturmuştur. Bu veri tabanı; olay yeri örnekleri içeren DNA profilleri, doğal olmayan ölümlere ait DNA profilleri ve şüphelilere ait DNA profillerini içeren üç farklı indeksden oluşmuştur. 2019 yılı itibariyle, DNA veri tabanında 1,3 milyon DNA profili bulunmaktadır. Bu, her 100 vatandaştan birinin DNA'sının profillendirildiği anlamına gelmektedir. Ulusal Polis Araştırma Enstitüsünün başlatmayı planladığı DNA veri bankasında ise; şüphelinin etnik kökenini, kan grubunu, metabolik enzimlerini, saç ve cilt pigment proteinlerini, mtDNA'sını ve asemptomatik viral enfeksiyon belirtilerini belirleyen bölgelerin yer alması hedeflenmiştir (Kumar vd., 2021).

Güney Kore, 2002 yılında kayıp çocuklar için DNA veri tabanı oluşturmuştur. Ancak 2010 yılında DNA kimlik bilgilerinin kullanımı ve korunması yasası çıkması ile ulusal DNA kimlik bilgileri veri tabanı ve DNA kalite kontrol hizmeti oluşturulmuştur. Bu veri bankasında soygun, kundakçılık, uyuşturucu kaçakçılığı, cinsel saldırı ve cinsel istismar dahil olmak üzere toplam 11 şiddet suçundan suçlanan veya hüküm giymiş kişilerin DNA örnekleri bulunmaktadır (Kumar vd., 2021).

Malezya Adli DNA veri bankası (Forensic DNA Databank of Malaysia, FDDM), 2015 yılında Malezya DNA kimliklendirme ve düzenleme kanunlarının yürürlüğe girmesiyle Kraliyet Malezya Polisi Adli Laboratuvarı (Royal Malaysia Police Forensic Laboratory, RMPFL) ve Kraliyet Malezya Polisi (Royal Malaysia Police, RMP) tarafından kurulmuştur. FDDM'de şüphelilerden, hükümlülerden, olay yeri örneklerinden, tutuklulardan, uyuşturucu bağımlılarından, kayıp kişilerden, FDDM personelinden ve gönüllülerden alınmış yaklaşık 75.000 profil içermektedir (Kumar vd., 2016; Kumar vd., 2021).

Endonezya Ulusal Polisi ve Eijkman Moleküler Biyoloji Enstitüsü, Endonezya'da bulunan birçok etnik grup için mtDNA ve STR

lokuslarını içeren ebeveyn, afet kurbanı ve fail tanımlama için bir DNA veri tabanına bulunmaktadır (Kumar vd., 2021).

Bangladeş, Sri Lanka, Filipinler, Vietnam ve Tayland DNA veri tabanı oluşturmayı planlayan ülkeler arasındadır. Hindistan, herhangi bir DNA veri tabanı ya da veri havuzuna sahip değildir. Ancak 2008 yılında Interpol tarafından yapılmış olan bir araştırmada Hindistan'ın İnsan Kimliklendirme (Human identification, HID) adı verilen ve devlet veri tabanı çalıştırmak için geliştirilmiş yazılım kullandığını bildirmiştir (Kumar vd., 2016; Kumar vd., 2021).

DNA Veri Bankaları ve Etik Yaklaşımlar

İnsan Hakları Açısından Yaklaşımlar

Yapılan istatistiksel çalışmalara göre DNA araştırmalarının %50'sinin mahkumiyetle sonuçlandığı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre DNA analizlerinin yarısı da masumiyeti ortaya çıkarmaktadır. Masum kişilerin suçlandıkları olayla bağlantılı onlardan alınan biyometrik verilerin parmak izi ve DNA örneklerinin saklanması konusunda hem yasal hem de etik açıdan tartışılan bir konudur.

2001 yılında İngiltere'de, 11 yaşında olan bir çocuk hırsızlık ile suçlanmış, olaydan sonra parmak izi ve DNA örnekleri toplanmış ve elde edilen DNA verileri DNA veri bankası sistemine yollanmıştır. Fakat yapılan incelemeler sonucunda beraat etmiştir. Yine aynı yıl partnerini taciz etmekten tutuklanan bir kişinin olay sonrasında parmak izi ile DNA örnekleri alınmıştır ve DNA profili DNA veri bankasına eklenmiştir. Duruşma öncesinde inceleme yapılmadan, bu kişi (Bay Marper) ve partneri uzlaşarak hakkında bir suçlamada bulunulmamıştır. Bu sebeple Haziran 2001 yılında dava durdurulmuştur. Çocuğun beraat etmesinden ve partnerini taciz eden kişi (Bay Marper) hakkında suçlamada bulunulmaması sonucunda her iki kişi de parmak izlerinin ve DNA profillerinin veri tabanlarından silinmesini talep etmiştir. Ancak bu talepleri reddedilmiştir. Talebin Avrupa İnsan Hakları Mahkemesine (AİHM) intikal etmesi ile Aralık 2008 tarihinde AİHM, çocuğun ve Bay Marper'in DNA profillerinin, parmak izlerinin ve biyolojik örneklerin saklanmaması kararına varmıştır. Verilen karar DNA profilleri, parmak izlerinin ve biyolojik örneklerin saklanmasının özel hayatın gizliliğine aykırı olduğu yönünde olmuştur. Bu sebeple olay yerinden toplanan örneklerin ne zaman imha edileceği yasal düzenlemelere bağlı olarak ülkeye göre farklılık göstermektedir. Bu olaylarla tüm dünya genelinde bazı soru işaretleri oluşmuştur. Bu sorular:

- DNA ne zaman toplanmalıdır? Kimin DNA'sı saklanmalıdır?
- Bu veri tabanlarına kimin erişimi olmalı ve kimin kullanımı kısıtlanmalıdır?
- Adli hatanın önlenmesi için ne gibi güvenlik önlemleri alınmalıdır?
- Ne zaman uluslararası DNA veri transferine izin verilmelidir? (Kumar vd., 2021; Wallace vd., 2014). DNA veri tabanlarına masum kişilerin DNA profillerini eklemek suçların aydınlatılmasına pek yarar sağlamamıştır. 2006 yılında, İngiltere başbakanı olan Tony Blair, İngiltere vatandaşları ve turistlerin DNA örneklerini toplayarak evrensel DNA veri tabanı oluşturma fikrini ortaya atmıştır. Ancak bu fikir birçok tartışmaya sebep olmuştur. Bu tartışmalardan bazıları:
- Toplumun ve turistlerin potansiyel bir suçlu olarak görülmesi, gönüllü DNA örneği vermek istemeyeceklerin güven problemi yaşamalarını sağlayacaktır.

- Sisteme sızan kişilerin olması, polis veya devlet tarafından verilerin yanlış kullanılması ihtimalleri bulunmaktadır.
- Olay yerindeki DNA verilerinin veri tabanındaki örneklerle yanlış eşleşme ihtimali bulunmaktadır (Wallace vd., 2014).

2007 yılında ABD New York Eyaletinde, ceza soruşturmasında DNA örneği toplanmasında kökene bağlı DNA örneği toplama ve aile taramalarına izin verilmesi kapsamında genişletilmiştir. Bu düzenleme DNA veri tabanları CODIS kapsamında olan tüm dünya DNA veri tabanlarında taranmaya açık hale gelirken aynı zamanda veri tabanının çoğu Afro-Amerikalı erkek popülasyonuna dönüşmüştür. 2010 yılında yetişkin siyahi popülasyon, New York eyaletinde total yetişkin nüfusun %12'sini oluştururken, tutuklanan kişilerin %27'sini siyahi yetişkin bireyler oluşturmuştur. Örneğin Shelby County gibi siyahi popülasyonunun, nüfusun %50'sinden fazlasını oluşturan bölgelerde, Afro-Amerikalı bireyler ceza davalarının %85'inde yer almaktadır. Maricopa County bölgesinde, davalı nüfusun %30'u Arizonalı ve %39'u Hispaniktir. Yakalananların önemli bir kısmı siyahi ve Latin popülasyon olmasına rağmen büyük bir kısmı mahkûm edilmemiştir (Kumar vd., 2021).

DNA Veri Bankalarının Gizlilik Durumu

DNA veri bankaları, çok sayıda DNA profili içermeleri, dolayısıyla büyük veri arşivinin oluşması ve bunun güvenliğin sağlanması konusunda sıkıntılar yaşanabileceği; ayrıca saklanan DNA verilerinin "sadece profil mi? yoksa DNA örneğinin kendisi mi?" endişeleri ile ayrıca bu verilerin gizliliği konusunda sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır. Gizliliği koruma konusuna çeşitli şekillerde yaklaşmaktadır. Örneğin, CODIS kapsamında STR lokusları çalışılmaktadır. Bu lokuslar, insan genomunun intron bölgelerinde yer alan ve herhangi bir kalıtsal hastalıkla ilişkisi olmayan, sadece insanları kimliklendirebilmek için özel bölgeler olduğundan kişisel verilerin gizliliği bu kapsamda korunmaktadır. Bunun yanı sıra kişisel bilgiler, biyolojik numunelerden alınan DNA bilgileri sadece sınırlı yetkili kuruluşların ve CODIS yöneticilerine açıktır. Buradaki sınırlı yetkililer yine de sorun teşkil etmektedir. DNA verilerinin usulsüzce kullanılmasına ilişkin ABD'de devlet cezaları, hapis cezası ve ağır para cezasını şeklinde yaptırımları bulunmaktadır. Yani bir kişi DNA verilerini yetkili kişiler dışında herhangi bir nedenle kullanırsa ağır cezalarla karşı karşıya kalmaktadır. Onaylanmayan verilerin ifşa eden kişilerin 250.000 dolar para cezası ile cezalandırılmaktadır (Kumar vd., 2021).

Aile Taramaları

Aile taramaları, olay yerinden alınmış DNA profilleri ile veri bankalarında kayıtlı DNA profillerinin karşılaştırılıp eşleşme olmaması, yani şüpheliye ulaşamadığı failin bulunamadığı durumlarda; DNA veri bankaları taranarak failin yakın akrabalarının bu veri tabanında olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmaktadır. Özellikle DNA analizi için kullanılan yazılım programlarının gelişmesi kısmi eşleşme olduğu ve akrabalık ilişkisi saptanan kişileri de yüzdelik olarak belirttiğinden bilinmeyen kişileri de akrabalık üzerinden bir nevi DNA veri bankasına dahil etmiş olmaktadır. Bu tür araştırmalar, düşük özgünlükteki DNA eşleşmelerini (daha az lokusta eşleşen DNA profillerini) olaya dahil ederek daha fazla sayıda olası şüpheli ortaya çıkarmayı sağlamaktadır. Akraba olduğu düşünülen kişilerle irtibat kurulup hangi akrabasının suçu işlemiş olacağı ile ilgili soruşturma yapılmaktadır.

Bu araştırmaları kasıtlı olarak gerçekleştirme ve kısmi eşleşmeler hakkında bilgi verme yetkisi, Birleşik Devletler eyalet yasaları ve sürekli genişleyen politikalar tarafından belirlenmektedir. ABD eyaletlerinin çoğu, aile içi tarama kavramı konusunda belirsiz kalmırken, yalnızca New York ve Massachusetts, adli vakalarda aile taramalarının kullanılması konusunu özellikle ele almıştır. Aile taramaları zaten ABD'de uzun süredir kimliği belirsiz insan kalıntıları vakalarında kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda şüphelileri belirlemek için de potansiyel bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Birleşik Krallık'ta ise suçluları tespit etmede %10-14'lük bir başarı oranıyla, yıllardır aile taramaları kullanılmaktadır.

Etik açıdan mahremiyet savunucuları tarafından lanse edilen büyük bir endişe, polis memurlarının, masum insanları ve/veya failin aile üyelerini taciz etmek ve utandırmak için ailesel araştırmalardan elde edilen bilgileri kötüye kullanacaklarıdır. Aile taramalarının önemli olduğunu savunanlar ise bu iddianın yersiz bir endişe olduğunu düşünmektedirler (Gershaw vd., 2011).

Hatalar ve DNA Verilerinin Uygunsuz Kullanımı

DNA verilerinin korunması ve kullanımı konusundaki endişelere neden olan sebepler şunlardır:

- Olay yerinden elde edilen DNA verilerinin toplanması sırasında oluşabilecek çeşitli kontaminasyon vb. sıkıntılar;
- Kısmi DNA Profili eşleşmeleri ve olasılık hesaplarında yakın akrabalarda çıkabilecek sorunlar;
- Çok sayıda insandan DNA profillerinin ve ilgili bilgilerin toplanması ve kayıtların toplanması/tutulmasıyla ilgili mali sorunlar;
- Güvenlik açıkları şeklinde sıralanabilmektedir.

Ayrıca çok sayıda suçsuz kişinin- hüküm giymese de kayıtlarının DNA veri tabanına dahil edilmesi halkın polise olan güvenini kaybetmesine neden olmaktadır. Portekiz, Marper kararıyla uyumlu olan DNA veri tabanı yasasını Şubat 2008 yılında kabul etmiştir. Şüphelilerin DNA profilleri ancak hükümlü oldukları takdirde veri tabanında saklanmaktadır. Hükümlülerin DNA profilleri, cezanın infazından itibaren on yıl içerisinde DNA veri tabanından çıkarılmaktadır.

İrlanda, DNA veri tabanı mevzuatı olmayan tek büyük Avrupa Birliği ülkesidir. 2013 yılında henüz kesinleşmemiş ancak Marper kararı ile uyumlu olması gereken yeni mevzuat önermiştir. Rusya, DNA veri tabanını hükümlü mahkumlarla sınırlayarak Marper kararına uygunluk sağlayan ilk Avrupa Konseyi ülkelerinden biri olmuştur.

Güney Afrika, 2009 yılında Marper kararıyla uyumlu olmayan DNA mevzuatı taslağı önermiştir; ancak, parlamentoda insan hakları ile ilgili endişeler dile getirilmiş ve 2013 yılında Marper kararı ile uyumlu yeni bir yasa kabul edilmiştir. Hükümlülerin DNA profilleri süresiz olarak saklanırken, suçsuz kişilerin DNA profillerinin be-
raat etmesi veya aleyhindeki davaların düşmesi durumunda veri tabanından silinmesi gerektiği. Kişilerin numuneleri, profillerin elde edilmesinden itibaren 3 ay içerisinde imha edilmesi kararı alınmıştır.

Güney Kore, 2010 yılında DNA yasasını kabul etmiştir. Kanun; be-
raat durumunda DNA kimlik bilgilerinin silinmesini ve DNA profilleri elde edildikten sonra tüm biyolojik örneklerin imha edilmesini gerektirmektedir (Wallace vd., 2014).

ABD’de, bazı eyaletlerde masum insanların DNA profillerinin saklanması için izin vermektedir. 22 eyalette, DNA profillerinin saklanması yalnızca mahkûmiyet sonrası izin vermektedir. Mahkûmiyet öncesi DNA toplanmasına izin veren 28 eyaletten 7’si insanların kayıtları için otomatik bir silme işlemine sahipken, geri kalan 21 eyalet yalnızca bireysel başvuruda silmeye izin vermektedir (Wallace vd., 2014).

Sonuç

DNA veri bankaları, geçmişten günümüze suçların aydınlatılmasında büyük bir rol oynamaktadır. Etik açıdan hala eleştirilere açık olmakla birlikte birçok haksız mahkûmiyeti ortaya çıkarmakta büyük rol oynamıştır. Teknolojinin gelişmesi, suç tiplerinin değişmesi ve failerin gelişen teknolojiye paralel olarak kendini değiştirmesi yanı sıra, failerin izledikleri film, dizi ve/veya belgesellerden etkilenmesi sonucunda adli bilimler hakkında daha fazla bilgi sahibi olmalarına neden olmuştur. Bunun neticesinde biyolojik materyallerini olay yerine daha az bırakır hale gelmiş ve/veya olay yerindeki biyolojik materyallerini yok etmeye başlamışlardır. Tüm bu sebeplerle, olay yerinde bulunan eser miktardaki biyolojik delillerin ve bu delillerin kimliklendirilmesinin önemi artmaktadır. Bir suçtan hüküm giymiş kişi ile faili meçhul kalmış dosyayı birbiri ile bağdaştırmak, seri suçları birbirine bağlayabilmek ve haksız mahkûmiyetleri ortaya çıkarmak DNA veri bankaları ile mümkün hale gelmiştir.

Yukarıda bahsedilen; etik yaklaşımlar, önyargılar, hatalar değerlendirildiğinde, DNA veri bankalarının doğru kullanıldığı, verilerin korunması sağlandığı taktirde hem suç önleme hem de suçun aydınlatılmasında büyük avantajlar sağladığı ve adaletin tecellisinde soruşturmanın önünü açtığı bir gerçektir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- Balding, D., & Donnelly, E. (1996). Evaluating DNAProfile Evidence When the Suspect Is Identified Through a Database Search. *Journal of Forensic Sciences*, 41(4), 603-607. [Crossref]
- Bianchi, L., & Lio, P. (2007). Forensic DNA and bioinformatics. *Briefings In Bioinformatics*, 8(2), 117-128. [Crossref]
- Bond, J. (2007). Value Of DNA Evidence In Detecting Crime. *J Forensic Sci.*, 52(1), 128-36. [Crossref]
- Butler, J.M. (2012). *Advanced Topics In Forensic DNA Typing: Methodology*. (1. Edition b.). Maryland: Elsevier Academic Press. [Crossref]
- Council of the European Union. (2018). Draft Council Conclusions on the implementation of the “PRÜM DECISIONS” ten years after their adoption. Brussels, Belgium.
- Crouse, C., Bauer, L., Sessa, T. vd.. (2019). Combined DNA Index System (CODIS)-Based analysis of untested sexual assault evidence in Palm Beach County Florida”. *Forensic Science International: Synergy*, 1, 253-254. [Crossref]
- Cyranoski, D. (2020). China’s massive effort to collect its people’s

DNA concerns scientists. *Nature* [Crossref]

De Moor, S. (2018). *Forensic DNA databases as datasources for criminological research*. [Doktora Tezi]. Ghent University

FBI Criminal Justice Information Service. (2017). Combined DNA Index Systems (CODIS). USA: FBI Criminal Justice Information Service. (Son erişim tarihi: Kasım 2021) <https://www.fbi.gov/services/laboratory/biometric-analysis/codis/codis-and-ndis-fact-sheet>

Flaus, A. (2013). Familial Searches and the New Zealand DNA Profile Databank: the thin edge of the genetic wedge? Otago, Nex Zealand: University of Otago- Te Whare Wnanga o Otago.

Ge, J., Eisenberg, A., & Budowle, B. (2012). Developing criteria and data to determine best options for expanding the core CODIS Loci. *Investigative Genetics*, 3(1), 1-14. [Crossref]

Ge, J., Sun, H., Li, H. vd.. (2014). Future Directions of Forensic DNA Databases. *Croat Med J.*, 55, 163-166. [Crossref]

Ge, J., Yan, J., Budowle, B. vd.. (2011). Issues on China forensic DNA database. *Chin J Forensic med.*, 26, 252-255.

Gershaw, C., Schweighardt, A., Rourke, L. vd.. (2011). Forensic utilization of familial searches in DNA databases. *Forensic Science International: Genetics*, 5(1), 16-20. [Crossref]

Global Summary. (2020). Global Summary Report (http://dnapolicy-initiative.org/wiki/index.php?title=Global_summary).

Goodwin, W., Linacre, A., & Hadi, S. (2007). Databases of DNA profiles. A. L. William Goodwin içinde, *An introduction to forensic genetics* (s. 97-104). Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd.

Gönenc, F., & Aslanova, K. (2018). Biyobankalar ve Milli DNA Veri Bankası Kanunu. *İstanbul Aydın Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi*, 4(2), 13-32.

Guo, F., Shen, H., Tian, H. vd.. (2014). locus multiplex system to incorporate the core loci in the Combined DNA Index. *Forensic Science International: Genetics*, 8(1), 44-54. [Crossref]

Harbison, S.A., Hamilton, J.F., & Walsh, S.J. (2000). The New Zealand DNA databank: its development and significance as a crime solving tool. *Science & Justice*(41), 33-37. [Crossref]

Hill, C., Dwever, D., Kline, M. vd.. (2013). “U.S. population data for 29 autosomal STR loci”. *Forensic Science International: Genetics*, 7, 82,83. [Crossref]

INTERPOL. (2011). Annual Report. Kasım 25, 2021 tarihinde <https://www.interpol.int/content/download/10958/file/Annual%20Report%202011-EN.pdf?inLanguage=eng-GB>

INTERPOL. (2019). Global DNA Profiling Survey. Kasım 25, 2021 tarihinde <https://www.interpol.int/content/download/15469/file/INTERPOL%20Global%20DNA%20Profiling%20Survey%20Results%202019.pdf>

Johnson, P., & Williams, R. (2004). DNA and Crime Investigations: Scotland and the “UK National DNA Database”. *Scottish Journal of Criminal Justice Studies*, 10, 71-84.

Kumar, S., Babu, S., & Rohatgi, S. (2021). Current Status of DNA Databases in the Forensic Field. H. Dash, P. Shrivastava, & L. JA içinde, *Handbook of DNA Profiling* (s. 1-19). Singapore: Springer. [Crossref]

Kumar, S., Verma, A., Singh, P. vd.. (2016). Current scenario of forensic DNA databases in or outside India and their relative risk. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 6(1), 1-5. [Crossref]

Marchese, V., Cerri, N., & Caenazzo, L. (2013). Italian National Forensic DNA Database in an European perspective. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 4(2013), e246,-e247. [Crossref]

Miller, K.W., Brown, B.L., & Budowle, B. (2003). The Combined DNA Index System. *International Congress Series 1239*, 617-620. [Crossref]

Milot, E., Lecomte, M., Germain, H. vd.. (2013). The National DNA Data Bank of Canada: a Quebecer perspective. *Frontiers in Genetics*, 20(4), 249. [Crossref]

Nederlands Forensisch Instituut, Ministerie van Justitie en Veiligheid. (2018). Nederlandse DNA-databank, Jaarverslag 2017. Den Haag: Nederlands Forensisch Instituut.

Nederlands Forensisch Instituut, Ministerie van Justitie en Veiligheid. (2019). Databank vermiste personen. Nederlands Forensisch Instituut.

Penacino, G. (2008). The new genetic database of Argentina. *Forensic*

Science International: Genetics, 1(1), 658-659. [\[Crossref\]](#)

Perepechina, I. (2018). Forensic DNA registration in the Russian Federation: Background and the current state. *Forensic Science International: Genetics Supplement*, 7, 688-689. [\[Crossref\]](#)

Smith, M., & Mann, M. (2015). Recent developments in DNA evidence. *Trend & issues in crime and criminal justice*(506), 1-7. [\[Crossref\]](#)

Voultsov, P., Njau, S., Tairis, N. vd.. (2011). Launching the Greek foren-

sic DNA database. The legal framework and arising ethical issues. *Forensic Science International Genetics*, 5(5), 407-410. [\[Crossref\]](#)

Wallace, H.M., Jackson, A.R., Gruber, J. vd.. (2014). Forensic DNA databases-Ethical and legal standards: A global review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 4(3), 57-63. [\[Crossref\]](#)

Wond, J. H. (2008). The Value Of DNA Material Recovered From Crime Scenes. *J Forensic Sci.*, 53(4), 797-801. [\[Crossref\]](#)

BÖLÜM 5

ADLI GENETİK İSTATİSTİĞİ

Hüseyin SEVAY
Özlem BÜLBÜL
Cemal GÜRKAN

Adli Genetik İstatistiği

Statistics in Forensic Genetics

BÖLÜM HAKKINDA

Bu bölüm, adli bilimlerde kullanılan istatistiksel yöntemlere odaklanmıştır. Olay yerinden elde edilen DNA profilleri, şüphelilerin profilleriyle karşılaştırılarak incelenir. Ancak, bu karşılaştırmalar tek başına bir kişinin suçla ilişkilendirilmesi için yeterli değildir. İstatistiksel analizler ve olasılık hesaplamaları da gereklidir. Bunun için de Mendel'in kalıtım kuralları ve bunların adli genetikteki önemini anlaşılması gerekir. Baskınlık ve değişmezlik, ayrışma ve bağımsız çeşitlilik kuralları, genetik analizlerde temel bir rol oynamaktadır. Popülasyon genetiği verilerinin değerlendirilmesi, bir popülasyon veri setinin oluşturulması, Hardy-Weinberg Dengesi hipotezi ve istatistiksel testlerin uygulanması da bu bölümde açıklanmıştır.

Bu bölümde DNA delillerinin istatistiksel değerlendirilmesindeki temel prensipler ve hesaplama yöntemleri de anlatılmıştır. DNA profilleri karşılaştırılarak dışlama, sonuçsuz veya dahil olma durumları belirlenir. Sonrasında ise olasılık oranı yaklaşımı ve Bayes yaklaşımı gibi farklı yöntemler uygulanabilir. Doğru yorumlama, adli süreçte doğru sonuçların elde edilmesi açısından büyük önem taşır.

Son kısımda ise akrabalık istatistiği, ortak ata katsayısı ve akrabalı yetiştirme katsayısı gibi temel kavramlar incelenmiştir. Annelik ve babalık testlerinde kullanılan katsayılar ve hesaplama yöntemleri detaylıca açıklanmıştır. Örneklerle desteklenen bu bölüm, genetik ilişkilerin belirlenmesinde kullanılan matematiksel hesaplamaları anlamak ve adli bilimlerde doğru sonuçlar elde etmek için temel bir kaynak niteliği taşımakta ve istatistiksel yöntemlerin adli bilimlerdeki önemini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: Popülasyon Genetiği, DNA delili, istatistik, akrabalık, babalık testi

ABOUT the CHAPTER

This chapter focuses on the use of statistical methods in forensic genetics. DNA profiles obtained from a crime scene are investigated by comparing them to those obtained from suspects. Yet, these comparisons by themselves are not sufficient to establish a link between an individual and the crime. Statistical analyses and probability calculations are also required. In turn, a firm understanding of the Mendelian inheritance laws and their importance in forensic genetics is required. Laws of dominance and uniformity, segregation and independent assortment play a fundamental role in genetic analyses. Evaluation of population genetics data, preparation of a population dataset, Hardy-Weinberg Equation hypothesis, and application of statistical tests are also covered in this chapter.

In this chapter, the basic principles and calculation methods for the statistical evaluation of DNA evidence are also discussed. A comparison of DNA profiles can lead to an exclusion, inclusion or an inconclusive state. Next, different methods such as the likelihood ratio approach or the Bayesian approach can be used. Drawing the proper conclusions is of utmost importance so as to obtain the correct outcome in a legal process.

In the last section, basic concepts such as kinship statistics and coefficient of inbreeding are discussed. Coefficients and calculations methods used in maternity and paternity tests are covered in detail. Supplemented with examples, this chapter constitutes a fundamental resource for understanding the mathematical calculations used in establishing genetic relationships and for obtaining the correct results in forensic sciences, and hence underscores the significance of the statistical methods used in forensic sciences.

Keywords: Population Genetics, DNA evidence, statistics, kinship, paternity testing

Giriş

Adli bilimlerde herhangi bir olayla ilgili elde edilen iz ve delillerin olayla ilgisi olduğu düşünülen bir kişi veya kişilerle bağlantısının olup olmadığını belirlemek için söz konusu delillerin bu kişi(ler)den elde edilen parmak izi, DNA profili gibi biyometrik veriler kullanılarak bir karşılaştırma yapılması gerekir. Bu karşılaştırma dışlama, dahil etme veya sonuçsuz kalma olarak üç farklı şekilde sonuçlanabilir. Dışlama, söz konusu kişi(ler)in olayla hiçbir ilgisinin olmadığını, dahil etme ise ilgili kişi(ler)in dışlanmadığını ve olayla bağlantısının olabileceğini gösterir. Sonuçsuz kalma ise söz konusu kişi(ler)in eldeki verilerle ne dışlanabileceğini ne de dahil edilebileceğini ifade eder. Dahil etme durumunda hesaplanan olabilirliğin gücü ise, söz konusu kişi(ler)in bu olayla olan bağlantısının



Hüseyin Sevay¹

Özlem Bülbül²

Cemal Gürkan^{3,4}

¹ Orta Doğu Teknik Üniversitesi (Kuzey Kıbrıs Kampüsü), Yazılım Mühendisliği Programı, Kalkanlı, Güzelyurt, KKTC

² İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul Türkiye

³ DNA Laboratuvarı, Kayıp Sahipler Komitesi Kıbrıs Türk Üye Ofisi, Lefkosa, KKTC

⁴ Doğu Akdeniz Üniversitesi, Gazimağusa, KKTC

E-posta: sevay@metu.edu.tr

ozlem.bulbulercan@iuc.edu.tr

cemal.gurkan@emu.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as: Sevay, H., Bülbül, Ö., Gürkan, C. (2024). Adli genetik istatistiği. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 86-97). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.

ne kadar güçlü olduğunu gösterir. Bu olabilirlik, olasılığın temel prensipleri ile yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucu belirlenir.

Adli genetikte ise olay yerinden gelen çeşitli biyolojik delillerden elde edilen DNA profilleri şüphelilerden elde edilenlerle karşılaştırılır. Bu karşılaştırmada, biyolojik örneklerden elde edilen genomik materyal üzerinde yer alan polimorfik belirteçlerden yararlanılır. Bu belirteçlerin (STR, SNP, InDel vb.) her birinin sağlayabileceği ayırım gücü ve avantaj/dezavantajları büyük farklılıklar gösterse de bu belirteçlerin ortak paydası dışlayıcı bir özelliğe sahip olmalarıdır. Diğer bir deyişle, normalde mutasyon gibi anomalilerin olmadığı durumlarda kalıtsal veriler kesin bir şekilde dışlamada kullanılabilirle beraber, aynı tür veriler kesin bir şekilde ve tek başlarına dahil etmede kullanılamazlar. Örneğin, olay yerinde bulunan bir kan lekesinden elde edilen genetik verilerle bir şüphelinin dışlanması kolaylıkla mümkündür. Ancak, sadece genetik veriler kullanılarak şüpheliden alınan referans örneği ve kan lekesi DNA profilleri arasında mükemmel bir eşleşme bulunsa ve herhangi bir analiz hatasının olmadığı varsayılabilir bile söz konusu şüphelinin kesin bir şekilde olayla ilişkilendirilmesi doğru olmaz. Çünkü eldeki genetik verilerin ilgili popülasyon verileriyle beraber ve olasılık teorisi çerçevesinde değerlendirilmesi sonrasında gözlemlenen bu eşleşme olasılığının gücünün belirlenmesi gerekir. Ayrıca elde edilen istatistiksel sonuçların doğru bir şekilde yorumlanması gerekmektedir.

Bu bölümde, adli genetikte kullanılan istatistiksel yöntemlerin temelleri ve uygulamaları üç ana başlık altında toplanmıştır. İlk kısımda, kalıtımın temel prensipleri ve popülasyon genetiği üzerindeki etkileri; ikinci kısımda, olay yerinden gelen DNA delillerinin popülasyon verileri ışığında istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve son kısımda ise DNA analizleriyle akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntemlerden bahsedilecektir.

Popülasyon Genetiği Verilerinin Değerlendirilmesi

Mendel'in Kalıtım Kuralları

Kalıtımın araştırılması için duyulan merakın uzun bir geçmişi olmakla beraber, Avusturyalı Rahip Gregor Johann Mendel'in 19. yüzyılın ikinci yarısında bahçe bezelyelerinin yetiştirilmesi ile ilgili araştırmaları bu alanda bilimsel bir mihenk taşı niteliğindedir. Her ne kadar Mendel bu yetiştiricilik deneyleri ile elde ettiği sonuçları 1895'te yayınlamış olsa da bu çalışmalar 1900'e kadar fark edilmemiştir. Elbette bu araştırmalar sırasında Mendel'in genler ve aleller ile ilgili farkındalığı bizim şu anda sahip olduğumuz şekliyle olmamış olsa da yapmış olduğu çalışmalar söz konusu bu kavramların öncüsü niteliğinde olup çoğunlukla genlerin nasıl kalıtıldığının ilk keşfiyle ilişkilendirilir (Turnpenny & Ellard, 2017). Üç adet Mendel Kalıtım Kuralı bulunmaktadır:

1. Kural: Baskınlık ve Değişmezlik

Aynı genetik lokasyonda farklı genotip yapıya sahip iki bireyin çapraz üremesi (*cross breeding*) monohibrid çapraz üreme olarak tanımlanmaktadır. Örneğin, aynı karakterin farklı iki fenotipiyle bağlantılı bir şekilde her biri homozigot/'safkan' (*truebred*) genetik yapıya sahip iki ebeveynin çapraz üremesinden elde edilecek ilk nesildeki (F_1) tüm bireyler analiz edilen genotip ve fenotip olarak eşit olacak ve baskın olan karakteristiği göstereceklerdir. Diğer

bir deyişle, bu ilk nesildeki tüm bireyler genotip olarak heterozigot olmakla beraber, sahip oldukları bu iki farklı gen tipinden (alelden) sadece baskın olanın fenotipini göstereceklerdir. Örnek olarak bezelye fidanlarının açtıkları çiçeklerin taç yapraklarının sadece iki farklı renk olduğunu varsayalım: beyaz ve mor (Şekil 1a). 'Safkan' beyaz çiçek açan bir bitkinin homozigot bir şekilde AA genotipine sahip olduğunu ve bu genotipte var olan A alelinin baskın olmayan/çekinik (*recessive*) olduğunu varsayalım. 'Safkan' mor çiçek açan bir bitkinin de homozigot bir şekilde BB genotipine sahip olduğunu, ama bu genotipte var olan B alelinin baskın (*dominant*) olduğunu varsayalım. Homozigot olan bir bireyin herhangi bir çapraz üreme durumunda bir sonraki nesildeki her bir bireye aktarabileceği alel her zaman aynıdır, çünkü bu ebeveyn aynı alelin iki kopyasına sahiptir. Diğer bir deyişle, bir sonraki nesildeki bir bireye sahip olduğu iki aynı alelin her birini eşit olasılıkla aktarabilir. Ama homozigot olduğu için aktarabileceği sadece tek tür bir alel vardır. Bu durumda, 'safkan' beyaz çiçek açan bir bezelye bitkisiyle 'safkan' mor çiçek açan diğer bir bezelye bitkisinin çapraz üretilmesi sonucu ilk nesilde elde edilecek tüm bezelyeler AB heterozigot tipine ve baskın olan mor çiçek açma fenotipine sahip olacaktır.

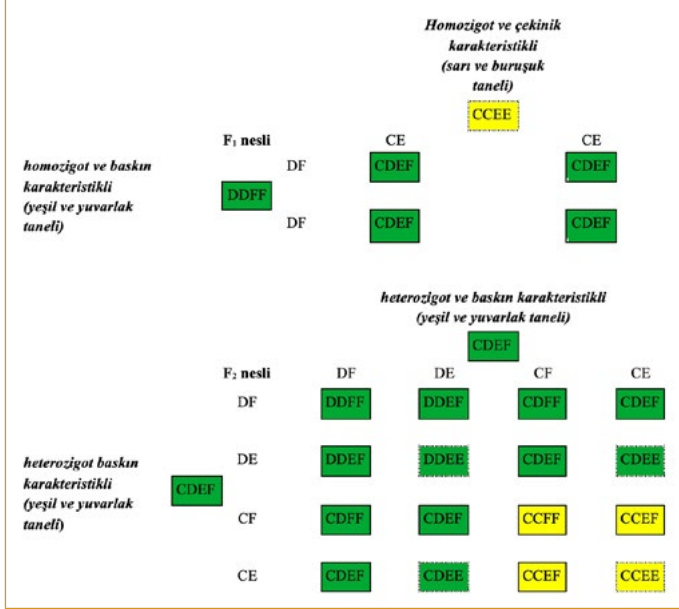
Şekil 1

'Punnett' karesi analizi şeklinde değerlendirilen ve bezelye bitkileriyle yapılan iki nesil monohibrid çapraz üreme deneyi ile ilgili tablo gösterimi.

		F ₁ nesli		'safkan' / homozigot mor çiçek	
				BB	
'safkan' / homozigot beyaz çiçek	A	A	AB	AB	
	A	A	AB	AB	
		F ₂ nesli		heterozigot mor çiçek	
				AB	
heterozigot mor çiçek	A	A	AA	AB	
	B	B	BA	BB	

Şekil 2

'Punnett' karesi analizi şeklinde değerlendirilen ve bezelye bitkileriyle yapılan iki nesil dihibrid çapraz üreme deneyi. Sarı kareler sarı renkli bezelye tanesi fenotipini, yeşil kareler yeşil renkli bezelye tanesi fenotipini, siyah kesik kesik çerçeveli kareler buruşuk bezelye tanesi fenotipini ve siyah kesiksiz çerçeveli kareler yuvarlak bezelye tanesi fenotipini göstermektedir.



2. Kural: Ayrışma

Herhangi bir karakter için heterozigot olan iki bireyin çapraz üremesi durumunda alellerin dağılımı ayrışma kuralı çerçevesinde gerçekleşir. Baskınlık ve Değişmezlik Kuralı'nda verilen örneğe devam edecek olursak, ilk nesilde (F₁) elde edilen ve tümü AB heterozigot genotipine sahip bezelye bitkilerinin çapraz üremesi durumunda elde edilecek bir sonraki nesildeki her bir bireye, sahip oldukları iki farklı alelden her birini eşit bir olasılıkla aktarabilirler. Bu durumda da her ikisi de F₁ neslinden iki bitkinin çapraz üremesi sonucunda F₂ neslinde elde edilebilecek bitkiler ikisi pratikte eşit, toplamda dört farklı genotipe sahip olacaktır: AA, AB, BA ve BB (Şekil 1a). Mendel'in dikkatini çeken önemli bir ayrıntı; 'safkan' aynı tip (örneğin beyaz veya mor) çiçek açan iki bitkinin çapraz üremesiyle elde edilecek bitkilerin tümünün hem F₁ hem de F₂ neslinde sadece aynı renk çiçek (sadece beyaz veya sadece mor) açmaktadır. Ancak her biri 'safkan' ama farklı renkte çiçek açan iki bitkinin (bir beyaz ve bir mor) çapraz üremesinde elde edilecek bitkilerin F₁ neslinde tümünün aynı ve baskın renkte çiçek açmasına rağmen, bu nesilden bitkilerin kendi aralarında çapraz üretilmesi sonucunda bir sonraki F₂ neslinde elde edilen bitkilerin bir kısmının beyaz renkte, diğer bir kısmının da mor renkte çiçek açmasıydı. Mendel için daha da ilginç olan, F₂ neslinde elde edilen mor çiçek açan bitkilerin beyaz çiçek açan bitkilere olan fenotipik oranının kabaca 3:1 (AB/BA/BB: mor ve AA: beyaz) olmasıydı. Mendel söz konusu bu çapraz üremelerde sadece bitkilerin sergilediği fenotipleri gözlemleyebiliyordu. Ancak bugün biliyoruz ki F₂ neslinde elde edilebilecek AA, AB/BA ve BB genotiplerin birbirine oranı 1:2:1 şeklindedir.

3. Kural: Bağımsız Çeşitlilik

Mendel'in bağımsız çeşitlilik kuralına göre farklı karakteristik özellikleri tanımlayan aleller birbirinden bağımsız bir şekilde

kalıtılmaktadır. Diğer bir deyişle, bir döl oluşurken bu dölde her bir genin hangi alelinin aktarılacağı, diğer genlerden tamamen bağımsız bir şekilde gerçekleşmektedir. Bu kuralın keşfi, dihibrid çapraz üreme dediğimiz ve her biri farklı bir genle ilişkilendirilmiş iki farklı karakteristikte farklılık gösteren iki bireyin çapraz üremesinin gözlemlenmesiyle mümkün olmuştur. Örnek olarak bezelye fidanlarının verdiği bezelye tanelerinin başlıca iki karaktere sahip olduğunu ve bunun da yeşil veya sarı, yuvarlak veya buruşuk şeklinde gözlemlendiğini varsayalım (Şekil 2). Ayrıca, bir bezelye tanesinin renginin sırasıyla çekinik olan C (sarı) ve baskın olan D (yeşil) alelleri tarafından, şeklinin de sırasıyla çekinik E (buruşuk) ve baskın olan F (yuvarlak) alelleri tarafından belirlendiğini varsayalım. Buna göre CCEE genotipine sahip bir bezelye tanesi sarı ve buruşuk bir fenotipe, DDFF/CDEF genotipine sahip bir bezelye tanesi ise yeşil ve yuvarlak bir fenotipe sahip olacaktır. Mendel 'safkan'/homozigot genotipe sahip bezelye fidanları ile yaptığı deneylerde (CCEE × DDFF, sarı ve buruşuk bezelye tanesi veren bitkilerle yeşil ve yuvarlak bezelye veren bitkilerin çapraz üremesi), F₁ neslinde elde edilen tüm bitkilerin her iki karakterde de baskın olan yeşil ve yuvarlak fenotipe sahip bezelye taneleri verdiğini gözlemlemiştir. F₁ neslinden bezelye fidanlarının kendi aralarında çapraz üremesinden ise F₂ neslinde sırasıyla yeşil ve yuvarlak: yeşil ve buruşuk: sarı ve yuvarlak: sarı ve buruşuk bezelye taneleri veren bitki fidanları oranlarının 9:3:3:1 olduğunu gözlemlemiştir. Buna göre Mendel'in vardığı sonuç; her iki alel çiftinin birbirinden bağımsız bir şekilde ve her birinin 3:1 fenotip oranıyla kalıtıldığı olmuştur.

Bazı durumlarda sapmalara rağmen, Mendel Genetiği ile ilişkilendirilen bu üç kural aynı zamanda adli genetik çalışmalarının da dayandığı kalıtımın temelini oluşturur. Örneğin, akrabalık testlerinin çerçevesini de bu temel kurallar belirler (Polesky, 2007).

Bir Popülasyon Veri Setinin Oluşturulması

Daha önce de bahsedildiği üzere, herhangi bir olguda polimorfik belirteçler kullanılarak kesin bir şekilde dışlama kolaylıkla yapılabilmekle beraber, aynı tür veriler doğrudan bir olgunun sonuçlandırılmasında tek başına kullanılamazlar. Örneğin, bir babalık testinde otozomal STR analizleri sonucunda elde edilen muhtemel baba ve çocuk DNA profillerinde en az iki lokusta eşleşme/alel paylaşımı görülmemesi durumunda, bu muhtemel babanın söz konusu çocuğun biyolojik babası olma olasılığı komple istatistik analizlere gerek duyulmadan dışlanabilir. Ancak, böylesi bir babalık testi sonucunda elde edilen muhtemel baba ve çocuk DNA profillerinde analiz edilen her bir lokusta eşleşme/alel paylaşımı görülse bile (örneğin, toplamda 15 farklı lokusta) bu tek başına muhtemel babanın söz konusu çocuğun biyolojik babası olarak dahil edilebilmesi için yeterli değildir ve öncelikle istatistik olarak bu eşleşmenin ne kadar ender olduğu belirlenmelidir. Babalık testi gibi akrabalık testlerinde de STR analizi ile aralarında biyolojik akrabalık durumu sorgulanan iki bireyin DNA profillerinde gözlenen alel paylaşımlarının irdelenen biyolojik akrabalık ilişkisi ile uyumlu olup olmadığına bakılmaktadır. Örneğin, Mendel Genetiği kuralları çerçevesinde muhtemel bir babanın otozomal STR profili ile çocuk STR profili karşılaştırıldığında, her iki bireyde de her bir STR lokusunda alel paylaşımı olması beklenmektedir. Ancak, bir akrabalık testi sonucunda sorgulanan her bir lokusta beklenen alel paylaşımı gözlemlense bile, bu kez de gözlemlenen bu alel paylaşımının sorgulanan bu biyolojik akrabalık çerçevesinde

kalıtım yoluyla mı yoksa bu alellerin toplumda çok sık görülmesinden dolayı tesadüfen mi paylaşıldıklarını ayırt etmek gerekmektedir. Böylesi istatistiksel analizlerin gerekliliğinin arkasında iki gerçek yatmaktadır:

1. Her bir otozomal STR lokusunda farklı aleller çoğunlukla farklı sıklıklardadır.
2. Farklı toplumlardaki her bir otozomal STR lokusu alellerinin sıklık dağılımları çoğunlukla farklılık göstermektedir.

Farklı toplumlarda gözlemlenen bu alel sıklık dağılımları arasındaki farklılıklar otozomal STR belirteçleriyle sınırlı değildir ve bugün adli genetikte kullanılan diğer belirteçlerle (SNP-Y-STR, InDel vb.) alakalı tüm alel/haplotip sistemleri için de geçerlidir.

Bu sebeple, adli genetik çalışmalarda kullanılacak genetik belirtecin ilgili topluma özgü alel sıklık değerlerinin belirlenmesi ve bu tüm olgularda bu verilerin kullanılması doğru sonuçların elde edilmesi için gereklidir.

Adli genetikte kullanılan popülasyon veri setlerinin gerekliliğini daha iyi anlamak açısından örnek olarak Gürkan ve arkadaşlarının (2015) Kıbrıslı Türk toplumunda gerçekleştirdiği 15 otozomal STR lokusu içeren çalışması gösterilebilir. Başlangıç olarak bu çalışma için Kıbrıslı Türk toplumunda 15 farklı otozomal STR lokusunda var olan *gerçek* alel çeşitliliğini en iyi şekilde *temsil* edebilecek bir örnek havuzu oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla, aralarında yakın biyolojik akrabalık ilişkisi bulunmayan ve hem biyolojik annesi ve hem de biyolojik babası Kıbrıs doğumlu, gelişigüzel seçilmiş Kıbrıslı Türk kadın ve erkek yetişkinlerden bilgilendirilmiş onam eşliğinde ağız içi sürüntü örnekleme yapılarak 501 kişilik bir örnek havuzu oluşturulmuştur (Gürkan vd., 2015).

2006'da yapılan resmi K.K.T.C. nüfus sayımına göre biyolojik anne ve babası Kıbrıs doğumlu 120,007 Kıbrıslı Türk mevcuttur. Böylelikle bu çalışmada kullanılan 501 kişilik örneklem havuzu toplam nüfusun %0.4'üne tekabül eder. Popülasyon genetiği açısından bakıldığında, Yamane'nin formülüne göre, bu toplumda yapılacak bir çalışmada %95'lik güven seviyesi (*confidence level*) için en az 399 kişilik bir örneklem seti gereklidir (Yamane, 1967). Dolayısı ile bu çalışmada kullanılan örneklem havuzunun yeterince temsili olduğu sonucuna varılabilir. Yapılan bu çalışmada gözlemlenen başlıca bulgular şunlardır:

- Analiz edilen 15 otozomal STR lokusun her birinde 7 ile 22 arasında değişen farklı sayıda alel görülmüştür.
- Analiz edilen 15 otozomal STR lokusun *herhangi birinde*, gelişigüzel seçilen iki Kıbrıslı Türkte aynı aleleri görme olasılığı (eşleşme olasılığı/*match probability*) 7'de 1 ile 32'de 1 arasında değişmektedir.
- Analiz edilen 15 otozomal STR lokusun *tümünde*, gelişigüzel seçilen iki Kıbrıslı Türkte aynı alel bileşimini görme olasılığı 4.6×10^{17} 'de 1'dir. Bu sonuç mevcut dünya nüfusunun 1 milyondan fazla katı bir nüfusta bile sadece 1 kez görüme olasılığına eşittir.

Özetle, küçük veya büyük olsun çoğu toplumlarda gözlemlendiği gibi Kıbrıslı Türklere de adli genetikte bugün sıkça kullanılan bir otozomal STR lokusu bileşimiyle yapılan analizlerle, tek yumurta ikizi olmayan herhangi iki bireyi çok yüksek bir güvenilirlikle ayırt etmek mümkün olabilmektedir.

Literatürde halihazırda Kıbrıslı Türklere çok yakın toplumlara ait otozomal STR popülasyon veri setleri bulunmasına rağmen neden Kıbrıslı Türklere özgü bir popülasyon veri seti hazırlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır? Her ne kadar da popülasyon genetiği açısından bakıldığında coğrafik olarak birbirine yakın toplumların arasındaki genetik mesafelerin yakın olması beklense de farklı toplumların geçirmiş olduğu değişik tarihsel süreçler ve nüfus hareketlilikleri bu toplumların her birinin genetik mirasında da varyasyonlara yol açabilmektedir. Nitekim, Kıbrıslı Türk toplumuna ait 15 lokusu içeren otozomal STR popülasyon veri setinin coğrafik olarak yakın toplumlardan elde edilen benzer veri setleri ile yapılan karşılaştırmalı '*popülasyon farklılaşma*' testlerinin sonuçları analiz edilen her bir veri seti ile en az bir lokusta istatistiksel öneme sahip bir farklılık bulunduğu işaret etmektedir. Özetle, Kıbrıslı Türk toplumunda gözlemlenen otozomal STR alel sıklık dağılımı, Türkiye'den, Yunanistan'dan, Lübnan'dan, İtalya'dan, hatta Kıbrıs'ın güneyindeki Kıbrıslı Rum toplumundan analiz edilen 15 lokustan en azından birinde farklı alel dağılımı göstermektedir. Bu sonuç da bize Kıbrıslı Türklere ilgili söz konusu adli genetik analizlerde bu topluma özgü popülasyon veri setlerinin kullanılmasının istatistiksel açıdan daha sağlıklı olacağını göstermektedir (Gürkan vd., 2015).

Popülasyon Verileri ve İstatistiksel Testler

Hardy-Weinberg Dengesi

Mendel'in kalıtım ile ilgili keşfi ebeveynlerin alellerinin bir sonraki nesildeki bireylere nasıl dağıtıldığını tanımlar. İngiliz matematikçi Godfrey Harold Hardy ve Alman tıp doktoru Wilhelm Weinberg ise birbirlerinden bağımsız bir şekilde Mendel Genetiği kuralları çerçevesinde alel ve genotip sıklıklarının nesilden nesile dengede kalacağına yönelik matematiksel çözümünü sundular (Hartl & Clark, 2007; Edwards, 2008, Holsinger, 2014). Bugün Hardy-Weinberg Dengesi (*Hardy-Weinberg Equilibrium*, HWE) olarak tanımlanan bu hipotezin temelinde yedi varsayımı vardır:

- Organizmalar diploiddir (*her bir birey biri anneden, biri babadan kalıtılan her kromozomdan bir çiftte sahiptir*),
- Bütün genotiplere sahip bireylerin eşit hayatta kalma oranlarına ve eşit üreme başarılarına sahiptir,
- Çiftleşme rastgele gerçekleşir,
- Popülasyon sınırsız derecede büyüktür,
- Alel sıklıkları her iki cinstede aynıdır,
- Popülasyon içine veya dışına göç, gen akışı, karışımlar, mutasyonlar ve seçim olmadığı kabul edilir.

Her ne kadar da pratikte bu varsayımların tümünü doğada sağlayan neredeyse hiçbir popülasyon olmasa da popülasyon genetikçileri HWE çerçevesinde *gözlemlenen* alel sıklıklarını kullanarak *beklenen* ve *gözlemlenen* genotip sıklıklarını hesaplayabilirler. Buna göre; dengeli bir popülasyondaki bir lokusta iki alel (A ve B) görüldüğünde, bu alellerin alel frekanslarının toplamı her zaman 1'e eşittir.

$$p + q = 1$$

$$p = A \text{ alelinin sıklığı}, q = B \text{ alelinin sıklığı}$$

Bu lokusta, bir kuşak rastgele döllenme sonucunda popülasyondaki homozigot (AA ve BB) ve heterozigot (AB veya BA) genotipler

oluşur. Bu genotiplerin sıklıkları aşağıdaki gibi hesaplanır: Genotip frekanslarının toplamı da 1'e eşittir.

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

Örneğin, Gürkan ve arkadaşları (2015), elde ettikleri Kıbrıslı Türk otozomal STR popülasyon veri setinde analiz edilen 15 farklı lokusun hiçbirinde *beklenen* ve *gözlemlenen* genotip sıklıkları arasında HWE'den istatistiki öneme sahip bir sapma olmadığını rapor etmişlerdir (Gürkan vd., 2015). Diğer bir deyişle, söz konusu çalışmada kullanılan Kıbrıslı Türk örnek havuzunun en azından teoride HWE ile uyumlu olduğu ve muhtemelen de bu örnek havuzunun temsil ettiği gerçek popülasyonun da bu dengede olduğu işaret etmektedir.

Bağlantı Dengesi

Popülasyon genetiğinde Bağlantı Dengesi (*Linkage Equilibrium*, LE) herhangi bir topluma ait bireylerin farklı lokuslarındaki aleller arasında rastgele dışında bağlantıların olmayışını tanımlar. Diğer bir deyişle, eğer iki farklı lokustaki alelerin beraber görülmesi, bu iki lokusun birbirinden bağımsız ve gelişigüzel şekilde görülmesinde beklenildiği gibiyse (daha az veya daha çok değilse) o zaman bu iki lokusun LE'de olduğu söylenebilir. LE'den sapma ise, yani bağlantı dengesizliği durumu, eldeki popülasyonun yapısı veya kullanılan lokusların fiziksel bağlantısı sebebiyle ortaya çıkar. Bir taraftan HWE bir lokusta alellerin birbirinden bağımsız bir şekilde kalıtımıyla, diğer taraftan da LE'de farklı lokuslardaki alellerin birbirinden bağımsız bir şekilde kalıtımıyla alakalıdır (Butler, 2009; Laird & Lange, 2011). Ancak, HWE'de de olduğu gibi pratikte 'ideal' popülasyonlar yoktur ve popülasyonlarda gerçekleşen gelişigüzel olmayan seçim, genetik rekombinasyon ve mutasyon hızları, genetik kayma çiftleşme sistemleri gibi durumlar kaçınılmaz bir şekilde LE'den sapmalara yol açabilir.

DNA Delillerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Bir adli olguda DNA testlerinin hedefi biyolojik delilin kaynağı olan kişiyi bulmaktır. Bunun için biyolojik delilin DNA profili ile şüpheli kişiden alınan referans örnekten elde edilen DNA profilinin aynı kaynaktan gelip gelmediği sorgulanır. Bu incelemeler, olay yerinden toplanan biyolojik örneklerin DNA profili ile şüphelinin DNA profilinin karşılaştırılması esasına dayanır. Delil ve şüphelinin DNA'larının laboratuvarında test edilmesinin üç olası sonucu vardır:

- **Dışlama (exclusion):** Biyolojik delilin ve şüphelinin DNA profillerinin farklı olduğu durumdur. Dışlama durumunda DNA profilleri iki farklı kaynaktan (kişiden) gelmektedir. Dışlama her zaman nettir. Böylelikle aynı referans örnekte daha fazla test ve analiz yapılmasına gerek kalmaz.
- **Sonuçsuz (inconclusive):** Biyolojik delilin ve şüphelinin DNA profillerinin aynı mı farklı mı olduğunun netleşemediği durumlar da oluşabilir. Degradasyon, kontaminasyon, alel düşmeleri/eklenmeleri, PCR'de çoğaltmanın yapılamaması (engelleme/inhibitör bulunması vs.) gibi çeşitli sebeplerden ötürü delilden yeterli ve kaliteli bir DNA profili elde edilemeyebilir. Bu durumda şüpheli ile karşılaştırma yapılamaz ve DNA testlerine bağlı bir sonuç verilemez.
- **Dahil olma (inclusion):** Biyolojik delilden ve şüpheliden elde edilen DNA profillerinin aynı olduğu durumdur. Bu durumda şu soru sorulur:

"Biyolojik delilin DNA profili, gerçekten şüpheliden mi yoksa toplumda aynı DNA profiline sahip rastgele başka birinden mi kaynaklanmaktadır?" Yani, iki örneğin aynı DNA profiline sahip olmaları kimliklendirmenin doğrudan yapılabileceğinin göstergesi değildir. Burada önemli olan DNA delilinin gücünün belirlenmesidir. Bunun belirlenmesi için frekans ve olasılığa dayalı yaklaşımlar kullanılmaktadır.

Frekansçı Yaklaşım

Olay yerinden elde edilen biyolojik örneğin DNA profili ile şüphelinin DNA profili eşleştiği durumda, o DNA profilinin popülasyondan rastgele seçilen bir kişiden gelme olasılığı hesaplanır. Buna rastgele eşleşme olasılığı (*Random Match Probability*, RMP) denir. RMP hesaplamaları, elde edilen DNA profil frekansının ilgili toplumda hangi sıklıkla görüldüğünün belirlenmesi prensibine dayanır. Bu hesaplamalar için ilgili popülasyonda test edilen lokuslarda görülen alellerin sıklıklarının belirlenmesi gerekir. Alel sıklıklarından yola çıkılarak gözlenen her bir lokustaki genotip için genotip sıklığı hesaplanır. Tüm lokuslardan elde edilen genotip sıklıklarının değerlendirilmesi için çarpım kuralı (*product rule*) uygulanır (Butler, 2010). Çarpım kuralı; olasılık kurallarını temel alır. Kısaca; birbirinden bağımsız olarak meydana gelen X sayıdaki olayda, bu olayların aynı anda olma olasılıkları, her olayın kendi olasılığının diğerleriyle çarpılması ile elde edilebilir. Örneğin, bir bozuk parayı havaya attığımızda yazı gelme olasılığı 1/2 (%50)'dir. Aynı anda iki bozuk para atıldığında ikisinin de yazı gelme olasılığı (P) ise;

$$P = \text{birinci paranın yazı gelme olasılığı (1/2)} \times \text{ikinci paranın yazı gelme olasılığı (1/2)}$$

$$P = 1/4 \text{ (%25)}$$

olacaktır.

Aynı yaklaşım bir DNA profilinin rastgele eşleşme olasılığı hesaplanmasında da uygulanır. Önce test edilen her bir lokustaki genotipin olasılıkları belirlenir ve daha sonra DNA profili için tüm lokuslardan elde edilen genotiplerin bir arada olma olasılıkları çarpım kuralına göre hesaplanır (Butler, 2010; Butler, 2015).

$$\text{Çarpım Kuralı (RMP)} = P_1 \times P_2 \times P_3 \times \dots \times P_n$$

Her bir lokustaki genotipin görülme olasılığının hesaplanmasında, HWE ve LE'den sapma olmadığı varsayılarak, gözlenen genotipin homozigot veya heterozigot olma durumuna göre olasılık hesaplanır. Buna göre;

$$\text{homozigot lokuslarda genotip frekansı} = p^2$$

$$\text{heterozigot lokuslarda genotip frekansı} = 2pq$$

olarak uygulanır. Buna göre HWE bir homozigot AA genotipin popülasyonda görülme olasılığının p_A^2 , bir heterozigot AB genotipin görülme olasılığının ise $2p_A p_B$ olduğunu söyler. LE olması ise bir çoklu lokus genotipinin görülme olasılığının her bir lokustaki genotipin olasılığının birbiriyle çarpımına eşit olduğunu söyler. HWE ve LE varsayımlarının bileşimi ise çarpım kuralının kullanılmasını mümkün kılar.

Tablo 1

Dört STR lokusundan oluşan örnek bir DNA profilinde alel frekanslarının, genotip frekanslarının ve RPM hesaplanması

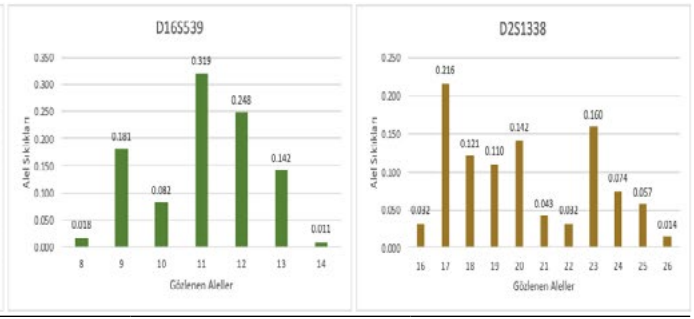
	CSF1PO	TH01	D16S539	D2S1338
DNA profili	(11, 11)	(9.3, 10)	(10, 12)	(18, 23)
Her bir alelin frekansı (p)	p11 = 0.305	p9.3 = 0.213 p10 = 0.025	p10 = 0.082 p12 = 0.248	p18 = 0.121 p23 = 0.160
Her bir lokustaki genotip frekansı	p ² = 0.305 x 0.305 p ² = 0.093	2pq = 2 x 0.213 x 0.025 2pq = 0.0082	2pq = 2 x 0.082 x 0.248 2pq = 0.04049	2pq = 2 x 0.121 x 0.160 2pq = 0.03847
RMP (çarpım kuralı)	RMP = P _(11,11) x P _(9.3, 10) x P _(10,12) x P _(18,23) RMP = 0.093 x 0.0082 x 0.04049 x 0.03847 RMP = 1.19897x10 ⁻⁶ veya yaklaşık 834051 ⁻⁶ de bir			

Adli genetik analizlerde aşağıda dört STR lokusuyla (CSF1PO, TH01, D16S539 ve D2S1338) oluşturulan DNA profilinde RMP hesaplaması örnek olarak gösterilmiştir (Tablo 1). Tablonun üst tarafında bu dört STR lokusunun Türkiye toplumunda görülme sıklıkları verilmiştir (Bulbul vd., 2014). Bu örnekte şüpheli ile biyolojik delilin eşleşmesi durumunda elde edilen DNA profili verilmiştir. İlk lokus olan CSF1PO lokusunda homozigot 11 aleli görülmüştür. Bu alelin Türkiye toplumunda görülme sıklığı 0.305 olduğundan (11, 11) homozigot genotip frekansı 0.093 (p²)'dir. Başka bir deyişle, popülasyonun yaklaşık %9'unda CSF1PO lokusunda (11, 11) genotipinin görülmesi beklenmektedir. TH01 lokusunda ise 9.3 ve 10 alelleri görülmüştür. Bu genotipin Türkiye'de görülme sıklığı ise 0.0082 (2pq)'dir. Bu lokus içinde Türkiye toplumunda bu genotipin görülme sıklığı ise yaklaşık %1'e yakındır. D16S539 ve D2S1338 lokuslarındaki genotipler de heterozigot olup 2pq (0.04049 ve 0.03847) formülüne göre hesaplanmıştır. Örnekteki tüm genotipler dikkate alındığında gözlemlenen profilin Türkiye popülasyonundan seçilen rastgele bir bireyde görülme olasılığı (RMP) 1.19897 x 10⁻⁶, yani %0000120 olarak bulunmuştur. Bu durumda elde edilen sonucun değerlendirilmesi;

"Biyolojik örnekteki genotiplere göre gözlemlenen DNA profilinin olasılığı, rastgele ilgisiz (akraba olmayan) bireylerin olduğu bir popülasyonda bulunan genotiplere göre 834051⁻⁶ de 1'dir." şeklindedir.

Daha fazla lokus çalışıldığında bu olasılık daha da küçülecektir. Kriminal laboratuvarlarda en az 13 CODIS STR analizi yapıldığından bu 13 STR lokusu ile elde edilen bir DNA profilin görülme olasılığı trilyonda 1'den daha az olmaktadır.

RMP hesaplamalarında kullanılacak popülasyon verisi çok önemlidir. Özellikle şüpheli, toplumdaki alt popülasyon gruplarından birinden geliyor ise bu durumda bazı aleller beklenenden daha yüksek sıklıklarda görülebilir. Çünkü alt popülasyonların genel popülasyona göre daha izole olacağından beklenen heterozigotlarda düşüş ve homozigotlarda ise artış beklenir. Bu durumda bir



düzeltilme katsayısının (teta, θ) hesaba katılması önerilmektedir. Bu değer, genellikle büyük popülasyonlar için 0.01, izole ve küçük popülasyonlar için 0.003 olarak alınabilir. Popülasyondaki alt popülasyonların dikkate alındığı durumlarda RMP hesaplamaları için aşağıdaki formüller önerilmektedir (Butler, 2010; Committee, 1996).

Homozigot: $p^2 + p(1 - p)$

Her ne kadar alt popülasyonların hesaba katılması önemli ise de günümüzde çok sayıda polimorfik STR lokusu çalışıldığı için elde edilen eşleşme olasılıkları çok düşüktür. Bu yüzden düzeltme katsayısının elde edilen olasılık üzerinde çok az etkisi olmaktadır ve düzeltme katsayısı kullanılmadan da yeterli düzeyde bir ayırım yapacak olasılığa ulaşmak mümkündür. Bu bölümde de tüm örnekler düzeltme katsayısı uygulanmadan verilmiştir.

Frekansçı yaklaşım kullanıldığında yaşanan zorluklardan biri sonuçların yanlış yorumlanmasıdır. Bu yanlış yorumlama, iki türlü hataya sebep olmaktadır. Bu hatalardan birincisi "iddianın hatası" (prosecutor's fallacy), diğeri ise "savunmanın hatası" (defense fallacy) olarak bilinmektedir. İddia makamının RMP sonuçlarını yanlış yorumlamasına dair bir örnek şu şekildedir: "DNA profilinin bir başkasından gelme ihtimali 800000'de 1'dir veya sanığın suçlu olmaması ihtimali 800000'de 1'dir."

Bunun doğru bir ifadesi;

"Elde edilen profildeki alellere göre, gözlenen DNA profilinin olasılığı; rastgele akraba olmayan kişilerden oluşan bir popülasyonda 800000'de 1'dir." şeklinde olmalıdır.

İkinci bir yanlış olan savunmanın hatasında, yine RMP sonuçları yanlış yorumlanması sonrasında "aynı profile sahip olabilecek kişilerin de toplumda bulunması ve onların da suçlu olabileceği" yanlıştır. Bu yüzden rastgele eşleşme olasılığının ne olduğunun tam olarak kavranması gerekir.

Frekansçı yaklaşımda, elde edilen RMP değeri başka birinin olay yerine DNA'sını bıraktığının, yani başka birinin suçlu olabileceğini göstermez. Bununla birlikte eldeki şüphelinin suçlu olmamasını veya başka birinin de aynı DNA profiline sahip olmasını da göstermez. RMP, bir popülasyonda belirli bir STR profilinin gerçekleşmesinin beklendiği tahmini frekanstır. Bu rastgele eşleşme olasılığı, *popülasyondan rastgele bir kişiden alınan örneğin söz konusu DNA profiline sahip olacağı teorik şans* olarak da düşünülebilir. Frekansçı yaklaşımda yaşanan bu sorunlar adli genetikçileri benzerlik oranına kullanmaya yönlendirmiştir. Günümüzde özellikle Avrupa'da olasılık oranı yaklaşımı kullanılmaktadır (Butler, 2010; Gill vd., 2012; Jobling vd., 2014; Rudin & Inman, 2002).

Olasılık Oranı Yaklaşımı

Olasılık oranı (Likelihood Ratio, LR) yaklaşımında, iki alternatif önerme altında delile ait DNA profilinin olasılıklarının bir karşılaştırmasını içerir. Bu yaklaşımda alternatif önermeler olan savunma ve iddia makamlarının hipotezleri ele alınarak LR hesaplanır. İddianın hipotezi (H_p) olay yerinden elde edilen DNA profilinin, şüpheliden geldiğinin kabul edildiği durumdur. Savunmanın hipotezi (H_d) ise, olay yerinden elde edilen DNA profilinin, rastlantısal bir şekilde şüpheli ile eşleştiği ve aslında bu DNA profilinin toplumda rastgele bir bireyden gelebileceğinin kabul edildiği durumdur. LR ise bu iki hipotezin olasılıklarının birbirine oranlanması ile elde edilir. Buna göre aşağıdaki LR formülü uygulanarak hesaplanır:

$$LR = \frac{P(E | H_p)}{P(E | H_d)}$$

p = Olasılık, E = Delilde gözlenen DNA profili, H_p = İddianın hipotezi ve H_d = Savunmanın hipotezi

Pay kısmında yer alan $P(E | H_p)$ iddianın hipotezinin olasılığıdır. Delil DNA'sı ile şüpheli DNA'sının aynı olduğunu iddiası olduğundan bu olasılık %100, yani 1'dir. $P(E | H_d)$ ise savunmanın hipotezini yansıtır ve delil DNA'sının toplumdan rastgele birinden gelme olasılığıdır. Bu olasılık bir önceki bölümde bahsedilen RMP ile aynıdır. LR basitçe;

$$LR = \frac{H_p}{H_d} = \frac{1}{RMP}$$

olarak ifade edilebilir.

İki hipotezin birbirine oranlanması ile elde edilen sonuç eğer 1'den büyük ise iddianın hipotezi, eğer 1'den küçük ise savunmanın hipotezi desteklenir. Elde edilen sonucun yorumlanması ise

"Delilin DNA profilinin H_p hipotezi ile açıklanması, H_d hipotezi ile açıklanmasından LR kere daha olasıdır." şeklinde olacaktır.

Elde edilen olasılık değerlerinin güvenilir bir şekilde açıklanması önemlidir. Bunun için belirli LR değerlerine ulaşıldığında iddianın hipotezi desteklenebilir. Ewet ve Weir tarafından oluşturulan LR destek sınırlamaları günümüzde halen kullanılmaktadır (Adam, 2010; Butler, 2010; Evett & Weir, 1998; Gill vd., 2012; Rudin & Inman, 2002) (Tablo 2).

Tablo 2
LR değerine göre iddia hipotezini desteklenmesi

Olasılık Oranı	Delilin İddia Hipotezini Destekleme Oranı
$1 < LR \leq 10$	Sınırlı düzeyde destek
$10 < LR \leq 100$	Orta derecede destek
$100 < LR \leq 1000$	Orta düzeyde güçlü destek
$1000 < LR \leq 10000$	Güçlü destek
$10000 < LR \leq 100000$	Çok güçlü destek
$100000 \leq LR$	Son derece güçlü destek

Açıklama notu. Butler, J. M., 2010, Statistical Interpretation: Evaluating the Strength of Forensic DNA Evidence. In Fundamentals of Forensic DNA Typing. Elsevier Inc kaynağından alınmıştır.

Tablo 1' de verilen örnek için homozigot (11, 11) alellerin gözlendiği CSF1PO ve heterozigot (9.3, 10) alellerin gözlendiği TH01 için LR hesaplayacak olursak;

$$LR_{CSF1PO} = \frac{H_p}{H_d} = \frac{1}{p^2} = \frac{1}{0.093} = 10,75$$

$$LR_{TH01} = \frac{H_p}{H_d} = \frac{1}{2pq} = \frac{1}{0.0082} = 121,95$$

Görüldüğü gibi elde edilen LR değerleri alel frekanslarının toplumda görülme sıklıklarına göre değişmektedir. Toplam dört lokus için elde edilen toplam LR değeri ise;

$$LR = \frac{H_p}{H_d} = \frac{1}{RMP} = \frac{1}{1.19897 \times 10^{-6}} = 834051.3166$$

Bu örnekte görüldüğü gibi LR değeri 1'den yüksektir. Bu değer iddianın hipotezinin savunmanın hipotezinden 834051 kez daha olası olduğunu göstermektedir. Bu değer iddia makamının hipotezinin yukarıdaki tabloya göre "çok güçlü" seviyede destek bulduğuna işaret eder. Adli genetikte kullanılan STR kitlerinde en az 13 STR lokusu bulunduğu için elde edilen LR değerleri genellikle milyarda veya trilyonda birin üstünde görülür. Elde edilen çok yüksek değerler 10 tabanlı logaritma (log) cinsinden verilir.

Bayes Yaklaşımı

Bayes yaklaşımı veya Bayes teoremi, olayla ilgili olabilecek koşulların ön bilgisine (*prior odds*) dayalı olarak bir olayın olasılığının tanımlanmasıdır. Bu ön bilgi, yeni kanıtlarla (LR) birlikte yeniden değerlendirilerek bir sonuca, sonsal olasılığa (*posterior odds*) varılır. Thomas Bayes'in 18. yüzyılda formülize ettiği Bayes teoremi aşağıdaki gibidir:

$$\frac{P(H_p|E)}{P(H_d|E)} = \frac{P(H_p)}{P(H_d)} \times \underbrace{\frac{P(E|H_p)}{P(E|H_d)}}_{LR}$$

Bu formül üç faktörden oluşmaktadır. Bunlardan biri bir önceki bölümde de gördüğümüz olasılık oranıdır. Önsel olasılık, herhangi

bir delil dikkate alınmadan önce H_p hipotezinin H_p 'ye kıyasla olasılığıdır. Yani önsel olasılık, şüphelinin göreceli olarak suçluluğu veya masumiyetinin kıyaslanmasıdır. Sonsal olasılık ise, delilin değerlendirilmesine bağlı olarak iki hipotez karşılaştırılmasıdır. Bu formül aşağıdaki gibi basitleştirilebilir:

$$P_1 = P_0 \times LR$$

$$P_1 = \text{Sonsal olasılık (posterior odds),}$$

$$P_0 = \text{Önsel olasılık (prior odds)}$$

Adli bilimciler genellikle bu formülün LR kısmı ile ilgilenirler. Çünkü mahkeme tarafından bilirkişilere sorulan soru, eldeki delilin suç bağlamında önemidir. Bilirkişinin görevi sorulan soru bağlamında biyolojik delilin değerini bildirmektir. Elde edilen sonsal olasılık, olabilirlik oranının anlamını yorumlamada çok faydalıdır. Bu yorumlama, önsel olasılıklar (diğer deliller, görgü tanıkları gibi) mahkemece bilindiği için yargı makamının görevidir. Ayrıca sonsal olasılık, yani suçlu ile ilgili verilecek kararda sadece bir delilin değil birden fazla delilin olasılıklarının göz önünde bulundurulması gerekebilir. Bu durumda elde edilen tüm biyolojik ve fiziksel (n sayıdaki) delillerin olasılıkları birlikte değerlendirilir. Bu durumda sonsal olasılık aşağıdaki gibi formül kullanılarak hesaplanır (Adam, 2010).

$$P_1 = P_0 \times LR_1 \times LR_2 \times \dots \times LR_n$$

DNA delilinin istatistiksel analizlerinde üç yaklaşım bulunsa da genellikle her iki hipotezin de test edildiği LR yaklaşımı tercih edilmektedir. Bu bölümde bahsedilen analizler olay yerinden gelen biyolojik örneğin tek kaynaklı yani tek bir DNA'yı içeren biyolojik delillerin istatistiksel analizidir. Ancak bazı durumlarda DNA delilinin istatistiksel analizi zorlayıcı olabilir. Örneğin, biyolojik delilde birden fazla kişinin DNA'sı karışmış olabilir. Bu durumda mağdur ve şüphelinin/şüphelilerin DNA profillerinin ayrımının yapılması ve kullanılacak istatistiksel yöntemlerin genişletilmesi veya modifiye edilmesi gerekmektedir. Özellikle bozulmanın olduğu örneklerde veya karışım örneklerinde alel düşmeleri de dikkate alınarak elde edilen DNA profilinin olasılığı hesaplanmalıdır. Aynı durum, bir adli olayda mağdur ve şüphelinin veya şüphelilerin akraba olması durumu için de geçerlidir. Akrabalık durumunda daha fazla alel paylaşıldığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bölümde en basit şekliyle DNA delillerinin istatistiksel analizinin temel prensipleri anlatılmıştır.

Akrabalık İstatistiği

Genetik ilişkiler hayatımızın birçok alanını etkiler. Örneğin, evlilik ve mirasla ilgili yasalarda kısmen de olsa kişilerin aile bağları önemli rol oynar. Tarımda, yetiştirilen bitki veya hayvanlardan alınacak verimin ölçülmesi için genetik ilişkilerin ortaya konması gerekir. Adli bilimlerde ise bir kişinin bir başka kişi veya kişilerle olan genetik bağ derecesinin hesaplanması birçok sorunun çözümünde kritik rol oynar. Bir olay yerinden alınan bir biyolojik örneğin şüpheli kişi veya kişilerden alınan örneklerle benzerliği, ilgili suçun sorumlularının adalete teslim edilebilmesi için kritik katkı koyma potansiyeli taşır. Ayrıca uçak kazaları, afet, veya savaşlarda hayatlarını kaybedenlerin kimliklendirilmesinde de genetik ilişkilerden faydalanılabilir (Butler, 2015; Weir vd., 2006).

Annelik, babalık veya akrabalık testleri aracılığı ile akrabalık istatistiğinin (*kinship statistics*) kullanılması çokça başvurulan bir

yöntemdir. Genetik ilişkilendirme hesaplamaları, babalık veya annelik testleri yanında cinsel istismar, ensest, terk edilmiş çocuk olduğu durumlarda da artık standart prosedür haline gelmiştir (Weir vd., 2006, Giertson vd., 2007). Akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde ise Mendel Kuralları geçerli olduğundan anne veya babadan çocuklarına birer alel aktarılır. Dolayısıyla bu alellerin benzerliği akrabalık derecesi azaldıkça azalır.

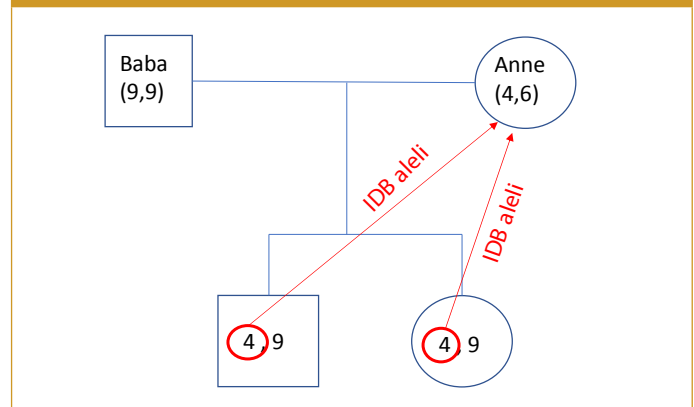
İlişki veya akrabalığın belirlenmesinde iki temel ölçüt kullanılır. Bunlar ortak ata katsayısı (*coancestry coefficient*) ile akrabalı yetiştirme katsayısıdır (*coefficient of inbreeding*). Akrabalı yetiştirme katsayısı bir kişinin sahip olduğu aleller arasındaki ilişkinin ölçütüken, ortak ata katsayısı iki kişi arasındaki genetik bağın ölçütüdür. Aynı zamanda, iki kişi arasındaki ilişki katsayısı ile o iki kişinin herhangi bir çocuğu ile alakalı akrabalı yetiştirme katsayısına eşittir. Çünkü ortak ataları olan kişilerin akraba olmaları, onların çocuklarının herhangi bir lokustaki genlerinin atasal özdes olmasını mümkün kılar (Weir vd., 2006).

Durumsal Özdeş ve Atasal Özdeş Aleller

Herhangi iki kişinin verilen lokusa ait genotipleri arasında sıfır, bir veya iki alelin değerleri eşit olabilir. Bu eşitlik sadece gözleme bağlı olduğundan ilgili aleller *durumsal özdeş* (*Identity by State*, IBS) olurlar. Eğer bu alellerin ortak bir ataya ait aynı lokustaki alellerin birebir kopyaları olmaları durumunda ise söz konusu aleller *atasal özdeş* (*Identical by Descent*, IBD) olurlar. Ancak atasal özdeşliği her zaman gözlem ile belirlemek mümkün değildir ve atasal özdeşliğin tanımlanması için olasılık hesapları yapılır (Balding vd., 2007; Bright & Coble, 2019; Stevens vd., 2011; Weir vd., 2006). Örneğin, verilen bir STR lokusunda, annenin (4, 6) ve babanın ise (9, 9) genotipine sahip olduğunu varsayalım. Bu anne ve babanın iki çocuğu olan X ve Y'nin her ikisinin de (4, 9) genotipine sahip olduklarını düşünelim. Bu demektir ki, kardeşlerin her birindeki 4 aleli annelerinden geçmiştir. Diğer bir deyişle, X ve Y'deki 4 aleli kardeşlerin ortak atalarından olan anneden gelen 4 alelinin birebir kopyasıdır (Şekil 3). Sonuç olarak, X ve Y'deki 4 alelleri IBS olmaları yanında IBD'dirler. Ancak, babanın homozigot oluşu sebebiyle, kardeşlerdeki 9 alellerinin babadaki hangi 9 alelinin kopyası olduğu belli değildir. Yani X'deki 9 alelinin babanın kendi annesinden aldığı 9 alelinin kopyası, Y'deki 9 alelinin ise babanın kendi babasından aldığı 9 alelinin kopyası olma olasılığı vardır. Bu durumda kardeşlerdeki 9 alellerinin IBD olup olmadığı tespit edilemez.

Şekil 3

Örnek bir aile soy ağacında IBD alellerinin gösterilmesi



Akrabalı Yetiştirme Katsayısı, F

Akrabalı yetiştirme katsayısı (*coefficient of inbreeding*), verilen bir lokusta, iki alelin IBD olma olasılığını ifade eder. Böylelikle, akrabalı yetiştirme (*inbreeding*) bir popülasyondaki alelik genotipleri etkiler. İki alelli (*diploid*) bir sistemde 3 genotip mümkündür. Bu aleller A ve B ise, mümkün olan genotipler AA, AB, BA veya BB olur. Bu genotiplerin frekansları (**f**) ise şöyle ifade edilir (Ballantyne, 2004):

$$f_{AA} = p_A \times F + p_A^2(1 - F), \text{ homozigot}$$

$$f_{AB} = 2p_A p_B(1 - F) \quad f_{BA} = 2p_A p_B(1 - F), \text{ heterozigot (2 katsayısı AB ve BA olasılıklarını kapsar)}$$

$$f_{BB} = p_B \times F + p_B^2(1 - F), \text{ homozigot}$$

Aynı lokustaki iki alelin IBD olma olasılığı **F** olduğuna göre, IBD olmama olasılığı da $(1 - F)$ şeklinde ifade edilir. Örneğin, p_A değeri bir kişinin popülasyonda A aleline sahip olma olasılığını ifade etsin. p_{AA} için, eğer ilgili lokustaki A alelleri IBD iseler, iki özdeş alelin aynı genotipi (**AA**) oluşturmasının olasılığı sadece p_A^2 'dir, çünkü iki A aleli aynı ata alelinin kopyasıdır ve farklı alelleri ifade etmez. Böylece bu olasılık **F** katsayısı ile çarpılarak AA genotipinin akrabalı yetiştirmeden dolayı AA oluşunun toplam olasılığı bulunmuş olur.

Aynı lokustaki A alelleri IBD olmadıkları zaman değeri aynı ama kaynağı farklı iki alelden bahsettiğimiz için, genotipin AA olmasının olasılığı p_A^2 'dir. Bu genotip oluşumu IBD olmadığı için de $(1 - F)$ değeri ile çarpılır. AA genotipinin toplam frekansını veya olasılığını hesaplamak için de bu iki terim toplanır.

Adli genetik analizlerinde istatistiki hesaplamalar için **F** katsayısı kullanılabilir. Amerika Ulusal Araştırma Konseyi'nin ikinci raporunun (*The Second National Research Council report*, NRC II) 4.1 numaralı önerisi; HWE sapmalarının oluşabileceği ve olası akrabalıkların homozigot bireylerin sayısını arttıracığından **F** akrabalı yetiştirme katsayısının kullanılmasıdır. Buna göre; akrabalı yetiştirmenin de göz önünde tutulması için bir AA homozigotun popülasyonda görülme olasılığı için $p_A^2 + p_A(1 - p_A)F$ formülü kullanılır; ki **F** kişinin kendi genotipleri içindeki akrabalı yetiştirmeyi ifade eden katsayıdır. Akrabalı yetiştirme sadece homozigotları etkilediğinden AB heterozigot için kullanılan formül çarpım kuralında olduğu gibi bırakılabilir.

Ortak Ata Katsayısı, Θ

Ortak ata katsayısı (*coancestry coefficient*) aynı lokusta, **X** kişiye ait alellerden rastgele seçilecek bir tanesinin **Y** kişiye ait alellerden rastgele seçilecek bir tanesi ile IBD olması olasılığıdır. Bu katsayı ayrıca akrabalık katsayısı (*kinship coefficient*) olarak da bilinir (Lewis, 2010). Eğer verilen bir lokusta **X**'in genotipi (a, b), **Y**'ninki de (c, d) ise, **X**'ten seçilen bir alelin **Y**'den seçilen bir alel ile IBD olmasının dört olasılığı vardır. Dolayısı ile **X** ile **Y** arasındaki ortak ata katsayısı, eğer akrabalı yetiştirme yoksa şöyle ifade edilir:

$$\theta_{XY} = \frac{1}{4}[P(a \equiv c) + P(a \equiv d) + P(b \equiv c) + P(b \equiv d)]$$

Bu katsayıyı belirlemek için yol sayma (*path counting*) metodu kullanılabilir.

$$\theta_{XY} = \sum_A \left(\frac{1}{2}\right)^{n_A} (1 + F_A)$$

ki n_A aile ağacında **X** ile **Y** arasında ortak her atadan (**A**) geçen yolun üstündeki kişi sayısıdır. F_A ise ortak ata olan **A**'ya ait akrabalı yetiştirme katsayısıdır (Elston vd., 2002; Evett & Weir, 1998). Akrabalı yetiştirme söz konusu olmadığında, F_A sıfırdır.

Örneğin, bir ebeveyn (**X**) ve çocuk (**Y**) arasındaki ilişkide sadece iki kişi—ebeveyn ve çocuk—olduğu için;

$$\theta_{XY} = (1/2)^2 = 1/4$$

birinci yeğenler **X** ve **Y** arasında ise;

$\theta_{XY} = (1/2)^5 + (1/2)^5 = 1/16$ 1 olur. Çünkü **X** ve **Y**'yi aile ağacında ortak ataları olan büyükanne ve büyükbabaları üstünden ayrı ayrı birleştiren iki yol vardır. Her bir yolun üstünde de **X** ve **Y** dahil 5 kişi (kişi, kişinin baba veya annesi, kişinin büyükanne veya büyükbabası, kişinin amca/dayı/hala/teyzesi ve son olarak kişinin yeğeni) bulunur.

Bu θ katsayısı, yine NRC II'nin 4.2 numaralı önerisinde yer almaktadır. Bu öneri, HWE ve LE varsaymayan tek öneri olma özelliğini taşır. Dolayısı ile adli hesaplamalar için en uygun model olarak gösterilir (Bright & Coble, 2019).

Annelik ve Babalık Testleri

LR yaklaşımını takip ederek bir çocuğun potansiyel ebeveynleri ile olan ilişkisinin gücü hesaplanabilir. Daha önce de belirttiğimiz gibi, LR formülü iddianın hipotezi (**H_p**) ve savunmanın hipotezini (**H_d**) oluşturarak yapılır. Anne ve babalık testlerinde oluşturulan LR değerine babalık/annelik endeksi (*paternity/maternity index*, *PI/MI*) denir.

Birleştirilmiş Babalık Endeksi ve Babalık Olasılığı

Bir babalık testinde analiz edilen her lokustaki durum için bir LR değeri hesaplanır. Daha sonra ise bütün lokuslardaki LR değerleri birbiri ile çarpılarak varsayılan babanın gerçek baba oluşunun popülasyondan rastgele seçilmiş bir kişinin gerçek baba oluşuna olan oranı hesaplanır. Bu orana birleştirilmiş babalık endeksi (*Combined Paternity Index*, CPI) denir. Babalık Olasılığı (**W**) ise Brenner'e göre;

$$W = \frac{p \times L}{p \times L + (1 - p)}$$

olarak ifade edilir, ki **p** önsel (baba olma) olasılığı ve **L** benzerlik oranını (LR) temsil eder. Spesifik olarak **L**, varsayılan babanın gerçek baba olma olasılığı ile gerçek babanın rastgele bir kişi olma olasılığına olan oranıdır (Brenner, 2010).

Genellikle babalık davalarında uygulandığı üzere, varsayılan babanın gerçek baba olma önsel olasılığı **p = %50** olarak alınırsa, bu formül; **W = L/(L + 1)** olur (Brenner, 2010). Eğer **L = 10000** ise, %50 önsel olasılık ile **W = %99.99** olur.

Standart Üçlü Babalık Testi—Rastgele Erkek

Standart üçlü durumunda çocuğun (C), annenin (M), ve iddia edilen babanın (AF) genotipleri mevcuttur. Bu analizde annenin (M) çocuğun (C) gerçek annesi olduğu varsayılır. Bu durum için oluşturulacak LR'nin pay kısmı, eldeki DNA bulgularının AF 'nin C 'nin gerçek babası olduğunu ifade eder. LR'nin payda kısmı ise AF 'nin popülasyondan seçilmiş rastgele bir erkek olduğunu, yani, gerçek babanın bilinmeyen bir başkası olduğunu ifade eder (Fung & Hu, 2008).

$$LR = \frac{P(\text{DNA bulguları} | H_p)}{P(\text{DNA bulguları} | H_d)} = \frac{P(C, M, AF | H_p)}{P(C, M, AF | H_d)} = \frac{P(M, AF | H_p) \times P(C | M, AF, H_p)}{P(M, AF | H_d) \times P(C | M, AF, H_d)}$$

$$LR = \frac{P(C | M, AF, H_p)}{P(C | M, AF, H_d)}$$

$P(M, AF | H_p)$ ve $P(M, AF | H_d)$ terimlerindeki M ve AF genotipleri ilgili hipotezlerden eğer $C = A_i A_j$, $M = A_i A_k$ ve $AF = A_i A_j$ ise, C 'nin bu iki kişinin çocuğu olduğuna dair olasılığın hesaplanması için çocuğun hangi şekillerde $A_i A_j$ genotipine sahip olabileceğine bakılır. Nitekim, A_i aleli anneden (M), A_j aleli de varsayılan babadan (AF) geçerse çocuk $A_i A_j$ olabilir. Ancak, çocuğun A_i alelini babadan alma şansı olmadığından tek olasılık mevcuttur. Çocuğun A_i alelini anneden alma olasılığı $1/2$ 'dir, çünkü annenin iki alelinden sadece bir tanesinin değeri A_i 'dir. Aynı şekilde, çocuğun A_j alelinin varsayılan babadan (AF) aktarılma olasılığı da $1/2$ 'dir.

Payda için çocuğun popülasyon içindeki herhangi bir $A_i A_j$ genotipini taşıyan birisi olma olasılığı hesaplanır. Tabii ki, annenin genotipi bilindiğinden, anneden geçen alellerin olasılıklarında bir değişiklik olmaz. Ancak çocuğun ikinci alelini varsayılan spesifik bir babadan (AF) değil, popülasyondaki rastgele bir erkekten almış olma olasılığı hesaplanır. Bu olasılık da popülasyon genelindeki ilgili alel frekansına eşittir.

Dolayısı ile LR formülü şöyle olur:

$$LR = \frac{2p_i p_k \times 2p_j p_l \times \left[\left(\frac{1}{2} p_{M_{A_i}} \times \frac{1}{2} p_{AF_{A_j}} \right) + \left(0_{M_{A_j}} \times 0_{AF_{A_i}} \right) \right]}{2p_i p_k \times 2p_j p_l \times \left[\left(\frac{1}{2} p_{M_{A_i}} \times p_j \right) + \left(0_{M_{A_j}} \times p_i \right) \right]} = \frac{1}{2p_j}$$

Formüldeki alt simgeler hangi alel olasılığının anne veya baba ile ilgili olduğunu ifade eder. $2p_i p_k \times 2p_j p_l$ annenin $A_i A_k$ ve varsayılan babanın ise $A_j A_l$ genotiplerine aynı anda sahip olma olasılığıdır. Bu olasılık H_p veya H_d hipotezlerinden bağımsız olduğu için formülün hem pay hem de paydasında özdeş olarak yer alır. Bu sebeple birbirini götürür. Dolayısı ile anne ve varsayılan babanın birleşik genotip olasılığı LR değerini etkilemez.

İkili Babalık Testi (Annesiz Olgu)

Annenin genotipinin mevcut olmadığı zamanlarda LR hesaplaması için oluşturulması gereken hipotezler yine aynıdır (Fung & Hu, 2008):

H_p : Varsayılan baba (AF) çocuğun gerçek babasıdır

H_d : Gerçek baba popülasyondan rastgele seçilen birisidir

Bu durumdaki fark, LR formülünün annenin genotipi ile ilgili bilgi içermemesidir. Öyle ki,

$$LR = \frac{P(C, AF | H_p)}{P(C, AF | H_d)}$$

C 'nin genotipinin $A_i A_j$ ve AF 'nin genotipinin ise $A_i A_j$ olduğu durumda LR şöyle olur:

$$LR = \frac{P(C = A_i A_j, AF = A_i A_j | H_p)}{P(C = A_i A_j, AF = A_i A_j | H_d)}$$

Formüldeki pay kısmı AF 'nin gerçek baba olduğunu öngördüğü için çocuğun $A_i A_j$ olabileceği anneden $A_i A_i$, babadan ise $A_j A_j$ alelini alması veya anneden $A_j A_j$, babadan ise $A_i A_i$ alelini alması ile mümkün olur. Annenin genotipi bilinmediğinden anneden gelecek alellerin olasılıkları için ilgili alellerin popülasyondaki oranları kullanılır. Demek ki, formülün pay kısmı için AF 'nin $A_i A_j$ olma olasılığı ile C 'nin $A_i A_j$ olma olasılıklarını çarpmak gerekir:

$$P(C = A_i A_j, AF = A_i A_j | H_p) = 2p_i p_j (p_{M_{A_i}} p_{AF_{A_j}} + p_{M_{A_j}} p_{AF_{A_i}})$$

$$= 2p_i p_j \left(p_i \frac{1}{2} p_{AF_{A_j}} + p_j \frac{1}{2} p_{AF_{A_i}} \right) = p_i p_j (p_i + p_j)$$

Formülün payda kısmı için babanın $A_i A_j$ genotipine sahip olmasının olasılığı $2p_i p_j$ ile çocuğun $A_i A_j$ genotipine sahip olmasının olasılığı çarpılır. Bu formülün paydaki formülden tek farkı, gerçek babanın popülasyondan rastgele seçilmiş birisi olduğu kabul edildiğinden dolayı, çocuğun babadan aldığı alellerin olasılıkları için popülasyondaki ilgili alellerin frekans değerlerinin kullanılmasıdır:

$$P(C = A_i A_j, AF = A_i A_j | H_d) = 2p_i p_j (p_i p_j + p_j p_i) = 2p_i p_j \times 2p_i p_j$$

$$= 2p_i p_j (p_{M_{A_i}} p_{AF_{A_j}} + p_{M_{A_j}} p_{AF_{A_i}})$$

Dolayısı ile incelenen durum için;

$$LR = \frac{p_i p_j (p_i + p_j)}{2p_i p_j \times 2p_i p_j} = \frac{(p_i + p_j)}{4p_i p_j}$$

Akrabalık Testi (Kinship Testing)

Ebeveyn-çocuk ilişkilerinde herhangi bir lokustaki aleller anne ve babadan çocuğa direkt olarak geçtiği için çocuğun aldığı her alelin genetik aktarım olasılığı genotip kombinasyonları göz önünde tutularak hesaplanabilir. Ancak, ebeveyn-çocuk ilişkileri dışındaki tüm ilişkilerde direkt alel aktarımı söz konusu değildir. Genetik bağı olan iki kişi arasındaki alel paylaşımına dayalı detaylı adli analiz yapılabilmesi için genetik ilişki katsayıları kullanılır.

Genetik İlişki Katsayıları

İki diploid genotip arasında paylaşılan IBD alel sayısı 2, 1 veya 0'dır. Bu paylaşımların olasılıkları ise genetik bağ katsayıları ile ifade edilir. k_2 katsayısı, verilen bir lokusta, söz konusu iki genotip arasında tam olarak iki alel paylaşılmasının olasılığını ifade eder. $2k_1$ (bazen k_1 olarak yazılır) tam olarak bir alelin paylaşılmasının olasılığını ifade eder. k_0 ise hiçbir alel paylaşılmadığının olasılığını ifade eder (Fung & Hu, 2008).

İlişki/akrabalık tanımına göre, k -katsayı değerleri sabittir. Örneğin, bir baba ile bir çocuk arasındaki durumda, babanın iki alelinin

herhangi birini çocuğuna vermesinin olasılığı 1/2'dir. Eğer baba (a, b) ise, %50 olasılıkla babanın a aleli, %50 olasılıkla ise b aleli çocuğuna geçecektir. Sonuçta, anne veya baba ile çocuk arasındaki tam olarak bir alellik genetik paylaşım olasılığı %100'dür. Dolayısıyla, anne-çocuk veya baba-çocuk ilişkilerinde $(k_0, 2k_1, k_2) \sim (0, 1, 0)$ olur. Sonuçta, anneden/babadan çocuğuna hiçbir alel geçmemesi olasılığı (k_0, k_0) veya anneden/babadan çocuğa tam olarak iki alel geçme olasılığı (k_2) sıfırdır. Her zaman için ise $k_0 + 2k_1 + k_2 = 1k_0 + 2k_1 + k_2 = 1$

Örneğin, iki yarı-kardeşin genotiplerinin 16 farklı kombinasyonu mümkündür. Bu kombinasyonların 8'inde çocukların hiçbir alel paylaşmadığı $(k_0 = 8/16 = 1/2)$ 8'inde ise çocukların tam olarak bir alel paylaştığı $(2k_1 = 8/16 = 1/2)$ ortaya çıkar. Bu durumda, $(k_2 = 0)$ olur. Özetle, yarı-kardeşlerin IBD olasılıkları $(k_0 + 2k_1 + k_2) \sim (1/2, 1/2, 0)$ olur (Fung & Hu, 2008).

Eğer söz konusu iki kişi arasında genetik hiçbir bağ yoksa bu kez de $(k_0 + 2k_1 + k_2) \sim (1, 0, 0)$ olur, çünkü genetik bağı olmayan insanların alellerinin IBD olması mümkün değildir. Bir başka deyişle, genetik bağı bulunmayan iki kişinin hiçbir alel paylaşmadığı olasılığı (k_0) tamdır, yani birdir (Weir vd., 2006).

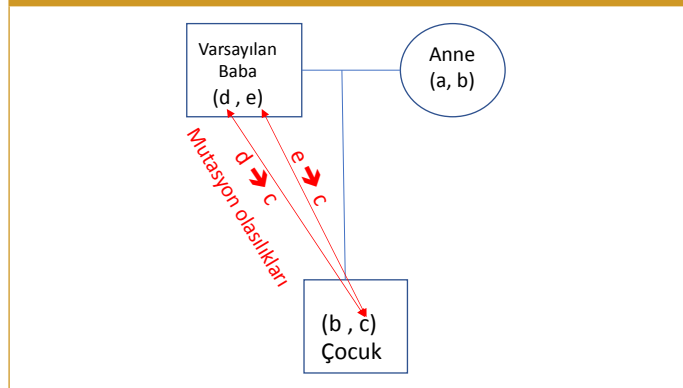
Mutasyon

Çocuklara aktarım sırasında bazı gen veya alellerde mutasyon oluşabilir. Gizli (covert) mutasyonlar dışındaki mutasyonlar ebeveyn-çocuk ilişkilendirilmesinde uyumsuzluklara yol açar (Brenner, 2004). Örneğin, verilen bir lokusta anne (M) genotipinin (a, b), varsayılan baba (AF) genotipinin (d, e), ve çocuk (C) genotipinin ise (b, c) olduğunu düşünelim. Bu durumda, çocuğun anneden b alelini aldığını düşünecek olursak, olası baba tek mutasyon kaynağı olarak ortaya çıkar. Var olan M ve AF genotipleri ile mümkün olan çocuk genotipleri (a, d), (a, e), (b, d), veya (b, e)'dir. C'nin (b, c) oluşu çok büyük ihtimalle ya (b, d) olasılığındaki babadan gelen d alelinin c'ye dönüşmesi veya (b, e) olasılığındaki babadan gelen e alelinin c'ye dönüşmesi ile mümkün olmuştur (Şekil 4).

Anneden b alelinin geçme olasılığı 1/2'dir. Çocuğun varsayılan babadan aldığı alel mutasyona uğrayarak c değerine sahip olabilmesi için varsayılan babaya ait ya d alelinin, ya da e alelinin mutasyona uğrayıp c'ye dönüşmesi gerekir. Bu mutasyonun olasılığı ise $(q_{d \rightarrow c} + q_{e \rightarrow c})/2$ olur, çünkü iki mutasyon olasılığı vardır. Dolayısıyla varsayılan babanın çocuğun gerçek babası olma olasılığı;

Şekil 4

Varsayılan (olası) babadan aktarılan alelde (d veya e) oluşan bir mutasyonun çocuğa aktarımının örnek gösterimi



$$L_p = \frac{1}{2} \times \frac{(q_{d \rightarrow c} + q_{e \rightarrow c})}{2} = \frac{1}{4} (q_{d \rightarrow c} + q_{e \rightarrow c})$$

olur, ki $q_{d \rightarrow c}$ d alelinin mutasyon yoluyla c'ye dönüşme olasılığını ve $q_{e \rightarrow c}$ ise e alelinin mutasyon yoluyla c'ye dönüşme olasılığını ifade eder.

Yine bu L_p formülünü kullanıp H_d hipotezi için gereken L_p formülünü üretebiliriz. Babadan geçebilecek iki alelin her birinin c değerinde olması gerektiğinden, her bir alel için popülasyon genelindeki c alelinin görülme olasılığı kullanılır. Böylece,

$$L_p = \frac{(p_c + p_c)}{4} = \frac{p_c}{2}$$

O zaman bu mutasyon senaryosu için LR;

$$L_p = \frac{\frac{1}{4} (q_{d \rightarrow c} + q_{e \rightarrow c})}{\frac{1}{2} p_c} = \frac{(q_{d \rightarrow c} + q_{e \rightarrow c})}{2 p_c} \quad \text{olur.}$$

Sonuç

Bu bölümde Mendel Genetiği ve Hardy-Weinberg Kurallarının adli bilimlerde nasıl kullanıldığı ve bunların olasılık teoremi çerçevesinde bir olgunun veya bir babalık vakasının çözümlenmesinde nasıl kullanılacağına temelleri anlatıldı. Günümüzde birçok adli laboratuvar bu hesaplamalar ücretli veya ücretsiz olarak sağlanan programlar aracılığıyla yapılmaktadır. Örneğin, DNAVIEW birçok adli genetik laboratuvarın uzun yıllardır kullanılmakta olan ticari bir yazılımdır (Brenner, 2021). Familias ve Familias etrafında geliştirilmekte olan yazılımlar ise çalıştırılabilir kodları ücretsiz olan yazılımlardır (Egeland vd., 2000; Kling, Tillmar, & Egeland, 2014). Bonaparte özellikle felaket kurbanlarının kimliklendirilmesine yönelik olarak geliştirilmiş bir yazılımdır (Slooten, 2011). Benzer yazılımlar Drabek (2009) tarafından değerlendirilmiştir.

Otozomal lokuslar kullanıldığında mutasyon, alel düşmesi/eklenmesi, akrabalı yetiştirme veya popülasyon bölünmesinin değerlendirilebilmesi gerekir. Öncelikle, bu değişiklikler olmadan dahi bir lokusta anne ve babadan geçen alellerin kombinasyonlarına göre farklı olasılık formülleri gerekebilir. Bu formülleri teker teker elle üretmek hem zaman gerektirir, hem de potansiyel olarak yanlışla yol açar. İkincisi, bu değişiklikleri göz önünde bulundurabilmek için gereken adli olasılık formülleri bu faktörler göz önünde bulundurulmadan üretilmesi gereken formüllerden çok daha karmaşıktır. Diğer yandan, her laboratuvarında bu formülleri sıfırdan üretebilecek adli istatistik uzmanı bulunmayabilir. Sonuç olarak, bu çalışmaları yapabilmek için onaylanmış (validated) otomasyon yazılımları kullanmak pratik bir zorunluluktur.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- Adam, C. (2010). Statistics and the significance of evidence. *Essential Mathematics and Statistics for Forensic Science* (pp. 279-311). John Wiley & Sons Ltd.
- Balding, D. J., Bishop, M., & Cannings, C. (2007). *Handbook of Statistical Genetics* (3rd ed.). Wiley. [Crossref]
- Ballantyne, J. (2004). Basic Principles of Forensic Molecular Biology and Genetics. https://worldwide.promega.com/~media/files/resources/conference_proceedings/isih15/forensic_molecular_biology_and_genetics_workshop/basicforensicgenetics.pdf
- Brenner, C. (2004). Multiple mutations, covert mutations and false exclusions in paternity casework. *International Congress Series, 1261*, 112-114. [Crossref]
- Brenner, C. (2010, December 8). Assumptions in the "probability of paternity." <http://dna-view.com/assump.htm>
- Bright, J.A., & Coble, M. D. (2019). Forensic DNA Profiling: A Practical Guide to Assigning Likelihood Ratios. CRC Press. [Crossref]
- Bulbul, O., Fernandez-Formoso, L., Phillips, C., vd.(2014). Allele frequencies of the five new European Standard Set (ESS) STRs and 15 established STRs in a Turkish population. *Forensic Sci Int Genet*, 9, e26. [Crossref]
- Butler, J. M. (2009). *Fundamentals of forensic DNA typing*. Academic Press.
- Butler, J. M. (2010). Statistical Interpretation: Evaluating the Strength of Forensic DNA Evidence. In *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Elsevier Inc. [Crossref]
- Butler, J. M. (2011). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology*. Elsevier.
- Butler, J. M. (2015). *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation*. Academic Press. [Crossref]
- Butler, J. M. (2015). DNA Profile Frequency Estimates and Match Probabilities. In *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation* (pp. 281-308). [Crossref]
- Committee, N. R. C. (1996). National Research Council (NRCII) Committee on DNA Forensic Science. The Evaluation of Forensic DNA Evidence. In *The Evaluation of Forensic DNA Evidence*. [Crossref]
- Drábek, J. (2009). Validation of software for calculating the likelihood ratio for parentage and kinship. *Forensic Science International: Genetics*, 3(2): 112-118. [Crossref]
- Edwards, A. W. F. (2008). G. Hardy. hardy (1908) and hardy-weinberg equilibrium. *Genetics*, 179(3), 1143-1150. [Crossref]
- Egeland, T., Mostad, P., Mevåg, B., vd. (2000). Beyond traditional paternity and identification cases: Selecting the most probable pedigree. *Forensic Science International*, Volume 110, Issue 1, 47-59. [Crossref]
- Elston, R. C., Olson, J. M., & Palmer, L. (Eds.). (2002). *Biostatistical Genetics and Genetic Epidemiology*. Chichester: Wiley.
- Evetts, I., & Weir, B. S. (1998). Interpreting DNA Evidence: *Statistical Genetics for Forensic Scientists*. Sinauer Associates.
- Fung, W. K., & Hu, Y.Q. (2008). *Statistical DNA Forensics: Theory, Methods and Computation*. Wiley. [Crossref]
- Gill, P., Gusmao, L., Haned, H., vd. (2012). DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the evaluation of STR typing results that may include drop-out and/or drop-in using probabilistic methods. *Forensic Sci Int Genet*, 6(6), 679-688. [Crossref]
- Gjertson, D. W., Brenner, C. H., Baur, M. P., vd. (2007). ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Science International: Genetics*, 1(3-4), 223-231. [Crossref]
- Gürkan, C., Demirdov, D. K., Yamaci, R. F., vd. (2015). Population genetic data for 15 autosomal STR markers in Turkish Cypriots from Cyprus. *Forensic science international. Genetics*, 14, e1-e3. [Crossref]
- Hartl, O. L., & Clark, A. G. (2007). *Principles of Population Genetics* (fourth edition). Sinauer Associates.
- Holsinger, K. E. (2014). The hardy-weinberg principle and estimating allele frequencies in populations. <http://darwin.eeb.uconn.edu/eeb348/lecturenotes/hardy-weinberg.pdf>
- Jobling, M., Hollox, E., Hurler, M., vd. (2014). Identity and Identification. In *Human Evolutionary Genetics* (2th Edition ed., pp. 571-598). Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC. [Crossref]
- Kling, D., Tillmar, A. O., & Egeland, T. (2014). Familias 3-Extensions and new functionality. *Forensic Science International: Genetics*, 13, 121-127 [Crossref]
- Laird, N. M., & Lange, C. (2011). *The fundamentals of modern statistical genetics* (1st ed.). Springer-Verlag New York. [Crossref]
- Lewis, K. E. (2010). *Statistical Methods for Kinship Analysis*. http://cstl.nist.gov/div831/strbase/pub_pres/Lewis-Towson-kinship-Apr2010.pdf
- Polesky, H. F. (2007). Parentage and relationship testing. In D. G. B. Leonard, A. Bagg, A. M. Caliendo, vd. (Eds.), *Molecular pathology in clinical practice* (pp. 507-515). Springer. [Crossref]
- Rudin, N., & Inman, K. (2002). Assessing the Strength of the Evidence. In *An Introduction to Forensic DNA Analysis* (pp. 139-150). CRC Press LLC. [Crossref]
- Slooten, K. (2011). Validation of DNA-based identification software by computation of pedigree likelihood ratios. *Forensic Science International: Genetics*, Volume 5, Issue 4, August 2011, 308-315. [Crossref]
- Turnpenny, P.D., & Ellard, S. (2017). *Emery's elements of medical genetics* (15th ed.). Elsevier.
- Weir, B. S., Anderson, A. D., & Hepler, A. B. (2006). Genetic relatedness analysis: Modern data and new challenges. *Nature Reviews Genetics*, 7(10), 771-780. [Crossref]
- Yamane, Taro. 1967. *Statistics, An Introductory Analysis*, 2nd Ed., New York: Harper and Row.

BÖLÜM 6

ADLİ LABORATUVARLARDA STANDARDİZASYON VE AKREDİTASYON

Havva ALTUNÇUL

Adli Laboratuvarlarda Standardizasyon ve Akreditasyon

Standardization and Accreditation in Forensic Laboratories

BÖLÜM HAKKINDA

Standardizasyon ve akreditasyon tüm sektörlerde olduğu gibi adli bilimlerde de kaliteli ve güvenilir hizmet verme/alma talebinin karşılanması için ilk olarak Avrupa ve Amerika'da başlatılmış bir uygulamadır. Standardizasyon ile öncelikle can ve mal güvenliğini sağlayacak koşulların oluşturulması ve kalitenin alt sınırının belirlenmesi sağlanmaktadır. Akreditasyon ise bir kurum veya kuruluşun belirlenmiş bir standardın gereksinimlerini karşılama yeterliliğinin değerlendirilmesidir. Bu bölümde adli laboratuvarlarda standardizasyon ve akreditasyonun sağlanması için gerekli parametreler ve bunların pratikte nasıl uygulanacağı ile ilgili bilgiler öncelikli olmak üzere, konu ile ilişkili kavramlar ve süreçler hakkında bilgiler sunulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Standardizasyon, akreditasyon, validasyon, adli laboratuvarlar

ABOUT the CHAPTER

Standardization and accreditation is a practice that was first initiated in Europe and America to satisfy demand for providing/receiving quality and reliable service in forensic sciences, as in all sectors. With the standardization primarily ensures the creation of conditions that will provide the safety of life and property and the determination of the lower limit of quality. Accreditation is the evaluation of an institution or organization's ability to meet the requirements of a specified standard. In this chapter, information is presented about the concepts and processes related to the subject, with a priority on the parameters required to ensure standardization and accreditation in forensic laboratories and how to apply them in practice.

Keywords: Standardization, accreditation, validation, forensic laboratories

Giriş

Tüm hizmet sektörlerinde olduğu gibi adli bilimler için de standardizasyon/akreditasyon, güvenilir ve kaliteli hizmet verme/alma gereksiniminden ortaya çıkmıştır. Adli olguların çözümünde delilin toplanması, taşınması, laboratuvarlarda çalışılması ve yargı sistemine sunulması son derece önemlidir. Bu hizmetler verilirken yapılacak hatalar doğrudan mahkeme kararlarını etkilemektedir. Adli bilimlerde standardizasyon/akreditasyon çalışmaları Avrupa'da ve Amerika'da başlamıştır. İngiltere ve Galler'de 1970'li yılların ortalarından itibaren yargıda yapılmış hatalar ancak 1990'lı yılların başında ortaya çıkmaya başlamış ve kabul edilmiştir. Lordlar Kamarası, yeni mağduriyetlerin yaşanmaması için kamu ve özel adli hizmetlerin kalitesini inceleyerek, yüzlerce tavsiyeden oluşan bir rapor hazırlamıştır. Hükümet 1994 ve 1996 yıllarında bu tavsiyelerin birçoğunu karşılamış ve özellikle de adli laboratuvarlara odaklanmıştır (Doyle, 2019a). Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri'nde masumiyet projesi kapsamında birçok kişinin haksız yere hüküm giydiğinin anlaşılması belirli adli disiplinlerde düşük kalitede hizmet verildiğini göstermiştir. Kaliteli ve güvenilir sonuçlar elde etmek için adli bilimlerde de standardizasyon ve akreditasyon yapılması gerekmektedir. Bu bölümde standardizasyon, akreditasyon ve validasyon konuları irdelenecektir.

Standardizasyon

Standardizasyon, belirli bir faaliyetle ilgili olarak tarafların yardım ve işbirliği ile belirli kurallar koyma ve bu kuralları uygulama işlemidir. Standardizasyon işlemi ile öncelikli olarak can ve mal güvenliği hedeflenirken aynı zamanda kalitenin alt sınırı tespit edilmek suretiyle belirlenen düzeyin altında mal ve hizmet üretimine müsaade edilmemektedir (*What Is a Standard*, ET: 2 Ocak 2020; Wilson-Wilde, 2018). Bir standart, taslak hazırlanması, taslağın üye kuruluşlar arasında paylaşılması, tartışılması, önerilerin alınması, yorumlanması ve değerlendirilmesini içeren ortalama üç yıllık bir süreç sonunda son şeklini almakta ve kullanıma girmektedir (Şekil 1) (*Developing Standards*, ET: 6 Şubat 2020).



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Hawa Altunçul

Emekli Öğretim Üyesi; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye
E-posta: hawa.altuncul@gmail.com

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as:
Altunçul, H. (2024) . Adli laboratuvarlarda standardizasyon ve akreditasyon. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin pesinde II* içinde (s. 98-107). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.

Şekil 1

Standart hazırlama süreci



Aynı zamanda standartlar kullanıcıya belirli kalite gereksinimlerini sağlamak üzere rehberlik eden belgeler olup, toplumun teknoloji, güvenlik vb. konularda beklentilerini karşılayacak şekilde hazırlanmakta ve gelişmelerin takibini sağlamak amacıyla en az beş yılda bir düzenli olarak gözden geçirilmektedirler. (Butler, 2010; Wilson-Wilde, 2018).

Dünyada standardizasyon sağlamak üzere başlıca Standart Geliştirme Kuruluşları (Standard Development Organizations, SGK);

- Avrupa'da Avrupa Standardizasyon Komitesi (European Committee for Standardization, CEN),
- Avrupa Elektroteknik Standardizasyon Komitesi (European Committee for Electrotechnical Standardization, CENELEC),
- Avrupa Telekomünikasyon Standartları Enstitüsü (European Telecommunications Standard Institute, ETSI),
- Uluslararası Standardizasyon Örgütü (International Standardization Organization, ISO),
- Uluslararası Elektroteknik Komisyonu (International Electrotechnical Commission, IEC) ve
- SAC/TC ise Çin Standardizasyon İdaresi ve Kamu Güvenliği Bakanlığı tarafından yönetilen ve adli bilimler alanında hükümet tarafından tanınan tek standart geliştirme kuruluşudur (Altunçul, 2021a; Doyle, 2019b; Zhai vd., 2020).

Standartlar, en iyi uygulamaların belgelenmesi, test yöntemlerini ve protokollerinin tanımlanmasını, teknik verilerin belgelenmesini, malzemeleri, ürünleri, sistemleri veya hizmetleri tanımlar. Uluslararası standardizasyon, teknik engelleri ortadan kaldırmasını sağlayarak, mal ve hizmetlerin değişimini kolaylaştırmaktır (Gumpinger vd., 2021; Zhai vd., 2020). Oluşturulan standartların uygulaması akreditasyon aracılığı ile yapılır.

Akreditasyon

Akreditasyon bağımsız bir kuruluş tarafından, bir tesisin piyasaya sürdüğü ürün veya hizmetin uluslararası standartlara uygun olarak gerçekleştiğini gösteren yazılı bir güvencenin (sertifikanın) sağlanması ve bu bağımsız kuruluş (akreditasyon kurumu) tarafından resmi olarak tanınmasıdır. ISO/IEC 17011'e göre akreditasyon "belirli uygunluk değerlendirme görevlerini yerine getirme yetkinliğinin resmi olarak kanıtlanmasını sağlayan bir uygunluk değerlendirme kuruluşuyla ilgili üçüncü taraf onayı" olarak tarif edilmektedir (Doyle, 2019b). Akreditasyon, yeterlilik temelli standartlar aracılığı ile bir uygunluk değerlendirmesidir. Akreditasyon sonucu bir sertifika verilmesi nedeniyle akreditasyon ile sertifikasyon birbirine karıştırılabilmektedir. Sertifikasyon, bir ürünün, hizmetin veya sistemin belirlenen gereksinimlere göre

değerlendirildiğini ifade ederken, akreditasyon, bir kurum veya kuruluşun teknik bilgiye dayalı olarak belirlenen gereksinimlere karşı yeterliliğinin değerlendirilmesini ifade eder. Sertifika bir kuruluşa verilebildiği gibi bir kişiye de verilebilir (Butler, 2010; Certification, ET: 15 Şubat 2020; Wilson-Wilde, 2018). Akreditasyon, deney ve muayene raporları, kalibrasyon sertifikaları, yönetim sistemi, ürün ve personel belgeleri gibi dokümanların güvenilirliğini ve geçerliliğini destekleyen bir kalite altyapısıdır. Kuruluşun yeterliliğini şeffaf hale getirir ve kuruluşun ürettiği ürün, hizmet, rapor vb. için güvenilirliği artırır (Butler, 2010; Ross ve Davey, 2016).

Avrupa Parlamentosu ve Konseyi (European Parliament And of The Council, EC) 9 Temmuz 2008 tarihinde yayınlamış olduğu 765/2008 sayılı tüzükte üye devletlerin akreditasyon kuruluşlarının özelliklerini özetle aşağıdaki gibi sıralamıştır (Official Journal of the European Union L 218, 2008).

- Üye devletler tek ulusal akreditasyon kuruluşuna sahip olmalıdır.
- Akreditasyon kuruluşunun faaliyetlerinin tarafsızlığı sağlanmalıdır.
- Akreditasyon kuruluşu ticari uygunluk değerlendirme faaliyetlerinden bağımsız faaliyet göstermelidir.
- Ulusal akreditasyon kuruluşlarının yasal statülerine bakılmaksızın kamu otoritesini kullandıklarından emin olmaları sağlanmalıdır.

Akredite olmak isteyen bir kuruluş öncelikle kendi hizmet ve üretim alanı için bir yönetim sistemi standardı belirlemelidir. Örneğin, ISO 9001 (Kalite Yönetim Sistemi İçin Gereklilikler), ISO 14001 (Çevre Yönetim Sistemi Standardı İçin Gereklilikler), ISO/IEC 17025 (Test ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar), ISO 15189 (Tıbbi Laboratuvarlar Kalite ve Yeterlilik için Özel Gereksinimler) bu standartlardan bazılarıdır. Bu standartlar bir kuruluşun dünya genelinde kabul gören gerekliliklerini dikkate alarak akredite olmasını sağlar. Yönetim sistemi standartları kuruluşun türlerine, boyutlarına ve sunulan ürün veya hizmetlerden bağımsız olarak tüm kuruluşlar için geçerlidir (ISO-CASCO, 2016). Çünkü yönetim sistemi standartları, genel ilkeleri belirler; birbiri ile ilişkili ve uyumlu organları tanımlayarak etkili bir yönetim sistemi oluştururlar; belirli bir sektörde takip edilen metodolojiyi standartlaştırmaya veya belirtmeye çalışmazlar (ISO/IEC 17025:2017, 2017).

Akreditasyon üzerine çalışan birçok uluslararası kuruluş bulunmaktadır. En yaygın olanları aşağıda sıralanmıştır:

- Uluslararası Akreditasyon Forum (International Accreditation Forum, IAF) (<https://www.iaf.nu//articles/About/2>),
- Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon İşbirliği (International Laboratory Accreditation Cooperation, ILAC) (<https://ilac.org/about-ilac/>),
- Asya Pasifik Akreditasyon İşbirliği (Asia Pacific Accreditation Cooperation, APAC) (<https://www.apac-accreditation.org/about/>)
- Uluslararası Akreditasyon Hizmeti (The International Accreditation Service, IAS) (<https://www.iasonline.org/>).

Bunlar tüm dünyada geçerli olan ve güven sağlayan uygunluk değerlendirme kuruluşlarıdır. Örneğin ILAC, standardizasyonu desteklemek için kılavuzlar hazırlayarak, adli bilimler gibi

Kısım 2: Adli Genetikte Tarihsel Gelişim ve Güncel Uygulamalar

akreditasyon kriterlerinin yorumlanması ve uygunluk değerlendirmesinde yardımcı olacak, adli bilim çalışanlarına ISO/IEC 17025 ve/veya ISO/IEC 17020'ye uyum konusunda rehberlik sağlar (Doyle, 2019b). IAF ise işletme ve müşterileri için dünya çapında tek bir uygunluk değerlendirme programı geliştirerek, hem işletme hem de müşterileri için akredite olan kurumun yetkinliği ve tarafsızlığını garanti etmek ve güven duyulacak akreditasyon sertifikaları oluşturmayı (IAF, 15 Şubat 2020) sağlamak için çalışmalarını sürdürmektedir. Avrupa Adli Bilim Enstitüleri Ağı (The European Network of Forensic Science Institutes, ENFSI) ise adli bilimin kalitesini artırmak amacıyla bir dizi disipline ve faaliyete özgü standart geliştirmiş ve 2015 yılında Adli Bilimlerde Değerlendirmeli Raporlama için ENFSI Kılavuzu'nu yayınlamıştır (Doyle, 2019b).

Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK), Alman Akreditasyon Kurumu (German Accreditation Council, DAR), İngiliz Kraliyet Akreditasyon Kurumu (United Kingdom Accreditation Service, UKAS), İtalyan Akreditasyon Kurumu (The Italian Accreditation Body, ACCREDIA), Hollanda Akreditasyon Kurumu (Dutch Accreditation Council, RvA) ise bazı ülkelerin ulusal akreditasyon kuruluşlarıdır. Yetkili kılınan bir akreditasyon kurumu, kapsamı içinde yer alan ve diğer tüm yetki sahibi uygunluk değerlendirme kuruluşları tarafından verilen sertifikaları veya raporları tanımak zorundadır. Çünkü gerek ulusal gerekse uluslararası akreditasyon kurumları bir dizi karşılıklı (veya Çok Taraflı) Tanıma Düzenlemesi imzalayarak diğer imza sahibi akreditasyon kurumları tarafından verilen akreditasyonların denkliğini kabul etmektedirler. Karşılıklı tanıma, teknik engellerin kaldırılmasını sağlayarak uluslararası ticareti desteklemektedir (*International Credentials*, ET: 15 Şubat 2021; *Role of APAC*, ET: 15 Şubat 2021).

Gönüllük esasına dayanan bir sistem olan akreditasyonda esas olan bağımsızlık, tarafsızlık ve yetkinliktir. Akredite olan bir kuruluş, uluslararası platformlarda güvenilirlik kazanır, kabul edilebilirliği artar, hizmet kalitesi gelişir, maliyetleri azalır, sürekli eğitim ile profesyonel yetkin bir kadro oluşması sağlanır, teknolojik gelişimin takibi ile cihaz ve ekipmanların yenilenmesi, kullanılmakta olan metotların geliştirilmesi, kuruluşun kendi uzmanlık alanında söz sahibi olması ve saygınlık kazanması sağlanır. Tüm bu kazanımların neticesinde müşteri memnuniyeti ve güveni artacağından, kuruluşun pazarladığı hizmet/üründe artış olmaktadır (Official Journal of the European Union L 218, 2008). Bu nedenle kuruluşlara belli bir mali yük getirmesine rağmen tüm sektörlerde akreditasyona talep giderek artmaktadır.

EC'nin 2008 yılında yayınladığı 768/2008/EC sayılı tüzüğü'nün 23. maddesinde; tüm Avrupa'yı kapsayacak şekilde şeffaf ve kalite odaklı sistem kurulmasını teşvik etmek, uygunluk değerlendirme kuruluşlarının yeterliliğinin değerlendirilmesi ve hem üye hem de diğer Avrupa devletlerinin ulusal akreditasyon kurumları arasındaki akran değerlendirme sistemini yönetmek esas görev olarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda uygunluk sertifikalarının temin edilmesi ve akreditasyon kuruluşlarına güvenin sağlanması için uygunluk değerlendirme kuruluşunun teknolojik bilgi, deneyim ve değerlendirme yapabilme yeteneğinin belirlenmesi, yeterliliğinin değerlendirilmesi ve sürekli izlenmesi gerekliliğine dikkat çekilmektedir. Bir üye devlette ulusal akreditasyon kuruluşu yoksa veya talep edilen akreditasyon hizmeti verilemiyor ise uygunluk değerlendirme kurumu başka bir üye devletten akreditasyon talep edebilir. Söz konusu durumda ulusal akreditasyon kurumları arasında işbirliği

yapılması, bilgi alışverişinde bulunulması da tüzükte önerilmektedir (Official Journal of the European Union L 218, 2008).

Tüm uygunluk değerlendirme faaliyeti gerçekleştiren (muayene, deney, belgelendirme, doğrulama, referans malzeme üretimi ve yeterlilik deneyi sağlama dahil olmak üzere) Uygunluk Değerlendirme Kuruluşları (UDK) 30229 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan yönetmeliğe tabidir (Uygunluk Değerlendirme Kuruluşlarının Akreditasyonu Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazete Sayı:30229) Ulusal akreditasyon kuruluşları, Avrupa Akreditasyon Birliği (EA) dışında uluslararası veya bölgesel örgütlerle (IAF, ILAC gibi) çok taraflı tanıma anlaşmaları imzalayarak oluşturulan zincirleme şeffaf denetimler ile güven ve saygınlık kazanmaktadırlar. Aynı şekilde; ILAC, IAF, ve IEC gibi uluslararası akreditasyon kuruluşları da kendi aralarında çeşitli karşılıklı tanıma anlaşmaları imzalayarak ve iş birliği yaparak hazırladıkları ortak dokümanlar ile sistemin geliştirilmesine katkı sunmakta ve ilgili bilgileri <http://www.iec-ilac-iaf.org/> adresinden paydaşlarıyla paylaşmaktadırlar.

04 Kasım 1999 tarihinde 23866 sayılı resmi gazetede yayınlanan 4457 sayılı kanun ile Türkiye'nin tek akreditasyon kuruluşu olan TÜRKAK kurulmuştur. Daha sonra 4457 sayılı kanunun 22. maddesine ek yapılarak, Avrupa Parlamentosu 765/2008 sayılı tüzüğü (Official Journal of the European Union L 218, 2008) ile uygunluk sağlanmış ve TÜRKAK bu alanda tek yetkili kuruluş olarak tescillenmiştir. TÜRKAK'da kuruluşunun ardından önce EA ile daha sonra da IAF ve ILAC birlikleri ile karşılıklı tanıma anlaşması imzalamıştır.

Uygunluk denetim kuruluşlarının yaptığı denetimler, bağımsız ve objektif olarak yapılır ve yönetim sistemi gerekliliklerinin ne ölçüde karşılandığını gösteren, belgelenmiş bir süreci ifade eder. Kuruluşlar oluşturdukları yönetim sisteminin uygulamakta oldukları standardın gerekliliklerini karşıladığını göstermek için üç farklı yöntem kullanabilirler. Bunlardan birincisi kuruluşun kendisi tarafından yapılan ve kendi uygunluk beyanını içeren *birinci taraf denetimdir*. Diğerleri ise kuruluşun müşterileri, düzenleyici otorite veya bunlar adına başkaları tarafından yapılan *ikinci taraf denetimlerdir*. Bağımsız kuruluşlar tarafından yapılan (ör: TÜRKAK) denetimler ise *üçüncü taraf denetimler* olarak ifade edilmektedir. Üçüncü taraf denetimi, yönetim sistemleri standartlarının gerekliliklerine uygun bağımsız denetim sağlarlar ve denetim sonucunda uygunluğu gösteren bir sertifika verilir (ISO-CASCO, 2016; *TS EN ISO 10002 Müşteri Memnuniyeti Ve Şikâyet Yönetim Sistemi Temel Eğitimi Kitapçığı*, 2010; *TS EN ISO 9000 Kalite Yönetim Sistemi Dökümantasyon Eğitimi Kitapçığı*, 2010; *TS EN ISO 9000 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi Kitapçığı*, 2010; *TS EN ISO 9000 Proseslerin Yönetimi Etkileşimi Ve İyileştirme Teknikleri Eğitimi Kitapçığı*, 2010)

Özetle akreditasyon; uluslararası kabul edilen bir standardın gerekliliklerinin yerine getirildiğini sürekli iç ve dış denetimlerle ve belgeler ile kanıtlandığı, sürekli eğitim ile personelin eğitildiği, günün koşullarına uygun araç ve gereç kullanımının sağlandığı, piyasadaki gelişime paralel olarak sürekli iyileştirilen ve gönüllülük esasına göre işleyen bir kalite sistemi olarak ifade edilebilir.

Adli Bilimlerde Standardizasyon ve Akreditasyon

Multidisipliner bir bilim dalı olan ve kapsadığı alanı genişletmeye devam eden adli bilimler laboratuvarlarının kaliteli, güvenilir

hizmet verebilmeleri için akredite olmaları ihtiyaç haline gelmiştir. Ancak genel olarak adli endüstride, sınırlı kamu yatırımları nedeniyle adli bilimlere özel standartlar geliştirilmemiştir. Ancak son on iki yılda uluslararası düzeyde bu konu ile ilgili güçlü bir çağrı bulunmaktadır. Bunun bir sonucu olarak CEN ve ISO adli bilimler için standartlar geliştirmeye başlamıştır (Wilson-Wilde, 2018). CEN yalnız 34 Avrupa ülkesine hitap etmektedir. ISO ise en büyük bölgesel standart geliştirme kuruluşudur. CEN ve ISO bir-biri ile çelişen veya benzer standartlar geliştirmezler. Adli bilimler açısından en önemli standart ISO tarafından geliştirilen ISO / IEC 17025: 2017 (Test Ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar) standardıdır. Bu standart teknolojik gelişim ve piyasa koşulları dikkate alınarak güncellenmiş ve son versiyonu 1 Aralık 2017 tarihinde yayınlanmıştır. Bugün ISO / IEC 17025: 2017 dünya çapında kalibrasyon ve test faaliyetlerini yürüten laboratuvarlar için uluslararası bir referans niteliğindedir.

Standartlar sağladıkları avantajlar nedeniyle uygulayıcılar tarafından gönüllü olarak tercih edilir ve akreditasyon yoluyla uygulanabilir (Wilson-Wilde, 2018). Akreditasyonun bir gereği olarak adli kuruluşların ihtiyaç duydukları eğitimli eleman ihtiyacının karşılanması, bu alanda eğitim veren kurumlarında akreditasyonunu gündeme getirmektedir. Burada amaç eğitim seviyesini ve kalitesinin küresel düzeyde gelişmesini teşvik ve desteklemektir (Palmbach, 2013). Avrupa Birliği Konseyi 2011 yılında Avrupa Adli Bilimler 2020 Vizyonunu (EFSA2020) oluşturmak üzere bir çalışma başlatmıştır. Bu çalışma;

- Adli tıp enstitüleri ve laboratuvarlarının akreditasyon prosedürleri ve adli tıp personeli için yeterlilik kriterlerinin tanımlanması,
- Uluslararası düzeyde adli faaliyetler için yeterlilik testleri ve işbirliği çalışmalarının oluşturulması,
- Adli DNA veri tabanları oluşturmak ve kullanımı ile ilgili kriterlerin belirlenmesi,
- Suç mahalli ve suç mahallinden mahkemeye uzanan süreç boyunca kanıtların yönetimi ile ilgili kalite standartlarının belirlenmesini kapsamaktadır (Nogel vd., 2019).

Yukarıda söz edilen 2020 vizyonuna giden süreçte DNA Analizi Bilimsel Çalışma Grubu (Scientific Working Group on DNA Analysis, SWGDAM) ve ABD'de DNA Danışma Kurulu (DNA Advisory Board, DAB) tarafından standart oluşturmak üzere yapılan çalışmalar ve 27 Mayıs 2005'te Prüm Sözleşmesi (Schengen III Sözleşmesi) önemli bir mihenk taşı oluşturmuştur. Bu sözleşme Avusturya, Belçika, Fransa, Almanya, Lüksemburg ve Hollanda tarafından, DNA parmak izi ve araç kayıtları ile ilgili veri alışverişi ve terörizme karşı işbirliği yapmak üzere Almanya'nın Prüm kentinde imzalanmıştır (Ricci vd., 2013). Diğer önemli adımlar ise Amerikan Suç Topluluğu Laboratuvar Direktörleri/Laboratuvar Akreditasyon Kurulu (American Society of Crime Laboratory Directors/Laboratory Accreditation Board) ve Avrupa Adalet ve İçişleri Konseyi'nin (European Council Justice and Home Affairs) 2009 yılında, ABD ve Avrupa Birliği'nde parmak izi ve DNA profil çalışmaları yapan kalibrasyon ve adli bilim çalışan laboratuvarların ISO/IEC 17025: 2005 standardına göre akredite edilmeleri kararını alması (Decorte, 2013), ayrıca adli bilimlerle ilgili birçok konuyu içeren ISO/IEC 19794-14:2013- Bilgi Teknolojisi – Biyometrik Veri Değişim Biçimleri (ISO/IEC 19794-14:2013, 2013) ve ISO 18385:2016 - Adli Amaçlı Biyolojik Materyal Toplamak, Depolamak ve Analiz Etmek

için Kullanılan Ürünlerde İnsan DNA Kontaminasyonu Riskini En Aza İndirme (ISO 18385:2016, 2016) gibi standartların kullanıma girmesidir.

Adli kuruluşların küresel ölçekli standartları uygulamaları ve şeffaf yönetim sistemi kurmaları, alanlarında ürettikleri ve adli mercilere sundukları bilimsel kanıtlara güveni artıracak, farklı coğrafyalarda hizmet sunan adli kurumlar arasındaki bilgi alışverişini sağlayacağından uluslararası suçların takibi ve önlenmesinde işbirliği yapma imkânı sağlayacaktır. Aynı zamanda felaket olayları sonucunda sistemi çöken ülkelerin adli kuruluşlarına uluslararası desteğin sağlanmasını kolaylaştıracaktır. Uluslararası kabul gören standartların kullanılması ile oluşturulan uluslararası sistemler sayesinde veri tabanlarının paylaşımı, bilgi alışverişini kolaylaştırdığından, kanıtların toplanması, analiz edilmesi ve raporlanması ile ilgili ortak yaklaşımların oluşması ve masum kişileri suçlulardan ayırma başarısının artmasını sağlayacaktır (ISO 21043-1:2018(En) Forensic Sciences, ET: 20 Şubat 2020). Bu başta halk olmak üzere hukuk ve adli bilim uzmanları da dâhil tüm taraflar için fayda sağlayacaktır.

Akreditasyon tüm kuruluşlarda daha meşru bir risk yönetimi stratejisi olarak görüldüğünden (Ross ve Davey, 2016), ISO Uyumluluk Değerlendirme Komitesi (Committee on Conformity Assessment, CASCO) tarafından uluslararası düzeyde tanınan standartlar geliştirilmiştir. Bunlar;

- ISO / IEC 17025: 2017 - Test ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği İçin Genel Şartlar (ISO/IEC 17025:2017 — General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories),
- ISO / IEC 15189: 2012 Tıbbi Laboratuvarlar - Kalite ve Yeterlilik İçin Gereklilikler (ISO/IEC 15189:2012 Medical laboratories — Requirements for quality and competence)
- ISO / IEC 17020: 2017 Uygunluk Değerlendirmesi - Muayene Yapan Çeşitli Kuruluşların Çalıştırılması İçin Gereklilikler (ISO/IEC 17020:2017 Conformity Assessment — Requirements for the Operation of Various Types of Bodies Performing Inspection).

Her üç standart da denetim kuruluşları için tesisin, malzemenin, ürünün, hizmetlerin veya çalışma prosedürlerinin incelenmesinde genel kriterleri belirlemektedir. Bir kuruluş akreditasyon için değerlendirmeye alındığında ürettikleri ürün veya verdikleri hizmet açısından yetkinlikleri ve güvenilirlikleri, standartlarda belirtilen kriterleri karşılayıp karşılamadıkları incelenerek doğrulanmaktadır. Uygunluk değerlendirme kuruluşlarının ve ek gereklilik belgelerinin değerlendirmesini ve akreditasyonunu sağlayan kuruluşlar için genel şartlar (ILAC, ISO/IEC 17011:2004) kapsamında ILAC, akreditasyon kuruluşlarının uluslararası kuruluşu olarak faaliyet göstermektedir. Hemen hemen tüm akreditasyon değerlendirme kuruluşları ILAC'ın üyesidir. ILAC-MRA 2012 yılında *denetim organlarının akreditasyonunu*, 2019 yılında *yeterlilik testi sağlayıcılarının akreditasyonunu* ve 2020 yılında *referans malzeme üreticilerinin akreditasyonunun* genişletilmesi için çalışmalar yapmıştır. Bunun için CASCO (ISO Uygunluk Değerlendirme Komitesi) yetkinlik temelli standartların sayısını yukarıda belirtilen üç standart ile sınırlandırmıştır (About ILAC, ET: 15 Şubat 2020; Wilson-Wilde, 2018). Bu standartlardan adli bilimlerle ilgili kurumların ve olay yeri inceleme laboratuvarlarının

Kısım 2: Adli Genetikte Tarihsel Gelişim ve Güncel Uygulamalar

akreditasyonunda ISO/IEC 17025: 2017 standardı uygulanmaktadır. Ancak bu standart adli kuruluşların veya olay mahallinde örnek toplama ve test etme ile ilgili laboratuvarlara özel şartları belirlememektedir. Ürün ve hizmetlerin denetlenmesi / sertifikalandırılması gibi yönetim tabanlı kriterler ISO IEC 17025: 2017 standardı ile karşılanamadığı için, ISO/IEC 9001: 2015 Kalite yönetim sistemleri – Gereklilikler (ISO/IEC 9001:2015 Quality management systems – Requirements), ISO/IEC 1400, Çevre yönetim sistemleri - Kullanım kılavuzuna sahip gereksinimler (ISO/IEC 14001, Environmental management systems – Requirements with guidance for use) gibi standartlar kullanılmaktadır. Yönetim tabanlı standartların yeterlilik temelli standartlardan en önemli farkı kuruluşu bir bütün olarak değil, yalnız kuruluşu bir yönü ile ele alıp incelemesi ve tasdik etmesidir (Wilson-Wilde, 2018).

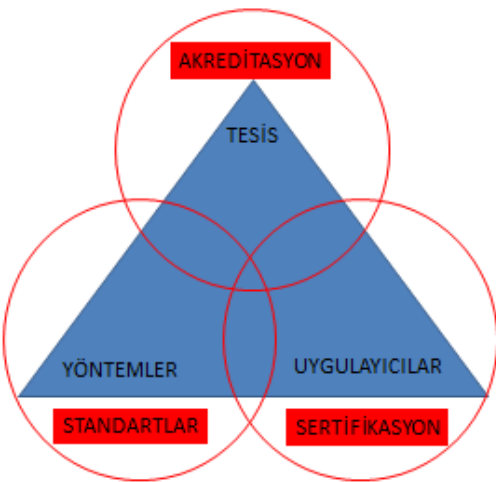
Adli alanda kullanılması için ILAC tarafından önerilen ve yukarıda verilen üç yeterlilik temelli standartlar adli disiplin alan ve tıbbi uygulamalar için özel bir rehberlik sağlamadığı için, 2007 yılında ILAC tarafından ILAC G19: 08/2014 Adli Bilim Sürecinde Modüller Sistem geliştirilmiştir. Bu sistem adli tesisi yönetim, eğitim ve genel yönlerini kapsayacak şekilde bütüncül bir yaklaşım içinde ele almaktadır. Bu sistem özellikle adli tıp sürecinde laboratuvarlar, olay yeri inceleme birimleri ve muayene ve teste katılan diğer kuruluşlar için saha tabanlı testler gibi faaliyetlerin çakıştığı ya da yetersiz talimatların verildiği alanlarda ortak rehberlik sağlayan ek bir belge olma niteliğindedir. Bunun haricinde ulusal akreditasyon kurumlarına ISO yeterlilik temelli standartların uygulanmasında rehberlik yapacak ek belgeler hazırlanarak, tesisin kalite güvence çerçevesi daha net olarak belirlenmiştir (Butler, 2010).

Kalite güvence çerçevesi (akreditasyon, sertifikasyon ve standartlar) ile tesis, yöntem ve uygulayıcılar arasındaki ilişki Şekil 2’de gösterilmektedir.

Daha öncede belirtildiği gibi bugün adli kuruluşlarda ISO/IEC 17025 - Test ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği için

Şekil 2

Tesis, yöntem ve uygulayıcılar ile akreditasyon, standartlar ve sertifikasyon arasındaki ilişki



Açıklama notu. Wilson-Wilde, L., 2018, The international development of forensic science standards - A review. Forensic Science International, 288, 1-9 kaynağından uyarlanmıştır.

Genel Şartlar kabul gören standarttır. Bu standardın 2005 versiyonu, 2005 yılından 2017 yılına kadar meydana gelen teknik gelişimi ve yeni açılan alanlardaki ihtiyaçları da kapsayacak şekilde gözden geçirilmiş ve ISO/IEC 17025:2017 olarak yayınlanmıştır. ISO/IEC 17025, kuruluşun büyüklüğünden bağımsız olarak tüm test ve kalibrasyon laboratuvar faaliyetleri için geçerlidir ve laboratuvarların yeterliliği, tarafsızlığı ve tutarlı çalışması için genel gereklilikleri içermektedir. Bu standardın 2017 versiyonu teknik değişiklikleri ve bilgisayar teknolojileri tekniklerindeki gelişmeleri, kalibrasyon ve testlerle ilişkili test, kalibrasyon ve örnekleme içerecek, ISO 9001 (Kalite Yönetimi), ISO 15189 (Tıbbi Laboratuvarların Kalitesi) ve ISO/IEC 17021-1 (Denetim Ve Belgelendirme Kuruluşları İçin Şartlar) gibi daha yeni standartlarla uyumlu olacak şekilde geliştirilmiştir. Standardın son versiyonu daha çok bilgisayar sistemleri, elektronik kayıtların tutulması, elektronik raporların üretilmesi gibi bilişim teknolojilerine ve riske dayalı düşünme kavramına odaklanmıştır (Tranchard, 2017).

Akreditasyonda Dokümantasyonun Önemi

Akreditasyonun felsefesi "Ya olduğun gibi görün ya da görüldüğün gibi ol" diyen Mevlana'nın felsefesi ile benzerdir. Bir kuruluşun bu felsefeye uygunluğunu ise uygulanan standardın kriterlerini esas alan denetimler belirler. Bu denetimler konusunda uzman kişilerden oluşan teknik bir ekip tarafından, bağımsız, tarafsız ve objektif bakış açısı ile yapılır. Denetimde kuruluşun beyanları son derece önemlidir. Bu beyanlar Kalite Yönetim Sistemi'ni (KYS) oluşturan dokümantasyon (politika beyanları, prosedürler, şartnameler, üretici talimatları, kalibrasyon çizelgeleri, grafikler, metinler, posterler, uyarılar, bildirimler, çizimler, planlar, vs.) içinde yer alır.

Kalite Politikası

Üst yönetimin üçüncü taraflara kalite ile ilgili resmi beyanı, yayınlanan kalite politikası ile yapılmaktadır.

Kalite El Kitabı (KEK)

Diğer önemli beyan ise kalite yönetim sisteminin anayasası sayılan KEK'dir. KEK kalite yönetim sisteminde yer alan tüm prosesleri ve proses etkileşimlerini ve harici tutulan faaliyetler varsa bunları gerekçeleriyle açıklamalarını içermelidir. Mutlaka KEK'in kapsamı net olacak şekilde belirlenmelidir. Kuruluşun beyanlarını içeren diğer önemli doküman ise bir etkinlik veya yöntemi yapılan işin kontrolünü tanımlayan prosedürlerdir.

Prosedür

Prosedür bir işin kim tarafından, nerede, nasıl yapılacağını, nasıl raporlanacağını, hangi kayıtların tutulacağını bildiren dokümandır. En önemli prosedürlerden biri de Standart İşletim Prosedürü'dür (Standard Operation Procedure, SOP).

Talimat ve Şemalar

İşin nasıl yapıldığı ile ilgili beyanlar talimatlarda yer alırken iş akışı ile ilgili beyanlar ise şemalarda yer alır. Talimatlar, kısa ve net cümlelerle, emir kipi kullanılarak yazılmalıdır.

Diğer Dokümanlar

Diğer dokümanları ise formlar, listeler, konum bildiren şemalar, raporlar olarak sıralayabiliriz. Formlar, muhataptan öğrenilmesi hedeflenen bilgilerin eksiksiz ve tereddütlere yer bırakmayacak

bir şekilde sağlanması amacı ile belli bir standartta hazırlanan belgelerdir. Listeler ise konularına göre veya alfabetik olarak alt alta yazılmış şeylerin bütünüdür. Kuruluşun farklı bölümleri ve birbiri ile bağlantıları konum bildiren şemalar ile gösterilir. Bir kuruluşun ürettiği ürün veya verdiği hizmetin kalitesi müşteri memnuniyeti anketlerine yansır. Bu nedenle bunlar da önemli dokümanlardır. Diğer bir doküman ise kullanılan cihazlar ile ilgili belgelerdir. Örneğin kalibrasyon belgeleri, kullanım prosedürleri, bakım-onarım belgeleri vb. Personel ile ilgili dokümanlar; eğitim sertifikaları, diplomalar vb. ise liyakat sahibi, eğitimli personelin varlığı ve eğitimin sürekliliğinin sağlandığını göstermesi açısından önemlidir. Raporlar ise durum tespitleri hakkında bilgi veren önemli dokümanlardır. Kullanılan yöntemin geçerliliği ve güveni ise validasyon ile sağlanır ve sonuçlar validasyon raporu ile belgelenir.

Validasyon (Geçerli Kılma), Verifikasyon (Doğrulama) ve Kalibrasyon

Bir kalite sistemi içinde genellikle birbirine karıştırılan üç kavram validasyon, verifikasyon ve kalibrasyondur. Validasyon ISO/IEC 17025:2017 standardında “belirlenen gerekliliklerin amaçlanan kullanım için yeterli olduğu durumda yapılan doğrulama” olarak tanımlanmaktadır (ISO/IEC 17025:2017, 2017). Bir validasyon raporu, ölçüm prosedürü, sistem, cihaz, yöntem ve kullanılan yazılımın; belirlenen amaç ve koşullara uygunluğunun tarafsız olarak test edilip, sağlanabilir ve tekrarlanabilir olduğunu yazılı delillerle onaylandığını gösteren önemli bir dokümandır (Butler, 2012). Verifikasyon ise ISO/IEC 17025:2017 standardında “belirli bir ögenin belirlenmiş gereklilikleri karşıladığına dair nesnel kanıt sağlanması” şeklinde tanımlanmaktadır (ISO/IEC 17025:2017, 2017). Verifikasyon dendiğinde ise bir işlem, ölçüm prosedürü, malzeme, bileşik, ölçüm sistemi gibi öğelerin, bir üreticinin beyan ettiği teknik özellikler gibi önceden kabul edilmiş çalışma koşullarını karşıladığı anlaşılmalıdır. Kalibrasyon ise doğruluğu bilinen bir ölçüm standardı veya sistemi ile belirli koşullar altında test veya ölçüm aletinin doğru ölçtüğünün belirlenmesi için yapılan işlemler bütünüdür. Kalibrasyon sonucu bir doğrulama yapılmaktadır ve kalibrasyon belgesi ile de bu dokümanite edilir. (Kalibrasyon Nedir?, ET: 10 Şubat 2021).

Bir laboratuvarında kullanılan tüm cihazların uygun aralıklar ile mutlaka kalibrasyonlarının yapılması gereklidir. Ancak kullanılan her yöntem için mutlaka validasyon yapmak gerekmez. Ne zaman validasyon ne zaman verifikasyon yapılacağına mevcut koşullar değerlendirilerek karar verilir. Bunları üç madde halinde özetlemek gerekirse;

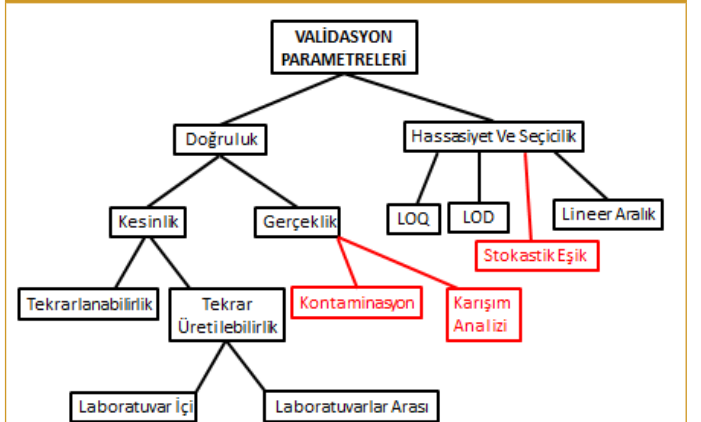
- ISO, EN gibi uluslararası, TSE, ASTM, EPA gibi bölgesel veya ulusal teknik kuruluşlar tarafından ya da ilgili bilimsel yayınlarda yayımlanmış bir yöntem, hazır kit veya donanım üreticisi tarafından belirtilen bir yöntem söz konusu ise ve bu metotlar laboratuvarın ihtiyaç duyduğu geçerli kılma performans parametreleri hakkında yeterli bilgi içeriyorsa verifikasyon, içermiyorsa validasyon çalışması yapmak gerekir.
- Şayet laboratuvar tarafından geliştirilmiş bir yöntem söz konusu ise mutlaka validasyon yapmak gerekir.
- Önceden valide edilmiş bir yöntemde modifikasyonlar yapılmış ise yapılan değişikliklerin ölçüm sonuçlarına etkisini belirlemek için verifikasyon yapılmalıdır. Ancak verifikasyon

verileri validasyon ile uyumlu değil ise validasyon çalışması yapılmalıdır (Altunçul, 2021b). Validasyon çalışmasının içereceği parametreler kullanılan yöntemin uygulama amaçlarına göre belirlenir. Ancak genel olarak doğruluk (accuracy), tekrarlanabilirlik (repeatability), tekrar üretilebilirlik (reproducibility), hassasiyet ve seçicilik (sensitivity/selectivity), tespit sınırı (Limit Of Detection, LOD), tayin sınırı (Limit Of Quantification, LOQ), lineerlik (Linearity) validasyon parametreleri olarak kabul edilmektedir. Ancak kullanılacak yöntemlere göre farklı parametreler de eklenebilmektedir. Örneğin adli DNA çalışmalarında genel parametrelerin yanı sıra kontaminasyon, karışım analizi, stokastik eşik gibi parametrelerin de çalışılması gereklidir (Şekil 3).

Doğruluk gerçek değer ile ölçülen arasındaki yakınlığını, diğer bir deyişle ölçüm sapmasını ifade eder. Sapma laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik koşulları altında, elde edilen deney/test sonuçlarının ortalamasının sertifikalı bir referans değer arasındaki fark hesaplanarak belirlenir. Şekil 3'te görüldüğü gibi doğruluk, kesinlik ve gerçeklik olmak üzere iki kısımdan oluşur (ENFSI, 2014). **Kesinlik** ortalama etrafındaki dağılımı, **gerçeklik** ise ortalamanın gerçek değer veya kabul edilen referans değer arasındaki yakınlık derecesini ifade etmektedir (Çoruh vd., 2019). Çalışmayı aynı veya farklı analistin yapması, zaman aralığının kısa veya uzun olması, ölçümlerde aynı veya farklı ekipmanın kullanılması, kullanılan ekipmana ölçümler arasında kalibrasyon yapıp yapılmaması kesinlik çalışmasının sonucu üzerinde etkili olmaktadır. Bir laboratuvarında kesinliği belirlemek için genel olarak tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik parametreleri çalışılır. Tekrar üretilebilirliği ise, ara kesinlik olarak da ifade edilen laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik ve laboratuvarlar arası tekrar üretilebilirlik olarak iki başlık altında incelemek mümkündür. Kesinlik çalışması için en faydalı veriler, aynı laboratuvarında farklı analistler tarafından, uzun zaman aralığında yapılan laboratuvar içi tekrarlanabilirlik çalışmasından elde edilmektedir (Yılmaz, 2013). Kesinlik, kantitatif analizlerde genellikle rastgele hatayı gösteren standart sapma (standard deviation, SD,s), bağıl standart sapma, rölatif standart

Şekil 3

Genel validasyon parametreleri ve DNA analizleri için gerekli olan ek parametreler



Açıklama notu. Siyah renk genel validasyon parametrelerini, kırmızı ile belirtilenler ise DNA analizleri için genel parametrelere ek olarak çalışılması gereken parametreleri göstermektedir.

sapma (RSD), değişim katsayısı (Coefficient of Variation, % CV), tekrarlanabilirlik sınırı (r), ara kesinlik sınırı (R) olarak ifade edilirken, kalitatif analizlerde yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları ile belirtilir. Kesinlik çalışması yapılırken rutin çalışmalarda sonuçlara etki eden tüm faktörlerin (kişi, cihaz, mekân, sarf malzeme, zaman, metodun kapsadığı matrisler ve ölçüm aralığı vb.) yansıtılması ve farklı konsantrasyonlarda (yüksek, orta, düşük) yapılması gereklidir (Çoruh vd, 2019; ENFSI, 2014; TÜRKAK, 2015).

Kesinliğin diğer bir parametresi olan tekrarlanabilirlik kısa zaman aralığında, aynı laboratuvar, aynı koşullar altında, aynı analist tarafından, aynı cihaz, yöntem, materyal, aynı veya benzer matrisler kullanılarak elde edilen ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Kalitatif analizlerde tekrarlanabilirlik en az altı tekrar içeren çalışma sonuçları kullanılarak standart sapma, rölatif standart sapma ya da % rölatif standart sapma olarak ifade edilir ve ANOVA veya Excel gibi Office programları kullanılarak hesaplanabilir. Sapmanın varlığı ise Cochran test, Grubb's test, Dixon's Q test gibi istatistiksel testlerle belirlenebilir. Kalitatif analiz sonuçları var/yok, tespit edildi/edilmedi şeklinde verilir ve "yanlış pozitif" ve "yanlış negatif" olarak hesaplanır ("Kimyasal Ve Fiziksel Analizlerde Metot Vali dasyonu/Veri fi kasyonu Rehberi," 2018; Yılmaz, 2013). Bu hesaplamalar için gerekli formüller TURKLAB Rehber 01 Rev. 2'den ulaşılabilir.

Kesinlik ve Alt Parametreleri

Adli kuruluşlarda yaygın olarak STR analizleri kullanılır. STR analizi için bir kesinlik çalışması yapılacaksa; en az 5 yürütme yapılır. Örneklerin alel büyüklükleri genotip tayini için kullanılan ve alel büyüklükleri bilinen alelik ladderda karşılık gelen alel büyüklüğü ile karşılaştırılır ve tüm örneklerin alel büyüklüklerinin standart sapması hesaplanır ve tüm lokuslar için standart sapmanın ortalaması alınır. Bu değer ± 0.5 bç (baz çifti) dağılımı içinde yer alıyor ise kabul edilebilir. Elde edilen değer kabul edilebilir sınırlar içinde değil ise genotip tayini hatalı yapılabileceğinden, sonuca etki eden sıcaklık dalgalanmaları gibi laboratuvar koşullarının gözden geçirilmesi ve çalışmanın tekrarlanması gerekir (Butler, 2012; Promega, 2013).

Tekrar üretilebilirlik Şekil 3'te de görüldüğü gibi laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir (Eurachem, 2018). Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik aynı laboratuvar, aynı cihaz ve aynı analist ile belli bir zaman aralığında yapılan ölçümlerin hassasiyetinin hesaplanmasıdır. Tekrar sayısı ile ilgili farklı görüşler bulunmaktadır. Eurachem rehberinde en az 10, ISO 5725-3 standardında en az 15 tekrar yapılması önerilmektedir. Adli genetik laboratuvarlarında ise en az 6 tekrar yeterli görülmektedir (Eurachem, 2018; Yılmaz, 2013). Her örnek için belli konsantrasyonda elde edilen verilerin standart sapması (s_r), % rölatif standart sapması (%RSD_r) ve tekrar üretilebilirlik koşulları altında gerçekleştirilen (%95 güven aralığında) tekrar üretilebilirlik limiti (iki deney arasında olabilecek maksimum fark) hesaplanmalıdır. Tekrar üretilebilirlik standart sapması, tekrarlanabilirlik standart sapmasından her zaman büyük olmalıdır. Hesaplamalar ve sonuçların değerlendirilmesi ile ilgili detaylı bilgiye T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının Nisan 2018'de yayınlanan Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberinden ulaşılabilir (Kimyasal Ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi, 2018).

En yüksek rastlantısal değişkenliği veren Laboratuvarlar arası tekrar üretilebilirlik, uzun zaman aralığında, farklı laboratuvar, farklı cihaz ve farklı analist tarafından aynı veya farklı yöntem ile aynı materyal kullanılarak yapılan bağımsız test sonuçlarının birbirine yakınlığının gösterilmesidir (Yücel, 2014). Laboratuvarlar arası üretilebilirlik çalışmasının amacı analistin yeterliliğinin belirlenmesidir. Bu nedenle, analistin laboratuvarın onaylı standart çalışma prosedürünü kullanarak uyumlu bir sonuç elde etme yeteneğini, yeterlilik testleriyle de kontrol etmek diğer bir alternatif yöntemdir. Özellikle *kör harici (dış) yeterlilik testi* (sonuçları test sağlayıcısı tarafından bilinen ancak analist tarafından bilinmeyen bir veya daha fazla örnekte elde edilen verilerin değerlendirilmesi) ile bir laboratuvarın çalışmalarını *izlemek*, en etkili yöntemlerden biridir. Bu pahalı, uygulaması zor ve zaman alan bir yöntemdir (Butler, 2012; ENFSI DNA Working Group, 2017). Ancak bir laboratuvarın kalite güvence standardı açısından Alman DNA Profillendirme Grubu (German DNA Profiling Group, GEDNAP) gibi dış kör testi için uygun materyal hazırlayan ve sonuçları değerlendiren kuruluşların uyguladığı yeterlilik testlerinde başarılı olup, sertifika almak çok değerli bir göstergedir. Tekrar üretilebilirlik parametresini yerine getirmek ve personel yeterliliği göstermek açısından Laboratuvarlar Arası Karşılaştırma (LAK) da diğer uygulanabilecek pratik bir yöntemdir. Bu çalışmada laboratuvarlar, birbirlerine gönderdikleri bir örneğin farklı laboratuvarlarda, farklı analistler tarafından, farklı veya benzer cihazlarla yapılan çalışmanın verilerini kullanarak değerlendirme yapmaktadırlar.

Adli biyolojinin önemli konularından genetik kimliklendirme, olgu çalışmaları, olay yeri örneklerinin DNA veri tabanındaki örnek profilleriyle karşılaştırılması veya laboratuvarlar arası veri alışverişi sağlanması için bir eşleşme olması gerekir. Bu karşılaştırmaların sağlıklı bir zeminde yapılabilmesi söz konusu tüm laboratuvarların aynı standartta çalışmalarını gerektirir. Örneğin; STR lokuslarının çalışmalarında olduğu gibi alelik ladder kullanılması yani bir standart kullanılması laboratuvarlar arasında tutarlılığı büyük ölçüde sağlamaktadır (Butler, 2012).

Bir laboratuvarın doğru ölçüm yaptığının en önemli göstergesi ölçüm belirsizliğidir. Ölçüm belirsizliği kullanılan matrisin, araç ve gereçlerin, kullanılan malzemenin özelliklerinin, çevresel koşulların, çalışılan numunenin tüm numuneyi temsil kabiliyetlerindeki sınırlılık ve doğrudan gerçek değer ölçülemediği gibi değişkenlerin etkisini ifade etmektedir (Çoruh vd., 2019). Ölçüm belirsizliği, gerçek değer içinde olduğu bir doğruluk aralığını tanımlar, istatistiksel olarak değerlendirilir ve bir güven derecesini gösterir. Bias veya geri kazanım bir metodun ölçüm belirsizliğinin temel bileşenidir. Eğer gerçeklik çalışmasında referans materyal kullanılmış ise *bias*, standart madde kullanılmış ise *geri kazanım* olarak ifade edilir (*Ölçüm Belirsizliği Nedir?*, ET: 10 Aralık 2019; TÜRKAK, 2015).

Hassasiyet/Duyarlılık ve Seçicilik/Özgüllük (Selectivity and Sensivity)

Analiz sonuçlarına güvenirliliği sağlamak için hem hassasiyet/duyarlılık hem de seçicilik/özgüllük belirlenmelidir. Hassasiyet/duyarlılık analiz edilecek örneklerde bir maddenin konsantrasyon aralığını, özgüllük ise test edilen bir maddenin analiz materyali içinde bulunması durumunda testin olumlu sonuç vereceğini, aksi durumunda da olumsuz sonucun ne ölçüde olabileceğini gösterir.

Tespit sınırı ya da analiz eşiği (Limit of Detection, LOD), tayin sınırı ya da duyarlılık (Limit of Quantification, LOQ) ve lineer aralık hassasiyet/duyarlılık ve seçicilik/özgüllük çalışmalarının önemli parametreleridir. DNA çalışmalarında bunlara stokastik eşik analizini de eklemek gerekir (Şekil 3).

LOD kalitatif olarak tespit edilebilen en düşük madde konsantrasyonudur. Sonuçların güvenilirliği için özellikle düşük konsantrasyonlarla çalışılırsa mutlaka yöntemin ve cihazın tayin edebileceği en düşük konsantrasyon yani LOD belirlenmelidir (Yücel, 2014). Metot ile cihazın algılama sınırının birbirinden farklı olduğu unutulmamalıdır. LOD belirlenmesinde; ortalama 10 tekrarlı negatif kontrol çalışmasından elde edilen veriler kullanılarak standart sapma hesaplanabilir. Standart sapmanın üç katı LOD olarak kabul edilir (Magnusson ve Örnemark, 2014).

Duyarlılığın diğer bir önemli parametresi ise LOQ olarak ifade edilen yöntem performansı açısından kabul edilebilir en düşük derişim miktarı, diğer bir deyişle ölçüm sınırının alt sınırıdır. Hiçbir zaman LOQ, LOD'den daha düşük olamaz. LOQ'yi belirlerken LOD için hesaplanan standart sapma kullanılır ve bu standart sapmanın on katı LOQ olarak kabul edilir (ENFSI, 2014; Magnusson ve Örnemark, 2014; Yücel, 2014). Bir cihazda analiz sonuçları üzerinde etki yapabilen parça değişiklikleri nedeniyle (lazer değişikliği gibi) LOD ve LOQ değerleri değişebilir. Bu nedenle LOD ve LOQ değerlerinin belirli aralıklarla kontrol edilmesi önerilmektedir (Çoruh vd., 2019).

Lineer aralık (dinamik alan, çalışma aralığı) güvenilir olan ve raporlanabilen en küçük ve en yüksek test sonuçları arasında, lineer artış görülen alanı tanımlamaktadır. Lineer alan, kör örnek, konsantrasyonu bilinen örnek veya referans örnekler kullanılarak, en az üç farklı derişimde ve cihazda en az iki okuma yapılarak belirlenmelidir.

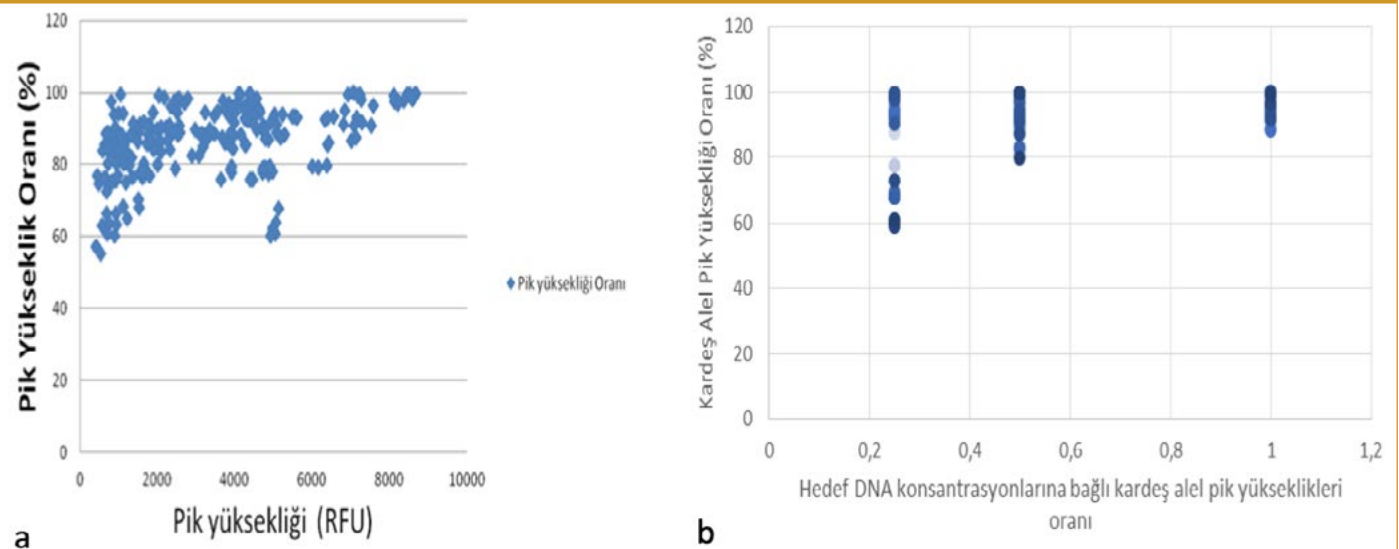
STR analizi yapılan bir genetik analizör cihazında LOD ve LOQ belirlemek için, cihazın kullanım ve yazılım talimatına uygun olacak şekilde 10 negatif örnek yürütülür, analiz edilir ve en büyük pik yükseklik RFU (Rölatif Floresan Unit) değerleri saptanır. Bunların ortalaması ve standart sapması hesaplanır. Standart sapmanın üç katı analiz eşik değeri (LOD) olarak, on katı ise LOQ olarak kabul edilir.

DNA Analizlerinde Stokastik Eşik, Karışım Analiz ve Kontaminasyon Çalışması

Daha öncede belirtildiği gibi bir DNA analiz metodunun validasyonu söz konusu ise (Şekil 3'te kırmızı olarak gösterilen) genel validasyon parametreleri dışında stokastik eşik, karışım örnek analizi ve kontaminasyon çalışması da yapılmalıdır. Özellikle düşük konsantrasyonda DNA içeren örnekler PCR tekniği ile çoğaltılırken, heterozigot alellerden (kardeş aleller) biri diğerine göre daha az miktarda çoğalabilir ya da hiç çoğalmayabilir. Bu nedenle elde edilen elektroforegramda heterozigot alel pik yükseklikleri arasında önemli düzeyde fark görülebilir veya bir alel hiç çoğalmadığı için görülmeyebilir ve heterozigot bir lokus homozigot olarak değerlendirilebilir. Hatalı değerlendirmeleri önlemek, özellikle karışım örneklerinde minör katılımcının alelleriyle veya stutter piklerle ortak alel paylaşımının olduğu durumlarda mutlaka bir lokustaki kardeş aleller arasında dengesizliklerin görülmeye başlandığı pik yüksekliği ya da DNA konsantrasyonu (stokastik eşik) belirlenmelidir. Kullanılan genetik analizör cihazlarının sahip olduğu duyarlılık ve enjeksiyon koşullarından bağımsız olan DNA konsantrasyonu temel alınarak stokastik eşik belirlenmesi önerilmektedir (SWGDM, 2017). Stokastik eşik pik denge analizi ile belirlenecek ise hem bir lokus içindeki heterozigot alellerin hem de tüm lokustar arasındaki alellerin pik dengesi kontrol edilir. Kaliteli bir örnekte heterozigot pik denge oranı \rightarrow %60 olarak kabul edilir (ENFSI DNA Working Group, 2010).

Şekil 4

Stokastik eşik belirlenmesi; a) Kardeş alel pik yükseklikleri oranının pik yüksekliği ile karşılaştırılması b) Kardeş alel pik yükseklikleri oranının DNA konsantrasyonu ile karşılaştırılması



Açıklama notu. Zorlu, T., 2015, Karışım Örneklerde STR Analizinin LR (Likelihood Ratio) Kullanılarak Yorumlanması. [Doktora Tezi], İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı & Duvenci, A., 2020, İnsersiyon/delesyon (InDel) lokuslarına ait kimliklendirme panelinin geliştirilmesi ve validasyonu. [Doktora Tezi] İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı kaynaklarından alınmıştır.

Stokastik eşik değeri hesaplanması için daha önce duyarlılık için kullanılan kitin önerdiği farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerin sonuçları kullanılır. Daha öncede belirtildiği gibi iki şekilde stokastik eşik belirlenebilir.

- Pik denge analizi ile stokastik eşik belirlenmesi için tüm heterozigot lokuslardaki alel pik yüksekliklerinin bir birine oranını tespit edilir. Bunun için küçük pik, büyük pik yüksekliğine bölünür ve 100 ile çarpılır. Daha sonra her konsantrasyon için örneklerin alel pik yükseklikleri oranlarının ortalaması ve standart sapması hesaplanır. Standart sapmanın üç katı hesaplanan ortalamadan çıkarılarak her konsantrasyon için bir eşik değer elde edilir. Çalışılan her örneğin her aleli için y ekseninde pik yükseklik oranı, x ekseninde ise eşik değer elde edilmesinde kullanılan küçük pik yükseklikleri yer alacak şekilde bir grafik elde edilir.
- Pik yükseklikleri enjeksiyon koşulları ve kullanılan genetik analizör cihazın sahip olduğu duyarlılıktan etkilenmektedir. Bu etkilerden bağımsız olarak bir stokastik eşik belirlenmesi mümkündür. Bunun için ayrı bir çalışma yapmaya gerek yoktur. Yukarıda yapılan çalışma sonucunda elde edilen kardeş alel pik yükseklikleri oranlarına karşı DNA konsantrasyonları kullanılarak yeni bir grafik çizilir ve stokastik eşik değeri belirlenir.

Şekil 4'teki grafik incelendiğinde pik yüksekliğinin DNA konsantrasyonuna bağlı olarak düştüğünde kardeş aleller arasındaki pik yükseklik oranlarının da düştüğü görülmektedir.

Kriminal laboratuvarlara gönderilen materyaller zaman zaman iki, üç, bazen daha fazla kişiye ait DNA'ların karışımı şeklinde olmaktadır. Karışım yorumlama kılavuzları oluşturmak, kontaminasyonu değerlendirmek, doğru ve güvenilir profil belirlenmesi için validasyon çalışmalarında karışım analizlerinin de yapılması gerekmektedir. Bunun için bir dizi oranı bilinen karışım örneği hazırlanır ve en az üç tekrar yapılarak analiz edilir. Promega kılavuzunda 19:1, 9:1, 3:1, 1:1, 1:3, 1:9 ve 1:19 oranları kullanılarak en az iki karışım seti hazırlanmasını ve reaksiyon başına toplam DNA miktarının duyarlılık çalışmalarında belirlenen optimum hedef miktar olması önerilmektedir (Promega, 2013). Hazırlanan karışımların elektroforezi yapıldıktan sonra elde edilen elektroforegramlar incelenir ve karışım örneği içinde bulunan tüm genotiplerin tam olarak elde edildiği karışım oranları belirlenir, beklenen ve gözlenen alel sayıları karşılaştırılır ve hangi hacimde minör ve majör katılımcıların tam profilinin elde edildiği belirlenir (ENFSI DNA Working Group, 2010).

Bir genetik laboratuvarı için en büyük risklerden biri kontaminasyondur. Analiz edilecek örneğe olay yerinde, örneğin paketlenmesi ve transferi sırasında veya laboratuvar çalışması sırasında farklı bir kaynaktan DNA'nın bulaşmasıdır. Zira DNA'nın çoğaltılması için kullanılan PCR tekniği ve DNA profillemeye yöntemleri aşırı hassas olduğu için kontaminasyon endişe verici bir unsur oluşturur. Bu nedenle laboratuvar kontaminasyonunu kontrol altına almak için prosedürler oluşturulmakta ve personel eğitilmektedir. Kontaminasyon her zaman önlenemeye bilir. Bu nedenle olması durumunda fark edilmesi, tekrarlanmaması için gerekli önlemlerin alınması ve çalışmanın tekrarlanarak doğru profillerin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Validasyon çalışmasında da her aşamada kontaminasyon kontrolleri yapılmalı ve belgelenmelidir. Kontaminasyonun kontrolü için DNA analizlerinin

tüm aşamalarında negatif ve pozitif kontroller kullanılır. Pozitif kontrolde beklenilenin dışında, negatif kontrolde ise bir veya daha fazla alel tespit edilmesi kontaminasyon göstergesidir (Forensic Science Regulator, 2020; Promega, 2013).

Bir validasyon çalışması tamamlandığında sonuçları validasyon raporu olarak kayıt altına alınır. Raporunda validasyonun amacı, kapsamı açık ve anlaşılır bir şekilde belirtilmelidir. Çalışmada kullanılan ifadelerin ne anlama geldiğini açıklayan tanımlar raporda yer almalıdır. Ayrıca kullanıcı gereksinimleri (personel, eğitim), yerleşim ve çevre gereksinimleri, kullanılan cihaz ve malzemeler, kimyasallar, etik ve hukuki kurallar, sorumlular belirtilmelidir. Validasyon raporunda kullanılan örneklerin tanımlanması, yapılan çalışmaların nasıl yapıldığı detaylı bir şekilde yer almalı, uygulanan yöntem performansı (validasyon parametreleri ve elde edilen sonuçlar), amaca uygunluğun sağlanıp sağlanmadığı belirtilmelidir. Raporunda çalışma esnasında kullanılan talimat ve dokümanların, kullanılan kaynakların listesi de yer almalıdır. Raporun sonunda mutlaka raporu hazırlayan personelin görevleri ve ıslak imzaları bulunmalıdır.

Kimler validasyon çalışmasına katılmalı?

Esasen metod validasyonu hem metodun hem de çalışan personelin yeterliliğini gösteren önemli bir parametredir. Bu nedenle bir laboratuvardaki söz konusu yöntemi uygulayacak ya da metod geliştirme çalışmalarını yapan tüm personelin bu çalışmaya katılması gerekir. Ancak personel sayısının çok olması, sonradan çalışmaya katılan analistlerin bulunması gibi sebepler nedeni ile bunu her zaman yapmak mümkün olamamaktadır. Ayrıca tüm personelin bu çalışmaya katılımı hem validasyon sürecini hem de maliyeti artırmaktadır. Bu nedenle sınırlı sayıda personel ile yapılan validasyon çalışmasının ardından diğer personel veya sonradan dâhil edilen analistlerin yöntemi uygulama performansları çalışmaya katılanlar ile karşılaştırmalı analizler yapılarak teyit edilmelidir (Altunçul, 2021b).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

About ILAC. (ET: 15 Şubat 2020). *ILAC*. <https://ilac.org/about-ilac/>
Altunçul, H. (2021a). Akreditasyon. In Gönül Filoğlu, Hawa Altunçul, Özlem Bülbül (Ed.), *Adli Genetik ve Genetik Kimliklendirme* (1. Baskı, pp. 397-418). Seckin Yayınevi.

Altunçul, H. (2021b). Validasyon (Geçerli Kılma) Ve Verifikasyon (Doğrulama). In Gönül Filoğlu, Hawa Altunçul, Özlem Bülbül (Ed.), *Adli Genetik ve Genetik Kimliklendirme* (1. Baskı, pp. 419-440). Seckin Yayınevi.

Butler, J. M. (2010). *Fundamentals of Forensic DNA Typing*. Elsevier.

[Crossref]

Butler, J. M. (2012). Quality Assurance and Validation. In *Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology* (pp. 167-211). Elsevier Inc.

[Crossref]

Certification. [ET: 15 Şubat 2020]. ISO. <https://www.iso.org/certification.html>

Çoruh, B. T., Yılmaz, A., Demirtaş, A., vd. (2019). *Metodun Geçerli Kılınması Ve Doğrulanması İçin Bilgilendirme Kılavuzu*. TÜRKAK Türk Akreditasyon Kurumu.

Decorte. R. (2013). Accreditation in Forensic DNA Analysis. In *Encyclopedia of Forensic Sciences* (pp. 227-232). [Crossref]

Developing Standards. [ET: 6 Şubat 2020]. *International Organization for Standardization* (ISO). <https://www.iso.org/developing-standards.html>

Doyle, S. (2019a). Historical Perspective. In *Quality Management in Forensic Science* (pp. 155-219). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805416-1.00004-9>

Doyle, S. (2019b). Organizations Exercising Responsibility for Quality Management in Forensic Science. In *Quality Management in Forensic Science*. [Crossref]

Duvenç, A. (2020). *İnsersiyon/delesyon (InDel) lokuslarına ait kimliklendirme panelinin geliştirilmesi ve validasyonu*. [Doktora Tezi] İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı.

ENFSI DNA Working Group. (2010). *Recommended Minimum Criteria for the Validation of Various Aspects of the DNA Profiling Process*. 001, 1-11.

ENFSI DNA Working Group. (2017). *Best Practice Manual for the internal validation of probabilistic software to undertake DNA mixture interpretation* (Issue 001).

ENFSI. (2014). Guidelines for the single laboratory Validation of Instrumental and Human Based Methods in Forensic Science. *European Network of Forensic Science Institutes*, 001, 1-31. <http://enfsi.eu/wp-content/uploads/2017/06/Guidance-QCC-VAL-002.pdf>http://enfsi.eu/wp-content/uploads/2017/06/Guidelines-for-the-single-laboratory-Validation-of-Instrumental-and-Human-Based-Methods-in-Forensic-Science_2014-version-2.0.pdf

Eurachem. (2018). Analitik Metotların Amaca Uygunluğu Metodun Geçerli Kılınması ve İlgili Konular için Laboratuvar Kılavuzu. In U. Örnemark (Ed.), *Eurachem Guide* (2. Baskı). Eurachem.

Forensic Science Regulator. (2020). *Forensic Science Regulator Guidance: The Control and Avoidance of Contamination in Laboratory Activities involving DNA Evidence Recovery Analysis*. FSR-G-208(2).

Gumpinger, J., Seifi, M., Shamsaei, N., vd. (2021). Recent progress on global standardization. *Fundamentals of Laser Powder Bed Fusion of Metals*, 563-582. [Crossref]

IAF [ET: 15 Şubat 2020]. IAF (International Accreditation Forum). IAF <https://www.iaf.nu/articles/About/2>

International Credentials. [ET: 15 Şubat 2021]. IAS (The International Accreditation Service) <https://www.iasonline.org/about-ias>.

ISO 18385:2016. (2016). Minimizing the risk of human DNA contamination in products used to collect, store and analyze biological material for forensic purposes - Requirements. In ISO (1st ed.). Technical Committee : ISO/TC 272 *Forensic sciences*. <https://www.iso.org/standard/62341.html>

ISO 21043-1:2018(En) *Forensic sciences*. [ET: 20 Şubat 2020]. ISO. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21043:-1:ed-1:v1:en>

ISO/IEC 17025:2017. (2017). General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories. In ISO/CASCO (3rd ed.). <https://www.iso.org/news/ref2212.html>

ISO/IEC 19794-14:2013. (2013). ISO/IEC 19794-14:2013(en) *Information technology - Biometric data interchange formats - Part 14: DNA data*. ISO/IEC. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:19794:-14:ed-1:v1:en>

ISO-CASCO. (2016). Competency or management system based standards ?Frequently Asked Questions. CASCO. <https://www.iso.org/files/live/sites/isoorg/files/archive/pdf/en/casco-faq.pdf>

Kalibrasyon Nedir? [ET:10 Şubat 2021]. Biyomedikal Kalibrasyon ve Araştırma Merkazi (BİYOKAM). <http://biyokam.gazi.edu.tr/posts/view/title/kalibrasyon-nedir%3F-62218>

Kimyasal Ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi. (2018). T.C. Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_

[Kont/Kimyasal_Fiziksel_Val_Ver_Rehberi.pdf](#)

Magnusson B.ve Örnemark U. (eds.). (2014). The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. In *Eurachem Guide* (2nd.). www.eurachem.org

Nogel, M., Czebe, A., Kovács, G., vd. (2019). A work in progress - accreditation of forensic DNA laboratories as a part of the, European Forensic Science Area 2020 (EFSA 2020) concept. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 7(1), 836-837. [Crossref]

Official Journal of the European Union L 218, 51 (2008). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2008:218:FULL&from=lt>

Ölçüm Belirsizliği Nedir? [ET: 10 Aralık 2019]. Medibim. <https://www.medibim.com.tr/TR/literatur/olcum-belirsizligi-nedir/#.YNWpD-gzblV>

Palmbach T.M. (2013). Education and Accreditation in Forensic Science,. In *Encyclopedia of Forensic Sciences* (pp. 171-174). [Crossref]

Promega. (2013). Internal Validation Guide of Autosomal STR Systems for Forensic Laboratories. <https://worldwide.promega.com/resources/pubhub/applications-notes/ge053-validation-of-str-systems-reference-manual/>

Ricci, U., De Sanzo, C., Carboni, I., vd. (2013). Accreditation of a forensic genetics laboratory in Italy. In *Forensic Science International: Genetics Supplement Series 4* (1) e294-e295. [Crossref]

Role of APAC. [ET: 15 Şubat 2021]. APAC (Asia Pacific Accreditation Cooperation). <https://www.apac-accreditation.org/about/>

Ross, A. ve Davey, A. (2016). Accreditation: Forensic Specialties. In *Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine* (Second Edi, pp. 17-22). [Crossref]

SWGDM. (2017). Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories. In *Swgdam*. https://1ecb9588-ea6f-4feb-971a-73265dbf079c.filesusr.com/ugd/4344b0_50e2749756a242528e-6285a5bb478f4c.pdf

Tranchard, S. (2017). ISO/IEC 17025 Moves To Final Stage Of Revision. ISO. <https://www.iso.org/news/ref2212.html>

TS EN ISO 10002 *Müşteri Memnuniyeti Ve Şikâyet Yönetim Sistemi Temel Eğitimi Kitapçığı*. (2010). Türk Standardları Enstitüsü Personel Ve Sistem Belgelendirme Merkezi Başkanlığı.

TS EN ISO 9000 *Kalite Yönetim Sistemi Dökümantasyon Eğitimi Kitapçığı*. (2010). Türk Standardları Enstitüsü Personel Ve Sistem Belgelendirme Merkezi Başkanlığı.

TS EN ISO 9000 *Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitimi Kitapçığı*. (2010). Türk Standardları Enstitüsü Personel Ve Sistem Belgelendirme Merkezi Başkanlığı.

TS EN ISO 9000 *Proseslerin Yönetimi Etkileşimi Ve İyileştirme Teknikleri Eğitimi Kitapçığı*. (2010). Türk Standardları Enstitüsü Personel Ve Sistem Belgelendirme Merkezi Başkanlığı.

TÜRKAK. (2015). Deney/Analiz Sonuçlarındaki Ölçüm Belirsizliği Tahmini İçin TÜRKAK Prensipleri. R20.02(Revizyon No:01).

Uygunluk Değerlendirme Kuruluşlarının Akreditasyonu Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazete Sayı:30229, 03 Kasım 2017. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/11/20171103-5.htm>

What is a standard. [ET: 2 Ocak 2020]. Organization for Standardization (ISO). www.iso.org/standards.html

Wilson-Wilde, L. (2018). The international development of forensic science standards - A review. *Forensic Science International: Synergy*, 2, 187-193. [Crossref]

Yılmaz, A. (2013). Kimyasal Analizlerde Metot Validasyonu ve Verifikasyon. *TURKLAB Kalibrasyon Ve Deney Laboratuvarları Derneği*, 51. http://turklab.org/tr/TURKLAB_Rehber_01_Rev.2.pdf

Yücel, D. (2014). Pratik metot validasyonu ve verifikasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi*. <http://www.turkbiyokimyaderneği.org.tr/upload/48/Dosyalar/tmp/Metot.Validasyonu.pdf>

Zhai, W., Zhang, N., & Hua, F. (2020). The development of forensic science standards in China. *Forensic Science International: Synergy*, 2, 187-193. [Crossref]

Zorlu, T. (2015). *Karışık Örneklerde STR Analizinin LR (Likelihood Ratio) Kullanılarak Yorumlanması*. [Doktora Tezi], İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı.

BÖLÜM 7

ADLİ GENETİKTE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

Sümeyye Zülal ŞİMŞEK
Özlem BÜLBÜL

Adli Genetikte Güncel Yaklaşımlar

Current Approaches in Forensic Genetics

BÖLÜM HAKKINDA

Bu bölümde, adli genetik alanında SNP'lerin, mikrohaplotiplerin, epigenetik mekanizmaların, mikrobiyotanın ve genetik geneolojinin nasıl kullanıldığı ve hedefleri ayrıntılı olarak özetlenmektedir. Bunlardan ilki, SNP markırları, adli bilimlerde kimliklendirme amacıyla kullanılmakta olup, IISNPs markırları geleneksel STR lokuslarına alternatif olarak değerlendirilmektedir. Nesep SNP markırları ise mitokondriyal DNA (mtDNA) ve Y-kromozomunda bulunan SNP bölgelerini içerir. Fenotip SNP markırları ile göz, saç ve ten rengi gibi fiziksel özelliklerin tahmini güvenilir bir şekilde yapılmaktadır. Mikrohaplotipler ise kromozomlar üzerinde birlikte kalıtılan alellerden oluşur ve kimliklendirme, nesep tayini ve biyocoğrafik soyun belirlenmesinde kullanılır. Güncel çalışmalardan bir diğeri olan epigenetik modifikasyonlardan DNA metilasyonu vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, yaş tahmini ve monozygotik ikizlerin ayırt edilmesi gibi konularda kullanılır. Son yıllarda ise mikrobiyom profilinin incelenerek bireyin temas ettiği yüzeylerdeki mikrobiyomun kimliklendirilmesi üzerine yapılan çalışmalar da artmıştır. Adli Genetik Geneolojisi, DNA veri bankalarının kurulmasıyla birlikte kayıp kişilerin ve suçluların kimliklendirilmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Tüm bu çalışmalar, adli bilimlerdeki ilerlemelerin önemli bir göstergesidir.

Anahtar kelimeler: SNP, epigenetik, geneoloji, fenotip tahmini, yaş tahmini

ABOUT the CHAPTER

This chapter provides a detailed summary of the use of SNPs, microhaplotypes, epigenetic mechanisms, microbiota, and genetic genealogy in forensic genetics, and their respective applications. The first section discusses the use of SNP markers for identification purposes in forensic science, with IISNPs markers being considered as an alternative to traditional STR loci. Lineage SNP markers include SNP regions found in mitochondrial DNA (mtDNA) and the Y-chromosome. Phenotype SNP markers can accurately predict physical traits, such as eye, hair, and skin color. Microhaplotypes are sets of alleles inherited together on chromosomes and are used for identification, lineage and biogeographic ancestry determination. DNA methylation, an epigenetic modification, is used to identify body fluids, estimate age, and differentiate monozygotic twins. In recent years, there has been an increase in studies examining the microbiome profile of surfaces that individuals come into contact with. Forensic Genetic Genealogy plays a critical role in identifying missing persons and criminals through the establishment of DNA databanks. These studies are important indicators of advances in forensic science.

Keywords: SNP, epigenetics, geneology, phenotype prediction, age prediction

Giriş

Adli bilimlerde, olay yerinden elde edilen biyolojik materyalden yararlanarak faile ait birçok bilgiye ulaşılmaktadır. Klasik DNA analiz yöntemlerinde delilden ve şüpheliden elde edilen DNA profilleri karşılaştırılarak kimliklendirme yapılmaktadır. Bu kimliklendirmede, kapiler elektroforeze dayalı STR analizi altın standart olarak kullanılmaktadır. Günümüzde bir adli olay, STR analizi ile çözümsüz kaldığı durumda tamamlayıcı/alternatif olarak tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), mitokondriyal DNA (mtDNA), mikrohaplotipler, mRNA, mikrobiyota ve epigenetik analizler de kullanılabilir. Bu alternatif biyobelirteçler (markırlar) kimliklendirmede, şüphelinin veya kayıp kişilerin dış görünüşleri, soyları, yaşları ve yaşam alışkanlıklarının yanı sıra, elde edilen vücut sıvısının niteliği hakkında da bilgiler verebilmektedir.

DNA analizinin hızlı, doğru ve yüksek hassasiyette yapılması bireyin kimliklendirilmesinde ayırım gücünü arttıran faktörlerdir. Analiz için seçilen markırların yanı sıra yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing, NGS) teknolojilerinin kullanılması da büyük önem taşımaktadır. Bu bölümde adli genetik alanındaki güncel yaklaşımlar ve bunların yeni nesil teknolojiler ile kullanımı anlatılacaktır.

Tek Nükleotid Polimorfizm

Tek nükleotid polimorfizmi, genomda tek bir nükleotidde meydana gelen genetik değişiklik olarak ifade edilir. Tek nükleotid varyasyonlarının SNP olarak adlandırılabilmesi için



CC BY 4.0: Telif hakkı yazarlardadır. Bu kitabın içeriği Creative Commons Atıf 4.0 Uluslararası lisans altında lisanslanmıştır.



Sümeyye Zülal Şimşek

Özlem Bülbül

Istanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
E-posta: sumeyye.zulal@gmail.com
ozlem.bulbulercan@iuc.edu.tr

Bu bölümü alıntıla / Cite this chapter as: Şimşek, S.Z., Bülbül, Ö. (2024). Adli genetikte güncel yaklaşımlar. G. Filoğlu & Ö. Bülbül (Ed). *Adli biyoloji: Doğanın izleriyle adaletin peşinde II* içinde (s. 108-117). İstanbul: İÜC Üniversite Yayınevi.

toplumun en az %1'inde görülmesi gerekir. Daha düşük yüzdelerdeki tek nükleotid varyasyonları mutasyon olarak adlandırılmaktadır. SNP varyasyonları genellikle bi-alelik olup bazen tri-alelik çok nadiren de tetra-alelik olabilirler. SNP oluşumları genom boyunca kodlama yapan ve yapmayan bölgelerde ortalama her 300 bç'de bir olmak üzere oldukça sık görülürler. 3 milyar nükleotidden oluşan insan genomunda 10 milyondan fazla SNP lokusu bulunur (Phillips, 2004, 2012). Amerika, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nin (National Center for Biotechnology Information, NCBI) oluşturduğu en büyük SNP veri tabanlarından biri olan NCBI dbSNP'ye rapor edilmiş 890 milyondan fazla (893,590,618, NCBI dbSNP Build 151) SNP bulunmaktadır. Bu SNP markırlarının 335 milyonu (335,215,764 Build 151) çeşitli analizlerle valide edilmiştir (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary.cgi?view+summary=view+summary&build_id=155, Erişim: 12/2021).

SNP markırları, adli bilimlerde 2000'li yılların başından itibaren rutin analizlerde kimliklendirme amaçlı kullanılan STR lokuslarına alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. SNP markırları, tek bir nükleotid varyasyonundan oluştuklarından kısa ampikon uzunluklarına sahiptirler. STR lokuslarının PCR ürün uzunlukları 450-500 bç iken SNP lokusları 100 bç'den daha kısa olabilmektedir. Özellikle degrade DNA örneklerinde, SNP ile daha başarılı kimliklendirme yapılabilmektedir (Pakstis vd., 2008; Sanchez vd., 2006). Uluslararası Adli Genetik Topluluğu (International Society of Forensic Genetics, ISFG) adli genetikte kullanım alanlarına göre SNP markırlarını dört ana başlığa ayırmıştır. Bunlar; kimliklendirme (Identity Informative SNPs, IISNPs), nesep (Lineage Informative SNPs, LISNPs), biyocoğrafik soy (Ancestry Informative SNPs, AISNPs) ve fenotip (Phenotypic Informative SNPs, PISNPs) SNP markırlarıdır (Butler vd., 2008). Ancak günümüzde biyocoğrafik soy ve fenotip SNP markırları bir arada kullanılıp, "Adli DNA Fenotiplemesi" (Forensic DNA Phenotyping, FDP) olarak da adlandırılmaktadır (Kayser, 2015; Schneider vd., 2019) (Şekil 1.).

SNP markırları kullanım amaçlarına göre çeşitli paneller geliştirilerek adli olaylarda kullanılmıştır. İlk yıllarda özellikle minisekanslama prensibiyle çalışan SNaPshot kiti ile PCR-kapiller

elektroforeze dayalı yöntemler geliştirilmiştir. Günümüzde ise gelişen teknolojiyle beraber yeni nesil dizileme gibi yöntemler de kullanılmaya başlanmıştır.

Kimliklendirme SNP Markırları (Identity Informative SNPs, IISNPs)

IISNPs markırları yukarıda da bahsedildiği gibi adli genetikte ilk uygulanan SNP varyasyonlarıdır. Bu markırlar, degrade veya eser miktardaki analizi zor biyolojik örneklerde STR analizlerinde yaşanan DNA profillemeye sorunlarının çözümü için kullanılmaya başlanmıştır. IISNPs markırlarının en büyük avantajı, kısa PCR ürünlerine (<100) sahip paneller kullanılarak zorlu biyolojik örneklerin analizlerini mümkün kılmasıdır. Ayrıca SNP markırları, STR markırlarına göre daha düşük mutasyon oranına sahiptirler. Bu da mutasyona bağlı baba-çocuk uyumsuzluklarında önemli olup SNP markırlarıyla yanlış dışlamanın önüne geçilebilmektedir. SNP markırlarının bir diğer avantajı da STR analizlerinde oluşan stutter artefaktının görülmemesidir. Çünkü STR artefaktı eser miktarda ve degrade DNA'nın analizini zorlaştırmaktadır. 2000'li yılların başında ilk geliştirilen SNP panellerinde genellikle PCR-kapiller elektroforeze dayalı SNaPshot yöntemi kullanılmıştır. IISNPs markırları genellikle bi-alelik olduğu için panel geliştirmede yeterli ayırım gücüne ulaşabilmek için en az 40-50 SNP markırlarının çalışılması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda da buna göre SNP sayısı en az 40 olarak kullanılmıştır. Her ne kadar bu durum PCR-kapiller elektroforeze dayalı yöntemlerde bir kısıtlama gibi görünse de günümüzde NGS ile çok sayıda SNP bir arada çalışılabilmektedir (Butler vd., 2008; Kidd vd., 2006; Phillips, 2012). SNPs markırlarının dezavantajlarından biri bi-alelik olduklarından iki veya daha fazla kişinin dahil olduğu karışım örneklerinde genotip ayırımının yapılamamasıdır. Ancak günümüzde mikrohaplotip markırları kullanılarak bu sorunda üstesinden gelmek mümkündür. Mikrohaplotipler bir sonraki bölümde detaylı olarak anlatılacaktır.

IISNPs için geliştirilen panellerden en önemlilerinden biri Avrupa Birliği projesi kapsamında oluşturulan SNP Kimliklendirme Konsorsiyumu (SNPforID Consortium) (www.snpforid.org) tarafından geliştirilen 52-plex'dir. Bu panelin seçiminde mutasyon oranı düşük, aralarında akrabalık bulunmayan, tüm popülasyonlarda yüksek heterozigotluk gösteren, ayırım gücü yüksek bölgeler seçilmiştir. Bu panel SNaPshot yöntemine uygun şekilde geliştirilmiş olup iki basamaklı bir çalışma prensibi vardır. Buna göre; 52 IISNPs tek bir PCR ile çoğaltılır ve minisekanslama için iki ayrı SNaPshot (23-plex ve 29-plex) reaksiyonu ile tüm bölgeler belirlenir. Burada ikinci aşamadaki iki ayrı reaksiyonun sebebi SNaPshot yöntemi ile sınırlı sayıda (en fazla 35) bölgenin aynı anda minisekanslanmasındır (Sanchez vd., 2006). Bu panel, birçok araştırmacı tarafından test edilmiş, validasyonları yapılmış ve adli olgularda kullanılmıştır (Borsting vd., 2009; Fondevila vd., 2008; Porras vd., 2009). Ülkemizde de bu panelin 29-plex seti Bulbul ve ark. (2009) tarafından optimizasyon ve validasyon çalışmaları yapılmıştır (Bulbul vd., 2009).

Adli genetik açısından diğer önemli panel ise Kidd ve ark. tarafından Taqman yöntemiyle geliştirilen 44-IISNP panelidir (Kidd vd., 2006). Bu paneldeki SNP markırları 52-plex'den daha iyi bir ayırım gücüne sahiptir. Günümüzde 44-IISNPs NGS teknolojiyle geliştirilen ticari kitlerde yer almaktadır (Churchill vd., 2015).

Şekil 1

Adli Genetikte kullanım amaçlarına göre SNP markırlarının sınıflandırılması



Nesep SNP Markırları (Lineage Informative SNPs, LISNPs)

LISNPs markırları, mitokondriyal DNA (mtDNA) ve Y-kromozomu üzerinde bulunan SNP bölgeleri için kullanılan bir terimdir. Bu markırlar özellikle anne veya baba soyunun araştırıldığı çalışmalarda kullanılır.

mtDNA, anneden aktarıldığı için evrim, popülasyon ve antropolojik çalışmalarda haplogrupların tahmini ile maternal ataların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bunun yanında mtDNA analizleri, adli genetikte özellikle eser miktardaki örneklerde veya aşırı degrade olmuş örneklerin kimliklendirilmesinde kullanılır. Çünkü bu tür örneklerde, nükleer DNA miktarı az olduğundan başarılı bir DNA profili çıkarmak zordur. Ancak mitokondri bir hücrede birden fazla bulunduğu için, mtDNA da hücredeki nükleer DNA'dan daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu yüzden saç, kemik, diş gibi az hücre içeren veya yangın, toplu felaket sonrası kimliklendirme gibi degrade örneklerin analizlerinde mtDNA tercih edilmektedir. Klasik olarak mtDNA'nın kontrol bölgeleri olan HV1, HV2 ve HV3 bölgeleri dizilenecek bir genetik profil çıkartılır. Ancak bazı çalışmalarda mtDNA genomundaki SNP markırlarının da çalışılması ile daha iyi bir ayırım yapılabileceği gösterilmiştir. Bu amaçla mtDNA SNP panelleri geliştirilmiştir. Ancak uygulamada öncelikle mtDNA kontrol bölgelerinin analizi devamında mtSNP analizi yapılması gerekmektedir. Çünkü tek başına mtSNP bir ayırım sağlayamamaktadır. Buna ek olarak analiz sürecinin uzun sürmesi sebebiyle de çok fazla mtSNP uygulaması yapılmamıştır. Günümüzde ise NGS yöntemi ile mtDNA'nın kontrol bölgelerinin yanında tüm mtDNA'nın dizilmesi de yapılmaktadır (Coble vd., 2004; Parson vd., 2015; Parson vd., 2013).

Y-SNP ise Y- kromozomu üzerinde bulunan LISNPs markırlarıdır. Y kromozomu babadan erkek çocuklarına aktarılır. Bu aktarım sırasında rekombinasyona uğramayan bölgede (NRY, non-recombining region of the Y) bulunan markırlar incelenerek baba soyunun tahmini yapılabilir. Y kromozomu da yine evrim ve benzer çalışmalarda haplogruplar aracılığıyla göç yollarının belirlenmesinde sıklıkla kullanılır. Adli genetikte ise Y-SNP markırları, Y-STR markırlarına ek veya tamamlayıcı olarak kullanılmaktadırlar. Baba soyunun belirlenmesinde kadın ve erkeğin karışım halinde bulunduğu biyolojik örneklerde (cinsel saldırı örnekleri gibi) erkek failin DNA'sının tespitinde bu markırlardan faydalanılabilir. Y-SNP markırları ile ilgili ilk çalışmalar yine SNPforID Konsorsiyomu tarafından yapılmıştır. Tek seferde 35 Y-SNP bölgesinin çalışıldığı panel yine SNaPshot yöntemine dayanmaktadır. Ancak bunun dışında geliştirilen LISNPs panelleri genellikle haplotip tayininde kullanılmış olup, adli genetik uygulamalarında yaygın bir kullanım alanı bulamamıştır. Ancak günümüzde Y-SNP çalışmalarında NGS teknolojileri tercih edilmektedir (Kayser, 2017; Ralf vd., 2019; Sanchez vd., 2003).

Biyocoğrafik Soy SNP markırları (Ancestry Informative SNPs, AISNPs)

Adli bilimlerde failin belirlenmesinde klasik genetik analizler (STR analizleri), olay yerinden toplanan biyolojik delillerden elde edilen DNA profili ile şüphelinin DNA profilinin karşılaştırılması temeline dayalıdır. Şüphelinin bulunamadığı olgularda klasik STR analiz yöntemleriyle delilden elde edilen DNA profili karşılaştırma yapılamadığından olayın çözümüne bir katkı sağlamaz. Böyle

bir durumda birçok ülkede var olan DNA veri bankalarında taramalar yapılarak fail belirlenmeye çalışılır. Ancak çoğu zaman veri bankalarında bir eşleşme görülmeyebilir. Bunun yanı sıra görgü tanığının verdiği bilgiler de güvenilir olmadığında şüpheliye ait hiçbir bilgiye ulaşılamaz. Dolayısıyla şüphelinin olmadığı bu gibi vakalarda biyolojik delilden elde edilen STR'ye ait genetik profili olgu çözümünde bir delil olarak kullanılamaz. Son 25 yıldır her geçen gün artan teknolojik gelişmeler ve buna paralel genom araştırmaları (İnsan Genom Projesi, 1000 Genom projesi gibi) DNA molekülünden daha fazla bilgi edinmemizi sağlamıştır. DNA'nın spesifik bölgelerinde bulunan SNP markırları kişilerin dış görünüşlerine ait bilgiler vererek yukarıda anlatıldığı gibi şüphelisi olmayan olgularda "moleküler görgü şahitleri" olarak görev yapabilirler. Bu moleküler tanımlı "Adli DNA Fenotipleme" (Forensic DNA Phenotyping, FDP) denilmektedir. FDP kişilerin biyocoğrafik soyu ve gözle görülebilir fiziksel özelliklerini (göz, saç rengi, yaşı, boyu vb.) kapsar. FDP analizleri ayrıca toplu felaketlerde, terör olaylarında ve kayıp kişilerin kimliklendirmesinde kullanılabilir (Kayser, 2015; Schneider vd., 2019).

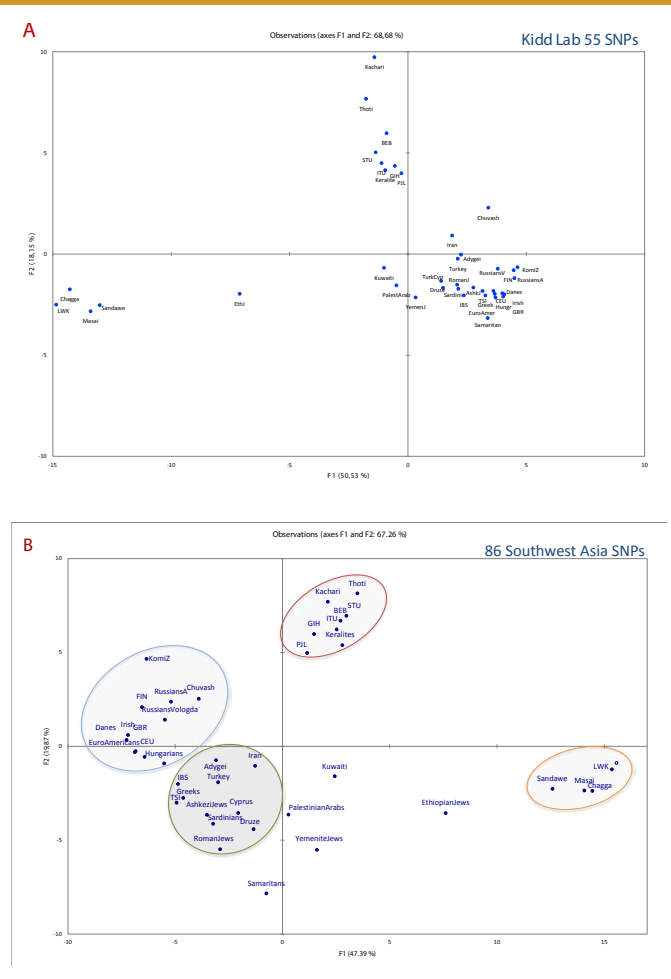
Biyocoğrafik soy, kişinin atalarına ait coğrafik orijini ve her coğrafik bölgeden alınmış olan genetik soy yüzdesini ifade eder. Biyocoğrafik soyun tahmininde özellikle farklı coğrafik bölgelerde bulunan popülasyonlar arasında genetik farklılıklar gösteren markırlar seçilir. AISNPs markırları diğer polimorfik sistemlere göre (STR, InDel gibi) popülasyonlar arasında çok daha fazla varyasyon gösterirler (Bülbül & Filoğlu, 2019; Bulbul & Kidd, 2021; Phillips, 2015).

Soy ile ilgili ilk geliştirilen AISNPs panellerinin hedefi büyük popülasyon gruplarının az sayıda SNP ile belirlenmesidir. Bu amaçla adli genetikte ilk geliştirilen SNP paneli 34-plex olup, Asya, Afrika ve Avrupa popülasyonlarının birbirinden ayırımında kullanılmaktadır. Bu panelde yapılan revizyon ile Amerika kıta popülasyonunu da ayırmak mümkün olmuştur. Panel, 11-M Madrid bombalamalarında bombacının hangi popülasyondan geldiğinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Fondevila vd., 2013; Phillips vd., 2009). Biyocoğrafik soy ile ilgili geliştirilen diğer önemli bir panel ise Kidd 55 panelidir. Günümüzde biyocoğrafik soyun belirlenmesinde en yaygın kullanılan paneldir. Bu panelde yer alan 55 AISNPs ile en az 10 popülasyon grubu birbirinden ayrılabilir. Bu panel ülkemiz dahil 161 farklı ülke popülasyonlarında test edilmiş olup, günümüzde ticari NGS kitlerinin içinde de yer almaktadır. Bu iki panelin dışında pek çok panel geliştirilmiş olsa da hedeflenen popülasyon ayırımları Kidd 55 panelinin önüne geçememiştir. Bunun sebeplerinden biri test edilen referans popülasyon sayısının fazlalığı ve seçilen SNP markırlarının popülasyonlar arasında büyük varyasyonlar göstermesidir. Biyocoğrafik soy analizleri, belirli bir panel ile elde edilen DNA profilinin referans popülasyonlarla karşılaştırılarak istatistiksel tahmin modelleri (genellikle olasılık oranı) ile sorgulanan profilin soy tahmini yapılmaktadır. Bu tahmin modellerinde test edilen panel ne kadar çok referans popülasyonda çalışılmış ise elde edilecek sonuç o kadar güvenilir olmaktadır (Bülbül & Filoğlu, 2019; Bulbul & Kidd, 2021; Kidd, Speed, vd., 2014).

Global AISNPs panellerinin yanı sıra daha spesifik bir analiz yapmak için bölgesel paneller de geliştirilmiştir. Güney Batı Asya (ülkemizin yer aldığı bölge), Avrasya ve sadece Asya gibi global panellerle ayrılamayan bölgeler için spesifik paneller de geliştirilmiştir (Bülbül, 2021; Bulbul & Kidd, 2021). Örneğin, ülkemizin

Şekil 2

Kidd 55 ve 86 AISNPs panellerinin PCA karşılaştırılmaları. Her iki panele ait PC1 ve PC2 sonuç grafikleri görülmektedir



Açıklama notu. Bulbul, O., & Filoglu, G., 2018, Development of a SNP panel for predicting biogeographical ancestry and phenotype using massively parallel sequencing Electrophoresis, 39(21), 2743-2751 kaynağından alınmıştır.

de bulunduğu coğrafya için geliştirilmiş olan 86 AISNPs paneli, iki aşamalı bir analiz sunmaktadır. Bu analizde öncelikle 55 AISNPs paneli çalışılarak elde edilen sonuçlar Avrupa, Merkez Güney Asya – Akdeniz bölgesini işaret ediyorsa, daha detaylı bir analiz için sadece bu bölgeler için seçilmiş 86 SNP’den oluşan panelin çalışılması önerilmektedir. Şekil 2’de hem Kidd 55 hem de 86 AISNPs panellerinin aynı popülasyonların ayrımını gösteren Temel Bileşenler Analizi (Principal component analysis, PCA) sonuçları görülmektedir. 86 AISNPs ile yapılan PC1 ve PC2 sonuçlarında mavi ve yeşil ile işaretlenmiş bölgelerin sırasıyla Kuzey Avrupa ve Akdeniz bölgeleri olduğu görülmektedir. Kidd 55 paneli ile bu bölgelerin birlikte gruplandığı gösterilmiştir. Bu da daha iyi bir biyocoğrafik soy tahmini yapılabilmesi için ileri analizlerin gerekli olduğunu ve bunun için iki basamaklı AISNPs çalışılmasının gerekliliğini göstermektedir (Bulbul, Speed, vd., 2018).

Fenotip SNP Markırları (Phenotypic Informative SNPs, PISNPs)

FDP analizlerinin diğer bir basamağı olan fenotip tahmini, kişiyi tanımlayacak olan boy uzunluğu, ten rengi, yüz şekli, saç ve göz

rengi gibi gözle görülebilir (External visible characteristics, EVC) fiziksel özellikleri içermektedir. Biyolojik delillerden fenotipin belirlenmesi ile ilgili ilk çalışma kızıl saç renginin belirlenmesi ile başlamıştır. Ancak kızıl saç renginin global olarak görülme olasılığı çok düşük olduğundan adli uygulamalarda yer almamıştır. Daha sonra göz renginin belirlenmesinde çok önemli bir rol oynayan bir SNP bölgesi bulunmuştur. OCA2 geninin promotor bölgesinin 21 kb yukarısında ve HERC2 genin 86. intron bölgesinde bulunan rs12913832 SNP markırının mavi veya yeşil göz renginin oluşumunda büyük rol oynadığı belirlenmiştir. Bu bölgede oluşan mutasyonun OCA2 geninin ekspresyonunu azalttığı dolayısıyla melanin üretiminde azalma olduğu belirlenmiştir. Kuzey Avrupa’da ilk olarak olduğu düşünülen bu mutasyonun zamanla SNP olarak değiştiği doğal seçilimle günümüze kadar geldiği düşünülmektedir (Hadrill, 2021; Kayser, 2015).

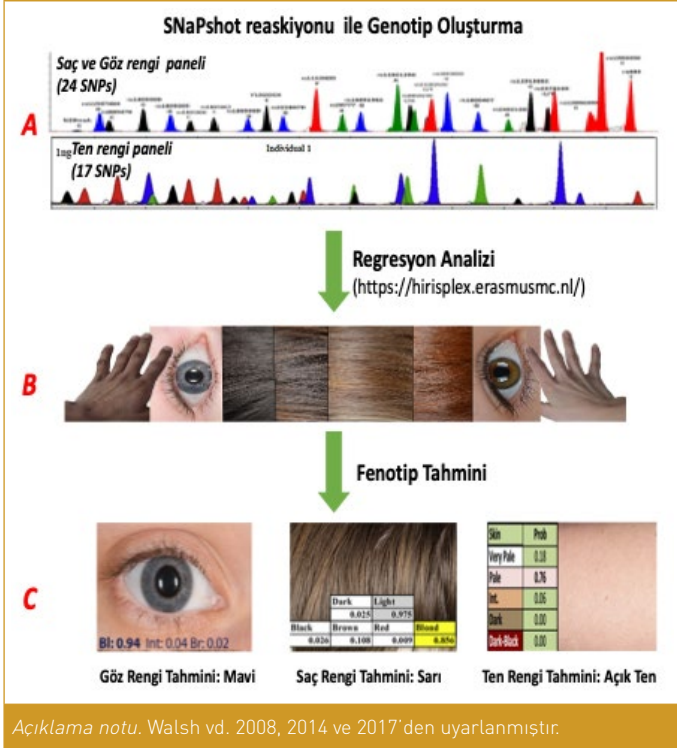
Adli uygulamalarda göz rengi tahmini için geliştirilen ilk panel Irisplex olup, 6 gen bölgesinden 6 SNP markırını içeren bu panel ile mavi ve kahverengi göz rengi tahmini %90’nın üzerinde bir doğrulukla yapılabilmektedir. Bu panel ilk olarak Avrupa popülasyonunda çalışılarak tahmin modellemesi oluşturulmuştur. Günümüzde birçok popülasyonda test edilen bu panel NGS kitlerinin içinde yer almaktadır (Breslin vd., 2019; Walsh vd., 2011). Bu panel mavi ve kahverengi göz renginin belirlenmesinde yüksek doğruluk oranına sahip olmasına rağmen, yeşil göz rengini çoğunlukla mavi veya kahverengi olarak tahmin etmektedir. Bu da yeşil göz rengi için yanlış pozitif sonuçlar vermektedir. Bu konu birçok çalışmada tartışılmış ancak yeşil göz renginin kompleks genetik yapısının sadece 6 SNP ile açıklanamayacağı bildirilmiştir (Bülbül, 2021; Freire-Aradas vd., 2014; Hadrill, 2021).

Fenotip çalışmalarının devamında saç ve ten renginin belirlenmesi için paneller geliştirilmiştir. Günümüzde göz, saç ve ten rengini belirleyen 41 PISNP bölgesinin bulunduğu Hirisplex-S paneli en kapsamlı ve en sık kullanılan paneldir (Şekil 3). Bu panelde sarı, kızıl, kahverengi ve siyah saç olmak üzere dört farklı saç rengi sınıflandırılması yapılmıştır. Hirisplex-S paneli ile saç rengi tahmini %75’in üzerinde bir doğrulukla yapılabilmektedir. Bu saç renkleri içinde kahverengi ve kızıl saç rengi daha yüksek doğrulukta belirlenen saç rengi olurken, sarı saç renginin tahmin başarısı diğerlerine göre daha düşüktür. Çünkü sarı saç renginin yaşa bağlı olarak çocukluk ve yetişkinlikte değişmesinin yanı sıra çevresel etmenlerden de etkilendiği bilinmektedir (Schneider vd., 2019; Walsh vd., 2014). Saç ile ilgili mevcut diğer çalışmalar olsa da Hirisplex en çok tercih edilen ve farklı popülasyonlarda çalışılan panel olmuştur. Bu panelin ülkemiz dahil pek çok ülkede optimizasyon ve validasyon çalışmaları yapılmış, rutin ve antropolojik çalışmalarda kullanılmıştır. Saç ile ilgili yapılan diğer çalışmalar saçın kalınlığı, şekli (dalgalı, kıvrıkcık gibi) veya kellik gibi değişiklikleri kapsamaktadır (Bülbül, 2021; Bulbul, Zorlu, vd., 2018; Schneider vd., 2019; Tavaci vd., 2021).

Hirisplex peneline ten rengiyle ilgili eklenen 17 SNP markırlarıyla oluşturulan Hirisplex-S paneli ile çok açık, açık, orta, koyu ve koyu-siyah olmak beş kategoride ten rengi %75’in üzerinde bir doğrulukla tahmin yapılabilmektedir. Ten renginin belirlenmesinde genetik faktörlerin yanı sıra yaşanan enlem, UV maruziyeti gibi çevresel koşulların ve adaptasyonun da etkisi görülmektedir (Walsh vd., 2017). Bu üç fenotipik özellikte günümüzde NGS panellerinde de sıklıkla biyocoğrafik soy SNP panelleriyle beraber

Şekil 3

Hlrisplex-S paneli kullanılarak örnek bir genotipten fenotip tahmini. A) SNaPshot yöntemi ile genotip oluşturma B) web uygulamasında regresyon analizi C) Tahmin edilen üç fenotipin örnek gösterimi



kullanılmaktadır. Böylece hem soy hem de bu üç özelliğe (göz, saç ve ten) dayalı bir FDP yapılabilmektedir (Bulbul & Filoğlu, 2018; Diepenbroek vd., 2020; Palencia-Madrid vd., 2020). Ülkemizde de FDP analizlerinden soy ve fenotip tahminleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış olup, FDP analizleri İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü'nde 2019 yılından beri hizmet olarak verilmektedir. (https://adlitip.istanbulc.edu.tr/tr/content/hizmetlerimiz/adli-bilimler-laboratuvarı) (Bülbul, 2021; Bülbul & Filoğlu, 2019; Devranoglu vd., 2021; Tavacı vd., 2021).

Fenotip analizlerinde en çok tercih edilen istatistiksel modeller Bayes olasılık oranı ve regresyon analizleri (özellikle multinominal lojistik regresyon) kullanılmaktadır. İki farklı araştırma grubu tarafından geliştirilen web tabanlı uygulamalarda fenotip tahminleri yapılabilmektedir. Bu uygulamalardan biri olan Snipper (http://mathgene.usc.es/snipper/) uygulamasında ayrı ayrı göz, saç ve ten rengi için Bayes olasılık oranı kullanılarak bir tahmin sonucu elde edilir. Diğer uygulama ise Hlrisplex-S panelini geliştiren grubun web uygulaması olup (https://hlrisplex.erasmusmc.nl/), bu uygulamada bu üç fenotip tahmini ayrı ayrı veya beraber de yapılabilmektedir. Şekil 3' te minisekanslamaya dayalı iki SNaPshot reaksiyonu (birincisi göz ve saç, ikincisi sadece ten rengi paneli) ile elde edilen örnek bir genotipin, Hlrisplex-S uygulamasında regresyon analizi sonrası tahmin edilen örnek göz, saç ve ten rengi sonucu verilmiştir.

Son yıllarda boy uzunluğu, çillenme, yüz şekli, kellik gibi diğer fenotipik özelliklerin tahmini ile ilgili de çalışmalar yapılmaktadır. Ancak bu yeni çalışmalar için yüksek güvenilirlikte sonuçlar alınmamaktadır. Günümüzde özellikle NGS çalışmaları ile yüzlerce

SNP birlikte çalışabildiğinden bu çalışmalardan da yakın zamanda yüksek doğrulukta tahminler elde edilebilir. Böylece FDP ile moleküler biyrobot resim çizilerek suçluların daha hızlı bir şekilde yakalanmasına yardımcı olunabilir.

Mikrohaplotipler

Haplotip, kromozomlar üzerinde birbirine yakın olan ve birlikte kalıtılan aleller olarak tanımlanmaktadır. Haplotipler, ilk kez 1960'lı yılların sonlarında Ruggero Ceppellini tarafından tanımlanmıştır. Sonraki yıllarda yapılan İnsan Genom Projesi ve 1000 Genom Projeleri ile bu bölgeler haritalanmıştır (Oldoni vd., 2019). Mikrohaplotipler genetik alanında bağlantı analizlerinde, diyabet, tümör türlerinin belirlenmesi, kardiyovasküler sistem hastalıkları, psikiyatrik rahatsızlıklar gibi ailesel kalıtılan birçok hastalığın genetik altyapılarının incelenmesinde kullanılmaktadır. Mikrohaplotipler ise ilk kez Kenneth Kidd tarafından 2014 yılında DNA tipleme çalışmalarında kullanılabilir bir genetik markır olarak sunulmuştur (Kidd, Pakstis, vd., 2014). Mikrohaplotipler, DNA üzerinde 300 nükleotidden daha küçük boyutta ikiden fazla SNP markırını içeren kısa haplotiplerdir. Bu bölgeler nesiller boyunca değişmeden aktarılan ve rekombinasyondan etkilenmeyen kromozomal bölgelerdeki kısa baz dizileridir (Kidd, Pakstis, vd., 2014). Mikrohaplotipler adli bilimlerde genel olarak; kimliklendirme, biyocoğrafik soy ve nesep tayininde kullanılmaktadır.

Mikrohaplotipler aynı anda nesep tayininde, kimliklendirmede ve biyocoğrafik soy ile bilgi verebilen tek sistemdir. Bir mikrohaplotip lokusu tek tek seçilmiş SNP'lerden daha bilgi vericidir ve popülasyonların ayırımında ve kimliklendirmede kullanılabilir. Mikrohaplotipler, tekli SNP markırlarına göre birçok avantajı bulunmaktadır. En önemli avantajı da karışım örneklerinde kullanılabilmesidir. Bir mikrohaplotip lokusunda görülen üç veya daha fazla alel bir veya daha fazla kişinin biyolojik delilde bulunduğunu gösterir. Mikrohaplotipler hem STR lokusları hem de SNP'ler ile analizi yapılamayan örneklerde başarılı sonuçlar vermektedir (Kidd & Speed, 2015; Oldoni vd., 2019). Kidd ve ark. tarafından oluşturulan ALFRED (The ALlele FREquency Database) veri bankasında bugüne kadar geliştirilmiş 83 popülasyonda taranmış yaklaşık olarak 198 adet mikrohaplotip bulunmaktadır (https://alfred.med.yale.edu/alfred/microhaps.asp) (Bulbul, Pakstis, vd., 2018; Kidd vd., 2017). Ayrıca farklı araştırmacılar tarafından da oluşturulmuş mikrohaplotip NGS panelleri de bulunmaktadır. Ancak bunların referans veri setleri daha kısıtlıdır (de la Puente vd., 2020; Oldoni vd., 2019). Önümüzdeki yıllarda mikrohaplotiplerin de rutin uygulamalarda kullanılmak üzere referans veri setleri ve analiz programları gibi yeterli alt yapıların oluşturulacağı düşünülmektedir.

Epigenetik

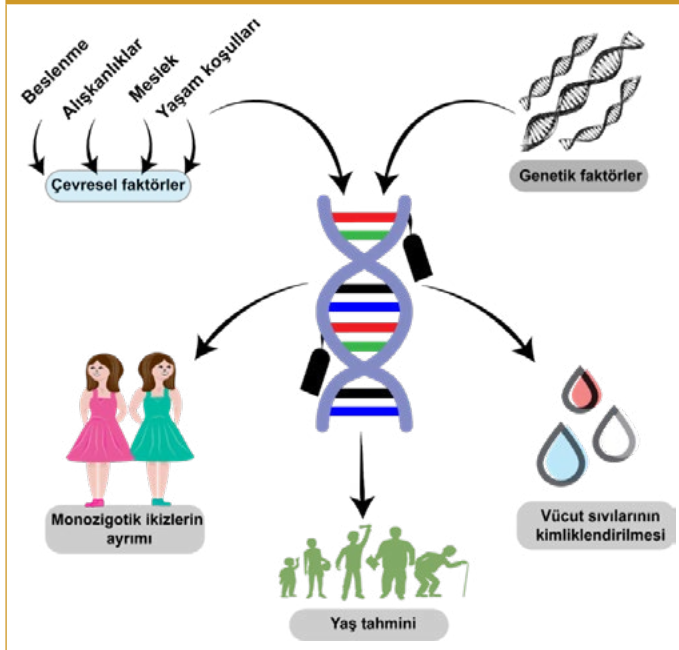
Epigenetik, DNA diziliminde değişiklik olmaksızın meydana gelen ve gen anlatımını düzenleyerek etkisini fenotipte gösteren kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. Dinamik bir yapıya sahip olan epigenetik bilgi yaşam alışkanlıkları, egzersiz ve bağımlılık gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Epigenetik bilginin oluşumunu sağlayan epigenetik modifikasyonlar kodlanmayan RNA'lar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kromatinin yeniden modellenmesi olarak sınıflandırılmaktadır. Bu mekanizmalar fetal dönemden başlayarak yaşam boyunca farklı gen aktivasyonlarının oluşmasını düzenlemektedir (Vidaki & Kayser, 2018).

Histon modifikasyonları, temel olarak histon proteinleri aracılığıyla genetik bilginin hücre içine sığabilmesi için paketlenmesini sağlamaktadır. DNA ve histon proteinleri ile oluşan bu kompleks yapı "nükleozom" olarak adlandırılır. Ökromatin (aktif gen bölgesi) ve heterokromatin (pasif gen bölgesi) yapısı ile gen anlatımı düzenlenmektedir (Annunziato, 2008). Diğer bir mekanizma ise gen anlatımının gerçekleşebilmesi için gerekli olan transkripsiyon faktörlerinin bölgeye ulaşmasını sağlayan kromatinin yeniden düzenlenmesidir. Bu düzenlenme ATP molekülünün hidroliziyle nükleozomların yeniden şekillenmesini sağlamaktadır (Saha vd., 2006).

Kodlanmayan RNA'lar ise DNA'dan transkripte olduğu halde proteine dönüşmeyen moleküllerdir. Bu moleküllerin temel fonksiyonu post-transkripsiyonel düzeyde gen ifadesini düzenlemektir. Kodlanmayan RNA'lar, farklı yollar üzerindeki etkisine göre sınıflandırılmaktadır. Bunlar: mikro RNA (micro RNA, miRNA), piwi etkileşimli RNA (Piwi-interacting RNA, piRNA), küçük interferans RNA (Small interfering RNA, siRNA)'lardır (Lynch & Fleming, 2020).

Diğer bir epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur. DNA metilasyonu gen anlatımının başlangıç noktası olan promotör bölgede sitozin ve guanince zengin CpG adacıklarında sitozin bazına metil grubunun bağlanması sonucu oluşmaktadır. Temel olarak transkripsiyon faktörlerinin anlatım yapacak olan gen bölgesine ulaşmasını engelleyerek genlerin susturulması veya aktif hale getirilmesi ile gen anlatımını düzenler. DNA metilasyonu, yeni nesil adli genetik markırlardan biridir. Adli genetikte en çok araştırılan DNA metilasyon biyobelirteçleri, vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, yaş tahmini ve monozigot ikizlerin ayrımı gibi farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Ayrıca beslenme, yaşam alışkanlıkları gibi kişileri tanımlayabilecek farklı özellikler için de DNA metilasyon biyobelirteçleri araştırılmaktadır (Şekil 4) (Vidaki vd., 2013; Vidaki & Kayser, 2018).

Şekil 4
DNA metilasyon belirteçlerinin adli bilimlerde kullanımı



Vücut Sıvılarının Kimliklendirilmesi

Olay yerinden elde edilen biyolojik materyalin hangi vücut sıvısına ait olduğunun belirlenmesi olayın seyrinin anlaşılmasında oldukça önemlidir. Adli serolojide klasik olarak renk değişimine dayanan reaksiyonlar ve immünolojik temelli konvansiyonel sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler özgünlük, duyarlılık sorunlarının yaşanması ve örneğin geri kazanımında sorunlar yaşanmaktadır. Bu nedenle son yıllarda, biyolojik materyaller için yüksek hassasiyete sahip moleküler temelli yöntemler uygulanmaya başlanmıştır (Vidaki vd., 2013).

Vücut sıvılarının kimliklendirilmesi için dokuya spesifik (venöz kan, menstrual kan, semen, vajinal sekresyon, tükürük vb.) üretimi gerçekleşen moleküller ve modellerden yararlanılmaktadır. Bunlardan ilki dokuya özgü üretilen mesajcı RNA (mRNA) transkriptlerinin analizidir. Fakat mRNA'lar çevresel koşullara karşı dayanaksız olduğundan adli olgularda kullanımını sınırlamaktadır (An vd., 2012). Diğer bir belirteç ise genlerin anlatımının düzenlenmesinde rol oynayan miRNA molekülleridir. miRNA'lar dokuya özgü sentezlenmektedir ve mRNA'lara kıyasla çevresel koşullara karşı daha dirençli olmaları nedeniyle adli vakalarda tercih edilmektedir. Çeşitli vücut sıvısı ve dokusu için geliştirilen miRNA panelleri ile yüksek oranda doğruluk ile vücut sıvıları tanımlanabilmektedir (Fujimoto vd., 2019).

DNA metilasyon belirteçleri ile de dokular arasında farklılıkların oluşmasını sağlayan dokuya özgü metilasyon profillerinden (Tissue-specific differentially methylated regions, tDMR) yararlanarak dokuların kaynağı belirlenebilmektedir. Venöz kan, menstürasyon kanı, tükürük, vajinal sıvı ve semen örneklerinin tanımlanması için spesifik DNA metilasyon belirteçleri kullanılmaktadır (Forat vd., 2016).

Yaş Tahmini

Kimliklendirmenin en önemli bileşenlerinden biri de biyolojik materyalden şüphelinin tahmini yaşının belirlenmesidir. Yaş tahmini, failin cezai ehliyetinin belirlenmesi ve antropolojik çalışmalarda da sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde adli tıpta rutin olarak dental ve kemik incelemeleri ile yaş tahmini yapılmaktadır (İşcan vd., 1984; Xu vd., 2015). Fakat olay yerinde kemik örneği bulunmadığı durumda alternatif yöntemlere başvurmak gerekmektedir. Bu amaçla çeşitli biyolojik markırlar geliştirilmiş olmasına karşın bu yöntemler hassasiyet, düşük doğruluk oranı ve uygulanabilirlik kısıtlamaları nedeniyle rutin olarak kullanılamamıştır. Son yıllarda epigenetik mekanizmalarla yaş tahminin yapılabileceği gösterilmiştir. Bu epigenetik mekanizmalardan biri olan DNA metilasyonu, fetüs döneminde başlayıp, kişinin hayatı boyunca farklı profilleri oluşturmaktadır. Bu farklılıklardan yola çıkılarak yaş tahminleri ile ilgili modeller geliştirilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017).

Yaşa bağlı olarak bazı genlerin zamanla susturulması ve bazılarının aktif hale getirilmesi sonucunda oluşan düşük metilasyon profili (hipometilasyon) ve yüksek metilasyon profili (hipermetilasyon) farklılıklarından yararlanarak kronolojik yaş belirlenir. Yaş tahmininde en çok çalışılan vücut sıvısı olay yerinde en sık bulunan kandır. Kandan yaş tahmini için kullanılan en önemli genler ELOVL2, FHL2, C1orf132, CCDC102B, ASPA ve PDE4C olup, bu genlerin promotör bölgelerindeki CpG adacıklarındaki DNA metilasyon seviyeleri farklılıkları yaş belirlenmesinde kullanılmaktadır.

Kandan metilasyon yaş belirteçleri ve yaş tahmin modelleri ile ilgili çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Bu çalışmalara göre ortalama $\pm 3-5$ yıl sapma ile kronolojik yaşın tahmini yapılabilmektedir. Tükürük veya ağız içi sürüntü, semen ve kemik örneklerinden yaş tahmini ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Kan ile benzer gen bölgelerinin kullanıldığı kemik, tükürük veya ağız içi sürüntü örneklerinde EDARADD, ITGA2B, ELOVL2, FHL2, TOM1L1 genlerine ait CpG noktaları çalışılmaktadır. Elde edilen veriler ile oluşturulan yaş tahmin modellerinde kronolojik yaş ile $\pm 4-6$ yıl sapma oranı tespit edilmiştir. Semen örneklerinde ise TTC7B, NOX4, EXOC3, GALR2, SH2B2 ve SYT7 gen bölgeleri analiz edilmektedir. Her bir gene ait CpG noktaları ile kronolojik yaş arasındaki ilişki değerlendirilerek bunlar arasında TTC7B ve NOX4 genlerinde yaklaşık olarak ± 5 yıl sapma oranıyla yaş tahmin modeli geliştirilmiştir (Freire-Aradas vd., 2017; Vidaki vd., 2018; Woźniak vd., 2021; Zbieć-Piekarska vd., 2015).

Monozigotik İkizlerin Ayırt Edilmesi

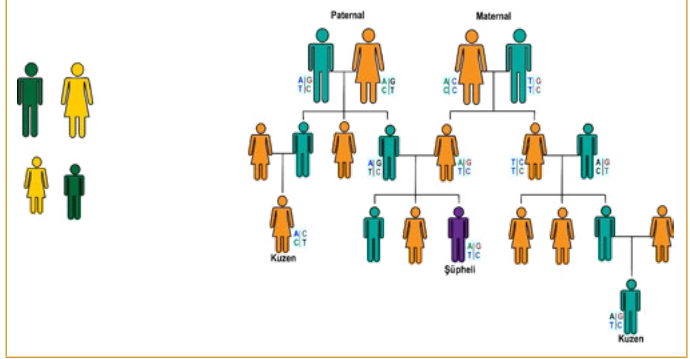
Monozigotik ikizler, tek zigottan oluştukları için DNA dizileri aynıdır. Adli bilimlerde monozigotik ikizlerin ayırt edilmesinde STR analizleri ile bir ayırım yapılamamaktadır. Bir suça dahil olan tek yumurta ikizlerinden biri ile masum olan ikizin ayırımı gerçekleştirilemediğinden dava çözümsüz kalabilmektedir. Tüm genom taramaları ile yapılan çalışmalarda monozigot ikizlerde oluşan nokta mutasyonları ile birbirinden ayrılabilceğini gösteren çalışmalar yapılsa da hem analizlerin uzun ve maliyetli olması hem de biyoenformatik zorluklarından dolayı adli bilimlerde tercih edilmemektedir. Monozigotik ikizlerde çevresel farklılıklar sonucu meydana gelen değişiklikler farklı epigenetik modellerin oluşmasına neden olmaktadır. Farklı epigenetik modellerden aday metilasyon markırları belirlenmesine karşın adli olgular için henüz uygulanabilecek kesinleşmiş bir panel bulunmamaktadır (van Baak vd., 2018; Vidaki & Kayser, 2018).

Adli Genetik Geneoloji (Jeneoloji veya Soy bilimi)

Adli bilimlerde ilk geneoloji çalışmaları bireyin sahip olduğu soyadı ile soy kütüğü incelemeleri sonucunda gerçekleştirilmiştir. Fakat bu bilgi yalnızca baba tarafından soy hakkında bilgi verdiğinden sınırlı kalmıştır. Genetik geneoloji çalışmaları ile ilgili ilk çalışmalarda veri bankaları oluşturulmadığından yalnızca gönüllülere ait verilerden yararlanılarak yapılmıştır (Larmuseau vd., 2013). 1990'lı yılların ortalarında olay yerinden gelen biyolojik materyalden elde edilen DNA profilleri ile DNA veri bankalarının kurulmasının ardından yıllar içerisinde hem şüpheliye ait örneklerin hem de kayıp kişilerin kimliklendirilmesinde önemli bir dönem başlamıştır (Formici, 2021). Adli bilimlerde STR profilleri kullanılarak ulusal veri bankalarında yalnızca ebeveynler ve kardeşler arasında (birinci ve ikinci derece) bir ilişkiyi gösteren güvenilir soy araştırmaları yapılabilmektedir (Kling vd., 2021). Ancak binlerce otozomal SNP markırları kullanılarak daha fazla sayıda uzak akrabalar (üçüncü dereceden dokuzuncu dereceye kadar) tespit edebilmektedir. Bu SNP verilerinin eldesi genellikle online açık platformlardan sağlanır. Elde edilen genetik bilgiler ile potansiyel akrabalar eşleştirilerek kriminal vakaların çözümüne yardımcı olunabilir. Bu platformlardan en önemlileri FamilyTreeDNA, GEDmatch (1.4 milyon kullanıcı), AncestryDNA (10 milyon kullanıcı) ve 23andMe (5 milyon kullanıcı) büyük veri bankalarıdır (Şekil 5) (Hadrill, 2021; Phillips, 2018).

Şekil 5

Şüpheliye ait örnek ile genotip analizi yapılarak olası akrabaların tespiti



Genetik geneoloji araştırmalarında her bir veri bankası tarafından belirlenmiş olan ve analiz eşliğini geçen otozomal DNA eşleşmeleri dikkate alınmaktadır. Verilerden elde edilen 600 binden fazla otozomal SNP genotip bilgisine ek olarak kişinin ikametgahı, cinsiyeti ve fiziksel özellikleriyle olay yerinden elde edilen çeşitli bilgiler bir arada değerlendirilmektedir (Kling vd., 2021; Phillips, 2018).

Genom çapında yapılan SNP analizlerine ek olarak soy bilimi çalışmalarında Y-kromozom çalışmaları da yapılabilmektedir. Günümüzde özellikle babalık tayininde ve baba tarafından erkek akrabalar ile kimliklendirme çalışmalarında kullanılan Y-STR'ler ile aile çalışmaları yapılmaktadır. Y-kromozomu SNP analiziyle de soy bilgisi üzerinden kimliklendirme yapılabilmektedir (Claerhout vd., 2019).

2018 yılında Golden State Katili olarak adlandırılan Joseph DeAngelo'nun yakalanması adli bilimlerde genetik geneoloji kullanımını ön plana çıkarmıştır. Bu vakada 1973 ve 1986 yılları arasında Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde en az 13 cinayet, 50 tecavüz ve 120 hırsızlıktan sorumlu olduğu düşünülen bir seri katil genetik geneoloji kullanılarak yakalanmış ve tüm suçlamaları kabul etmiştir. Bu vakada çeşitli olay yerlerinden alınan örneklerin DNA profilleri bir kişiye ait olduğu tespit edilmesine rağmen STR veri bankalarıyla herhangi bir eşleşme göstermemiştir. Uzun yıllar boyunca zaman zaman dosyası yeniden açılan vakanın konu ile ilgili yayınlanan bir romanın en çok satanlar listesine girmesiyle yeniden gündeme gelmiştir. 2018 yılında seri katilin DNA profili ile GEDMatch'te yapılan tarama sonrasında şüphelinin dört kuşak öncesindeki büyükbabasıyla doğrudan ilişkili aile soyu tespit edilmiştir. Daha detaylı bir arama için kişinin yaşı, cinsiyeti, yaşanılan yer gibi diğer bilgiler birlikte değerlendirilerek, yaklaşık bin kişinin içinde Joseph James DeAngelo Jr.'nin şüpheli olabileceği belirlenmiştir. Daha sonra kendisinden alınan DNA örneği analiz edildiğinde olay yerinden elde edilen DNA profiliyle eşleştiği görülmüştür. Bu olgunun çözümü yılın olgusu olarak değerlendirilmiş devamında Amerika'da onlarca dosyası kapatılmış vaka bu sayede çözüme kavuşmuştur (Greytak vd., 2019; Hadrill, 2021).

Her ne kadar Golden State Katilli vakası ile yeni bir yaklaşımın adli bilimlerde kullanılmasının yolu açılmış olsa da bu durum etik tartışmaları da beraberinde getirmiştir. Örneğin bu vakada olay yerinden elde edilen DNA profili normal bir kişinin verisi gibi GEDMatch sisteminde test edilmiştir. Bu vakadan sonra yapılan

etik tartışmalar sonunda, bu veri bankalarında DNA bilgilerinin paylaşılması ve 3. kişilerin bunu kullanmasıyla ilgili sınırlamalar getirilmiştir. Bu sınırlamalar genetik veri bankalarının sahipleri olan ticari firmalar tarafından yapılmaktadır. Bu veri bankalarının en büyüklerinden biri olan GEDmatch'in web sitesinde yapılan son etik güncellemelerde genetik verileri sistemde olan kişilerin kriminal olaylarda kullanılabilmesi konusunda uyarılmaktadır. Ancak bu kişiler aracılığıyla akrabalarının belirlenmesi veya kısmi genetik bilgilerinin kullanılmasıyla ilgili sorunlar halen sürmektedir (Greytak vd., 2019).

Mikrobiyom Analizi

Adli bilimlerde temel hedef şüpheli kişiye ait olduğu düşünülen iz delillerden yararlanılarak kişinin kimliklendirilmesi ve olay yeriyle ilişkisinin tespit edilmesidir. Bu amaçla dünya çapında adli bilimlerde STR, SNP gibi çeşitli polimorfik DNA sistemleriyle kimliklendirme gerçekleştirilmektedir. DNA bilgisine ek olarak, çözümsüz kalmış birçok vakada kişiye özgü mikrobiyom bilgisi de kullanılabilir (Neckovic vd., 2020). Özellikle bireyin temas ettiği ve ona ait olduğu düşünülen cep telefonu, bilgisayar ve kişisel eşyaları kişiye ait mikrobiyomu taşımaktadır (Şekil 6) (Hamp-ton-Marcell vd., 2017).

Şekil 6

Faile ait eşyadan mikrobiyom çalışmasıyla şüpheliyle dışlama/dahil etme



Ev, ofis, sınıf, öğrenci yurtları, tuvalet ve metrolar gibi açık ve kapalı alanlarda yapılan çeşitli çalışmalar insan mikrobiyal analizlerin ayırt edici özelliklerinin önemini ortaya koymuştur. Kişi bir yüzeye temas ettiğinde, sahip olduğu mikrobiyotayı bu yüzeye aktarmaktadır. Böylece olay yerinden elde edilen ve şüpheliye ait mikrobiyal profil karşılaştırılarak parmak izi veya STR ile DNA analizi gibi sistemlere benzer olarak kimliklendirme için kullanılabilir (Wilkins vd., 2021).

Adli amaçlı olarak yapılan mikrobiyom çalışmaları temel olarak kimliklendirme, vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, beslenme ve sağlık, coğrafi konum, otopsi ve enfeksiyon gibi incelemelerle insan mikrobiyomunun belirlenmesine dayanmaktadır. Günümüzde gelişen teknolojiyle beraber mikrobiyal genom analizi daha kolay ve uygun maliyetli olarak analiz edilmektedir. Şüphelinin kimliklendirilmesinin yanı sıra biyoterörizm ve biyo-suçlar gibi konularda mikrobiyal analiz büyük önem taşımaktadır. Gelecekte ise

mikrobiyal analizlerin de insan kimliklendirmesine yardımcı olabilecek rutin uygulamalara girmesi beklenmektedir (Schmedes vd., 2019) (detaylı bilgi için Bkz. Bölüm 1.3 ve 1.4).

Sonuç

Son yirmi yılda yaşanan teknolojik ve bilimsel gelişmeler adli genetikte de yeni markırların keşfedilmesini ve uygulanmasını sağlamıştır. Adli bilimlerde elde edilen verilerin yüksek doğrulukta ve güvenilirlikte olması gerekmektedir. Bu yeni markırların bir kısmı FDP ile ilgili (göz, saç rengi, yaş gibi) yeterli düzeyde doğruluk verse de bazı fiziksel özellikler (kellik, boy uzunluğu gibi) için yeterli doğruluk seviyesine ulaşamamıştır. İnsan kompleks bir organizma olduğundan bazı özellikler basit bir şekilde açıklanamamaktadır. Ancak bu kompleks organizmayı anlamaya yönelik çalışmalar devam etmektedir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The author declares that there are no competing interests

Kaynaklar

- An, J. H., Shin, K. J., Yang, W. I., vd. (2012). *Body fluid identification in forensics BMB Reports*, 45, 545-553. [\[Crossref\]](#)
- Annunziato, A. T. (2008). DNA Packaging: *Nucleosomes and Chromatin Nature Education*, 1, 26.
- Borsting, C., Rockenbauer, E., & Morling, N. (2009). Validation of a single nucleotide polymorphism (SNP) typing assay with 49 SNPs for forensic genetic testing in a laboratory accredited according to the ISO 17025 standard *Forensic Sci Int Genet*, 4(1), 34-42. [\[Crossref\]](#)
- Breslin, K., Wills, B., Ralf, A., vd. (2019). HirisPlex-S system for eye, hair, and skin color prediction from DNA: Massively parallel sequencing solutions for two common forensically used platforms *Forensic Sci Int Genet*, 43, 102152. [\[Crossref\]](#)
- Bulbul, O., & Filoglu, G. (2018). Development of a SNP panel for predicting biogeographical ancestry and phenotype using massively parallel sequencing *Electrophoresis*, 39(21), 2743-2751. [\[Crossref\]](#)
- Bulbul, O., & Kidd, K. K. (2021). Forensic Ancestry Inference. In E. Pilli & A. Berti (Eds.), *Forensic DNA Analysis--technological development and innovative applications*. Apple Academic Press.
- Bulbul, O., Pakstis, A. J., Soundararajan, U., vd. (2018). Ancestry inference of 96 population samples using microhaplotypes *Int J Legal Med*, 132(3), 703-711. [\[Crossref\]](#)
- Bulbul, O., Phillips, C., Argac, D., vd. (2009). Internal validation of 29 autosomal SNP multiplex using a ABI 310 genetic analyser *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 2(1), 129-130. [\[Crossref\]](#)
- Bulbul, O., Speed, W. C., Gurkan, C., vd. (2018). Improving ancestry distinctions among Southwest Asian populations *Forensic Sci Int Genet*, 35, 14-20. [\[Crossref\]](#)
- Bulbul, O., Zorlu, T., & Filoglu, G. (2018). Prediction of human eye colour using highly informative phenotype SNPs (PISNPs) *Australian Journal of Forensic Sciences*, 52(1), 27-37. [\[Crossref\]](#)
- Butler, J. M., Budowle, B., Gill, P., vd. (2008). Report on ISFG SNP Panel Discussion *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1(1), 471-472. [\[Crossref\]](#)

- Bülbül, Ö. (2021). Adli Bilimlerde SNP Markırlarının Kullanımı - II, Adli DNA Fenotipleme. In G. Filoğlu, H. Altunçul, & Ö. Bülbül (Eds.), *Adli Genetik ve Genetik Kimliklendirme* (pp. 183-206). Seçkin Yayıncılık San. ve Tic. A.Ş.
- Bülbül, Ö., & Filoğlu, G. (2019). Biyoçografik Soy Tahmini ve Adli Bilimlerde Kullanımı *The Bulletin of Legal Medicine*, 24(2), 131-140. [Crossref]
- Churchill, J. D., Chang, J., Ge, J., vd. (2015). Blind study evaluation illustrates utility of the Ion PGM system for use in human identity *DNA typing Croat Med J*, 56(3), 218-229. [Crossref]
- Claerhout, S., Defraye, C., & Decorte, R. (2019). Validation of Y-ancestor time calculators for forensic familial searching *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 7, 411-413. [Crossref]
- Coble, M. D., Just, R. S., O'Callaghan, J. E., vd. (2004). Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of forensic testing in Caucasians *Int J Legal Med*, 118(3), 137-146. [Crossref]
- de la Puente, M., Ruiz-Ramirez, J., Ambroa-Conde, A., vd. (2020). Broadening the Applicability of a Custom Multi-Platform Panel of Microhaplotypes: *Bio-Geographical Ancestry Inference and Expanded Reference Data Front Genet*, 11, 581041. [Crossref]
- Devranoglu, D., Tavaci, I., Filoglu, G., vd. (2021). *Effect of Type of Degraded DNA Samples on Human Eye Color Prediction Pakistan Journal of Zoology*, 53(4), 1201-1209. [Crossref]
- Diepenbroek, M., Bayer, B., Schwender, K., vd. (2020). Evaluation of the Ion AmpliSeq PhenoTrivium Panel: *MPS-Based Assay for Ancestry and Phenotype Predictions Challenged by Casework Samples Genes (Basel)*, 11(12). [Crossref]
- Fondevila, M., Phillips, C., Naveran, N., vd. (2008). Case report: identification of skeletal remains using short-amplicon marker analysis of severely degraded DNA extracted from a decomposed and charred femur *Forensic Sci Int Genet*, 2(3), 212-218. [Crossref]
- Fondevila, M., Phillips, C., Santos, C., vd. (2013). Revision of the SNPforID 34-plex forensic ancestry test: Assay enhancements, standard reference sample genotypes and extended population studies *Forensic Sci Int Genet*, 7(1), 63-74. [Crossref]
- Forat, S., Huettel, B., Reinhardt, R., vd. (2016). Methylation markers for the identification of body fluids and tissues from forensic trace evidence *PLoS ONE*, 11. [Crossref]
- Formici, G. (2021). From "familial searching" to "forensic genetic genealogy": New frontiers - and challenges - of *DNA analysis in criminal investigations BioLaw Journal*, 2021, 305-328. [Crossref]
- Freire-Aradas, A., Phillips, C. P., & Lareu, M. V. (2017). Forensic individual age estimation with DNA: *From initial approaches to methylation tests Forensic science review*, 29, 121-144.
- Freire-Aradas, A., Ruiz, Y., Phillips, C., vd. (2014). Exploring iris colour prediction and ancestry inference in admixed populations of *South America Forensic Sci Int Genet*, 13, 3-9. [Crossref]
- Fujimoto, S., Manabe, S., Morimoto, C., vd. (2019). Distinct spectrum of microRNA expression in forensically relevant body fluids and probabilistic discriminant approach *Scientific Reports*, 9, 14332. [Crossref]
- Greytak, E. M., Moore, C., & Armentrout, S. L. (2019). Genetic genealogy for cold case and active investigations *Forensic Science International*, 299, 103-113. [Crossref]
- Hadrill, P. R. (2021). Developments in forensic DNA analysis *Emerg Top Life Sci*. [Crossref]
- Hampton-Marcell, J. T., Lopez, J. V., & Gilbert, J. A. (2017). The human microbiome: *an emerging tool in forensics Microbial Biotechnology*, 10, 228-230. [Crossref] [Crossref]
- İşcan, Y., Loth, S., & Wright, R. (1984). Age estimation from the rib by phase analysis: *white males J Forensic Sci*, 29, 1094-1114. [Crossref]
- Kayser, M. (2015). Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes *Forensic Sci Int Genet*, 18, 33-48. [Crossref]
- Kayser, M. (2017). Forensic use of Y-chromosome DNA: *a general overview Hum Genet*, 136(5), 621-635. [Crossref]
- Kidd, K. K., Pakstis, A. J., Speed, W. C., vd. (2006). Developing a SNP panel for forensic identification of individuals *Forensic Sci Int*, 164(1), 20-32. [Crossref]
- Kidd, K. K., Pakstis, A. J., Speed, W. C., vd. (2014). Current sequencing technology makes microhaplotypes a powerful new type of genetic marker for forensics *Forensic Sci Int Genet*, 12, 215-224. [Crossref]
- Kidd, K. K., & Speed, W. C. (2015). Criteria for selecting microhaplotypes: *mixture detection and deconvolution Investig Genet*, 6, 1. [Crossref]
- Kidd, K. K., Speed, W. C., Pakstis, A. J., vd. (2014). Progress toward an efficient panel of SNPs for ancestry inference *Forensic Sci Int Genet*, 10, 23-32. [Crossref]
- Kidd, K. K., Speed, W. C., Pakstis, A. J., vd. (2017). Evaluating 130 microhaplotypes across a global set of 83 populations *Forensic Sci Int Genet*, 29, 29-37. [Crossref]
- Kling, D., Phillips, C., Kennett, D., vd. (2021). Investigative genetic genealogy: Current methods, knowledge and practice *Forensic Science International: Genetics*, 52, 102474. [Crossref]
- Larmuseau, M. H. D., Van Geystelen, A., Van Oven, M., vd. (2013). Genetic genealogy comes of age: Perspectives on the use of deep-rooted pedigrees in human population genetics *American Journal of Physical Anthropology*, 150, 505-511. [Crossref]
- Lynch, C., & Fleming, R. (2020). RNA -based approaches for body fluid identification in forensic science *WIREs Forensic Science*, 1-23. [Crossref]
- Neckovic, A., van Oorschot, R. A. H., Szkuta, B., vd. (2020). Challenges in human skin microbial profiling for forensic science: *a review Genes*, 11, 1-16. [Crossref]
- Oldoni, F., Kidd, K. K., & Podini, D. (2019). Microhaplotypes in forensic genetics *Forensic Sci Int Genet*, 38, 54-69. [Crossref]
- Pakstis, A. J., Speed, W. C., Kidd, J. R., vd. (2008). SNPs for individual identification *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 1(1), 479-481. [Crossref]
- Palencia-Madrid, L., Xavier, C., de la Puente, M., vd. (2020). Evaluation of the VISAGE Basic Tool for Appearance and Ancestry Prediction Using PowerSeq Chemistry on the *MiSeq FGx System Genes (Basel)*, 11(6). [Crossref]
- Parson, W., Huber, G., Moreno, L., vd. (2015). Massively parallel sequencing of complete mitochondrial genomes from hair shaft samples *Forensic Sci Int Genet*, 15, 8-15. [Crossref]
- Parson, W., Strobl, C., Huber, G., vd. (2013). Evaluation of next generation mtGenome sequencing using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM) *Forensic Sci Int Genet*, 7(5), 543-549. [Crossref]
- Phillips, C. (2004). Selecting single nucleotide polymorphisms for forensic applications *International Congress Series*, 1261, 18-20. [Crossref]
- Phillips, C. (2012). Application of Autosomal SNPs and Indels in *Forensic Analysis Forensic Sci Rev*, 24(1), 43-62. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26231357>
- Phillips, C. (2015). Forensic genetic analysis of bio-geographical ancestry *Forensic Sci Int Genet*, 18, 49-65. [Crossref]
- Phillips, C. (2018). The Golden State Killer investigation and the nascent field of *forensic genealogy Forensic Sci Int Genet*, 36, 186-188. [Crossref]
- Phillips, C., Prieto, L., Fondevila, M., vd. (2009). Ancestry analysis in the 11-M Madrid bomb attack investigation *PLoS One*, 4(8), e6583. [Crossref]
- Porrás, L., Phillips, C., Fondevila, M., vd. (2009). Genetic variability of the SNPforID 52-plex identification-SNP panel in *Central West Colombia Forensic Sci Int Genet*, 4(1), e9-10. [Crossref]
- Ralf, A., van Oven, M., Montiel Gonzalez, D., vd. (2019). Forensic Y-SNP analysis beyond SNaPshot: High-resolution Y-chromosomal haplogrouping from low quality and quantity DNA using Ion AmpliSeq and targeted massively parallel sequencing *Forensic Sci Int Genet*, 41, 93-106. [Crossref]
- Saha, A., Wittmeyer, J., & Cairns, B. R. (2006). Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 437-447. [Crossref]
- Sanchez, J. J., Børsting, C., Hallenberg, C., vd. (2003). Multiplex PCR and minisequencing of SNPs-a model with 35 Y chromosome SNPs *Forensic Science International*, 137(1), 74-84. [Crossref]
- Sanchez, J. J., Phillips, C., Børsting, C., vd. (2006). A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification *Electrophoresis*, 27(9), 1713-1724. [Crossref]
- Schmedes, S. E., Woerner, A., & Budowle, B. (2019). Forensic human

identification using skin microbiome genetic signatures *Microbial Forensics*, 155-169. [\[Crossref\]](#)

Schneider, P. M., Prainsack, B., & Kayser, M. (2019). The Use of Forensic DNA Phenotyping in *Predicting Appearance and Biogeographic Ancestry Dtsch Arztebl Int*, 51-52[51-52], 873-880. [\[Crossref\]](#)

Tavaci, İ., Şimşek, S. Z., Sapan, V., vd. (2021). Optimization and Validation of HirisPlex Panel for Predicting of the Eye and Hair Color Türkiye Klinikleri *Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences*, 18(1), 10-20. [\[Crossref\]](#)

van Baak, T. E., Coarfa, C., Dugué, P. A., vd. (2018). *Epigenetic super-similarity of monozygotic twin pairs Genome Biology*, 19, 1-20. [\[Crossref\]](#)

Vidaki, A., Daniel, B., & Court, D. S. (2013). Forensic DNA methylation profiling - Potential opportunities and challenges *Forensic Science International: Genetics*, 7, 499-507. [\[Crossref\]](#)

Vidaki, A., Kalamara, V., Carnero-Montoro, E., vd. (2018). Investigating the epigenetic discrimination of identical twins using buccal swabs, saliva, and cigarette butts in *the forensic setting Genes*, 9. [\[Crossref\]](#)

Walsh, S., Chaitanya, L., Breslin, K., vd. (2017). Global skin colour

prediction from *DNA Hum Genet*, 136(7), 847-863. [\[Crossref\]](#)

Walsh, S., Liu, F., Ballantyne, K. N., vd. (2011). IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information *Forensic Sci Int Genet*, 5(3), 170-180. [\[Crossref\]](#)

Wilkins, D., Tong, X., Leung, M. H. Y., vd. (2021). Diurnal variation in the human skin microbiome affects accuracy of *forensic microbiome matching Microbiome*, 9, 1-12. [\[Crossref\]](#)

Woźniak, A., Heidegger, A., Piniewska-Róg, D., vd. (2021). Development of the VISAGE enhanced tool and statistical models for epigenetic age estimation in blood, *buccal cells and bones Aging (Albany NY)*, 13(5), 6459-6484. [\[Crossref\]](#)

Xu, Qu, H., Wang, G., vd. (2015). *A novel strategy for forensic age prediction by DNA methylation and support vector regression model Scientific Reports*, 5, 17788. [\[Crossref\]](#)

Zbieć-Piekarska, R., Spólnicka, M., Kupiec, T., vd. (2015). Development of a forensically useful age prediction method based on DNA methylation analysis *Forensic Science International: Genetics*, 17, 173-179. [\[Crossref\]](#)

