T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman

Doç. Dr. Gönül Filoğlu

YENİ INDEL PANELİNİN TÜRKİYE'DEKİ POLİMORFİZMİ VE ÖNEMİ

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

BİYOLOG SEBAHAT TAŞ

İSTANBUL, 2022

Bu tez projesi, TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 217S586

ÖNSÖZ

Doktora tezimin gerçekleşmesinde katkıda bulunan İ.Ü. Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Erdinç ÖZTÜRK, Müdür Yardımcısı Doç. Dr. Selda MERCAN, Fen Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emel Hülya Yükseloğlu'na

Tezime başladığım ilk günden bana duyduğu güvenle beni her aşamada destekleyen, bilgi ve yorumlarıyla takıldığım yerde yoluma ışık tutan en önemlisi en zor zamanlarımda dahi güler yüzünü ve hoşgörüsünü eksik etmeyen değerli hocamız Doç. Dr. Gönül FİLOĞLU'na

Derslerinde bilgi, birikim ve güler yüzlerini eksik etmeyen değerli hocalarım; Prof. Dr. Faruk Aşıcıoğlu, Prof. Dr. Gürsel Çetin, Doç. Dr. Gönül Filoğlu, Doç. Dr. Özlem Bülbül Ercan, Doç. Dr. Hüseyin Çakan, Prof. Dr. Emel Hülya Yükseloğlu, Prof. Dr. Salih Cengiz, Doç. Dr. Zeynep Türkmen ve teşekkür etmek istiyorum.

Tez aşamamda laboratuvarda geçirdiğim ilk günden desteklerini esirgemeyen Hüseyin Karadayı'ya

Yardımlarını ve manevi desteklerini hep hissettiğim Arzu Düvenci, Selen Özyer, Sümeyye Zülal Şimşek ve Öğr. Gör. Ömer Karataş'a;

Beni daima maddi ve manevi olarak destekleyen eşime, aileme ve varlığını her zaman yanımda hissettiğim canım kardeşim Serkan POLAT' a sonsuz teşekkür ediyorum.

Sebahat Taş

İÇİNDEKİLER

Tablolar Listesi vi

Şekiller Listesi vii

Özet 1

İngilizce Özet (Abstract) 3

1. Giriş ve Amaç 5

2. Genel Bilgiler 7

2.1. Dna'nın Yapısı Ve Keşfi 7

2.2. Adli Bilimlerde Kullanılan Markırlar (Belirteçler) 9

2.3. Adli Bilimlerde Kullanılan Diğer Markır Çeşitleri 14

2.3.1. Y-STR Markırları 14

2.3.2. MtDNA Markırları 15

2.4. InDel'lerin Keşfi Ve Özellikleri 16

2.5. InDel Mutasyonlarının Oluşum Mekanizması 19

2.5.1. Polimeraz kayması ve yanlış eşleşme 19

2.5.2. İkincil yapı oluşumu 21

2.5.3. DNA kırıklarının onarımı 21

2.5.5. Nokta mutasyonlar 22

2.5.6. Kromozom mutasyonları 22

2.6. Mutasyonların Görülme Sıklıkları 22

2.7. Adli Genetikte Indel Polimorfizminin Avantajları ve Uygulamaları 23

2.8. Adli DNA Analizi 27

2.9. DNA Veri Tabanı 28

2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 28

2.11. Popülasyon Genetiği 29

2.11.1. Hardy Weinberg dengesi 31

2.12. Adli Bilimlerde İstatistiki Parametreler 33

2.12.1. Eşleşme olasılığı 33

2.12.2. Ayrım gücü 33

2.12.3. Dışlama gücü 34

2.12.4. Polimorfik bilgi içeriği 34

2.13. Veri Analizinde Kullanılan Programlar 35

2.13.1. Arlequin 3. 5. 35

2.13.2. Genetix 4.0.5 35

2.13.3. Mega X V.10.0.5. 35

2.13.4. Powerstats V.1.12 35

3. Gereç ve Yöntem 37

3.1. Deneyde Kullanılan Gereçler 38

3.1.1. Cihazlar 38

3.1.2. Ticari kitler 38

3.1.3. Kapiler elektroforez aşamasında kullanılan kimyasallar 38

3.1.4. Kit dışı kimyasal maddeler 39

3.2. Çalışmada Kullanılan Dna Örneklerinin Toplanması 39

3.3. Deney Aşaması 46

3.3.1. DNA İzolasyonu ve DNA miktar tayini 46

3.3.1.1. QIAamp® dna mini kit ile ağız içi sürüntü örneklerinden dna izolasyon protokolü 46

3.3.1.2. Quant-İt™ DsDNA Hs (High Sensetive) assay kit ile DNA miktar tayini protokolü 47

3.3.2. PCR aşaması 47

3.3.3. PCR programı 50

3.3.4. PCR ürünlerinin ABI Prısm® 3130 genetik analizör cihazında analizi 50

3.3.4.1. Örnek hazırlanması 50

3.3.4.2. Örneklerin elektroforezi 51

3.4. Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler 51

4. Bulgular 53

4.1. 36- Indelpleks Panelinin Türkiye Populasyonundaki Polimorfizminin Belirlenmesi 53

4.2. İstatistiksel Bulgular 57

4.2.1. 36- Indelpleks panelinin Türkiye populasyonundaki alel frekansları 57

4.2.2. Hardy-Weinberg dengesi 59

4.2.3. Adli istatistik parametreleri 60

4.2.3.1. Popülasyonlar arası farklılaşma (Fst Değerleri) 64

4.2.3.2. Filogenetik ağaç çizimi 69

5. Tartışma 71

6. Kaynaklar 80

Özgeçmiş 106

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo I. Popülasyon genetiğinde önemli gelişmeler (91)..... 14

Tablo II. Kısa amplikon ve basit iş akışında InDel polimorfizm analizi (2)..... 26

Tablo III. Çalışmada Kullanılan Türkiye Popülasyon Dağılımı..... 39

Tablo IV. 36- InDelpleks lokuslarının kromozomal yerleşimi ve floresans boya seçimi..... 42

Tablo V. Çalışmada kullanılan Ensemble veri bankasının popülasyon verileri ve örnek sayıları..... 44

Tablo VI. PCR Bileşenleri ve miktarları..... 48

Tablo VII. PCR Primer karışım miktarları..... 48

Tablo VIII. PCR koşulları..... 50

Tablo IX. Elektroforez bileşenleri ve miktarlar..... 51

Tablo X. 36- InDelpleks panelinin Türkiye popülasyonundaki alel frekansları..... 57

Tablo XI. 36- InDelpleks panelinde ID21(rs56168866) lokusunda tri (üç) alelik polimorfizm..... 58

Tablo XII. 36-Indelpleks panelinin Hardy-Weinberg denge tablosu..... 60

Tablo XIII. 34 InDel lokusunun adli istatistik analiz parametreleri..... 61

Tablo XIV. 34 InDel lokusuna ait Türkiye ve Ensembl veri tabanındaki farklı popülasyonlara ait alel frekansları..... 65

Tablo XV. 36-InDelpleks'in popülasyonlar arası Fst değerleri..... 66

Tablo XVI. 36- InDelpleks panelinin Avrupa ülkeleri arası Fst değerleri..... 66

Tablo XVII. 36- InDelpleks panelinin popülasyonlar arası her lokus için Fst değerleri..... 67

Tablo XVIII. 36- InDelpleks panelinin Avrupa popülasyonları arası Fst Değerleri..... 68

Tablo XIX. Kapiler elektroforez bazlı sistemlerin CMP, CDP ve CPE değerlerinin karşılaştırılması..... 74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Bir nükleotidin genel şekli ve azot içeren dört bazın yapısı. 7

Şekil 2: DNA'nın yapısı (5) 8

Şekil 3: VNTR bölgesi ve DNA parmakizi (5) 10

Şekil 4 :Olay yerinde elde edilen DNA ile şüpheli DNA profili karşılaştırması (25). 12

Şekil 5: mtDNA 'nın Adli amaçlı kullanlan bölgeleri (42) 15

Şekil 6: Kromozom boyutunda İnsersiyon ve Delesyon (48,49) 16

Şekil 7: Baz dizisi üzerinde insersiyon ve delesyonun gösterimi (55) 17

Şekil 8: PCR aşamaları (78) 29

Şekil 9: Çalışmada kullanılan Örneklerin 2018 Nüfus Oranlarına göre bölgesel dağılımı 40

Şekil 10: Çalışılan 250 kişiye ait örneklerin coğrafik dağılım 41

Şekil 11. 36- Indelpleks paneline ait lokuslarının kromozom üzerindeki dağılımları ve yeri 45

Şekil 12: 36- InDelpleks panelinin kapiler elektroforez sonucu elde edilen elektroforegram görünümüne (pozisyonuna) ait şematik görüntüsü 49

Şekil 13: 36- InDelpleks panelinin bir kadın genotipine ait elektroforegram görüntüsü 55

Şekil 14: 36- InDelpleks panelinin bir erkek genotipine ait elektroforegram görüntüsü 56

Şekil 15: 36- InDelpleks panelinin Türkiye popülasyonu alel frekans oranlarının grafiksel görüntüsü 59

Şekil 16: 36-Indelpleks panelinin adli istatistik analiz parametrelerinin grafiksel görüntüsü 63

Şekil 17: 34 InDel lokusunun popülasyonlar arasındaki alel frekansları grafiği 64

Şekil 18: 36- InDelpleks panelinin dünya ülkeleriyle komşu birleştirme ağaç yöntemi ile çizilen filogenetik ağacı 69

Şekil 19: 36- InDelpleks panelinin Avrupa ülkeleriyle komşu birleştirme ağaç yöntemi ile çizilen filogenetik ağacı 70

KISALTMALAR

A: Adenin

ABI: Applied Biosystems, Inc

AR-GE: Araştırma-Geliştirme

AW1: Wash buffer 1 (Yıkama tamponu 1)

AW2: Wash buffer 2 (Yıkama tamponu 2)

Bç: Baz çifti

Buffer AE: Elution buffer (Elüsyon tamponu)

Buffer AL: Lysis buffer (Lizis tamponu)

C: Cytosine (Sitozin)

Del: Delesyon (Çıkarma)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

dsDNA: Double stranded DNA (çift zincirli DNA)

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

FST: Fixation Index (Fiksasyon indeksi-Popülasyonlar arası genetik uzaklık)

G: Guanin

HLA: Human Leukocyte Antigens (İnsan lökosit antijeni)

HWD: Hardy-Weinberg Dengesi

Ins: İnsersiyon (Eklenme)

InDel: İnsersiyon-Delesyon (Eklenme-Çıkarma)

Kb: Kilobaz

Kbç: Kilobaz çifti

µl: Microliter (Mikrolitre)

mRNA: Mesajcı RNA

PBS: Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponu çözeltisi)

PCR: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PD: Power of Discrimination (Ayrım Gücü)

PE: Power of Exclusion (Dışlama Gücü)

PIC: Polymorphism Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)

PM: Probability of Match (Eşleşme Olasılığı)

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

Rfu: Relative Flourescence Units (Rölatif Floresan Birimi)

Rpm: Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)

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

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)

STR: Short Tandem Repeats (Kısa tekrar dizileri)

T: Timin

TPI: Typical Paternity Index (Tipik Babalık İndeksi)

U: Urasil

VNTR: Variable Number of Tandem Repeats (Değişken sayıda ardışık

Özet

Teknolojinin her geçen gün artan ivmeyle gelişmesi diğer bilimsel alanlarda olduğu gibi Adli bilimlerde de yeni teknik ve yöntemlerin kazanımını sağlamıştır. Günümüzde Adli vakalarda DNA profili belirlemede STR ve SNP olmak üzere iki yaygın sistem kullanılmaktadır. STR nin yüksek mutasyon oranlarına sahip olmasıyla birlikte büyük amplikonlara ihtiyaç duyması ve SNP'lerin de pahalı ve yüksek teknolojilere ihtiyaç duyması son zamanlarda keşfedilen insersiyon/delesyon polimorfizmine (InDeL) olan ilgiyi büyük oranda arttırmıştır. 36- InDelpleks (34 otozomal InDel lokusu, 1 Y InDel lokusu ve amelogenin) paneli ‘’Ulusal Yeni Fikirler ve Ürünler Araştırma Destek Programı" kapsamında 217S586 numaralı "Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere InDel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi" başlıklı proje kapsamında geliştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı 36- InDelpleks panelinin adli laboratuvarlarda genetik kimliklendirmede ve nesep tayininde kullanılabilmesi için Türkiye popülasyonundaki gen sıkları ve adli istatistiki parametreleri belirlenerek dünya popülasyonlarıyla karşılaştırmaktır. Bunun için Türkiye'nin tüm bölgelerini homojen bir şekilde temsil eden 250 kişiden alınan sıvap örnekleri kullanıldı.

Örneklerin, DNA izolasyonu ve miktarı (0,5-1 ng/ul) belirlendikten sonra optimize edilmiş 36- InDelpleks paneli kullanılarak PCR'ı yapıldı. PCR ürünleri, ABI PRISM® 3130 genetik analizör cihazında yürütüldü ve Genemapper® v.4 programında analiz edilerek 250 kişinin 36 InDel lokusunun genotipi belirlendi.

Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programı kullanılarak 36- InDelpleks'in alel frekansları, popülasyonlar arası farklılaşması (Fst) ve Hardy-Weinberg dengesi hesaplandı. Filogenetik ağaç çizimi için Mega X v.10.0.5 programı kullanıldı. Hesaplanan gen sıklıklarının Bonferonni düzeltmesi uygulandıktan sonra bir lokus haricinde diğer lokuslarda Hardy-Weinberg dengesinden sapma gözlenmedi. 34 InDel lokusunun Avrupa, Afrika, Amerika, Güney Asya,

Doğu Asya popülasyonlarına ait Fst verileri Türkiye popülasyonu Fst verileriyle karşılaştırılması sonucunda Türkiye popülasyonunun en çok Avrupa popülasyonuyla genetik olarak benzer olduğu görüldü.

36- InDelpleks panelinin adli istatistiksel parametreleri PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak hesaplandı. Buna göre panelin ortalama heterozigotluk oranı 0,48, dışlama olasılığı (Cumulative Probability of Exclusion, CPE) 0,9987572351 ve ayrım gücü (Combined discrimination power, CPD) 0,999999999999988 olarak hesaplandı. Söz konusu panel tek başına çalışıldığında hem kimliklendirmede hem de nesep tayininde kullanılabilecek güçte gerekli dışlama ve ayrım gücüne ulaşılabildiği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Adli Tıp, Adli Bilimler, Adli Genetik, Genetik Kimliklendirme, İnsersiyon/Delesyon (InDel) Polimorfizmi, Kit Geliştirme

İngilizce Özet (Abstract)

Two common systems, STR and SNP, are used for DNA profiling in forensic cases today. The fact that STR has high mutation rates and needs large amplicons, and SNPs require expensive and high technologies have significantly increased the interest in the recently discovered insertion/deletion polymorphism (InDeL). 36- InDelplex panel (34 autosomal InDel loci, 1 Y InDel locus, and amelogenin) was developed within the scope of the "Development of InDel Loci Kit for Use in Forensic Identification" project numbered 217S586 within the scope of the National New Ideas and Products Research Support Program. The aim of this study is to determine the gene frequencies and forensic statistical parameters in the Turkish population and compare them with the world populations so that the 36- InDelplex panel can be used in genetic identification and paternity testing in forensic laboratories. Thus, swab samples taken from 250 people representing all regions of Turkey homogeneously were used.

Following DNA isolation and determination of the sample amount (0.5-1 ng/ul), PCR was performed using the optimized 36-InDelplex panel. PCR products were run on ABI PRISM® 3130 genetic analyzer, analyzed in the Genemapper® v.4 program, and the genotypes of 36 InDel locus of 250 people were determined.

Allele frequencies, inter-population differentiation (Fst), and Hardy-Weinberg equilibrium of 36- InDelplex were calculated using the Arlequin v.3.5.1.2 software. Mega X v.10.0.5 program was used for the phylogenetic tree drawing. Following the Bonferonni correction of the calculated gene frequencies, no deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium was observed in other loci, except for one locus. As a result of the comparison of the Fst data of 34 InDel loci from European, African, American, South Asian, and East Asian populations with the Fst data of the Turkish population, it was seen that the Turkish population was genetically most similar to the European population.

The statistical parameters of the 36-InDelplex panel were calculated using a Powerstats (Promega) Microsoft® Excel file. Accordingly, the mean heterozygosity ratio of the panel was 0.48, the cumulative probability of exclusion (CPE) was 0.9987572351, and the combined discrimination power (CPD) was 0.999999999999988. When the panel in question was studied alone, it was observed that the necessary exclusion and discrimination power can be achieved, which can be used both in identification and in paternity testing.

Key Words: Legal Medicine, Forensic Sciences, Forensic Genetics, Genetic Identification, Insertion/Deletion (InDel) Polymorphism, Kit Development

1. Giriş ve Amaç

DNA analizleri adli bilimlerin önemli bir bölümünü oluşturur. Teknolojinin her geçen gün artan ivmeyle gelişmesi, diğer bilimsel alanlarda olduğu gibi adli bilimlerde de yeni teknik ve yöntemlerin gelişmesine katkı sağlamıştır (1). Adli vakalarda olay yerinde bulunan biyolojik materyallerden elde edilen DNA profiliyle, dışlama veya dahil etme yöntemi kullanılarak şüpheli kişilerin olayla ilişkisi olup olmadığı belirlenebilmektedir. Günümüzde DNA profili belirlemede yaygın olarak STR (Kısa tekrar dizileri) sistemi ve son zamanlarda da SNP (Tek nükleotid polimorfizmi) sistemleri olmak üzere iki sistem kullanılmaktadır.

STR'lerin yüksek oranda polimorfizim göstermeleri ve düşük mutasyon oranına sahip olmaları adli genetikte kullanımını yaygınlaştırmıştır (2). Son yıllarda adli örneklerde daha iyi profilleme başarısı elde etmek amacıyla STR'lere kıyasla daha küçük amplikonlara sahip SNP lokusları da kullanılmaktadır (3). SNP'ler, genomda tek bir nükleotid değişimiyle ortaya çıkan DNA dizi varyasyonlarıdır. Nesilden nesile çok fazla değişmediklerinden evrimsel açıdan kararlıdırlar. Popülasyon çalışmalarında, nesep tayininde, kimliklendirmede, biyocoğrafik soy tayininde ve fenotip belirlemede genetik belirteç (markır) olarak kullanılmaktadırlar. Ancak SNP tipleme tekniği karmaşık ve pahalı prosedürlere ihtiyaç duymaktadır (1). Bu nedenle son zamanlarda keşfedilen insersiyon/delesyon polimorfizm (InDel) çalışmaları hız kazanmıştır.

İnsersiyon/delesyon veya yaygın olarak InDel DNA dizisine nükleotit dizisinin eklenmesi ya da çıkarılması ile oluşmuş genetik varyasyonlardır (3). InDel'ler genom boyunca çok yaygın şekilde bulunurlar (2) ve adli genetikte, babalık ve akrabalık analizinde, popülasyon genetik çalışmalarında ve tıbbi genetik gibi birçok farklı alanda kullanılırlar (1). Ayrıca InDel'lerin kısa amplikonlara sahip olmaları bozulmuş DNA örneklerinde başarılı DNA profili elde etme şansını yükseltir.

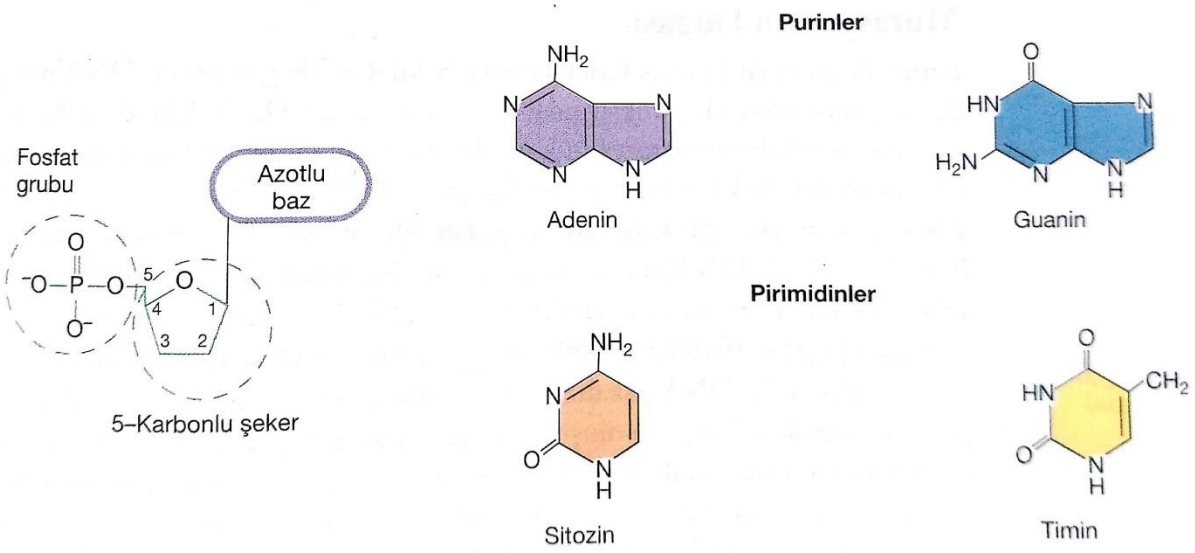
Genetik markırların adli kimliklendirmede kullanılabilmesi için söz konusu popülasyonda ne şekilde ve hangi sıklıkta bulunduklarının belirlenmesi gerekir. Bu tez çalışmasının amacı

"Ulusal Yeni Fikirler ve Ürünler Araştırma Destek Programı" kapsamında "Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere InDel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi" başlıklı proje kapsamında geliştirilen 36- InDelpleks panelinin (34 otozomal InDel ve cinsiyet belirteci 1 Y InDel ve amelogenin) gen sıklıkları ve adli istatistiki parametreleri (heterozigutluk oranı, ayrım gücü, dışlama gücü, babalık indeksi v.b) belirlenerek Türkiye'deki adli laboratuvarlarda kimliklendirmede ve nesep tayininde kullanılmasını sağlamaktır. Aynı zamanda dünya popülasyon verileriyle de karşılaştırılarak Türk toplumunun dünya popülasyonlarıyla olan genetik uzaklığının da belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Genel Bilgiler

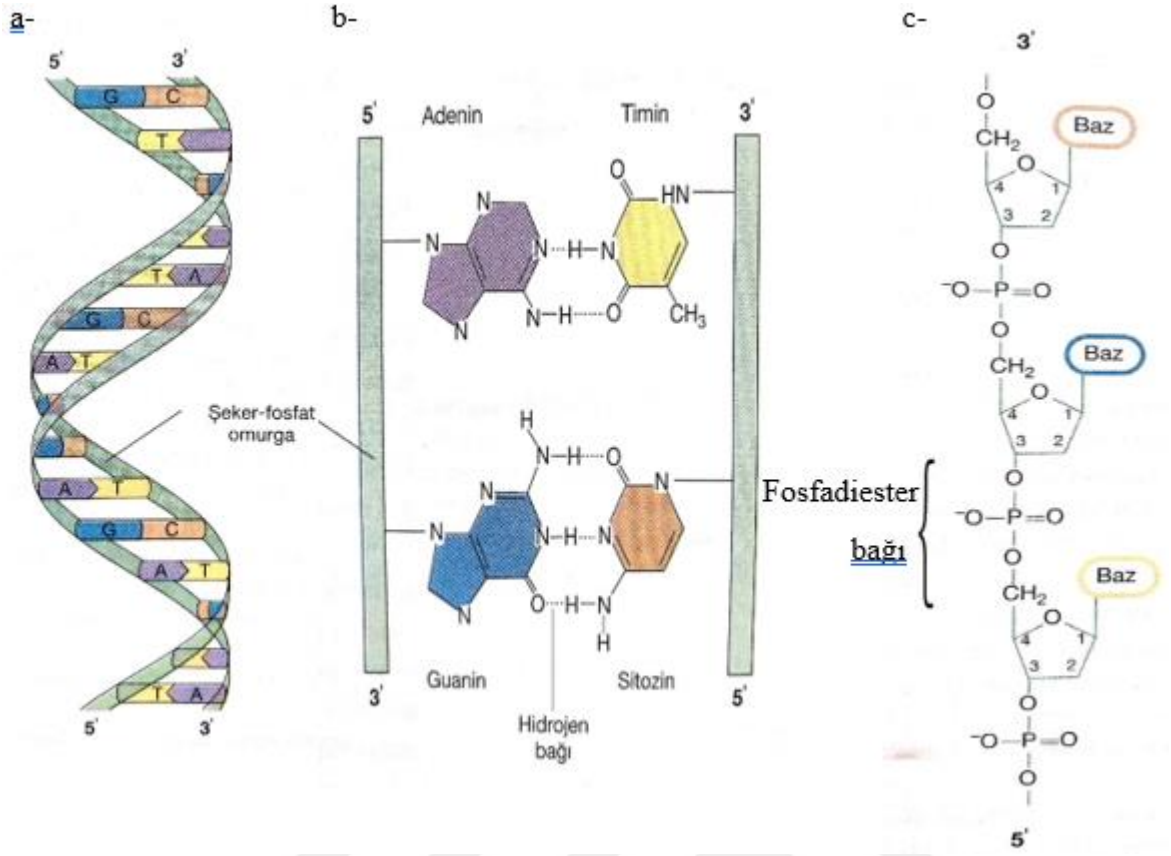
2.1. DNA'nın Yapısı ve Keşfi

DNA'da birbirine yapısal olarak benzer dört adet deoksiribonükleotid bulunur. Deoksiribonükleotidlerin her biri deoksiriboz olarak adlandırılan 5-karbonlu bir şeker, bir fosfat grubu ve azot içeren bazdan oluşur. Bunlar primidin (sitozin ve timin) ve pürin (adenin ve guainin) bazlarıdır. Şekil 1'de sağda bir nükleotidin genel şekli ve sağda azot içeren dört bazın yapısı gösterilmektedir. DNA molekülü çekirdekli hücre içeren her biyolojik materyalde bulunur (4).



Şekil 1: Bir nükleotidin genel şekli (solda) ve azot içeren dört bazın yapısı (sağda) (5).

1953 yılında James Watson ve Fransic Crick tarafından ilk kez DNA'nın çitf sarmal yapısı keşfedilmiştir ve DNA'nın kopyalanması için komplementer baz eşleşmesinin gerekli olduğu gösterilmiştir. 1960 yılında ise Arthur Korngberg DNA'nın kopya edilmesinden sorumlu olan DNA polimeraz enzimini ilk kez izole etmiştir (4).



Şekil 2: DNA'nın yapısı (5)

DNA molekülünün çift-sarmal görüntüsü Şekil 2(a)'da verilmiştir. DNA'nın çift sarmal yapısının keşfi diğer moleküler araştırmaların gelişimine katkı sağlamıştır. Şekil 2(b)'de adenin ve timin arasında iki hidrojen bağı, sitozin ve guanin arasında üç hidrojen bağı bulunmaktadır. Bir nükleotidin 5' karbonu ile 3' karbonu arasında oluşan fosfodiester bağları sayesinde, Şekil 2-(c)'de görüldüğü gibi nükleotidler uzun zincir oluşturacak şekilde birbirlerine bağlanırlar (5).

Proteinlerin sentezini kodlayan ve düzenleyen DNA bölgelerine gen denir. Bir organizmanın kalıtım materyalinde bulunan genlerin tümü genomu oluşturur. Son yapılan araştırmalar insan genomunun yaklaşık 20.000 ila 25.000 gen içerdiği ve genomun yaklaşık %1.5'inin doğrudan protein kodlamasına katılmaktadır (6). Kodlama yapmayan gen bölgeleri ise genlerin düzenlenmesiyle ilgilidir. DNA'nın yaklaşık %23'ü intronlardan ve psödogenlerden oluşur. Genomun büyük kısmı (yaklaşık %50'den fazlası) tekrarlayan DNA dizilerinden meydana gelir (7).

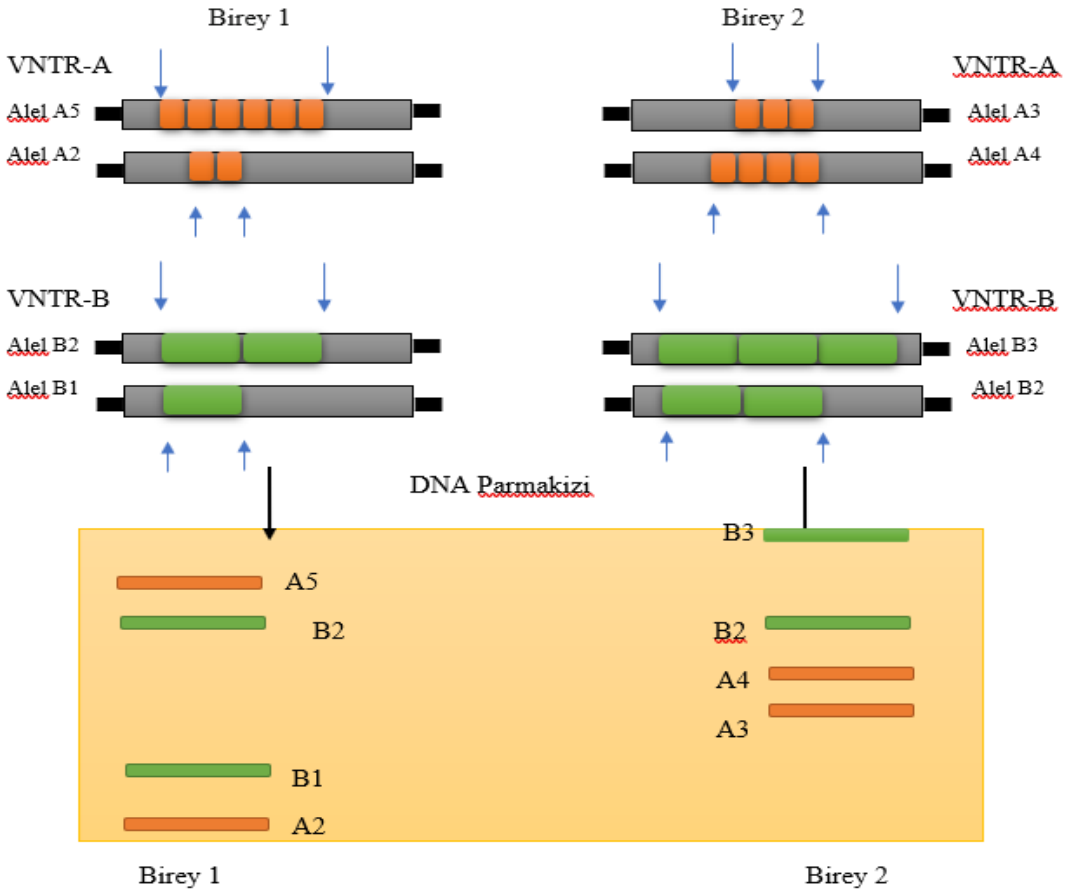
2.2. Adli Bilimlerde Kullanılan Markırlar (Belirteçler)

Adli bilimler, yalnızca ceza hukuku değil, aynı zamanda hukuk davalarında da yasal sorunların çözülmesine yardımcı olmayı amaçlayan bir uzmanlık alanıdır. Bu uzmanlık alanı biyoloji, kimya, fizik ve matematik arasındaki sınırları aşan ve botanik ve balistik gibi çeşitli disiplinlerin yanı sıra parmak izi, kulak izi, ses ve el yazısı analizlerini içeren büyük bir yelpazeye sahiptir (8). Adli genetik, adli bilimlerin önemli bir bilim dalıdır (8). Bu alanda, olay yerinden elde edilen DNA profili ile şüpheli DNA profilinin karşılaştırılarak failin belirlenmesi ve kayıp kişilerin kimliklendirilmesi yapılmaktadır (9).

Adli genetiğin gelişimi bir asırdan daha uzun bir süre önce Karl Landsteiner'ın insan ABO kan grubu polimorfizmini keşfetmesiyle başlar (10). Bu keşif olay yerinden gelen biyolojik örneğin olayla ilgisi olmayan şüphelileri ‘’dışlama’’ olanağı sağlamaktaydı. Kan grupları sınırlı polimorfizme sahip olduğundan yanlışlıkla bir bireyin olayla ilgisi olmadığı halde olaya dâhil edilebilmekteydi (11). 1966 yılında birçok eritrosit enziminin ve serum proteininin elektroforetik değişkenliğe sahip olduğu ve popülasyon genetik çalışmalarında kullanılabileceği Harry Harris tarafından gösterilmiştir (12). Ancak bu genetik belirteçlerin hızlı bir şekilde parçalanması veya bakteriyel enzimler tarafından bozulma riski vardı (8). Ayrıca bu sistemlerin ayrım gücü düşüktü ve her dokuda tiplendirme yapılamıyordu (13). Bu sistemlerle yapılan çalışmalar 1985 yılında Alec Jeffreys tarafından ‘’minisatelliter’’ olarak bilinen hiperdeğişken lokusların keşfine kadar devam etti (14).

İnsan genomunun yaklaşık %99,5 ile %99,8’i temelde herkeste için aynıdır ve geriye kalan %0,2- %0,5 ‘lik kısım kişiler arasındaki benzersizliği sağlamak için yeterlidir (15). Ardışık tekrar DNA dizileri farklı bireyler arasında çeşitlilik gösterir. Bu bölgelerin çoklu lokus problama (multi locus probing- MLP) tekniğiyle çalışılması ilk kez 1986 yılında İngiltere’de bir olgunun aydınlatılmasında kullanılmıştır (14). Değişken sayıda ardışık tekrar eden minisatellitler (Değişken sayıda ardışık tekrarlar -VNTR), restriksiyon enzimi ile kesilerek

Southern blot tekniğiyle sınırlandırılmış parça uzunluk polimorfizmi (Sınırlayıcı parça uzunluğu polimorfizmi-RFLP) ile Şekil 3'de görüldüğü şekilde belirleniyordu (8).



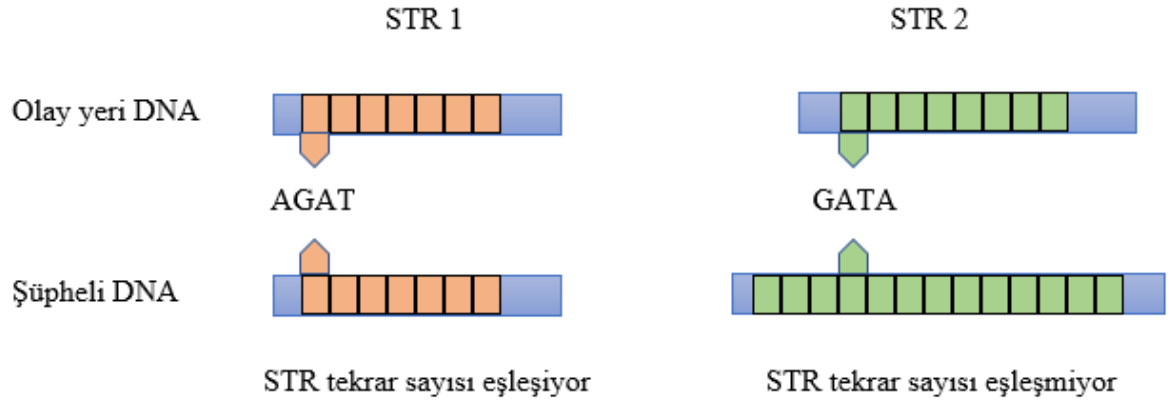
Şekil 3: VNTR bölgesi ve DNA parmakizi (5)

Şekil 3'te iki bölgedeki (A ve B) VNTR alelleri her birey için gösterilmiştir. Oklar, VNTR'leri kesen restriksiyon enzimidir ve Southern blot ile tayin edilebilen bir seri parça oluşturur (altta). İki bölgede tekrar sayılarındaki farktan ötürü, ortak bantları olsa bile (B2 alelini gösteren bant), her birey için belirgin bir bant profili oluşur. Bu şekilde elde edilen bant profilleri DNA parmakizi olarak adlandırılır (5). VNTR'lerle başarılı tiplendirme yapılabilmesi için bozulmamış ve en az 10-25 ng DNA içeren örneklerde çalışılabilmekteydi (20).

1989 yılında iki araştırma grubu, kısa ardışık tekrarları (kısa ardışık tekrarları -STR) olarak bilinen yeni bir polimorfizm sınıfı keşfetmiştir (16,17). Bu belirteçler multialelik olup

tekrarlanan birimlerin sayısında değişkenlik gösterir. VNTR'lerin aksine tekar birimleri küçüktür ve insan genomunda çok daha yaygın bulunurlar.

STR'ler çok sayıda alele sahip olduklarından oldukça polimorfiktirler. Bu nedenle günümüzde olgu çözümünde ve popülasyon genetiği çalışmalarında, insan popülasyonlarının genetik yapısının ve demografik geçmişinin öğrenilmesinde bu markırlar tercih edilmektedir (18). STR'lerin tercih edilmesinin diğer bir nedeni de multipleks PCR ve floresan deteksiyona dayalı kapiller elektroforez ile analizlerinin hızlı ve kolayca yapılabilmesidir. Dünyada birçok popülasyonun ve alt popülasyonların gen sıklıkları belirlenmiş olup, birçok ülkede ulusal DNA veri bankaları bu sistemlere göre oluşturulmuştur. Bu sistemlerle ilgili gerek otozomal gerekse gonozomal çeşitli ticari multipleks kitler bulunmaktadır. Ancak adli kimliklendirmede ve babalık testlerinde onlarca yıldır yaygın olarak kullanılan STR lokusları, uygun olmayan çevresel koşullara maruz kalan örneklerde güvenilir olmayan sonuçlar verebilmektedir. Bu da tam profil elde etme potansiyelini düşürmektedir. Ayrıca mutasyon oranları yüksek olduğundan akrabalık ve babalık testlerinde uyumsuzluklar görülebilmektedir (19–21). Bozulmuş örneklerde başarılı profilleme yapabilmek için daha küçük amplikon özelliğine sahip olan yeni mini STR lokusları keşfedilerek STR kitlerine dahil edilmiştir (22–24). Şekil 4'te olay yerinden elde edilen DNA ile şüpheliden alınan DNA profilinin STR tiplemesi karşılaştırılması gösterilmektedir (25). Olay yerinden elde edilen DNA profili, şüpheli DNA profili ile eşleşiyorsa şüpheli olaya dahil edilir ve eşleşmiyorsa dışlanır.



Şekil 4 :Olay yerinde elde edilen DNA ile şüpheli DNA profili karşılaştırması (25).

STR'lerin yapısal olmayan polimorfik bölgelerdeki alel mutasyonları biriktirebilmeleri, filogenetik çalışmalarda ve evrimleşme hızının hesaplanmasında bilgi kaynağı olarak kullanımına olanak verir (26). Ancak STR profilleri bireyler arasında çok değişken olmalarından dolayı popülasyonlar arası düşük farklılık gösterir. Bu nedenle popülasyonun kökenini tahmin etmek için ideal değildirler (8). Son yıllarda adli örneklerde daha iyi profilleme başarısı elde etmek amacıyla STR'lere kıyasla daha küçük amplikonlara sahip SNP (tek nükleotid polimorfizmi) lokusları kullanılmaktadır (3). SNP'ler tek baz çifti sübstitüsyonlarından (değişimlerinden) kaynaklanan biallelik varyasyonlardır. İnsan genetik varyasyonunun %85'i SNP'lerden oluşur (27). Bu nedenle SNP'ler insan genomunda en sık rastlanan ve en fazla bulunan polimorfizim tipidir (28). Mutasyon oranları çok düşüktür ($2.3x10^{-8}$) ve evrim araştırmalarında, biyocoğrafik soy tahmininde ve akrabalık testlerinde bu markırlardan yararlanılır. STR'lere oranla daha düşük genetik çeşitliliğe sahip olmalarına rağmen amplikon boyutları küçük olduğundan, parçalanmış veya eser miktardaki örneklerde amplifikasyon başarısı yüksektir (29). SNP'ler biallelik olduğundan ayırım güçleri düşüktür. STR'lerin ayırım gücüne ulaşabilmek için her 1 STR lokusu için yaklaşık olarak 5 SNP olacak şekilde 50 ila 60 lokustan oluşan multipleks paneller çalışılmaktadır (18,30–32). Günümüzde başarılı amplifikasyon için kısa amplikon özelliğine sahip markırların geliştirilmesine odaklanılmıştır. SNP'lerin analizinde daha çok SNaPShot minisekanslamaya dayalı pahalı,

zahmetli ve uzun süren bir teknik kullanıldığı için adli DNA laboratuvarlarında çok yaygın çalışılmamaktadır (21).

SNP'ler, kodlama yapan bölgelerde bulunduklarından fenotip analizlerinde de kullanılırlar. Fenotipik belirteçler, suçlunun fiziksel özellikleriyle ilgili veriler sağlayarak kimliklendirmeye katkıda bulunur. Göç yolları arasındaki bağlantıların ortaya çıkarılmasında, insan evrimi ve genetiği çalışmalarında ve nesep tayini analizlerinde kullanılan SNP markırlarının bir çoğu Y kromozomunda ve mtDNA' da bulunurlar (33,34). Otozomal SNP'ler bireylerin iki atasıyla ilgili kalıtım verileri içerdiğinden mtDNA ve Y kromozomu üzerinde bulunan SNP markırlarından daha büyük avantaj sağlar (35).

STR'lerin yüksek mutasyon oranlarına ve büyük amplikonlara sahip olması; SNP'lerin ise pahalı, uzun zaman alması ve yüksek teknolojilere ihtiyaç duyması, son zamanlarda keşfedilen insersiyon/delesyon polimorfizmine (InDeL) olan ilgiyi arttırmıştır. (1,3). İnsersiyon/delesyon veya yaygın olarak InDel adı verilen genetik varyasyonlar, DNA dizisine nükleotid dizisinin eklenmesi ya da çıkması şeklinde oluşur. Baz dizisinin eksilmiş olduğu versiyonuna delesyon, baz eklenmesi sonucu oluşan formuna ise insersiyon adı verilmektedir (3). InDel markırları, STR ve SNP belirteçlerinin önemli avantajlarını bir arada gösterebilmektedir. Tablo I'de popülasyon genetiğinde meydana gelen önemli gelişmelerin özetini görmekteyiz.

Tablo I. Popülasyon genetiğinde önemli gelişmeler (91)

<table>
<tr><th colspan="2">1960’lar</th><th>1970’ler</th><th>1990’lar</th><th>2000-</th></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">Proteinlerde elektroforetik varyasyonun tanımlanması.

Popülasyon alt birimlerini göstermede Elektroforetik varyantlar kullanılması.

Elektroforetik varyantlarda seçilim testi.</td><td rowspan="2">Harita sınırlaması kullanılarak değişkenlik çalışmaları

Genlerin DNA dizilimi

Moleküler belirteçler ve değişkenlikleri: RAPD (rastgele arttırılmış polimorfik DNA), AFLP'ler (çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi), mikrosatellitler, SNP'ler</td><td rowspan="2">Yüksek verili ve tüm genom dizileme

Frekans sapma olmadan SNP’leri belirlemek için yeniden dizileme

LD ile rekombinasyon oranlarının ölçülmesi

Demografik değişikliklerin çıkarımı

Pozitif ve negatif seçilim parametrelerinin tahminleri

Mutasyon oranlarının ölçülmesi GWAS analizleri</td></tr>
<tr><td>Değişkenlik ve bölgesel rekombinasyon oranı arasındaki ilişki.
Polimorfizm verilerine dayanarak seçilim testlerin uygulanması.</td></tr>
</table>

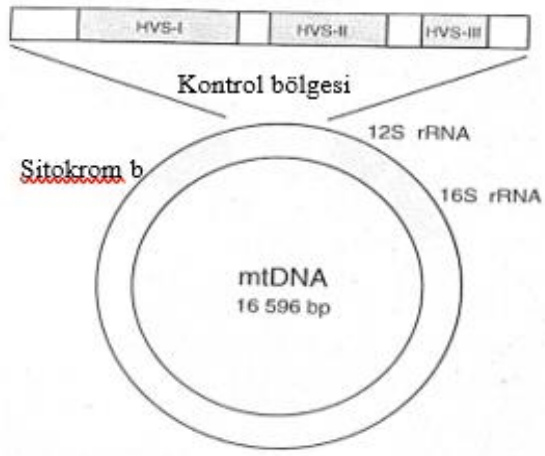
2.3. Adli Bilimlerde Kullanılan Diğer Markır Çeşitleri

2.3.1. Y-STR markırları

Erkeklerde bulunan Y kromozomu yaklaşık 60 mbç uzunluğunda (milyon baz çifti) ve 78 gen içerir (36). Y kromozomunun uçlarında PAR 1 ve PAR 2 (PAR = psödootozomal bölge) bölgeleri yer alır ve bu bölgelerin dışında mayoz bölünme esnasında rekombinasyon meydana gelmez. Bu nedenle mutasyonlar dışında babadan oğula değişmeden kalıtılır. Y kromozomu STR, insersiyon, delesyon ve SNP içeren çok sayıda polimorfizme sahiptir (7). Bir çok vakada erkek ve kadına ait vücut sıvıları karışmış durumda olabilmekte ve Y-STR tiplemesi yapılarak erkeğe ait kesin bilgi alınabilmektedir (8). STR mutasyonları dışında bir şüphelinin tüm baba soyundan gelen akrabaları (kardeşler, babalar, oğullar, amca oğlu vb.) aynı Y haplotipini paylaşırlar (37).

2.3.2. MtDNA markırları

Ökaryotik hücreler nükleer genom ve mitokondriyal genom içerir. Mitokondri, kromozom dışı genom içeren hücre içi bir organeldir (38). Nükleer DNA'nın aksine mtDNA sadece anne tarafından kalıtılır (33,39,40). Mutasyon dışında kardeşlerin mtDNA dizisi anne tarafından akrabalarıyla aynıdır. Kimlik tespitinde araştırılan kişinin annesi ya da anne tarafından bir akrabasının mtDNA analizi yeterli olabilmektedir (41). Bireyler arasındaki dizi varyasyonunun çoğu Şekil 5'de gösterildiği üzere kontrol bölgesinde yer alan hiperdeğişken bölge 1 (HV1) ve hiperdeğişken bölge 2 (HV2)'de bulunur (42). Olgu çalışmalarında HV1 ve HV2 kullanılır.



Şekil 5: mtDNA 'nın Adli amaçlı kullanılan bölgeleri (42)

2.3.3. Yeni Nesil Dizileme (NGS)

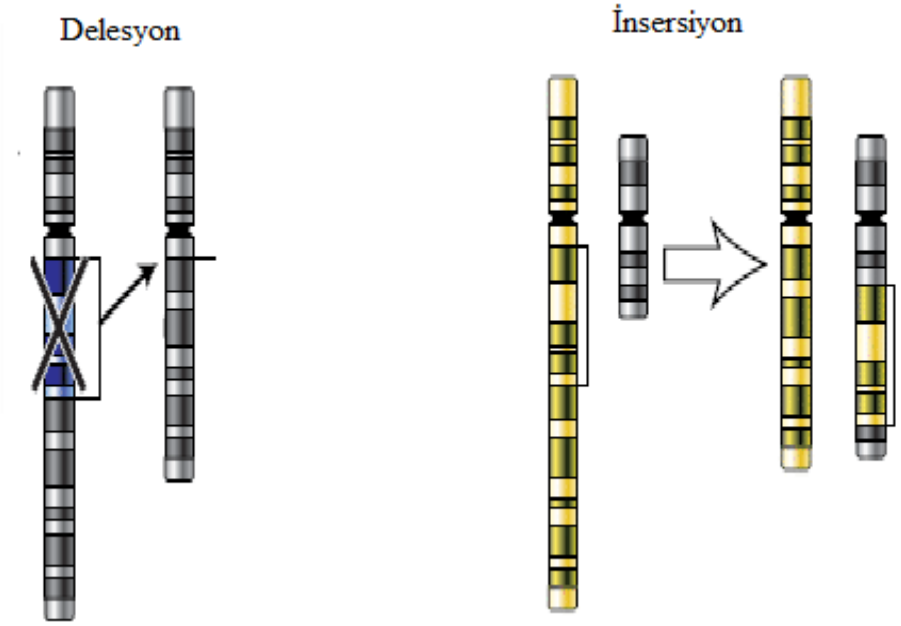
Dizileme teknolojilerindeki son gelişmelerin adli laboratuvarlara tanıtılması, nükleik asit analizlerinin kalitesini önemli ölçüde iyileştirmesiyle beraber bu tür analizlerin uygulanabilirliğini de artırmıştır (43,44).

Yeni nesil dizileme (NGS) yöntemleri her tür nükleik asidin dizilenmesine etkin bir şekilde izin verir. Hedeflenen mRNA ve küçük RNA analizlerine paralel olarak STR'ler ve SNP'ler gibi çok sayıda belirteci eşzamanlı olarak analizi adli laboratuvarlarda nispeten kolay uygulanabilir

çok güçlü bir araç haline getirmiştir (45). NGS tekniği STR bölgelerini çevreleyen yan alanlar dahil olmak üzere PCR ürününün tam dizisinin belirlenmesine izin verir (46,47). NGS teknolojisinin adli açıdan en çekici özelliklerinden biri, farklı nükleik asit türlerini ve farklı belirteçleri eşzamanlı analizinin mümkün olmasıdır. Son on yılda, RNA analizlerinin doku ve vücut sıvısı tanımlaması, ölüm zamanının belirlenmesi ve benzer çoklu uygulamalarla da adli açıdan ilgili olduğu görülmektedir.

2.4.InDeL'lerin Keşfi ve Özellikleri

2000'li yıllarda insan genom taslağının yayınlanmasıyla birlikte DNA dizisi ve genlerle ilgili birçok bilgiye ulaşılabilmiştir. İnsersiyon/delesyon veya InDel olarak adlandırılan genetik varyasyonlar genom dizisinin tanımlanmasından sonra keşfedilmiştir. InDel'ler, DNA dizisine bir veya daha fazla nükleotit dizisinin eklenmesi ya da çıkarılması sonucu oluşmaktadır. Baz eklenmesi ve çıkarılması bir baz olabileceği gibi Şekil 6 'da görüldüğü üzere bütün bir kromozom kadar da büyük olabilir.

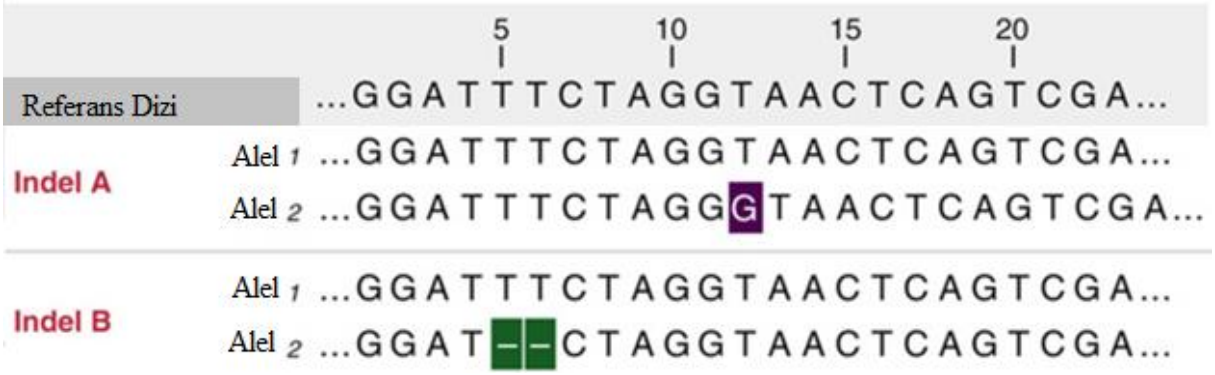


Şekil 6: Kromozom boyutunda İnsersiyon ve Delesyon (48,49)

Popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların temelinde mutasyon, rekombinasyon, gen akışı (göçler), genetik sürüklenme ve doğal seçilim gibi evrimsel mekanizmalar yer

almaktadır (50). Mutasyonlar genetik süreçlerin en önemlisini oluştururlar. Bir türün bireyleri arasında görülen genetik varyasyonların temelini oluştururlar (51,52). Mutasyonlar, bireyler arasında genetik farklılıklara neden olurlar ve popülasyonda %1'den daha sık rastlandıklarında da polimorfizm olarak adlandırılırlar. InDel'lerin insanlarda tüm dizi polimorfizmlerinin %16 ile %25'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir (1,3). Weber ve arkadaşları InDel'lerin %14'nün tek nükleotit uzunluğuna sahip olduğunu, %70'den fazlasının da iki veya daha çok sayıda nükleotit uzunluğuna sahip olduğunu bildirmişlerdir (54).

Mills ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada, insersiyon ve delesyonların kromozomdaki pozisyonu, alel uzunluk farklılıkları ve popülasyon gruplarının alel frekans bilgilerini içeren InDel çevrimiçi veri tabanı oluşturmuşlardır (53). Yapılan çalışmada aynı zamanda InDel'leri beş ana sınıfa ayırmıştırlar. Bunlar; tek-baz çiftlerinin eklenmesi (insersiyon) ve çıkarılması (delesyon), monomerik baz çiftlerinden oluşan InDel'ler, çoklu baz çiftlerinden oluşan InDel'ler, transpozon insersiyonları ve rastgele DNA InDel dizileridir. Üç farklı insan popülasyonundan elde edilen örneklerle, insan genomunda dağılmış 1 - 9989 bç (baz çifti) uzunluğunda, 415.436 polimorfizm içeren ilk InDel varyasyon haritası oluşturulmuştur (53).



Şekil 7: Baz dizisi üzerinde insersiyon ve delesyonun gösterimi (55)

InDel'ler genlerin promotör, intron ve ekzon bölgelerinde yer almaktadır. Bu nedenle insan gen fonksiyonu üzerinde etkisi bulunmaktadır.

Weber ve arkadaşlarının bulduğu 2000 InDel'in bilgisi Marshfield diallelic indels database, Mamalian Genotyping Service (https://www3.marshfieldclinic.org/mgs/) veri bankasında bulunmaktadır (Weber et al., 2002). Ancak sonradan bu site erişime kapatıldı. InDel'lerin varyasyon haritalarına dbSNP'den (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP) erişilebilmektedir. dbSNP'nin insan genomunda ~ 10 milyon (rs) SNP ve 1.6-2.5 milyon InDel içerdiği tahmin edilmektedir (53,56). Bu veri tabanlarında çeşitli popülasyonlara ait gen sıklıkları çalışılmış ve karekterize edilmiş binlerce InDel bulunmaktadır. Heterozigotluğu 0.30 üzerinde olan 26515 InDel lokusu bulunmaktadır. Bu veri tabanları InDel populasyon çalışmaları için yol gösterici olmaktadır (57,58).

InDel'ler iki alellik (biallelik) ve çok alellik (multiallelik) olabilmektedirler. Biallelik InDel'lerin alel uzunlukları birkaç baz ile yüzlerce kilobaz çifti arasında değişebilmektedir. Bir nükleotit uzunluk farkı oluşturan InDel'ler zaman zaman SNP'lere dahil edilmiştir. Oysaki aralarındaki temel fark, SNP de varyasyon baz sübstitüsyonu (değişimi) şeklinde oluşur, InDel'de ise bir bazın eklenmesi veya çıkarılması sonucu uzunluk polimorfizmine dayanan varyasyon oluşur. Şekil 7 verilen referans DNA dizisi üzerinde iki InDel görülmektedir. InDel A, alel 2 referans dizisinde (alel 1) 11 ve 12 konumları arasında bir G bazının eklemesine (insersiyon) sahiptir. InDel, alel 2 referans dizisinde 2 bç'lik konum 5 ve 6 baz dizilerinin silinmesine (delesyon) sahip olduğu görülmektedir. Birçok çalışmada gerek kimliklendirmede gerekse soy tahminlerinde bi-allelik InDel'ler kullanılmıştır. Çok alelli InDel'ler daha az ilgi görmüştür (59).

InDel'ler, SNP'lerden sonra ikinci en sık görülen varyasyonlardır ve ayrım güçleri, heterozigotluk oranları oldukça yüksektir (60). InDel'ler STR'lerin aksine düşük mutasyon oranına sahiptirler ve karışım örneklerinin DNA analizinde daha başarılıdırlar. InDel analizi SNP'de uygulanan yöntemlere kıyasla daha basittir ve daha az zaman alır (53,61). Son

zamanlarda InDel'ler adli genetikte uygulanmasının yanı sıra, popülasyon çalışmaları ve tıbbi genetikte de kullanılmaktadır (62).

2.5. InDel Mutasyonlarının Oluşum Mekanizması

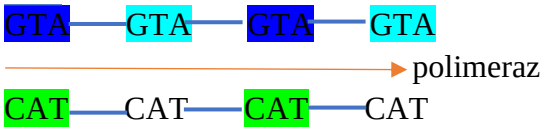
DNA'da meydana gelen değişimler her zaman DNA hasarının doğrudan bir sonucu değildir. Bu değişimler DNA polimeraz hatalarından veya genetik bir hasarı takiben yanlış DNA onarımından da kaynaklanabilmektedir (11). Genellikle DNA replikasyonunda hata oranlarının düşük olmasına rağmen yine de hatalar oluşmakta ve mutasyonlar meydana gelmektedir. Replikasyon sonrası DNA'nın yanlış eşleşmelerini onaran mekanizmalar, mutasyon oranlarının azalmasına yardımcı olur (12,13). Genel olarak tekrar eden dizilerde daha sık mutasyon görülür (2).

2.5.1. Polimeraz kayması ve yanlış eşleşme

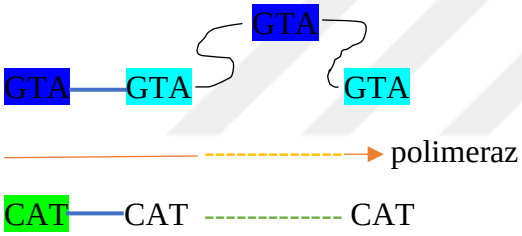
InDel oluşumu yaygın olarak replikasyon veya polimeraz kayması olarak da bilinen iplik kayması şeklinde görülebilmektedir (14). Replikasyon sırasında, DNA polimeraz ve yeni sentezlenmiş DNA zincir kompleksi bazen geçici olarak kalıp DNA'dan ayrılır. Tekrarlayan dizilerin olduğu bölgelerde polimeraz kalıp zincirin kaldığı yerin 1 veya 2 pozisyon ilerisinden ya da gerisinden yeniden birleşebilir (11). Polimeraz kayması klasik olarak DNA'da doğrudan 1 ile 4 baz uzunluğundaki tekrar bölgelerini (tek bazlı $[T]_n$ ya da 4 bazlı $[AGGC]_n$, n tekrar sayısı) etkiler ve yalnızca bir veya iki ilave tekrarlar insersiyonla sonuçlanır (14). Bir kodlama dizisinde meydana gelen tekrar ünitelerin uzunluğu 3'ün katları şeklinde değilse, tekrar biriminin insersiyonu veya delesyonu mRNA okuma çerçevesinin kaymasına neden olabilir (çerçeve kayması mutasyonu)(15). İplik kayması sürekli olmayan tekrarlarda da meydana gelir ve daha uzun insersiyonu veya delesyonla sonuçlanır (16,17).

Bireyler arasında görülebilen iplik kayması ve yanlış eşleşme kısa ardışık tekrarların (STR'ler) oluşumlarından sorumlu olduğu düşünülen mekanizmadır (18). Örneğin, polimeraz enzimi ileri doğru kaydığında, tekrar dizilerinden biri atlanır (bir tekrarın delesyonu) ve yeni

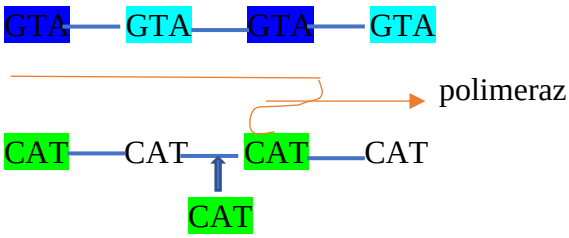
sentezlenen DNA zincirine bir tekrar eksik kopyalanır. Buna karşılık, polimeraz enzimi geriye doğru kaydığında, yeni sentezlenen DNA zincirine fazladan bir tekrar (insersiyon) kopyalanır (17).



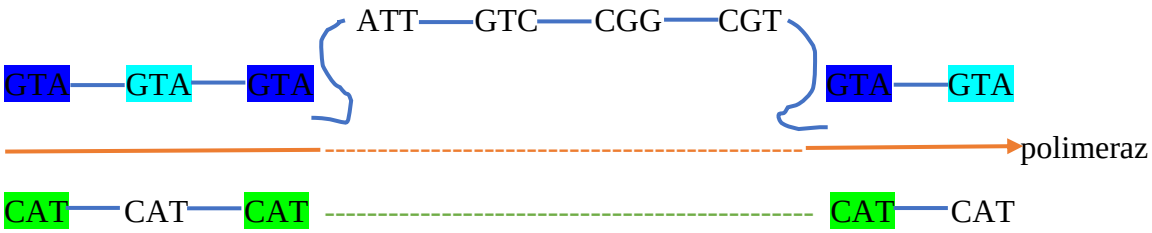
Üstte (mavi) DNA dizisini temsil ettiği bir trinükleotid tekrar yolunda normal replikasyonu gösterir, turuncu çizgi polimerazın (pol) izlediği yolu temsil eder ve (yeşil) polimeraz tarafından sentezlenen tamamlayıcı DNA'yı gösterir. Tekrarın dört kopyası hem şablonda hem de yeni sentezlenen DNA ipliklerinde mevcuttur.



Yukarıda görüldüğü gibi polimeraz (turuncu) ileri doğru kaydığında, kalıp GTA tekrarlarından birini atlar (bir tekrarın delesyonu) ve yeni sentezlenen DNA zincirine yalnızca üç tekrar kopyalanır.



Buna karşılık, polimeraz geriye doğru kaydığında, yeni sentezlenen DNA zincirine fazladan bir tekrar (insersiyon) kopyalar.



Polimerazın, kopyaladığı kalıp DNA'ya hemen bitişik olmayan bir tekrara "kayması" da araya giren ardışık olmayan DNA'nın delesyonuna veya insersiyonuna neden olduğu tahmin edilmektedir (63).

2.5.2. İkincil yapı oluşumu

Hem baştan hem de sondan okunuşu aynı olan palindrom veya yarı palindrom gibi ters tekrarlar da InDel oluşumuna katkıda bulunur (16). Replikasyon sırasında, tek bir DNA zincirinde ters tekrarlar saç tokası yapıları oluşturacak şekilde eşleşebilir. Bu yapılar hücresel DNA onarım mekanizmaları aracılığıyla "onarılmaya" yatkındır ve daha sonra "onarılmış" bölgelerde insersiyonlar veya delesyonlar şeklinde gelişebilir (11).

2.5.3. DNA kırıklarının onarımı

İnsan hücrelerinde, interfaz sırasında biriken ve DNA replikasyonu sırasında karşılaşılan nokta mutasyonlarını düzeltmek veya bunları atlamak için çeşitli onarım mekanizmaları bulunmaktadır. Mutasyonlar hemen onarılmazlarsa replikasyon çatalında birbirine uymayan ya da eşleşmeyen bazlar oluşur. Bu durum replikasyon mekanizmasının durmasına ve replikasyon çatalının kopmasına neden olur. Sonuç olarak bu bölgede çift zincirli DNA kırılmaları meydana gelir (14). Bu kırılmalar, DNA onarım mekanizmalarını aktif hale getirir. Bunlar homolog rekombinasyon ve homolog olmayan uç birleştirme onarım mekanizmalarıdır. Bu mekanizmaların herhangi biri değişken sayıda bazın eklenmesine veya kaybolmasına neden olabilir ve bu da InDel'lerin oluşmasına neden olur (19).

2.5.4. Eşit Olmayan Mayotik Rekombinasyon

Mayotik rekombinasyon sırasında homolog eşlerin yanlış hizalanması sonucu germ hattı içinde InDel'ler oluşabilir. Eğer yanlış hizalanan eşler homolog kromozomlardan ise (kardeş olmayan kromatitler), bu olaya eşit olmayan çaprazlama, kardeş kromatitler arasında gerçekleşiyorsa, eşit olmayan kardeş kromatit değişimi denir (64).

2.5.5. Nokta mutasyonlar

Nokta mutasyonları tek baz değişimi olarak tanımlanır. DNA'da hasarlı bölgelerin onarımı sırasında meydana gelen hataların bir sonucu olarak ortaya çıkar. Meydana gelen değişimler DNA polimeraz enziminin katalizlediği reaksiyonlar sonucu ortaya çıkar. Nokta mutasyonları transisyonlar ve transversiyonlar olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar; (4).

2.5.6. Kromozom Mutasyonları

Kromozom sayısında değişiklik meydana gelebilir. Bu tip kromozomal bozukluklar mayoz sırasında meydana gelen bir hata sonucu kromozomların ayrılmamasından kaynaklanır**.** Kromozom yapısal değişiklikler Şekil 6'de görüldüğü üzere delesyon, insersiyon veya yer değiştirme sonucu oluşur.

2.6. Mutasyonların görülme sıklıkları

Mutasyonların görülme sıklıkları ve bunun sonucu yeni alellerin hangi oranda ortaya çıktığı üç seviyede farklılık gösterir. Bunlar; popülasyon içi bireyler arası farklılıklar, bireylerin sahip oldukları genler arası farklılıklar ve türler arasındaki farklılıklardır (8).

a.Bireyler arası farklılıklar

Mutasyon oranı bireyler arasında iki nedenden dolayı değişkenlik gösterir. İlk nedeni DNA polimeraz enziminin alelleri hata yapma oranları bakımından farklılık göstermesidir. İkinci nedeni hasarlı DNA'nın tamiriyle ilişkili alellerin etkinlikleri bakımından farklılık göstermesidir.

b. Türler arası varyasyon

Nesil verme süresi türler arası mutasyon oranlarındaki varyasyonu etkileyen ana faktör olabilir. Gamet oluşumu öncesinde meydana gelen hücre bölünme sayısındaki farklılıklardan dolayı mutasyon oranı türler arasında değişiklik gösterebilir.

c. Genler arası varyasyon

DNA onarım sistemiyle ilgili yapılan çalışmalar sonucu iki önemli genelleme ortaya çıkar. Bunlardan birincisi kodlama yapan bölgelerin yapmayan bölgelere göre daha etkili bir şekilde tamir edilir olmalarıdır. İkincisi ise bir dizi DNA onarım sisteminin sadece aktif olarak transkripsiyona uğrayan genler üzerinde çalışıyor olmasıdır. Sonuç olarak DNA onarım sisteminin hassaslık seviyesi mutasyonların çok fazla hasar verebileceği bölgelerde daha yüksektir. Transkripsiyon yönünden en aktif olan genler en etkili şekilde tamir edildiklerinden dolayı mutasyon oranı lokuslar arasında farklılık gösterir (8).

2.7. Adli Genetikte InDel Polimorfizminin Avantajları ve Uygulamaları

STR markırları adli genetikte uygulanan standart DNA profilleme sistemleri olarak kabul edilmiştir. Günümüzde ise InDel'ler, kriminal laboratuvarlarda rutinde yaygın olarak kullanılan STR markırlarıyla birlikte uygulanmaya başlamıştır. Suç mahallinin birçoğunda bulunan karışık DNA örneklerinin büyük miktarı mağdura aittir ve failin DNA'sı eser miktarda bulunur. Bunun gibi durumlarda tek başına STR tipleme yöntemini kullanarak failin belirlenmesi zordur. Bu nedenle, araştırmacılar InDel ve STR markırları ile oluşturulan yeni InDel-STR tipleme tekniği geliştirmişlerdir. (65).

Cinayet, cinsel saldırı, hırsızlık gibi adli olaylarda olay yerinde bulunan biyolojik materyallerden elde edilen DNA profilleri şüpheli kişilerin DNA profilleriyle karşılaştırılarak olayla ilişkisi olup olmadığı saptanmaya çalışılır. Ancak çevresel koşullar nedeniyle aşırı bozulmuş ve yeterli miktarda DNA olmadığı durumlarda profilleme sorunları

yaşanabilmektedir. Bu sorunlar her ne kadar amplikon uzunlukları daha kısa STR (mini-STR) lokuslarıyla aşılmaya çalışılsa da istenilen oranda başarı sağlanamamıştır.

İnsan genom projesiyle birlikte SNP ve InDel gibi yeni polimorfik markırlar keşfedilmiştir. Standart STR'lere kıyasla çok daha kısa amplikonlara sahip yeni nesil genetik markırlarla bozulmuş ve çok küçük miktardaki biyolojik örneklerden tam DNA profili oluşturmak mümkün hale gelmiştir (1–3).

InDel'lerin mutasyon oranları 10^{-7} ile 10^{-8} arasında olup STR'lere kıyasla oldukça düşüktür. Bu sayede nesilden nesile çok fazla değişmediklerinden evrimsel açıdan da kararlıdırlar. Babalık ve akrabalık testlerinde daha kararlı yapılara ihtiyaç duyulduğundan dolayı düşük mutasyon oranına sahip lokuslar tercih edilerek babalık testleri daha güvenilir bir şekilde yapılabilmektedir (66,67).

InDel genotiplemenin ilgi çekici bir başka uygulaması da popülasyon genetiği çalışmalarıdır. InDel markırlarıyla toplu felaketlerde ve antropolojik çalışmalarda ileri derecede bozulmuş DNA örneklerinin analizinde başarılı DNA profilleri oluşturulmaktadır (2). Aynı zamanda tıbbi genetik alanında çalışmalar yapılmakta ve bir bireyin gelecekteki sağlığını tahmin etmede, genetik hastalıkların kaynağını belirlemede ve kişiye özgü tıbbi bilgi sağlamada kullanılabilmektedir (60).

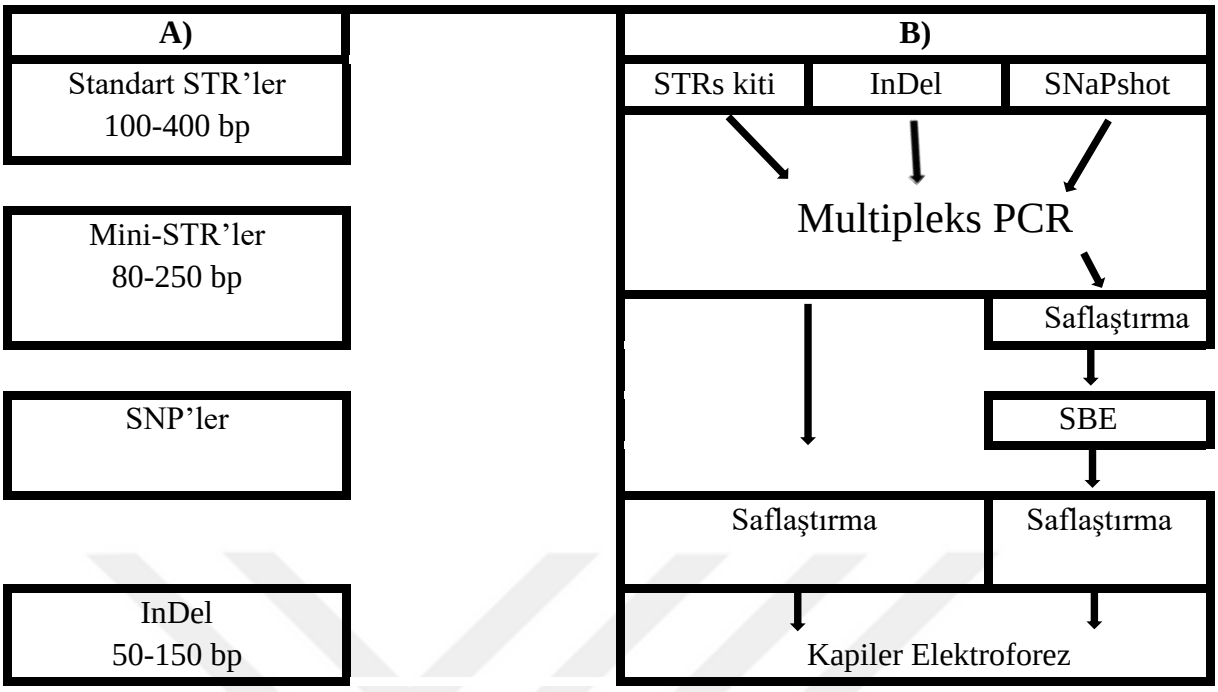
Farklı atadan gelen veya coğrafi olarak birbirinden uzak popülasyonlar arasında soy ile ilgili bilgi veren lokusların (AIM'ler) alel frekansları farklılıklar gösterir (68). Bu genetik belirteçler, bir bireyin muhtemel atalarının kökenini ortaya çıkarmada, karışmış bireylerin ya da popülasyonların soy bileşenlerinin paylaşımını tahmin etmede özellikle yararlıdır. Geliştirilen soy bilgilendirici markırlar-AIM-InDel setleri bireylerin soyları hakkında bilgi vermede oldukça etkilidir ve popülasyon düzeyindeki soy oranlarıyla ilgili iyi tahminler verir (68). STR'ler biyocoğrafik soy tahmin etmede InDel ve SNP'ler kadar başarılı değildirler. Düşük mutasyon oranı, genomda yüksek dağılım gösterme ve alel frekanslarının popülasyonlar

arasında değişkenlik göstermesi AIM lokuslarında aranan önemli özelliklerdir (69). Bu anlamda, InDel'lerin düşük mutasyon oranına sahip olması ve bazı InDel lokuslarına ait alel frekanslarının uzak popülasyonlar arasında bile yüksek dağılım göstermesiyle istenilen nitelikleri karşılamaktadır (54,66). InDel'ler karışık popülasyonlardaki alt popülasyonları tanımlamak için de kullanılabilirler (70).

Her ne kadar STR'lere göre ayrım güçleri düşük olsa da, çok sayıda InDel lokusunun bir arada çalışıldığı multipleks panellerle çalışılarak bu sorunların üstesinden gelinebilmekte ve istenilen düzeyde ayrım gücüne ve düşük eşleşme olasılıklarına ulaşmak mümkündür (7). STR elektroforegramında rastlanan artefakt pikler InDel'lerde görülmez (71).

Günümüzde DNA veribankaları STR lokuslarıyla oluşturulmuştur. Bu nedenle de SNP'ler ve InDel'ler gibi kimliklendirmede yeni alternatif sistemlerin tek başına rutinde uygulanması zaman alacaktır. Teknolojinin her geçen gün artan hızla gelişmesi imkanları daha çok zorlayan verimli çalışmaların doğmasına olanak sağlamaktadır. STR sistemlerinin yüksek oranda bozulmuş örneklerin tiplendirilmesinde sorunlarla karşılaşılabilmesi ve SNP'lerin analizinin Tablo II'de görüldüğü üzere daha çok SNaPShot minisekanslamaya dayalı pahalı, zahmetli ve uzun süren bir teknik kullanılması InDel'lerin tüm adli laboratuvarlarda tercih edilebilirliğini arttırmaktadır (72). Özetle, InDel, adli kimliklendirme için güçlü, duyarlı ve düşük maliyete sahip olması adli genetikte yaygın kullanılan diğer genetik markırlarla birlikte uygulanma alanını genişletmektedir (73).

Tablo II. Kısa amplikon ve basit iş akışında InDel polimorfizm analizi (2)



A: SNP'ler gibi InDeller, de standart STR'lerden ve hatta yeniden tasarlanan mini-STR'lerden çok daha kısa amplikonlara sahiptir. **B**: Adli bilimlerde SNP'lerin tiplendirilmesinde yaygın kullanılan zahmetli ve zaman alan protokolün aksine InDel'ler, STR'ler gibi, kolayca bir PCR ve Kapiler Elektroforez ile tiplendirilebilir. (SBE: Tek baz uzatma)

2.7.1. InDel Panel Geliştirilmesi

Yeni nesil genetik varyasyonlar olarak adlandırılan InDel'ler birçok lokusun (40/50) bir arada çalışabildiği multipleks paneller geliştirilerek panelin dışlama gücü ve ayrım güclerinin yüksek olması ayrıca bozulmuş ve düşük miktardaki örneklerde başarılı olmasından dolayı araştırmacılar toplumlara özgü kimliklendirme amaçlı veya soy çıkarımları yapabilen paneller geliştirmektedirler.

InDel panel geliştirirken erişime açık olan veritabanlarından yararlanılır. NCBI dbSNP veritabanından (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/) ve Ensemble (http://www.ensembl.org/index.html) veritabanlarından geliştirilecek panele özgü lokusların seçimi yapılır. Markırların seçimi bazı kriterler göz önüne alınarak yapılmaktadır: InDel

markırları çeşitli ırklara ve popülasyonlara ait faz örneklerinin çalışıldığı (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/) InDel lokuslarının farklı populasyonlarda çalışılmış olmasına, gen sıklıklarına, heterozigot oranlarına, dünya popülasyonlarında dengeli olup olmadığına dikkat edilerek kimliklendirme veya soy tahmini için uygun lokuslar seçilir.

Adli genetik laboratuvarlarında pratikte karşılaşılan zorlukların üstesinden gelebilmek adına yeni birçok panel çalışması yapılmaktadır. Amaç kısa sürede, düşük maliyetle aşırı derecede bozunmuş DNA örneklerinden kimlik tespiti yapabilecek düzeyde hassas paneller geliştirmektir.

2.8. Adli DNA Analizi

Adli DNA analizi başarılı kimlik tespiti için önemli aşamalardan geçer. Adli bir vakada olay yerinden toplanan delillerden öncelikle biyolojik örneklerin tespiti ve tanımlaması yapılır. Delillerin üzerinde gözle görülebilen lekeler makroskobik inceleme ile tespit edilir. Makroskobik olarak tespit edilemeyen biyolojik lekeler için UV ışık incelemesi yapılır. Eser miktarda kan örneklerinin araştırılmasında Luminol veya Hemacein kimyasalları kullanılır (74). İncelemeler sonrasında tespit edilen lekelerin biyolojik örnek olup olmadığının anlaşılması için renk testleri yapılır. Ortamda biyolojik örneğinin kesin tanımlanması doğrulama testleri ile yapılır. Biyolojik örneklerdeki DNA'nın hücre özütünden saflaştırılması için izolasyon yapılır. Böylece DNA birçok inhibitör ve kirlilikten arındırılır. Elde edilen DNA çevre koşulları nedeniyle az veya nitelik olarak iyi durumda olmayabilir. PZR tekniği ile eser miktarda bulunan örneklerden dahi istenilen kalitede sonuç almak mümkündür. PZR eş zamanlı olarak hedef DNA'nın birçok bölgesini çoğaltmaktadır. Cihaz tarafından tespiti yapılacak olan PZR ürünlerinin boya ile işaretlenmesi primerler aracılığı ile yapılır. Bu yöntemde boya primerin 5' ucuna eklenir. Her bir basamakta enzim aktivitesi ile primerden yeni bir ürün oluşur ve oluşan ürün primere bağlanan boyayı da içermiş olur. Bu işaretleme yöntemi ile farklı

boyalar kullanılarak multipleks PZR ürünlerinin tanınması ve işaretlenmesi de sağlanmış olur (75).

2.9. DNA Veri Tabanı

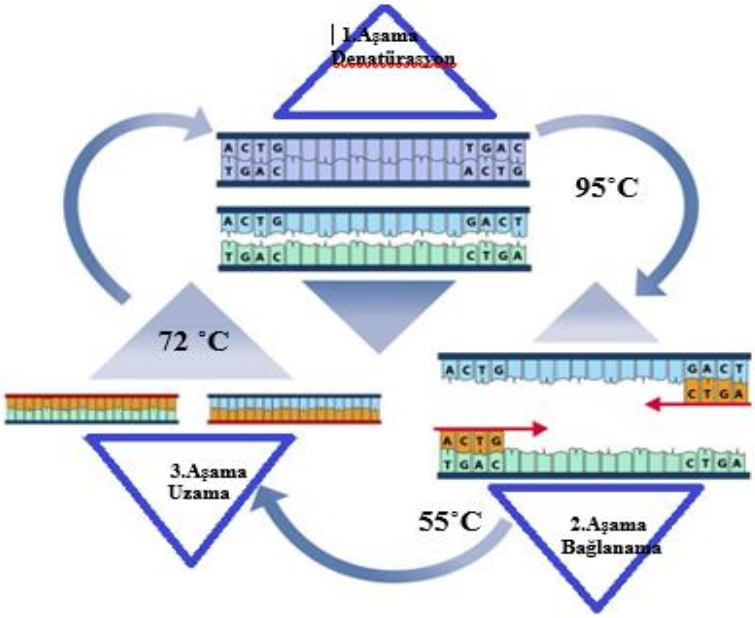
Adli bilimlerin nihai hedefi adli analizlerin belirli bir standartta çalışabilmesidir. Bunun için DNA profilleri ulusal veri bankasında toplanır. Bu veritabanları çeşitli suçlardan hüküm giymiş kişilerin verilerinden oluşmaktadır. ABD 1994 yılında Birleşik DNA İndeks Sisteminin (CODIS) kurulması için ilk adımlarını atmıştır. Federal olarak tutulan DNA veritabanı CODIS, çok hızlı bir şekilde genişlemiş ve Ulusal DNA İndeks Sistemi (NDIS), Devlet DNA İndeks Sistemi (SDIS) ve Yerel DNA İndeks Sistemini (LDIS) içermektedir. CODIS yerel, eyalet ve federal suç laboratuvarlarını birbirine bağlar (7).

İngiltere DNA veritabanı (NDNAD) 1995'te kurmuştur. Yeni Zelanda ise 1996 yılında İngiltere'dekine benzer bir DNA veri tabanı oluşturmaya başlamıştır. Nüfusu küçük olsa da yüzde olarak bakıldığında, Yeni Zelanda veri tabanında tutulan DNA profillerinin sayısı bakımından İngiltere'den sonra ikinci sıradadır (7). Avrupa ülkelerinin neredeyse tümü DNA veritabanları oluşturmuşlardır. Hollanda ve Avusturya 1997'de, 1998'de Almanya, 1999'da Finlandiya ve Norveç de kendi DNA veri tabanlarını oluşturmuşlardır (76).

2.10. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

DNA'nın amplifikasyonu; denatürasyon, bağlanma ve uzama olmak üzere üç döngüsel aşamadan meydana gelir (Şekil 8). Denatürasyon aşamasında reaksiyon 94 ˚C'ye ısıtılır; bu, çift sarmallı DNA molekülünün iki tek sarmallı molekül oluşturarak "erimesine" neden olur. DNA molekülünün iki ipliğini bir arada tutan hidrojen bağlarının nispeten zayıf olmasından dolayı DNA bu sıcaklıkta erir. Sıcaklık 50 ile 65 ° C arasına düşürüldüğünde, oligonükleotid primerler kalıp DNA'ya bağlanır. Kalıp DNA'dan çift sarmallı DNA oluşturmak için yeniden birleşmeden önce tamamlayıcı dizilere primerler bağlanırlar. Primerler bağlandıktan sonra

sıcaklık, Taq polimeraz için optimum sıcaklık aralığı olan 72 C'ye yükseltilir. Nükleotidler, oluşmakta olan DNA zincirine saniyede yaklaşık 40-60 oranında eklenir (77). Enzim, kalıp DNA ipliğini kullanarak nükleotitlerin primerlerin 3` ucuna eklenmesini katalize eder. Bir PZR için normal döngü aralığı 28 ile 32 arasındadır. Hedef DNA miktarının çok düşük olduğu aşırı durumlarda döngü sayısı 34 döngüye kadar çıkarılabilir (7).



Şekil 8: PCR aşamaları (78)

2.11. Popülasyon Genetiği

İnsan diploid (2n) bir canlı olduğundan "N" kişisinden oluşan bir popülasyonun gen havuzu "2N kadar alel içerir. Buradan yola çıkarak belirli bir aleli taşıyan gametlerin gen havuzundaki tüm gametlere oranı "alel frekansı" olarak ifade edilir. Diğer bir deyişle alel frekansı, bir popülasyondaki genetik çeşitliliğin sayısal ifadesidir (79). Popülasyon genetiğinin temeli alellere dayanır ve evrimsel süreçlerin etkisi altında olan alel frekanslarının dağılımını ve değişimlerini inceler. Alel frekanslarındaki varyasyonun çoğu genetik sürüklenme sonucu oluşur. Ancak popülasyonlar arasında sınırlı gen akışıyla da farklı alel frekanslarına sahip popülasyonlar oluşur (15).

İki DNA profilinin tesadüfen eşleşme olasılığının nasıl tahmin edileceği adli bilimlerde en tartışmalı konulardan biridir (80). Bir şüphelinin genotipi olay yerinden gelen DNA profiliyle eşleşiyorsa, bu eşleşmenin şans eseri gerçekleşmesi veya gerçek failin şüpheli ile farklı popülasyondan gelme olasılığı vardır. Bu eşleşmede delilin gücünü ortaya koyabilecek bir veriye ihtiyaç vardır. Bu önemli verilerden biri uyumlu olan DNA profilinin toplumda görülme sıklığıdır (79). Bir popülasyonda belirli bir genotipin rastgele görülme olasılığını belirlemek ve olası her alelin ve genotipin sıklığını tahmin etmek için kapsamlı popülasyon verilerine ihtiyaç duyulmaktadır. Büyük bir popülasyonda bir genotipin frekansı hakkında güvenilir veri oluşturmak için en az 100 örnekten oluşan bir veriye ihtiyaç vardır (80). Veri tabanları, delillerin geldiği genel büyük popülasyon gruplarını temsil eder. Adli olgu çözümünde bu veri tabanlarının uygunluğu ve temsili dikkate alınmalıdır (38).

Populasyon çalışmalarına katılan gönüllülerin akraba olmadıkları ve aynı genetik popülasyondan geldikleri varsayılır. Burada ‘’akraba olmayan’’ katılımcılar aynı popülasyondan geldikleri için aralarında sıfır olmayan bir akrabalık ilişkisi vardır. Ancak bu akrabalık o kadar düşüktür ki kullanılan istatistiksel analizler üzerinde çok az etkisi vardır. Çünkü popülasyonlarda aynı soydan gelen kişilerin çiftleşmesi minimal olarak gözlenir (81,82). Eşleşme olasılıkları şüphelinin veya bilinmeyen bir failin etnik kökeni hakkındaki varsayımlara dayanmaktadır (83,84). Alellerin bağımsız dağıldığı ve lokuslar arasında bağlantının olmadığı lokuslarda, her bir lokus kendi içinde bağımsız olarak ele alınır son frekansa ulaşmak için lokuslar birbirleriyle çarpılır ve kümülatif DNA profilinin toplumda görülme sıklığı elde edilir.

Adli istatistikte popülasyon incelemeleri yapılırken lokusların alel frekansları, beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ve Hardy-Weinberg (HWD) dengesi araştırılmalıdır. Alel sıklıkları popülasyonlar arasında farklılık gösterir. Bu farklılık birbirine yakın olan popülasyonlarda uzak olanlara oranla daha azdır (85). Genetik farklılaşma ($F_{ST)}$ hesaplaması ile toplumlar arasındaki farklılaşmalar ölçülebilir. Bu değerler beklenen ve gözlenen

heterozigotluk değerlerine göre belirlenir. Moleküler varyans analizi (AMOVA,) ve bağlantı dengesizliği (LD) değerlendirmeleri yapılır (86). Bağlantı dengesizliği (LD), bir popülasyon içinde farklı lokuslardaki aleller arasında rastgele olmayan ilişki modelidir. İki veya daha fazla markırın bir kromozom üzerinde birbirlerine ne kadar yakınsa, birlikte kalıtımla olasılıkları da o kadar artar (87). Adli verilerin değerlendirmesinde ayrım gücü (DP), her lokus ve profil için rastgele eşleşme olasılığı (PE), polimorfik bilgi içeriği (PIC) gibi istatiksel parametreler hesaplanır (86).

Kıtalararası popülasyonlardaki varyasyon modellerinin bilinmesi, popülasyon gruplarının kökenini ve göç yollarını anlamak için faydalıdır. İpek Yolu üzerinde bulunan Anadolu yarımadası (günümüz Türkiye), Orta Doğu, Asya ve Avrupa arasında önemli bir coğrafi bağlantı sağlamıştır. Bu bölge Batı ile Doğu arasında bir köprü görevi üstlenerek tarih boyunca farklı yerlerden çok nüfuslu göçlere maruz kalmıştır (88,89). Türk popülasyonunda daha önce yapılan genetik çeşitlilik çalışmalarında mitokondriyal DNA, Y kromozomu (89) ve otozomal kromozomlar üzerindeki polimorfik lokuslar çalışılmıştır (90).

2.11.1. Hardy Weinberg Dengesi

Bir popülasyonun sahip olduğu genlerin tümüne gen havuzu denir. Gen havuzunda var olan genlerin her birinin farklı sayılarda farklı alelleri olabilir. Bu alellerin popülasyonda görülme sıklıkları gen havuzunu karakterize eder (92). G.H. Hardy ve W. Weinberg 1908'de popülasyon genetiğinin matematiksel temelini birbirlerinden bağımsız olarak çalışmışlardır (93). Bi allelik lokustaki alel A ve a, frekansları p ve q ise, p+q= 1 olur. Bunun anlamı $(p+q)^2=1$'dir. Aynı zamanda $(p+q)^2=p^2+2pq+q^2=1$ dir. Bu formülde, p^2 homozigot genotip AA frekansı, q^2 homozigot genotip aa frekansı ve 2pq Heterozigot genotip, Aa frekansına karşılık gelir. Gözlenen frekansların beklenen frekanslardan önemli bir farklılık göstermemesi durumunda popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu söylenir. Aksi durumda Hardy- Weinberg varsayımları ihlal edilir. Gen havuzunun bir popülasyonda dengede olduğunu söyleyebilmek

için Hardy-Weinberg yasasının önerdiği koşulların sağlanmış olması beklenir. Bu koşullar aşağıda verilmiştir.

1. Popülasyon, tek başına alel frekanslarını değiştirme olasılığını yok edebilecek kadar geniş olmalıdır (67). Küçük popülasyonlarda şans eseri bazı bireyler sonraki nesle daha fazla alel ile katılırsa, alel frekansları bir nesilden diğerine değişecektir. Alel frekanslarında bu şeklide meydana gelen değişimler genetik sürüklenme olarak adlandırılır (4).
2. Mutasyon olmamalı ya da dönüşümlü (B-b ve b-B) mutasyonlar dengede olmalıdır.
3. Popülasyonda alel frekanslarını değiştirecek içe ve dışa göç olmamalıdır.
4. Populasyon içerisinde çiftleşmeler tamamen rastgele olmalıdır (92).
5. Üreme başarısı (döl sayısı ve onların sonraki döllerinin sayısı) genotipler bakımından farklı olmamalıdır (92). Yani seçilim olmamalıdır. Popülasyonda bazı genotiplere sahip bireyler diğer bireylere göre daha çok hayatta kalır ve daha yüksek oranda gamet üretirlerse alel frekansları bir nesilden diğerine değişebilir (4).

Hardy-Weinberg yasası yukarıda sıraladığımız varsayımlar geçerli olduğu sürece, birbirini takip eden nesillerdeki alel ve genotip frekanslarının değişmeyeceğini öne sürer (94). Popülasyonun dengede bulunması bütün varsayımların geçerli olduğu anlamına gelmez. Örnekleme hataları, genotiplerin yanlış sınıflandırılması, iki veya daha fazla sistemi tek sistem gibi ölçmek, nadir alelerin tespit edilmemesi ve mevcut olmayan alellerin dahil edilmesi gibi önemli hatalar sonucu popülasyon dengede değilmiş gibi görünebilir.

Hardy-Weinberg yasaları doğada nadiren geçerlidir aksi takdirde evrim gerçekleşmezdi. Organizmalar mutasyonlara ve seçici kuvvetlere tabidir ve hareket halindedir. Sıklıkları bir popülasyonda sürekli değişir. Ancak bu süreçlerin etkileri başlangıç noktası olarak Hardy-Weinberg yasası kullanılarak değerlendirilebilir (94).

2.12. Adli Bilimlerde İstatistiki Parametreler

2.12.1. Eşleşme olasılığı

Rastgele seçilen iki bireyin aynı genotipe sahip olma ihtimaline eşleşme olasılığı denir. Eşleşme olasılığı bize bireylerin birbirlerine ne kadar yakın olduklarını gösterir . Bu durumda akrabalık derecesi söz konusu bireyler arasında ne kadar yüksekse, ortak alellere sahip olma ihtimalleri de o kadar artacaktır (95,96).

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

PM: eşleşme olasılığı, Pk: farklı olan her genotipin sıklığı, m: farklı genotiplerin sayısını ifade eder. Kombine eşleşme olasılığı (CMP) lokusların her birinin PM değerinin çarpımı sonucu elde edilir.

2.12.2. Ayrım gücü

Bir gen bölgesinin ayrım gücü kendisini temsil eden alel sayısına ve heterozigotluk oranına bağlıdır. Alel sayısı ve heterozigotluk oranı ne kadar fazla ise o bölgenin ayrım gücü de o kadar fazla olacaktır. Adli analizlerde ayrım gücü (PD) olarak adlandırılan değer; bir popülasyonda rastgele olarak seçilen iki kişinin birbirinden farklı olduğunu gösterme gücüdür. Ayrım gücünün 1 tam sayısından çıkarılması ile kimliklendirme gücü (PI- power of Identifiy) bulunur.

$$\boldsymbol{PD = 1 - PM}$$

Lokusların kombine ayrım gücü formül:

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

PD: tek bir lokusun ayrım gücü, PM: tek bir lokusun eşleşme olasılığı, P_{Dcomb} : seçilen lokusların birlikte ayrım gücü ve PDi: her lokusun tek başına ayrım gücüdür, Π: çarpma işlemidir.

2.12.3. Dışlama gücü

Bireylerin rastgele seçilmiş bir bireyinkinden farklı olma oranıdır. Biyolojik baba olan bir kişiyi dışlamak için bir lokusun gücü olarak da tanımlanabilir. Dolayısıyla değer her durumda farklıdır (7).

$$\mathrm{PE} = \mathrm{h}^2(1 - 2\mathrm{hH}^2)$$

Formülde lokuslardaki heterozigotluk h ve homozigotluk H olarak ifade ediliyor. Kombine lokuslar için formül:

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

L: lokus sayısı, PEl; her lokus için dışlama olasılığını ifade eder.

2.12.4. Polimorfik bilgi içeriği

Polimorfik bilgi içeriği bir lokusun polimorfik seviyesini gösterir (7).

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

Polimorfik lokus, Pi, her bir farklı alellin frekansıdır ve n, farklı alellerin sayısıdır (7).

2.12.5. Tipik babalık Indeksi (TPI)

Tipik babalık indeksi, biyolojik baba olup olmadığı test edilecek kişinin rastgele seçilen bir kişiden kaç kere daha güçlü baba olduğunu söylemektedir (97). Adli istatiksel sonuçlar değerlendirilirken ayrım gücü ve kümülatif ayrım gücü değerlerinin çok yüksek, eşleşme

olasılık değerlerinin çok düşük olması alel frekansları hesaplanan lokusların adli analizlerde kullanılabilecek değerde olduğunu göstermektedir (98).

2.13. Veri Analizinde Kullanılan Programlar

2.13.1. Arlequin 3. 5.

Genetik çeşitlilik indeksleri, F-istatistikleri ve popülasyonlar arasındaki genetik mesafeleri hesaplar. popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin, F-istatistiklerinin ve genetik uzaklıkların indeks hesaplamalarını yapar (99).

2.13.2. Genetix 4.0.5

Genetix programı yardımıyla toplanan genotip verileri genetik analiz için uygun formata (örneğin Arlequin) çevrilir. Genetik çeşitliliğin temel indekslerini, LD indekslerini, F istatistiklerini ve popülasyonlar arasındaki genetik mesafeleri hesaplar. Genotip verileri direkt girilebileceği gibi Microsoft® Excel dosyasındaki veriler metin sekmeyle ayrılmış (.txt) formatında farklı kaydettikten sonra açabilir veya Microsoft® Excel dosyasındaki veriler kopyalanabilir (100).

2.13.3. MEGA X v.10.0.5.

Mega (Moleküler Evrimsel Genetik Analizi) yalnızca DNA dizileri; nükleotid çeşitliliğinin temel indekslerini hesaplar, diziler ve popülasyonlar arasındaki evrimsel mesafeler; filogenetik ağaçları hesaplar; seçici tarafsızlığı test eder (99). Yani çoklu gen dizisi grupları oluşturarak gruplar içindeki ve arasındaki çeşitliliğin hesaplanmasını kolaylaştırarak, genler ve türler arasında yüksek seviyede evrimsel ilişkileri ortaya çıkarır (101).

2.13.4. PowerStats v.1.12

PowerStats, Microsoft® Excel çalışma sayfasına sahip alel frekansları hesaplayan bir yazılım dosyasıdır. Genotip veriler çalışma sayfasına başka bir işlem yapmadan olduğu gibi

yapıştırılabilir. Daha sonrasında şablon otomatik olarak, girilen verilerin ırk ya da alt grup için parametre analizlerini yapar (102).

3. Gereç ve Yöntem

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü Adli Genetik Ar-Ge laboratuvarında gerçekleştirilen tez çalışmasında; çalışmaya katılmayı kabul eden aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan İstanbul Üniversitesi Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü çalışanları, öğrencileri ve gönüllülerden oluşan 250 kişinin ağız içi sıvap örnekleri kullanılarak, "Ulusal Yeni Fikirler ve Urünler Arastırma Destek Programı" kapsamında *"Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere InDel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi"* başlıklı proje kapsamında geliştirilen 36 InDel panelinin Türkiye popülasyonundaki gen sıklıkları belirlendi. Türkiye popülasyonuna ait toplanmış 250 kişide, 34 otozomal InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusu ve cinsiyet belirteci 1 Y InDel rs2032678 ve amelogenin lokusundan oluşan 36-InDelpleks paneli (Tablo V) çalışılarak genotiplendirilme yapıldı.

250 kişinin 36- InDelpleks'e ait elde edilen profillerden Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programı kullanılarak alel frekansları, popülasyonlar arası farklılaşma (Fst) ve Hardy-Weinberg dengesi hesaplandı. Filogenetik ağaç çizimi için Mega X v.10.0.5 programı kullanıldı. PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak her bir lokusun adli istatistiki parametereleri hesaplandı.

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Adli Genetik AR-GE Laboratuvarında gerçekleşen çalışmanın deneysel aşamaları laboratuvarda bulunan demirbaş cihazlar ve laboratuvar ekipmanları ile gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deneyde Kullanılan Gereçler

3.1.1. Cihazlar

- Derin Dondurucu (Delta, Vestel)
- Buzdolabı (Vestel)
- Otomatik Pipet (2,5 µl, 20 µl, 100 µl, 1000µl) (Eppendorf/ Research Plus)
- Vorteks (BioSan/ V-1 plus)
- Kuru Isıtıcı Blok (BioSan/ Bio TDB-100)
- Mikrosantrifüj (BioSan/ Microspin 12, LLG Labware/ uniCFUGES)
- Florometre cihazı (Thermo Fisher/ Fluorometer Qubit® 4.0)
- PCR Örnek Hazırlamak için UV-Kabini (Grant-bio/ UVT-B-AR)
- Isı Döngü Cihazı (Applied Biosystems/ Veriti Thermal Cycler)
- Bilgisayar kontrollü genetik analizör 310 (ABI PRISM® 310)
- Etüv (Nüve en-SCO)

3.1.2. Ticari kitler

- QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen)
- Quant-iTTM dsDNA HS (High Sensetive) Assay (Invitrogen)
- PCR Master Mix (Qiagen)
- Floresan (6-FAM, JOE, ATTO-550, ATTO-565) ile işaretli primerler (Biospring/The Oligo Company)

3.1.3. Kapiler elektroforez aşamasında kullanılan kimyasallar

- Hi-Di™ (highly deionized) Formamide (Thermo Fisher Scientific)
- GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard (Thermo Fisher Scientific)
- GS STR POP7
- 10X EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) tamponu (Thermo Fisher Scientific)

3.1.4. Kit dışı kimyasal maddeler

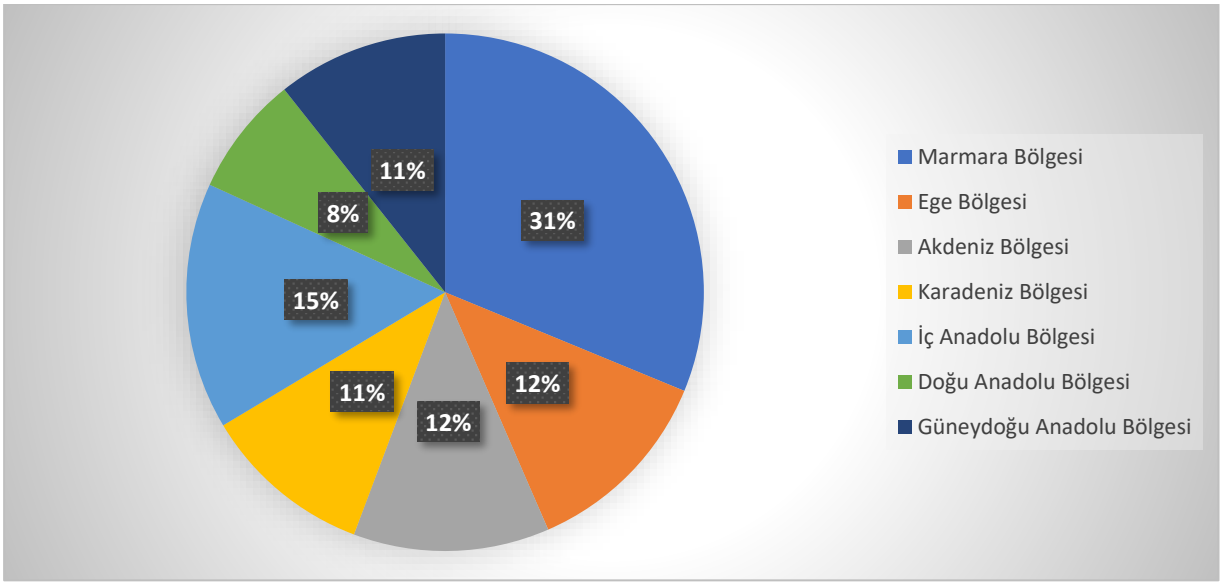
- Etanol (%96'lık)
- PBS (Phosphate Buffered Saline) tamponu

3.2. Çalışmada Kullanılan DNA Örneklerinin Toplanması

InDel panelin populasyon çalışması için İstanbul Üniversitesi -Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan, 59491012-604.01.02 sayı ile izin belgesi alınmış olup örneklerinin bilimsel çalışmalarda kullanılmasına rıza gösteren ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalayan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan Türkiye'nin tüm bölgelerini içeren 250 kişiden toplanan ağız içi sürüntü örnekleri kullanıldı (Tablo III) (Şekil 9). Örneklerin dağılımı Türkiye popülasyonun nüfus dağılımı (Şekil 10), TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2018 nüfus verilerinden yararlanarak toplandı (103).

Tablo III. Çalışmada Kullanılan Türkiye Popülasyon Dağılımı

TÜRKİYE	ÖRNEK SAYISI	KADIN	ERKEK
Marmara Bölgesi	79	50	29
Ege Bölgesi	31	15	16
Akdeniz Bölgesi	31	15	16
Karadeniz Bölgesi	27	11	16
İç Anadolu Bölgesi	39	18	21
Doğu Anadolu Bölgesi	19	11	8
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	27	10	17
Toplam	250 Örnek	127	123



Şekil 9: Çalışmada kullanılan Örneklerin 2018 Nüfus Oranlarına göre bölgesel dağılımı

Şekil 10: Çalışılan 250 kişiye ait örneklerin coğrafik dağılım



Tablo IV. 36- InDelpleks lokuslarının kromozomal yerleşimi ve floresans boya seçimi

Lokus ID NO	InDel Lokusu	Kromozon No	Alel büyüklüğü	Alel	Floresans Boya
ID1	rs4646006-F	Kr: 1	**162**-166	ins TGAG	ATTO-550
	rs4646006-R				
ID2	rs2307838-F	Kr: 1	185-**189**	del TGAA	FAM
	rs2307838-R				
ID3	rs2307521-F	Kr: 1	**95**-97	ins AG	
	rs2307521-R				
ID4	rs28369942-F	Kr: 2	**179**-184	ins AAGTC	ATTO-550
	rs28369942-R				
ID5	rs140861207-F	Kr: 3	156-**158**	del AG	JOE
	rs140861208-R				
ID7	rs1160965-F	Kr: 5	225-**227**	del AT	ATTO-565
	rs1160965-R				
ID8	rs2307656-F	Kr: 5	226-**231**	del TAAGT	FAM
	rs2307656-R				
ID9	rs2067304-F	Kr: 5	154-**156**	del GA	
	rs2067304-R				
ID10	rs1610937-F	Kr: 5	211-**215**	del AGGA	
	rs1610937-R				
ID11	rs10590424-F	Kr: 5	195-**200**	del AATAA	JOE
	rs10590424-R				
ID12	rs1160981-F	Kr: 5	162-**165**	del CAG	ATTO-565
	rs1160981-R				
ID13	rs2067191-F	Kr: 5	**248**-252	ins TAGA	
	rs2067191-R				
ID14	rs144389514-F	Kr: 6	121-**125**	del ATCT	ATTO-550
	rs144389514-R				
ID15	rs2308137-F	Kr: 6	114-**116**	del GA	JOE
	rs2308137-R				
ID16	rs16646-F	Kr: 7	**114**-118	ins TTTC	FAM
	rs16646-R				
ID17	rs16458-F	Kr: 7	**201**-205	ins TTCC	ATTO-550
	rs16458-R				
ID18	rs3062629-F	Kr: 8	**187**-192	ins TACAG	ATTO-565
	rs3062629-R				
ID19	rs2308072-F	Kr: 8	**242**-246	ins AAGG	ATTO-550
	rs2308072-R				
ID20	rs10623496-F	Kr: 8	**203**-207	ins GAAT	ATTO-565
	rs10623496-R				

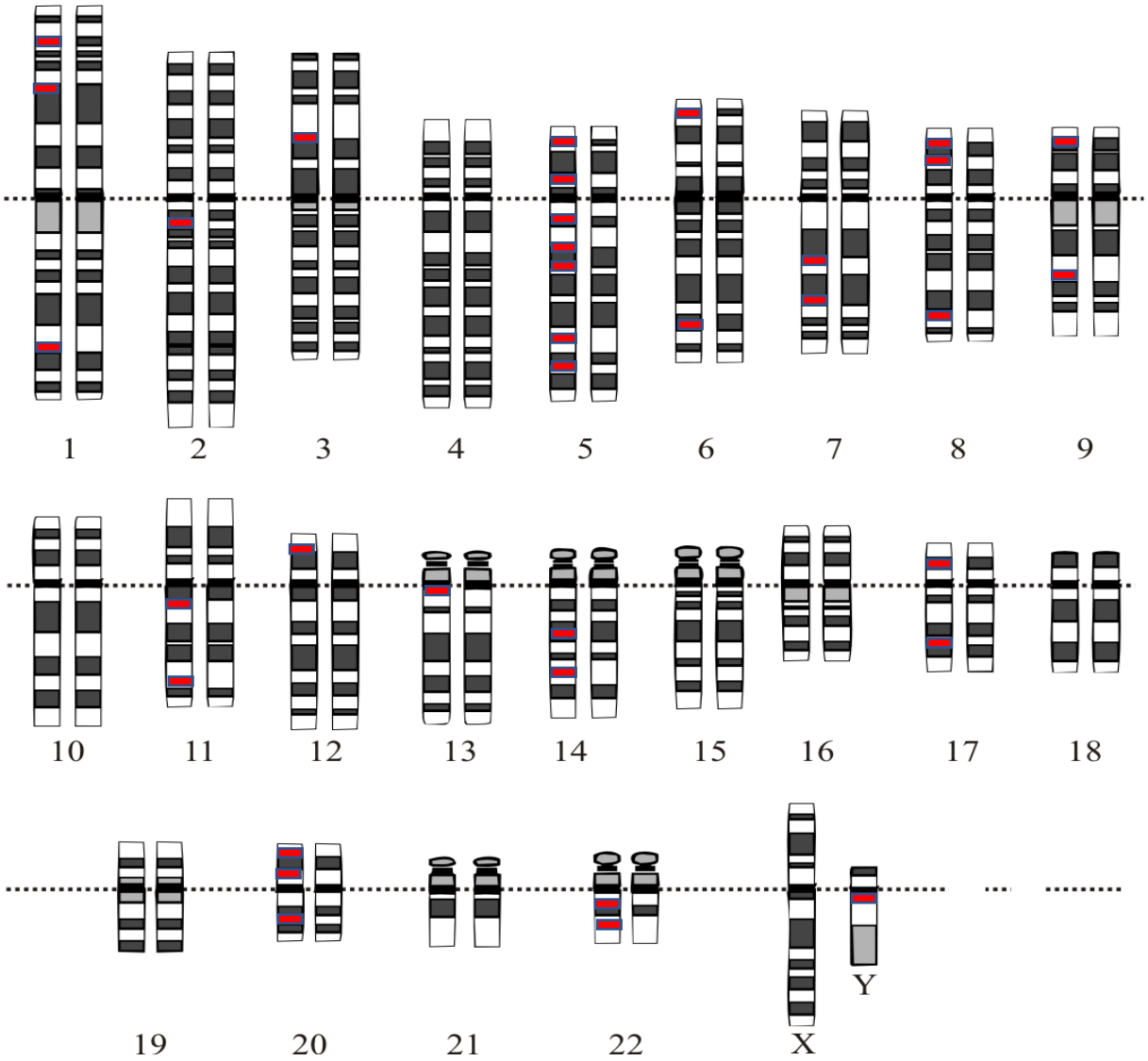
Lokus ID NO	InDel Lokusu	Kromozon No	Alel büyüklüğü	Alel	Floresans Boya
ID21	rs56168866-F	Kr: 9	**127**-129	ins CA	ATTO-565
	rs56168866-R				
ID22	rs2308112-F	Kr: 9	100-**105**	del GGTGT	ATTO-550
	rs2308112-R				
ID23	rs2308135-F	Kr: 11	**81**-84	ins TAA	
	rs2308135-R				
ID24	rs33972805-F	Kr: 11	**140**-142	ins CT	JOE
	rs33972805-R				
ID25	rs1610919-F	Kr: 12	104-**106**	del AT	ATTO-565
	rs1610919-R				
ID26	rs34660708-F	Kr: 13	69-**71**	del TG	FAM
	rs34660708-R				
ID27	rs2308163-F	Kr: 14	**101**-105	ins TGAT	JOE
	rs2308163-R				
ID28	rs2067147-F	Kr: 14	219-**222**	del CAT	ATTO-550
	rs2067147-R				
ID29	rs16722-F	Kr: 17	**153**-157	ins TTGT	ATTO-565
	rs16722-R				
ID30	rs25549-F	Kr: 17	141-**145**	del CATT	ATTO-550
	rs25549-R				
ID31	rs34495360-F	Kr: 20	**75**-80	ins GACTT	JOE
	rs34495360-R				
ID32	rs16671-F	Kr: 20	**135**-137	ins GG	FAM
	rs16671-R				
ID33	rs2308101-F	Kr: 20	233-**235**	del TA	JOE
	rs2308101-R				
ID34	rs6480-F	Kr: 22	**177**-179	ins TG	
	rs6480-R				
ID35	rs16363-F	Kr: 22	**217**-222	ins TGTTT	
	rs16363-R				
ID36	rs2032678-F	Y	166-**171**	del TTCTC	FAM
	rs2032678-R				
ID37	AMG-XY-F		198-204		
	AMG-XY-R				

Popülasyonlar arası karşılaştırmada, 1000 Genome INDELs verilerinin bulunduğu Ensemble (www.ensemble.org) veri bankasının popülasyon verileri kullanıldı (Tablo V). 36- Indelpleks paneline ait lokuslarının kromozom üzerindeki dağılımları ve yeri Şekil 11'de verildi.

Tablo V. Çalışmada kullanılan Ensemble veri bankasının popülasyon verileri ve örnek sayıları

Popülasyon	Popülasyon Açıklama	Örnek Sayısı
Türkiye	Türk halkı	250
Avrupa	CEPH ailesi örneklerinden Kuzey ve Batı Avrupalılar (Utah'da yaşayan)	503
	Finlanda	
	İngiltere ve İskoçya	
	Toskana, İtalya	
	İberya Yarımadası	
Amerika	Kolombiya	347
	Los Angeles'da yaşayan Meksika kökenliler	
	Peru	
Afrika	Güneybatı Amerika'da bulunan Afrika kökenliler	661
	Kenya Webuye	
	Yoruba, Nijerya	
	Sierra Leone	
	Gambiya	
Doğu Asya	Pekin'de yaşan Han Çinlileri	504
	Güney Han Çinlileri	
	Tokya'da yaşayan Japonlar	
	Vietnam	
Güney Asya	Bangladeş	489
	Hindistan eyaleti, Gujarat	
	Hindistan, Telugu	
	Pakistan, Lahor	
	Sri Lanka, Tamil	

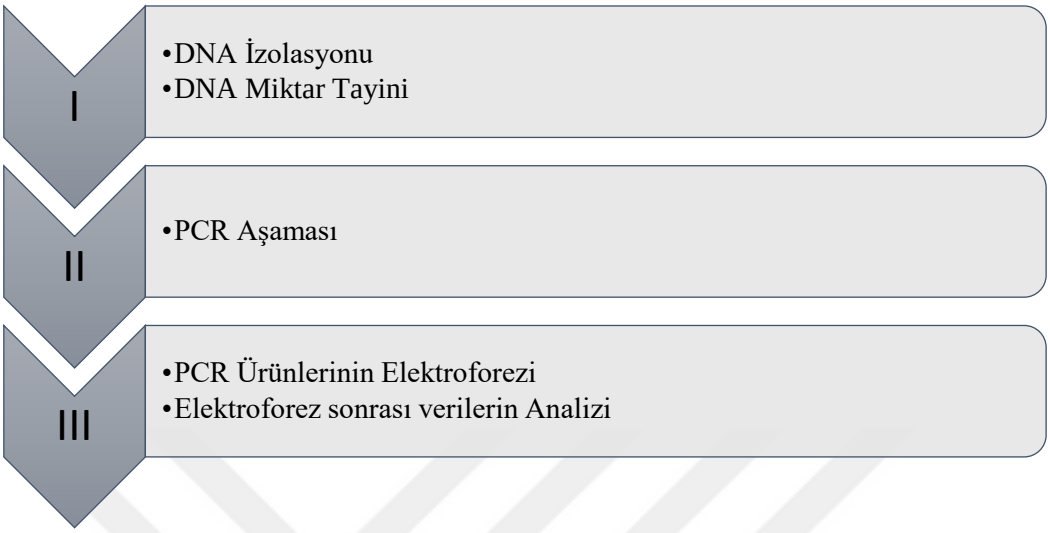
https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population sayfasından referans örnek olarak 1000 genom verileri kullanıldı.



Şekil 11. 36- Indelpleks paneline ait lokuslarının kromozom üzerindeki dağılımları ve yeri

3.3. Deney Aşaması

Araştırmanın laboratuvar aşaması 3 bölümden oluşmaktadır.



3.3.1. DNA izolasyonu ve DNA miktar tayini

Türkiye popülasyonuna ait 250 kişiden toplanmış ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyonu PureLink® Genomic DNA Mini Kit ve QIAamp® DNA Mini Kit ile yapıldı. DNA miktar tayinleri Quant-iT™ dsDNA HS (High Sensetive) Assay Kit ile florometrik yöntemle yapıldı. Bunun için Qubit® 4.0 florometre cihazı (Thermofisher Scientific) kullanıldı.

3.3.1.1.QIAamp® DNA Mini kit ile ağız içi sürüntü örneklerinden DNA izolasyon protokolü

Kişilerden alınan sıvapların uçları kesilerek 1,5 µl'lik mikrosantrifüj tüpüne konuldu. Üzerine 400 µL PBS tamponundan eklendi ve 10 dk. bekletildi. Sıvaplar atıldıktan sonra üzerine önce 20 µl Proteinaz K ve 400 µl Buffer AL eklendi ve 15 sn. vorteks yardımıyla karıştırıldı. Tüpteki karışım 56° C'de 10 dk. inkübe edildi. Üzerine 400 µl Etanol (%96-100) eklendi ve 5 sn. vortekslendi. Elde edilen karışım QIAamp® mini spin kolona aktarıldı. 8000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve temiz toplama tüpü takıldı. Kolona 500 µl AW1 tamponu eklendi. 8000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. Toplama tüpü atıldı ve temiz toplama

tüpü takıldı. Kolona 500 µl AW2 tamponu eklendi. 14.000 rpm'de 3 dk. santrifüj edildi. QIAamp® mini spin kolon, steril 1,5 µl'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi. 150 µl Buffer AE tamponu eklendi. Oda ısısında (25°C) 1 dk. inkübe edilip, 8000 rpm'de 1 dk. santrifüj edildi. QIAamp® mini spin kolon atıldı. 1,5 µl'lik mikrosantrifüj tüpündeki izolat parafilmlendi. Uzun süre saklamak için -20°C 'ye kaldırıldı.

3.3.1.2.Quant-iT™ dsDNA HS (High Sensetive) Assay Kit ile DNA Miktar Tayini Protokolü

Qubit® 4.0 cihazının kalibrasyonu için 2 adet standart ve DNA miktarı ölçülecek örnek sayısı ile toplam sayı belirlenerek, 0,5 ml'lik tüpler hazırlandı. 1 µl Quant-iT™ reagent ve 199 µl Quant-iT™ buffer, tüpe konularak 200 µl toplam hacme sahip solüsyonlar hazırlandı. Hazırlanan solüsyonlarından standartların ölçüleceği tüplere 190 µl, örneklerin ölçüleceği tüplere 199 µl konuldu. İki standarttan da 10 µl alınarak, 190 µl'lik solüsyonu içeren tüplere eklendi. İncelenecek izolatlardan 1 µl alınarak, 199 µl'lik solüsyonu içeren tüplere eklendi. Tüpler 2-3 sn. vortekslendi ve 2 dk. oda sıcaklığında (25°C) inkübe edildi. Kalibrasyonu yapılan Qubit® cihazında örneklerin DNA miktarları ölçüldü.

3.3.2. PCR Aşaması

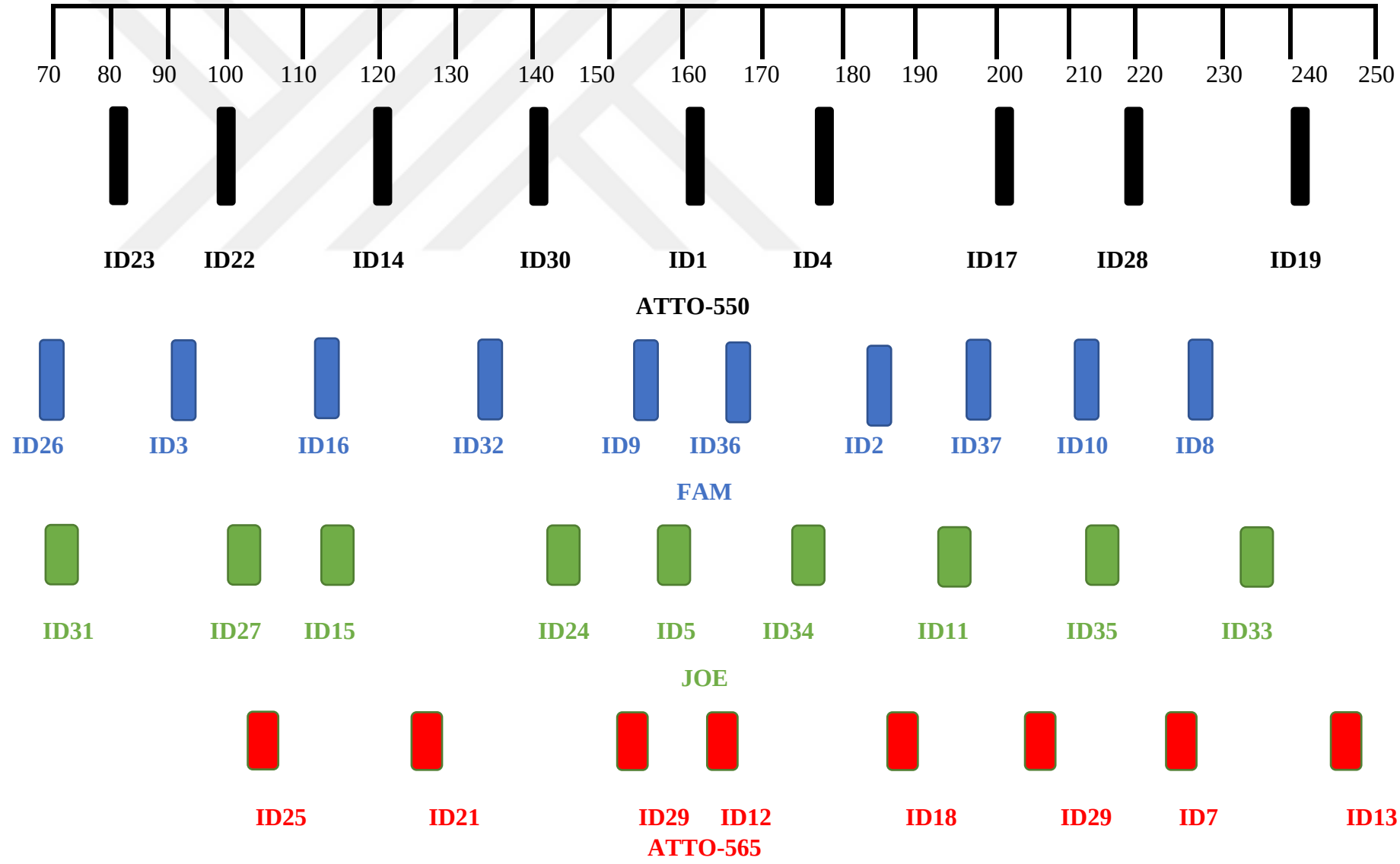
250 kişiye ait izole edilen DNA örneklerinin, Tablo VII'de verilen oranlarda oluşturulan 36- InDelpleks'e ait primer kullanılarak panelin multipleks amplifikasyonu yapıldı. Söz konusu PCR bileşenleri Tablo VI'da belirtilmiş olan miktarlarda oluşturuldu. DNA örnekleri 0.5-1 ng aralığında olacak şekilde sulandırılarak PCR karışımına eklendi. PCR karışımı buz üstünde hazırlandı. Karışımın bulunduğu tüplerde baloncuk olmamasına dikkat edildi. Mültipleks primer karışımı steril 0,5'lik tüplerde alüminyum folyoya sarılarak saklandı.

Tablo VI. PCR Bileşenleri ve miktarları

PCR Bileşenleri	**Hacim/ Reaksiyon (µl) (her bir örnek için)**
2x Master Mix (Qiagen)	5 ul
Primer Mix	3 ul
Distile Su	1 ul
DNA (0.5-1,5 ng/ul)	1 ul
Toplam Hacim	10 ul

Tablo VII. PCR Primer karışım miktarları

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



Şekil 12: 36- InDelpleks panelinin kapiler elektroforez sonucu elde edilen elektroforegram görünümüne (pozisyonuna) ait şematik görüntüsü

3.3.3. PCR programı

PCR, Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems) ısı döngü cihazında yapıldı. PCR döngü koşulları Tablo VIII' da gösterilmiştir.

Tablo VIII. PCR koşulları

Sıra	**İşlem**	**Sıcaklık Değeri**	**Süre**
1	Denatürasyon	95 °C	15 dakika
2	Amplifikasyon (30 döngü)	94 °C	30 saniye
		60 °C	90 saniye
		72 °C	45 saniye
3	Uzama	72 °C	60 dakika
4	Sonuç	4 °C	∞

3.3.4. PCR ürünlerinin ABI PRISM® 3130 genetik analizör cihazında analizi

Örneklerin kapiler elektroforeze hazırlanması, yüklenmesi ve verilerin analizi olmak üzere üç temel adımda yapılmaktadır. Elektroforez sonrası elde edilen veriler, GeneMapper v.4.0 (Thermo Fisher Scientific) programında analiz edilerek 250 kişinin 36- InDelpleks paneline ait genotipleri belirlendi (Ek-2).

3.3.4.1. Örnek hazırlanması

ABI PRISM® 310 genetik analizör cihazında, analizi yapılacak her örnek için bir karışım hazırlandı (Tablo IX). Bunun için 10 µl Hi-Di formamid içine 0.3 µl DNA GeneScan™ 500 LIZ™ eklenerek karışım hazırlandı ve çok kısa vortekslendi. Her bir yürütmede PCR ürünlerinin yanında K562 pozitif kontrol (Promega K562) ve negatif kontrol örnekleri de hazırlandı.

T**ablo IX.** Elektroforez bileşenleri ve miktarlar

Kullanılan Malzemeler	**Miktar (µl) her bir örnek için**
Hi-Di™ formadide	10 ul
GeneScan ™ LIZ 500 Size Standard	0,3 ul
PCR ürünü	1 ul
Toplam Hacim	11,3 ul

3.3.4.2.Örneklerin Elektroforezi

Örnekler GS STR POP7 (1ml) G-5 modülünde, yürütme voltajı 15 kV, enjeksiyon 1.2 kV ve 11 sn ve 60 ºC'de 30 dakida yapıldı. Elektroforez sonrası örneklerin değerlendirilmesi Genemapper® ve Peakscanner programında analiz edilerek genotiplemesi yapıldı.

Önce her örnek için 500 LIZ™ Size Standard (35, 50, 75, 100, 139, 150, 160, 200, 250, 300, 340, 350, 400, 450, 490 ve 500) kontrol edildikten sonra analiz yapıldı. 36- InDelpleks louslarının elektroforegramdaki yerleri standart referans alınarak belirlendi. Mavi, yeşil, siyah, kırmızı renklerdeki floresan boyalarla (FAM, JOE, ATTO-565, ATTO-550) işaretli elektroforegramdaki pikler InDel alelleri değerlendirildi. 36- InDelpleks panelinin kapiler elektroforez sonucu elde edilen elektroforegram pozisyonuna ait şematik görüntüsü Şekil 12'da görülmektedir.

3.4. Çalışmada Kullanılan İstatistiksel Yöntemler

Elektroforez sonrası, 250 kişinin 36- InDelpleks genotipleri Arlequin v.3.5.1.2 programında (http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3512/) alel frekansları, beklenen (He) - gözlenen (Ho) heterozigotluk oranları, Hardy-Weinberg dengesi (p değeri) hesaplandı. Arlequin için gerekli olan çevirici dosya formatının oluşturulması için Genetix v.4.0.5.2 (https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/) yazılım programı kullanıldı. Ayrıca adli istatiksel parametreler PowerStats

(Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak her bir lokus için; ayrım gücü (PD), eşleşme olasılığı (Pm), dışlama gücü (PE), polimorfik bilgi içeriği (PIC), tipik babalık indeksi (TPI) hesaplandı. Popülasyonlar arasındaki farklılaşma değerleri (FST) Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak hesaplandı ve filogenetik ağaç çizimi için Mega X v.10.0.5 programı kullanıldı.

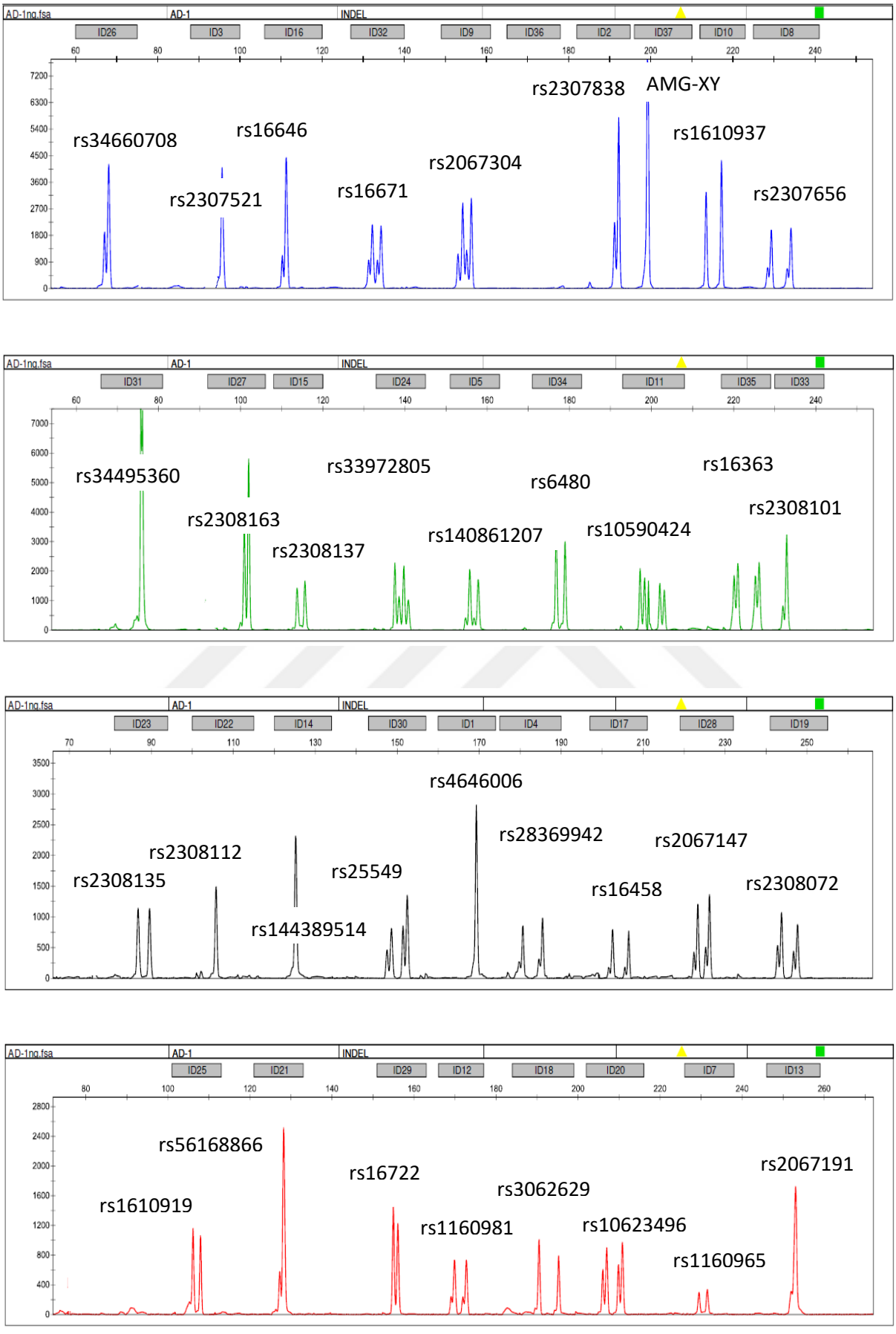
4. Bulgular

Bu çalışmada, 1005 Yeni Fikirler ve Ürünler Araştırma Destek programında TÜBİTAK tarafından desteklenen proje kapsamında optimizasyon ve validasyon çalışmaları yapılmış, otozomal kromozomlar üzerinde bulunan 34 InDel (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, AMG-XY, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) lokusu ve Y kromozomu üzerinde bulunan (rs2032678) lokusu, 1 Y InDel (rs2032678) ve amelogenin lokusundan oluşan 36- InDelpleks panelinin aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan Türkiye toplumuna ait 250 kişinin genotip tiplendirilmesi yapıldı. Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programı kullanılarak alel frekansları, Hardy-Weinberg dengesi, popülasyonlar arası farklılaşması (F_{ST}) hesaplandı. Mega X v.10.0.5 programı kullanılarak filogenetik ağaç çizildi. PowerStats (Promega) Microsoft® Excel sayfası kullanılarak her lokusun adli istatistiki parametreleri hesaplanarak adli olgulardaki kullanımı belirlendi.

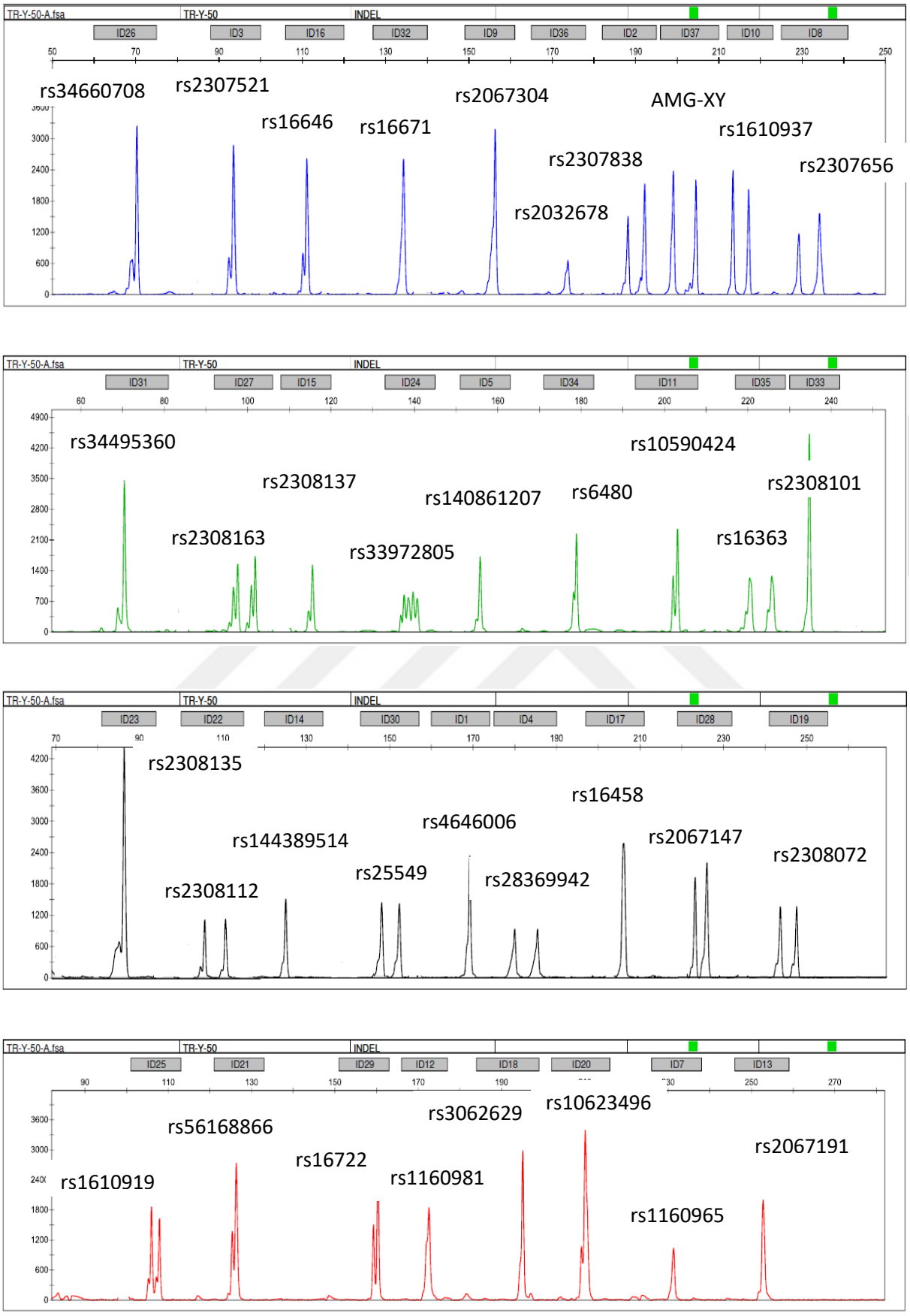
4.1. 36- InDelpleks Panelinin Türkiye Populasyonundaki Polimorfizminin Belirlenmesi

InDelpleks panelinin Türkiye populasyonundaki gen sıklıklarını belirlemek için aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan sağlıklı ve Türkiye'nin tüm bölgelerini homojen yansıtacak şekilde 250 kişiden (126 erkek, 124 kadın) alınan ağız içi sürüntü örneklerinin DNA izolasyonları ve miktarları belirlendikten sonra, optimize edilmiş 36- InDelpleks primerleri kullanılarak PCR yapıldı. ABI PRISM® 3130 genetik analizör cihazında elektroforez yapıldıktan sonra Genemapper® v.4 analiz programı kullanılarak 36 InDel lokusunun 250 kişideki genotipi belirlendi. 250 kişiye ait 36 InDel profili Ek-2 Tablo'da gösterilmektedir. 36-

InDelpleks panelinin bir kadına ait elektroforegram görüntüsü Şekil 13’te ve bir erkeğe ait elektroforegram görüntüsü Şekil 14’te gösterilmektedir.



Şekil 13: 36- InDelpleks panelinin bir kadın genotipine ait elektroforegram görüntüsü



Şekil 14: 36- InDelpleks panelinin bir erkek genotipine ait elektroforegram görüntüsü

4.2. İstatistiksel Bulgular

4.2.1. 36- InDelpleks panelinin Türkiye Populasyonundaki alel frekansları

36- InDelpleks panelinin Türkiye popülasyonundaki gen sıklıkları, Arlequin v.3.5.1.2 programı ile yapıldı. Türkiye popülasyonun alel frekans verileri Tablo X'de ve grafiksel görüntüsü Şekil 15'te verilmiştir.

Tablo X. 36- InDelpleks panelinin Türkiye popülasyonundaki alel frekansları

InDel Lokusu	Frekans	Frekans
	Del	İns
ID 1	0.454	0.546
ID 2	0.464	0.536
ID 3	0.468	0.532
ID 4	0.534	0.466
ID 5	0.516	0.484
ID 7	0.542	0.458
ID 8	0.458	0.542
ID 9	0.556	0.444
ID 10	0.572	0.428
ID 11	0.456	0.544
ID 12	0.566	0.434
ID 13	0.512	0.488
ID 14	0.666	0.334
ID 15	0.368	0.632
ID 16	0.566	0.434
ID 17	0.576	0.424
ID 18	0.486	0.514
ID 19	0.546	0.454
ID 20	0.466	0.534
ID 21	0.124	0.446 - 0.430
ID 22	0.690	0.310
ID 23	0.514	0.486
ID 24	0.424	0.576
ID 25	0.508	0.492
ID 26	0.492	0.508
ID 27	0.452	0.548
ID 28	0.366	0.634
ID 29	0.696	0.304
ID 30	0.632	0.368
ID 31	0.656	0.344
ID 32	0.468	0.532
ID 33	0.498	0.502
ID 34	0.358	0.642
ID 35	0.462	0.538

Tablo XI'de ID21 (rs56168866) lokusunda üçlü alelle rastlanmasında dolayı 6 farklı genotip görülebilmektedir ve genotiplerin 250 örnekte dağılımı verilmiştir. Tri alelik belirteçler iki alelli lokuslara göre polimorfik güçleri daha yüksektir. Bu da 36-Indelpleks panelimizin ayrım gücünü arttırmıştır.

Tablo XI. 36- InDelpleks panelinde ID21(rs56168866) lokusunda tri (üç) alelik polimorfizm

Görülme şekli	Homozigot Del	Homozigot In/Del	Homozigot In/Del	Heterozigot InDel	Heterozigot InDel	Heterozigot InDel
ID21 Alel büyüklüğü	123	126	128	123-126	126-128	123-128
Gözlenen G. N=250	7	48	50	30	97	18
Yüzde (%)	2.8	19.2	20	12	38.8	7.2
Beklenen G.	4	50	46	28	26	96

$$\boldsymbol{Alel\ frekans} = \frac{(\boldsymbol{Homozigot\ sayısı} \times \mathbf{2}) + \boldsymbol{Heterozigot\ sayısı}}{\boldsymbol{Toplam\ alel\ sayısı}}$$

Yukardaki formüle göre (79);

Alel frekans 123 InDel bölgesi için; 0,124

Alel frekans 126 InDel bölgesi için; 0,446

Alel Frekans 128 InDel bölgesi için 0,430 olarak hesaplanmıştır.

Ki-kare (X^2) analizinde kullanılan formül (79);

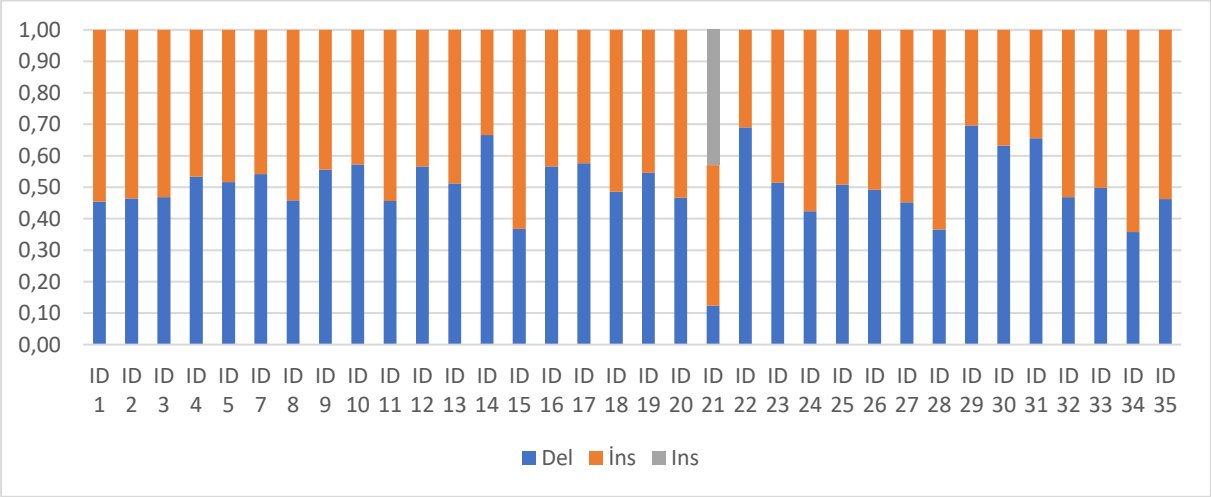
$$\boldsymbol{x^2} = \sum \frac{(\boldsymbol{G} - \boldsymbol{B})}{\boldsymbol{B}}$$

G= İlgili lokus için gözlenen genotipler

B= İlgili lokus için beklenen genotipler

X^2 değeri hesaplanırken kullanılan sistemdeki alel sayısı arttıkça doğal olarak şansa bağlı sapmanın beklenen etkisi de artacaktır. ID 21 lokusu için alel sayısı 3 olduğundan serbestlik derecesi de 3 olacaktır.

Formüle göre X^2 değeri 5,14 olarak hesaplanmıştır. X^2 değeri ve serbestlik derecesine denk gelen olasılık değeri 0,25 -0,10 arasındadır. Örneğimizde elde edilen bu değer eşik olan 0,05 'ten büyüktür yani popülasyonumuz ID21 lokusu için dengededir.



Şekil 15: 36- InDelpleks panelinin Türkiye popülasyonu alel frekans oranlarının grafiksel görüntüsü

4.2.2. Hardy-Weinberg Dengesi

Türkiye popülasyonunda çalışılan 36-Indelpleks panelinin otozomal 34 InDel lokusunun Arlequin v.3.5.1.2 programında p-değerleri hesaplandı ve Hardy-Weinberg dengesine bakıldı. Tablo XII'de 34 InDel lokusuna ait beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri ve p-değerleri verilmiştir. Analiz sonucu elde edilen p-değerleri için p= 0,05/34 şeklinde Bonferonni düzeltmesi yapılarak anlamlılık düzeyi p> 0,001470 olarak alındı. ID30 lokusunda p değeri 0,001470'ten küçük olduğundan Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermiştir.

Tablo XII. 36-Indelpleks panelinin Hardy-Weinberg denge tablosu

Lokus	Göz.Het.	Bek.Het.	P-değeri	Lokus	Göz.Het.	Bek.Het.	P-değeri
ID 1	0.48400	0.49676	0.70193	**ID 19**	0.40400	0.49676	0.00345
ID 2	0.49600	0.49840	100000	**ID 20**	0.47600	0.49869	0.52612
ID 3	0.44800	0.49895	0.12608	**ID 21**	0.58000	0.60099	0.10000
ID 4	0.47600	0.49869	0.52499	**ID 22**	0.44400	0.42866	0.65598
ID 5	0.46400	0.50049	0.26203	**ID 23**	0.42800	0.50061	0.02298
ID 7	0.49200	0.49747	0.89910	**ID 24**	0.52000	0.48943	0.36561
ID 8	0.46800	0.49747	0.37465	**ID 25**	0.48800	0.50087	0.70786
ID 9	0.51200	0.49472	0.61022	**ID 26**	0.52800	0.50087	0.44647
ID 10	0.50400	0.49061	0.69811	**ID 27**	0.49600	0.49638	100000
ID 11	0.54400	0.49712	0.15942	**ID 28**	0.42000	0.46502	0.13593
ID 12	0.36400	0.36761	0.86449	**ID 29**	0.40000	0.42402	0.37597
ID 13	0.56000	0.50071	0.07705	**ID 30**	0.72000	0.46608	0.00000
ID 14	0.43600	0.44578	0.77593	**ID 31**	0.43200	0.45223	0.48601
ID 15	0.40800	0.46608	0.05615	**ID 32**	0.48800	0.49895	0.79976
ID 16	0.45200	0.49227	0.19596	**ID 33**	0.46800	0.50099	0.31297
ID 17	0.45600	0.48943	0.30153	**ID 34**	0.41200	0.46059	0.10111
ID 18	0.42800	0.50061	0.02297	**ID 35**	0.55600	0.49811	0.07732

4.2.3. Adli İstatistik Parametreleri

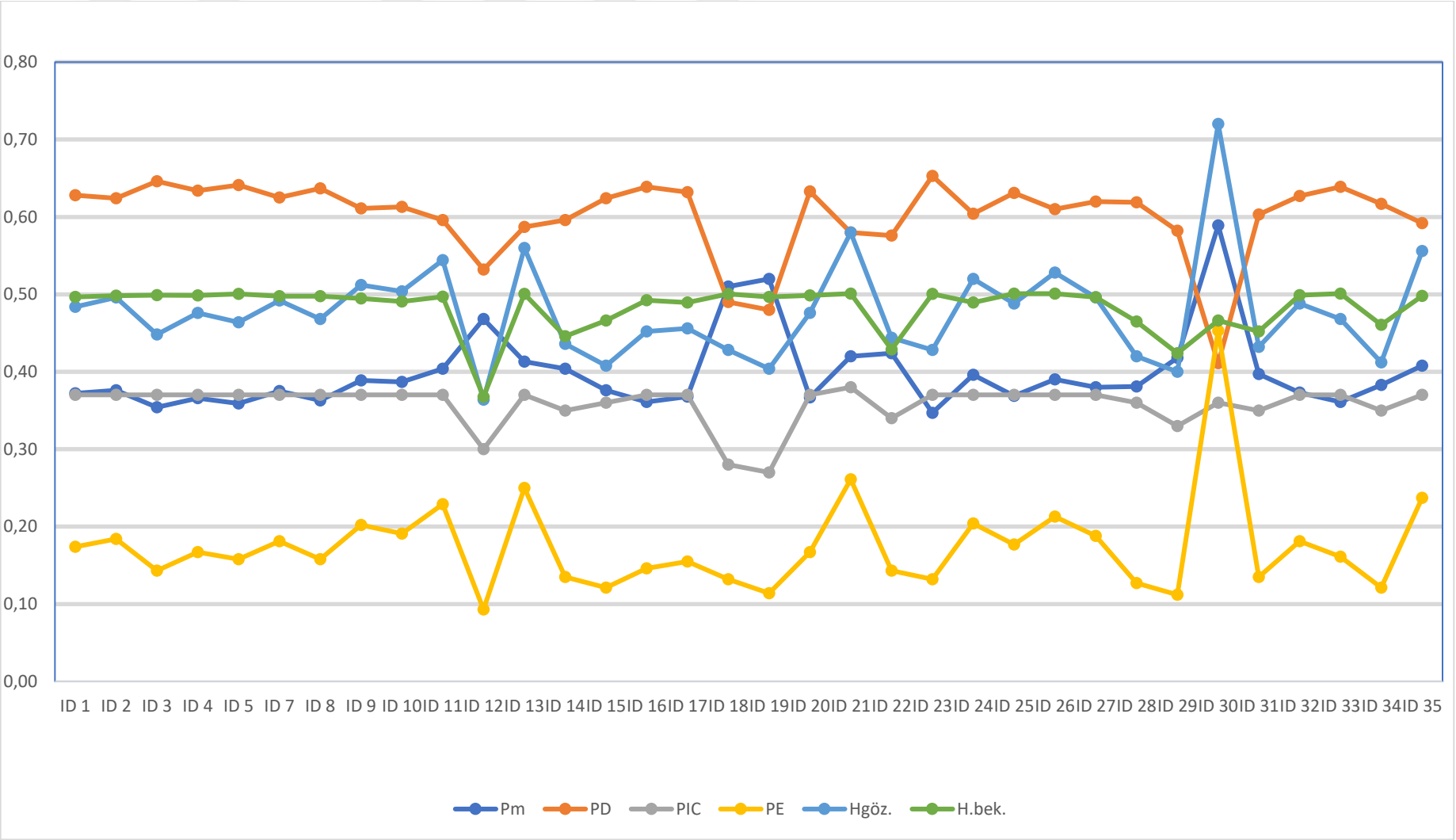
34 InDel lokusunun ayrım gücü (Power of Discrimination, PD), eşleşme olasılığı (Match Probability, Pm), polimorfik bilgi içeriği (Polymorphism Information Content, PIC), dışlama gücü (Power of Exclusion, PE) ve babalık indeksi (Paternity Index, PI) PowerStats (Promega) Microsoft® Excel dosyası kullanılarak hesaplandı. Bu istatistiksel parametreler Tablo XIII'de gösterilmiştir. Grafiksel görüntüsü ise Şekil 16'da verilmiştir.

Tablo XIII. 34 InDel lokusunun adli istatistik analiz parametreleri

Lokuslar	Pm	PD	PIC	PE	TPI
ID 1	0,372	0,628	0,37	0,174	0,97
ID 2	0,376	0,624	0,37	0,184	0,99
ID 3	0,354	0,646	0,37	0,143	0,99
ID 4	0,366	0,634	0,37	0,167	0,95
ID 5	0,359	0,641	0,37	0,158	0,93
ID 7	0,375	0,625	0,37	0,181	0,98
ID 8	0,363	0,637	0,37	0,158	0,93
ID 9	0,389	0,611	0,37	0,202	1,03
ID 10	0,387	0,613	0,37	0,191	1,01
ID 11	0,404	0,596	0,37	0,229	1,10
ID 12	0,468	0,532	0,30	0,093	0,79
ID 13	0,413	0,587	0,37	0,250	1,15
ID 14	0,404	0,596	0,35	0,135	0,88
ID 15	0,376	0,624	0,36	0,121	0,85
ID 16	0,361	0,639	0,37	0,146	0,91
ID 17	0,368	0,632	0,37	0,155	0,93
ID 18	0,510	0,490	0,28	0,132	0,87
ID 19	0,345	0,655	0,37	0,14	0,83
ID 20	0,367	0,633	0,37	0,167	0,95
ID 21	0,244	0,756	0,515	0,290	1,25
ID 22	0,424	0,576	0,34	0,143	0,90
ID 23	0,347	0,653	0,37	0,132	0,87
ID 24	0,396	0,604	0,37	0,204	1,04
ID 25	0,369	0,631	0,37	0,177	0,98
ID 26	0,390	0,610	0,37	0,213	1,06
ID 27	0,380	0,620	0,37	0,188	1,00
ID 28	0,381	0,619	0,36	0,127	0,86
ID 29	0,418	0,582	0,33	0,112	0,83
ID 30	0,589	0,411	0,36	0,453	1,76
ID 31	0,397	0,603	0,35	0,135	0,88
ID 32	0,373	0,627	0,37	0,181	0,98
ID 33	0,361	0,639	0,37	0,161	0,94
ID 34	0,383	0,617	0,35	0,121	0,85
ID 35	0,408	0,592	0,37	0,237	1,12

Adli DNA testinde, dahil etmenin öneminin değerlendirilmesine olayla ilgili kanıta dayalı DNA profilleri üzerinden hesaplamalar yapılır. Bunlar rastgele eşleşme olasılığı (RMP), olasılık oranı (LR) ya da kombine dışlama/dahil olma (CPE/CPI) olasılıklardır (104).

Çalışmamızda 36-Indelpleks panelinin dışlama olasılığı (Cumulative Probability of Exclusion, CPE) 0,998706474379097, ayrım gücü (Combined discrimination power, CPD) 0,999999999999988 olarak hesaplandı.

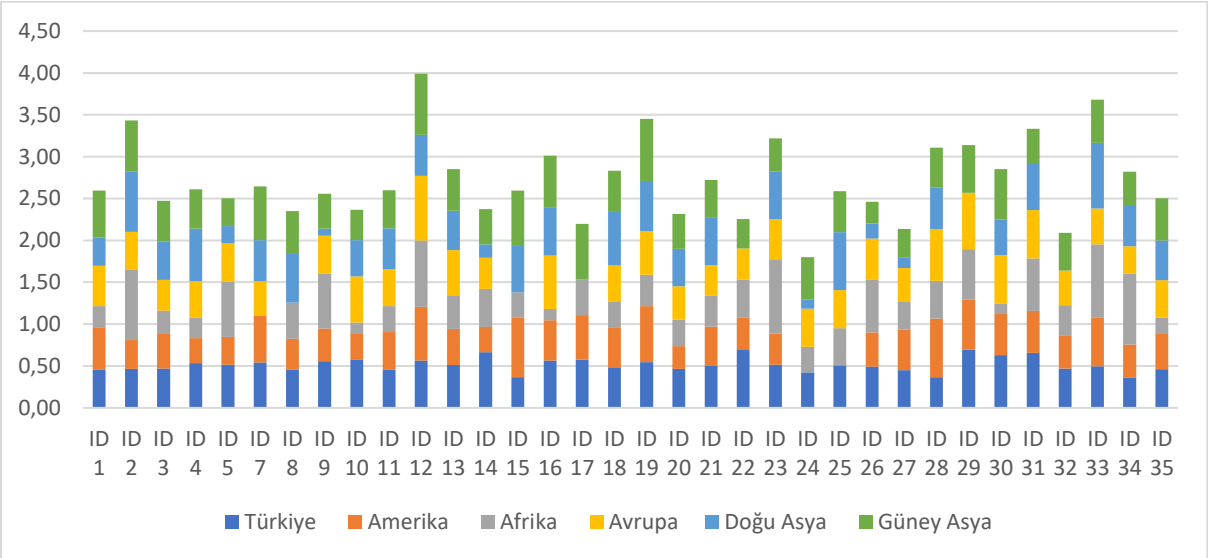


Şekil 16: 36-Indelpleks panelinin adli istatistik analiz parametrelerinin grafiksel görüntüsü

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

Bu tez çalışmasında Türkiye popülasyonu için araştırılan 36-Indelpleks panelinin dünya popülasyonlarıyla olan genetik benzerliğini veya uzaklığını tespit etmek için **F_{ST}** (Fixation Index) hesaplandı. Ensembl (https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index) veri tabanından çeşitli popülasyonlara ait 34 InDel lokusunun (rs34660708, rs34495360, rs2308135, rs2307521, rs2308112, rs2308163, rs1610919, rs2308137, rs16646, rs144389514, rs56168866, rs16671, rs33972805, rs25549, rs16722, rs2067304, rs140861207, rs1160981, rs4646006, rs6480, rs28369942, rs2307838, rs3062629, rs10590424, rs16458, rs10623496, rs1610937, rs16363, rs2067147, rs1160965, rs2307656, rs2308101, rs2308072, rs2067191) alel frekansı bilgilerine ulaşılmıştır ve Tablo XIV'de verilmiştir.

Bu veri tabanından Avrupa, Afrika, Amerika, Doğu Asya, Güney Asya popülasyonlarına ait alel frekansı verileri kullanılarak 34 InDel lokusunun her biri için Arlequin ver 3.5.1.2 programı yardımıyla F_{ST} değerleri hesaplandı. İlgili lokusların Türkiye popülasyonu ile diğer popülasyonların alel frekans karşılaştırma grafiği Şekil 17 'de gösterilmiştir.



Şekil 17: 34 InDel lokusunun popülasyonlar arasındaki alel frekansları grafiği

Tablo XIV. 34 InDel lokusuna ait Türkiye ve Ensembl veri tabanındaki farklı popülasyonlara ait alel frekansları

	Türkiye N=250		Amerika N=347		Afrika N=661		Avrupa N=503		Doğu Asya N=504		Güney Asya N=489	
L.	**Del**	**İns**	**Del**	**İns**	**Del**	**İns**	**Del**	**İns**	**Del**	**İns**	**Del**	**İns**
ID1	0.454	0.546	0.501	0.499	0.264	0.736	0.485	0.515	0.346	0.654	0.562	0.438
ID2	0.464	0.536	0.656	0.344	0.159	0.841	0.547	0.453	0.281	0.719	0.387	0.613
ID3	0.468	0.532	0.416	0.571	0.277	0.615	0.368	0.625	0.458	0.542	0.485	0.508
ID4	0.534	0.466	0.300	0.700	0.245	0.755	0.433	0.567	0.638	0.362	0.470	0.530
ID5	0.516	0.484	0.669	0.331	0.340	0.660	0.540	0.460	0.795	0.205	0.666	0.334
ID7	0.542	0.458	0.439	0.561	0.092	0.908	0.584	0.416	0.509	0.491	0.351	0.649
ID 8	0.458	0.542	0.634	0.366	0.565	0.435	0.462	0.538	0.417	0.583	0.489	0.511
ID 9	0.556	0.444	0.610	0.390	0.338	0.662	0.542	0.458	0.916	0.084	0.582	0.418
ID10	0.572	0.428	0.687	0.313	0.861	0.139	0.449	0.551	0.570	0.430	0.636	0.364
ID11	0.456	0.544	0.548	0.452	0.682	0.318	0.552	0.448	0.510	0.490	0.548	0.452
ID12	0,242	0,758	0.359	0.641	0.209	0.791	0.227	0.773	0.512	0.488	0.265	0.735
ID13	0.512	0.488	0.434	0.566	0.404	0.596	0.537	0.463	0.476	0.524	0.501	0.499
ID14	0.666	0.334	0.699	0.301	0.545	0.455	0.630	0.370	0.837	0.163	0.579	0.421
ID15	0.368	0.632	0.285	0.715	0.705	0.295	0.290	0.710	0.443	0.557	0.337	0.663
ID16	0.566	0.434	0.486	0.514	0.133	0.867	0.639	0.361	0.571	0.429	0.624	0.376
ID17	0.576	0.424	0.532	0.468	0.424	0.576	0.603	0.397	0.576	0.424	0.665	0.335
ID18	0.486	0.514	0.476	0.524	0.311	0.689	0.430	0.570	0.650	0.350	0.480	0.520
ID19	0.546	0.454	0.679	0.321	0.372	0.628	0.529	0.471	0.602	0.398	0.740	0.260
ID20	0.466	0.534	0.277	0.723	0.325	0.675	0.395	0.605	0.450	0.450	0.417	0.583
ID21	0.502	0.498	0.467	0.533	0.367	0.633	0.369	0.631	0.572	0.428	0.446	0.554
ID22	0.69	0.31	0.602	0.398	0.546	0.454	0.625	0.375	0.554	0.446	0.648	0.352
ID23	0.514	0.486	0.373	0.627	0.888	0.112	0.487	0.513	0.565	0.435	0.401	0.599
ID24	0.424	0.576	0.483	0.517	0.307	0.693	0.453	0.547	0.108	0.892	0.509	0.491
ID25	0.508	0.492	0.614	0.386	0.555	0.445	0.546	0.454	0.309	0.691	0.502	0.498
ID26	0.492	0.508	0.589	0.411	0.373	0.627	0.509	0.491	0.817	0.183	0.740	0.260
ID27	0.452	0.548	0.484	0.516	0.328	0.672	0.405	0.595	0.123	0.877	0.346	0.654
ID28	0.366	0.634	0.297	0.703	0.543	0.457	0.374	0.626	0.507	0.493	0.511	0.489
ID29	0.696	0.304	0.594	0.406	0.605	0.395	0.673	0.327	0.643	0.357	0.570	0.430
ID30	0.632	0.368	0.500	0.500	0.885	0.115	0.419	0.581	0.576	0.424	0.396	0.604
ID31	0.656	0.344	0.500	0.500	0.627	0.373	0.581	0.419	0.550	0.450	0.421	0.579
ID32	0.468	0.532	0.392	0.608	0.368	0.632	0.412	0.588	0.410	0.590	0.457	0.543
ID33	0.498	0.502	0.415	0.585	0.129	0.871	0.568	0.432	0.218	0.782	0.485	0.515
ID34	0.358	0.642	0.398	0.602	0.845	0.155	0.330	0.670	0.491	0.509	0.400	0.600
ID35	0.462	0.538	0.429	0.571	0.197	0.803	0.445	0.555	0.474	0.526	0.506	0.494

Ensembl veri tabanından genotip bilgileri bulunan 34 InDel lokuslarının birlikte popülasyonlar arası farklılıklarını gösteren F_{ST} değerleri Tablo XV ’de ve her bir InDel lokusunun popülasyonlar arası farklılıklarını gösteren F_{ST} değerleri Tablo XVII’da gösterilmiştir. Tablo XVIII’ de ise sadece Avrupa popülasyonu ülkeri (İtalya, İngiltere, İspanya, Finandiya ve Türkiye) arasındaki her bir InDel lokusu için genetik farlılıklarını gösteren F_{ST} değerleri verilmiştir.

Tablo XV. 36-InDelpleks’in popülasyonlar arası Fst değerleri

	Türkiye	Afrika	Avrupa	Amerika	Doğu Asya	Güney Asya
Türkiye	-	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
Afrika	0.12329	-	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
Avrupa	0.02462	0.13864	-	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
Amerika	0.04458	0.13179	0.02709	-	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000
Doğu Asya	0.06439	0.15043	0.07179	0.07537	-	0.00000+-0.0000
Güney Asya	0.04370	0.13343	0.02240	0.02609	0.05364	-

Fst değeri 0-0.05 küçük, 0.05-0.15 orta düzey, 0.15-0.25 büyük, 0.25’ten büyük ise pupulasyonlar arasında çok büyük bir genetik farklılaşma olduğunu gösterir.

Tablo XVI. 36- InDelpleks panelinin Avrupa ülkeleri arası Fst değerleri

	Türkiye	Finlandiya	İngiltere	İspanya	İtalya
Türkiye	0.00000				
Finlandiya	0.05811	0.00000			
İngiltere	0.02399	0.04817	0.00000		
İspanya	0.02446	0.04706	-0.00081	0.00000	
İtalya	0.02557	0.05103	0.00322	0.00576	0.00000

Fst değeri 0-0.05 küçük, 0.05-0.15 orta düzey, 0.15-0.25 büyük, 0.25’ten büyük ise popülasyonlar arasında çok büyük bir genetik farklılaşma olduğunu gösterir.

Tablo XVII. 36- InDelpleks panelinin popülasyonlar arası her lokus için Fst değerleri

	Lokuslar																
Popülasyon	**ID1**	**ID2**	**ID3**	**ID4**	**ID5**	**ID7**	**ID8**	**ID9**	**ID10**	**ID11**	**ID12**	**ID13**	**ID14**	**ID15**	**ID16**	**ID17**	**ID18**
Türkiye	0.00000	0.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Avrupa	0.00028	0.01267	0.01866	0.01820	-0.0005	0.00239	-0.0014	-0.0012	0.02851	0.01696	-0.0004	-0.0000	0.00131	0.01423	0.08680	0.00022	0.21938
Amerika	0.00277	0.07048	0.00300	0.10738	0.04870	0.01977	0.06307	0.00529	0.02927	0.01537	0.02788	0.13741	0.00131	0.01696	0.01254	0.00173	0.17233
Doğu Asya	0.02190	0.07030	-0.0011	0.02081	0.16705	0.00069	0.00166	0.32779	-0.0014	0.00431	0.13656	0.00079	0.07873	0.09530	-0.0013	-0.0014	0.04128
G. Asya	0.01955	0.01034	-0.0009	0.00590	0.04615	0.07256	0.00061	0.00020	0.00764	0.01557	-0.0005	-0.0013	0.01468	0.00117	0.00611	0.01574	0.35808
Afrika	0.04697	0.12888	0.03165	0.16976	0.06118	0.43723	0.02222	0.09069	0.21195	0.10082	0.00186	0.02126	0.02930	0.20601	0.37957	0.04251	0.44005
Popülasyon	**ID19**	**ID20**	**ID21**	**ID22**	**ID23**	**ID24**	**ID25**	**ID26**	**ID27**	**ID28**	**ID29**	**ID30**	**ID31**	**ID32**	**ID33**	**ID34**	**ID35**
Türkiye	0.00000	0.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Avrupa	0.19801	0.00737	0.03384	0.00716	-0.0000	0.00052	0.00145	-0.0009	0.00260	-0.00133	0.00025	0.08712	0.01002	0.00505	0.00964	0.00029	-0.0009
Amerika	0.37315	0.07180	0.00001	0.01385	0.03647	0.00543	0.02219	0.01817	0.00118	0.01091	0.02054	0.03404	0.04493	0.01034	0.01155	0.00116	-0.0004
Doğu Asya	0.27398	-0.00123	0.00905	0.00199	0.00384	0.25431	0.07971	0.22369	0.25639	0.03768	0.00527	0.00538	0.02155	0.00496	0.16058	0.03368	-0.0010
G. Asya	0.44578	0.00241	0.00478	0.00199	0.09393	0.01297	-0.0014	0.12938	0.02234	0.04011	0.03270	0.10706	0.10264	-0.0014	-0.0013	0.00209	0.14118
Afrika	0.06365	0.03816	0.06096	0.04026	0.33125	0.02860	0.00311	0.02756	0.03015	0.05918	0.01695	0.18533	0.00043	0.01835	0.30578	0.42774	0.00355
	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye

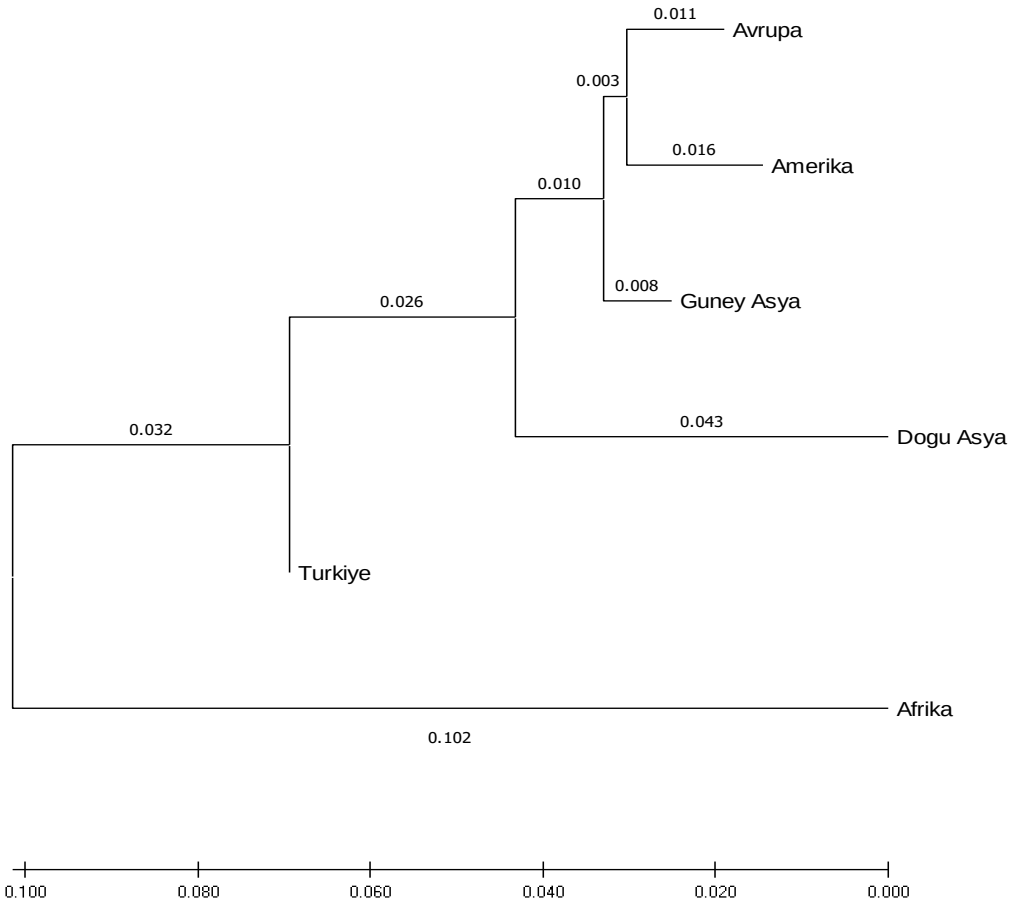
0-0,05 arası küçük farklılaşma; 0,05-0,15 orta düzey farklılaşma; 0,15-0,25 arası büyük farklılaşma> 0,25 çok büyük farklılaşma

Tablo XVIII. 36- InDelpleks panelinin Avrupa popülasyonları arası Fst Değerleri

	Lokuslar																
Popülasyon	**ID1**	**ID2**	**ID3**	**ID4**	**ID5**	**ID7**	**ID8**	**ID9**	**ID10**	**ID11**	**ID12**	**ID13**	**ID14**	**ID15**	**ID16**	**ID17**	**ID18**
Türkiye	0.00000	0.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Finlandiya	0.00379	0.00397	0.02609	002483	0.00174	0.01538	0.02029	0.02478	0.01306	-0.0035	0.24168	-0.0033	0.23079	0.29282	0.01220	-0.0012	0.21548
İngiltere	0.00407	0.00899	0.00178	0.01828	-0.0032	0.00715	-0.0027	-0.0021	0.01604	0.00981	0.00176	-0.0023	0.01638	0.00496	0.01084	0.00604	0.28074
İspanya	0.01551	0.02514	0.00734	001627	-0.0033	-0.0031	-0.0032	0.00067	0.01151	0.03135	-0.0019	-0.0029	-0.0031	0.00496	0.01170	-0.0104	0.25169
İtalya	-0.0032	0.01029	0.02999	0.00819	0.01342	0.02007	-0.0002	-0.0019	0.00459	0.01654	0.01045	-0.0029	0.13194	0.00770	-0.0002	-0.0010	0.18192
	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye
Popülasyon	**ID19**	**ID20**	**ID21**	**ID22**	**ID23**	**ID24**	**ID25**	**ID26**	**ID27**	**ID28**	**ID29**	**ID30**	**ID31**	**ID32**	**ID33**	**ID34**	**ID35**
Türkiye	0.00000	0.000000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
Finlandiya	0.16634	-0.00322	0.07563	0.24642	0.00292	0.00525	-0.00352	-0.00343	0.03727	0.18706	0.00519	-0.0024	0.00427	0.00301	0.00359	-0.0032	0.00150
İngiltere	0.22306	0.01617	0.02023	0.01933	0.01269	-0.0037	-0.0019	-0.0030	-0.0022	-0.0011	-0.0019	0.09159	0.03977	0.00098	0.01380	-0.0037	-0.0034
İspanya	0.24149	0.00515	0.02165	0.02345	-0.0022	-0.0021	0.01461	-0.0033	0.00575	0.00655	-0.0012	0.07807	0.01412	0.01744	0.00436	0.00854	0.01697
İtalya	0.23638	0.02392	0.00783	-0.00040	-0.0029	0.04965	0.00326	0.01126	-0.0013	-0.0033	-0.0033	0.08159	0.00280	0.00272	0.01121	0.00438	0.00350
	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye	Türkiye

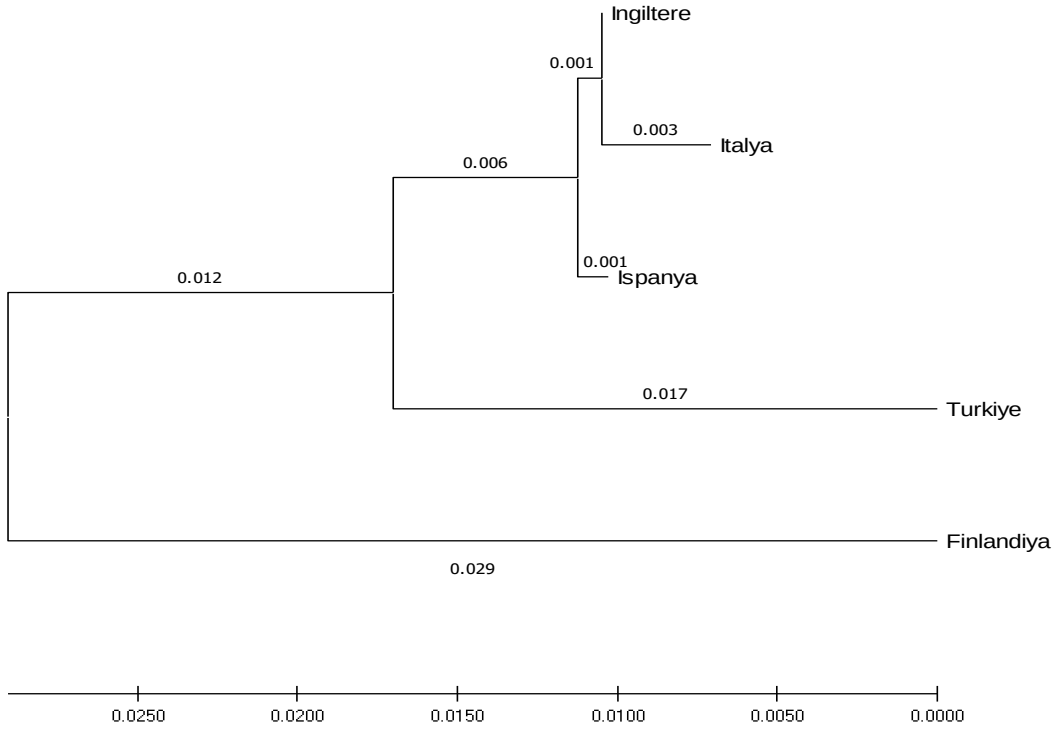
4.2.3.2.Filogenetik ağaç çizimi

Bu çalışmada Türkiye için elde edilen ve Avrupa, Afrika, Amerika, Güney Asya, Doğu Asya popülasyonlarına ait Ensembl'dan alınan genotip verileri kullanılarak 36- InDelpleks paneli için Tablo XV'de bulunan Fst değerleri ile Mega X v.10.0.5 programında "komşu birleştirme" (neighbor joining) yöntemi kullanılarak elde edilen filogenetik ağaç Şekil 18'de gösterilmiştir. Türkiye popülasyonuna en yakın popülasyonun Avrupa ve en uzak popülasyonların Afrika ve Doğu Asya olduğu görülmektedir.



Şekil 18: 36- InDelpleks panelinin dünya ülkeleriyle komşu birleştirme ağaç yöntemi ile çizilen filogenetik ağacı

Türkiye için elde edilen ve Avrupa ülkelerinden Finlandiya, İngiltere, İspanya, İtalya popülasyonlarına ait Ensembl'dan alınan genotip verileri kullanılarak 36- InDelpleks için Tablo XVI'de bulunan Fst değerleri ile Mega X v.10.0.5 programında "komşu birleştirme" (neighbor joining) yöntemi kullanılarak elde edilen filogenetik ağaç Şekil 19'da gösterilmiştir. Buna göre Türkiye'nin karşılaştırma yapılan diğer Avrupa ülkeleriyle birbirine yakın olduğu görülmektedir.



Şekil 19: 36- InDelpleks panelinin Avrupa ülkeleriyle komşu birleştirme ağaç yöntemi ile çizilen filogenetik ağacı

5. Tartışma

Günümüzde DNA profili belirlemede yaygın olarak STR sistemi ve son zamanlarda SNP sistemleri olmak üzere iki sistem kullanılmaktadır. STR'lerin yüksek mutasyon oranlarına ve büyük amplikonlara sahip olması; SNP'lerin ise pahalı, uzun zaman alması ve yüksek teknolojilere ihtiyaç duyması, son zamanlarda keşfedilen insersiyon/delesyon polimorfizmine (InDeL) olan ilgiyi arttırmıştır (1,3).

InDel'ler düşük mutasyon oranına sahip olup insan genomunda sık rastlanan genetik varyasyonlardan biridir. 2002'de insan genomunda farklı uzunluk varyasyonlarıyla 2000 diallelik InDel tanımlamış ve 2006 yılında üç farklı insan popülasyonundan elde edilen verilerle ilk InDel varyasyon haritası oluşturulmuştur (53,54). Adli bilimciler son dönemlerde bozulmuş örneklerde daha yüksek profilleme başarısı gösteren kısa amplikonlara sahip polimorfik markırların geliştirilmesine odaklanmıştır. InDel'ler bu anlamda küçük amplikonlarlara sahip olması, kolay genotipleme/yorumlama ve multipleks oluşturmaya elverişli olmalarından dolayı son zamanlarda kimliklendirmede, babalık ve akrabalık analizinde, popülasyon genetiği gibi birçok farklı alanlarda kullanılmaya başlanmıştır (1,2).

Bu çalışmanın amacı otozomal kromozomlar üzerinde yer alan 34- otozomal InDel lokusu, 1-Y InDel ve Amelogenin lokuslarından oluşan multipleks panelin (36-InDelpleks)'nin Türkiye'deki polimorfizmini belirleyerek adli bilimlerde babalık, annelik, akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde ve kimlikendirmede kullanımını sağlamaktır. 1005 Yeni Fikirler ve Ürünler Araştırma Destek programında TÜBİTAK tarafından desteklenen proje kapsamında optimizasyon ve validasyon çalışmaları tamamlanmış (105) 36-InDelpleks paneli'nin Türkiye'nin tüm bölgelerini homojen bir şekilde yansıtan ve çalışmaya rıza gösteren 250 gönüllüden alınan ağız içi sıvap örneklerinde 36-InDelpleks paneli tiplendirildi (Ek-2) ve Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programı kullanılarak 36-InDelpleks paneli'nin gen sıklıkları belirlendi (Tablo X).

36-InDelpleks panelinde en düşük insersiyon gen sıklığına sırasıyla 0.304 (rs16722) ID 29, 0,31 (rs2308112)- ID 22 ve 0,33 (rs144389514)- ID 14 lokuslarında gözlendi. En yüksek insersiyon gen sıklığı 0.642 (rs6480)- ID 34 ile 0.634 (rs2067147)- ID28 lokuslarda gözlendi. Çalışmamızda 36-InDelpleks panelinin kümülatif dışlama olasılığı (Cumulative Probability of Exclusion, CPE) 0,998706474379097, ayrım gücü (Combined discrimination power, CPD) 0,999999999999988 olarak hesaplandı. Genel olarak 36-InDelpleks paneli'nin Türkiye popülasyonunda hem lokuslar arasında hem de aleller arasındaki gen sıklık dağılımlarına bakıldığında tümünün dengede olduğu söylenebilir. Bu da panel oluşturulurken seçilen InDel lokuslarının göz önüne alınan kriterlerin doğruluğunu göstermektedir.

InDel lokusları genelde bi alelliktir. Ancak çalışmamızda (rs56168866)- ID 21 lokusunda üçlü alelle rastlandı (Tablo XI). Adli genetikte yeni uygulanmaya başlanan Multi-InDel'ler ilk olarak 2014 yılında Huang ve arkadaşları tarafından çalışıldı. Yaptıkları çalışmada D9p23 lokusunun PCR fragmanları 93 bç, 96 bç ve 98 bç olan üç alelle rastlamışlardır. 36- InDelpleks panelinde rastlanan üçlü alel bölgesiyle aynı olan (rs56168866) ID21 lokusun ayrım gücü çalışmamız ile benzerlik göstermektedir (Çin; PD: 0,743, Türkiye; PD: 0,756). Polimorfik özelliklerinden dolayı özellikle soy tayininde araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Zhao ve arkadaşlarının 2018 yılında geliştirdiği 11-haplotip multipleks paneli de 22 tri alellik InDel içermektedir. CPD ve CPE değerleri sırasıyla 0.999999999999988 ve 0.9987572351 olup çalışmamızla benzerlik göstermektedir (Tablo XIX) (106).

Popülasyonun dengede olup olmadığını belirlemek üzere Arlequin v.3.5.1.2 yazılım programında heterozigotluk değerleri ve p değerleri hesaplandı (Tablo XII). P değeri için Bonferroni düzeltmesi yapılarak anlamlılık düzeyi p> 0,001470 olarak alındı. Hardy-Weinberg dengesinden istatistiksel olarak sapma gösteren tek lokus (rs25549)- ID 30 tespit edildi (Tablo XII). Gözlemlenen en yüksek heterozigotluk 0.58 değeriyle (rs56168866)- ID21 lokusunda ve en düşük heterozigotluk değeri 0.36 değeriyle (rs1160981)- ID12 lokusunda gözlendi.

Popülasyondaki genetik varyasyonun miktarı ile heterozigotluk oranları arasında doğru orantı vardır. Çalışmamızda tüm lokusların gözlemlenen ortalama heterozigotluk değerleri 0,48 olarak hesaplandı. Bu değerin bialellik polimorfik sistemler için aranan uygun bir oran olduğu söylenebilir (108). Olgu çözümünde heterozigotluk değeri en yüksek olan polimorfik sistemler tercih edilir. Çünkü heterozigotluk değeri yüksek olan lokuslara sahip sistemlerin ayrım gücü, dışlama gücü ve babalık indeksi değerleri de yüksektir.

36- InDelpleks panelinin her bir lokusunun dışlama gücü, ayrım gücü popülasyon içinde rastlanma şansı ve babalık indeksi gibi olgu çözümünde kriter olan adli istatiksel parametrelerin hesaplamaları Powerstat (Promega) programı ile yapıldı. Her lokus için ayrı ayrı hesaplanan değerler içinde en düşük ayrım gücüne (PD) 0,411 ile ID 30 lokusu ve en yüksek ayrım gücüne (PD) 0,756 ile ID 21 lokusunun sahip olduğu belirlendi. Lokuslar birlikte çalışıldığında 36-InDelpleks panelinin kümülatif ayrım gücünün (CPD) 0.999999999999988 olduğu tespit edildi. Dışlama gücü (PE) en yüksek 0,29 değeriyle ID21 lokusunda olduğu ve en düşük ise 0,11 değeriyle ID 29 lokusunda olduğu görüldü. Eşleşme olasılığı (Pm) en yüksek ID 30 (0,589) lokusunda ve en düşük ID 21 (0,244) lokusunda olduğu gözlendi (Tablo XIII). 36- InDelpleks paneli için toplam CMP değeri ise $2.14x10^{-14}$ olarak hesaplandı. 36-InDelpleks paneli'nin babalık Indeks hesaplamalarında (TPI) en yüksek değer 1,76 ile ID30 lokusunda, en düşük ise 0,79 ve 0,83 değerleriyle sırasıyla ID12, ID19 lokuslarında gözlendi.

36-InDelpleks panelinin ayrım gücünün %99,99 üzerinde olduğu Türkiye popülasyonunda adli kimliklendirmede ve akrabalık belirlenmesinde kullanılabilecek oranda gerekli dışlama ve ayrım gücüne ulaşılabildiği tespit edildi.

Huang ve ark. yaptıkları çalışmada 32-plex InDel multipleks paneli geliştirmişlerdir (109). Bu panelin ortalama heterozigotluk oranının 0,48 ve total ayrım gücünü (PD) %99 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan lokusların bu panelde yer alan lokuslardan farklı

olmasıyla birlikte sonuçlar 36-InDelpleks paneli'nin ortalama heterozigotluk oranı 0,48 ve total ayrım gücü %99 olmasıyla benzerlik göstermektedir.

Tablo XIX. Kapiler elektroforez bazlı sistemlerin CMP, CDP ve CPE değerlerinin karşılaştırılması

Panel	Lokus	Popülasyon	CMP	CDP	CPE	Referans
36-InDelpleks	34	Türkiye	$2.14x10^{-14}$	0,9999999999999	0.9987	Bu çalışma
18 Multi-InDel	36	Çin	3.23×10^{-12}		0.9989	(107)
20-Multi-InDel	42	Çin	5.9997×10^{-12}	0.9999999999994	0.9989	(110)
50 InDels	47	Çin	$1.998 x10^{-15}$	0.9999999999999	0.9997	(21)
17 Multi-InDel	17	Çin	3.9099×10^{-11}	0.9999999999609	0.9956	(59)
29 InDel	29	Çin	9.13×10^{-12}	0.9999999999908	0.9930	(111)
32-plex InDels	32	Çin		0.9999999999999	0.9982	(109)

Rui Pereira ve arkadaşlarının (86) geliştirdikleri otozomal 38 InDel- multipleks panelinde yer alan 3 InDel bölgesi (rs2308137, rs3397205, rs1610919) çalışmamızla ortak lokuslardır. Bu lokusların çalışmamızda hesaplanan dışlama gücü değerleri Avrupa, Afrika ve Doğu Asya popülasyonları ile karşılaştırıldı. ID15-rs2308137; Türkiye, PD: 0,624 değeri Afrika PD:0,569, Avrupa PD: 0,599 ve D. Asya PD:0,621 değerleriyle benzer, ID24-rs3397205; Türkiye PD: 0,604, Afrika PD:0,59, Avrupa PD: 0,624 ve D. Asya PD:0,307 popülasyonlarında Doğu Asya dışında birbirine yakın olduğu ve ID25-rs1610919; Türkiye PD: 0,631, Afrika PD:0,624, Avrupa PD: 0,608 ve D. Asya PD:0,575 popülasyonlarında yine yüksek ayrım gücüyle diğer popülasyonlarla benzer olduğu görülmüştür.

Chengtao Li ve arkadaşlarının (Li, 2011) 29- InDel paneli ile Batı Çin bölgesinde yaptıkları popülasyon çalışmasında kullandıkları rs1160981 ve rs16671 lokusları çalışmamızla ortak lokusları içermektedir. 36- InDelpleks için rs1160981 (ID 12) lokusunun ayrım gücü PD 0,532 olarak hesaplanırken, 29- InDel paneli için 0,650 değeriyle panelin ayrım gücü en yüksek

lokusu olmuştur. rs16671 (ID32) lokusunun ayrım gücü Çin popülasyonunda 0,585 iken Türkiye popülasyonunda bu değer 0,627'dir (111). Bu farklılık popülasyonların birbirinden farklı olduğunu ve alel dağılımlarının popülasyonlara özgü değişkenlik göstermesinden kaynaklanmaktadır. Ancak bu çalışmadaki 29 lokus birlikte çalışıldığında panelimizle benzer şekilde CPD ve CPE değerleri ise sırasıyla 0.999999999990867 / 0.9930 ve ayrım gücü %99 olarak hesaplanmıştır.

Martin ve arkadaşları tarafından Investigator DIPplex Kit (Qiagen) kullanılarak İspanyol ve Bask popülasyonlarının alel frekansları ve adli parametre değerleri karşılaştırılmıştır (112). Kitte bulunan 30 InDel lokusundan panelimizdeki 2 lokus (ID19 ve ID 4) ile aynıdır. Bu lokusların rs230872 (PD:0,645) ve rs282692 (0,6578) aynı zamanda en yüksek ayrım gücüne (PD) sahip lokuslar olduğunu bildirmişlerdir. Bu bölgeler 36- InDelpleks panelimizde (rs230872)- ID 19 ayrım gücü PD: 0,655 ve (rs282692)- ID 4 PD: 0,634 olarak belirlenmiş olup çalışmamızda da ID 4 lokusu en yüksek ayırım gücüne sahip bölgelerden biridir.

DIPplex kitiyle Güney Kore popülasyonunda yapılan çalışmada ID19 (rs230872) ve ID4 (rs282692) lokuslarının ayrım gücünün Türkiye popülasyonuna benzer şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir (113). Yine aynı kit kullanılarak Düvenci ve ark. tarafından Türkiye popülasyonunda yaptıkları çalışmada (rs230872)- ID 19 lokusu için alel frekansı delesyon 0,534 ve (rs282692)- ID 4 lokusu için 0,514 olarak hesaplanmıştır (114). Çalışmamızda ID 19 lokusu için 0,546 ve ID 4 lokusu için 0,534 değerleriyle uyumlu olup, (rs2836942)-ID 4 lokusunun ayrım gücü 0,635 değeri çalışmamızla da birebir aynıdır.

Tao ve arkadaşları (115) tarafından yapılan çalışmada 45- InDel pleksin (27 otozomal, 16-X kromozom, 2 Y- kromozom) lokus içeren yeni bir multipleks panel geliştirilmiştir. Çin Han popülasyonunda yaptıkları çalışmada 27 otozomal InDel bölgesi için ayrım gücünü (CPD)

0,999999 olarak hesaplamışlardır. Çalışmamız ile ortak ID17 (rs16458) lokusunun ayrım gücü (PD) (0,632) 36- InDelpleks için daha yüksektir (45- Indelpleks, PD: 0,42).

Ling Chen ve arkadaşları (21) yeni bir panel olan AGCU I50 kitinin (47-otozomal InDel, 2 Y-Kromozomu ve Amelogenin) validasyon ve popülasyon çalışmasını yayınlamışlardır. Popülasyon çalışmalarında Guangolang Han popülasyonun örneklerini kullanmışlardır. Popülasyondaki heterozigotluk oranı 0,3448-0,5714 arasında görülürken, ayrım gücü 0,648-0,511 olarak hesaplanmıştır. 36-InDelpleks panelinin heterozigotluk oranı 0,36-0,58 ve ayrım gücü 0,653-0,411 değer aralıklarında olup benzerlik göstermektedir. Çalışmamızdaki 36-InDelpleks ile ortak lokus içermemektedir. Bu da 36- InDelpleks panelimizin çalışmamıza özgün olduğunu göstermektedir.

Yujie Huang ve arkadaşları (109) 32 InDel bölgesini içeren bir multipleks geliştirmişlerdir. Panelin ayrım gücü 0,99999999966 olup ortalama heterozigotluk oranları 36-InDelpleks panelindekine benzer şekilde 0,48 olarak hesaplanmıştır. Çin Han popülasyonunda yapılan çalışmada geliştirdiğimiz panel ile (36- InDelpleks) ortak olan tek lokus (rs-10590424-ID 11) bulunmaktadır. Bu lokusun Çin popülasyonu için ayrım gücü (PD) 0,62 olarak hesaplanmıştır. Panelimizde aynı lokus için Türkiye popülasyonunda (PD) 0,596 hesaplanmasıyla daha düşük bir değerdedir. Bunun nedeni ilgili lokusun alel dağılımlarının Türkiye popülasyonundan farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Tablo XIX'da InDel lokusları kullanılarak geliştirilen InDel-multipleks panellerinin CPD, CMP ve CPE değerlerinin karşılaştırılması verilmiştir. Bu değerler çalışılan popülasyona özgüdür. Ancak panelde kullanılan lokus sayılarına ve özelliklerine bakıldığında 36-Indelpleks panelimizin ayrım gücü, eşleşme olasılığı ve dışlama gücü değerlerinin diğer panellerle yarışabilecek başarıda ve seviyede olduğu görülmektedir.

Popülasyonlar arası genetik farklılıkların karşılaştırmasında Fst (Fixation Index) hesaplanarak genetik farklılaşmanın küçük veya yüksek boyutta olduğu belirlenebilmektedir

(9). Ensembl veri tabanından farklı kıtalara ve popülasyonlara ait 36-InDelpleks panelinin otozomal 34 InDel lokusuna ait genotip kullanılarak Türkiye, Avrupa, Afrika, Amerika, Güney Asya ve Doğu Asya popülasyonlarının genetik farklılaşması (Fst) Arlequin v.3.5.1.2 programı kullanılarak karşılaştırıldı. Buna göre Tablo XV 'de 5 büyük popülasyon ve Türkiye popülasyonu arasında ikili genetik ilişkileri gösteren değerler (Fst) verilmiştir. Bu verilere göre, Türkiye popülasyonuna genetik olarak en yakın popülasyonun Avrupa olduğu (F_{ST} =0.02462, $p<0.05$) ve genetik olarak en uzak popülasyonun Afrika (F_{ST} =0.12329, $p<0.05$) olduğu görülmektedir. Türkiye popülasyonu ile Amerika ve Güney Asya popülasyonları arasında küçük düzeyde bir genetik farklılaşma olduğu görülürken (F_{ST} =0.04458, $p<0.05$ ve F_{ST} =0.04370, $p<0.05$), Doğu Asya popülasyonu arasında orta düzeyde bir genetik farklılaşma olduğu tespit edildi (F_{ST} =0.06439, $p<0.05$). En küçük genetik farklılaşmanın ise Avrupa popülasyonu ile olduğu saptandı. Elde edilen Fst verileri kullanılarak MegaX 10.0.5 programında "komşu birleştirme" yöntemi aracıyla popülasyonların birbirleriyle genetik mesafelerini gösteren bir filogenetik ağaç oluşturuldu. Şekil 18'de gösterilen filogenetik ağaca göre Türkiye, Asya, Afrika, Amerika ve Avrupa popülasyonları beş farklı ana hatta bulunmakta ve Türkiye popülasyonunun Avrupa, Güney Asya ve Amerika popülasyonlarına daha yakın olduğu görülmektedir.

Popülasyonlar arasındaki farklılaşmayı lokus bazında görebilmek için, Fst değerleri panelde yer alan her lokus için tekrar hesaplandı. Marshfield diallelic InDels database - Mamalian Genotyping Service veri bankasında (https://www3.marshfieldclinic.org/mgs/) bulunan Avrupa, Afrika, Amerika, Doğu Asya ve Güney Asya populasyonlarının bu tez kapsamında çalışılan 36 lokusun otozomal 34 InDel lokusuna ait genotip verileri her lokus için ayrı ayrı karşılaştırıldı. Buna göre Türkiye ile Avrupa popülasyonları arasında 30 lokusta küçük düzeyde farklılaşmalar (<0,05) görüldü. ID16 ve ID30 lokuslarında orta düzey farklılaşmalar (0,05-0,15) gözlenirken ID18 ve ID19 lokuslarında büyük farklılaşmalar (0,15-0,25)

saptanmıştır (Tablo XVII). Türkiye ile Amerika popülasyonları arasında 27 lokusta küçük düzey, 5 lokusta orta düzeyde ve ID18 lokusunda büyük düzeyde farklılaşmalar olduğu tespit edildi. Fst değeri 0,37315 olan ID 19 lokusunda ise çok büyük farklılaşma olduğu görüldü (Tablo XVII). Türkiye ile Doğu Asya popülasyonları arasında 22 lokusta küçük farklılaşma, 4 lokusta orta düzey farklılaşma, 4 lokusta büyük farklılaşma ve 4 lokusta çok büyük farklılaşma saptandı. Türkiye ile Güney Asya popülasyonları arasında 26 lokusta küçük düzey farklılaşma gözlenirken 6 lokusta orta düzey farklılaşma ve 2 lokusta çok büyük düzey farklılaşma gözlendi (Tablo XVII). Son olarak Türkiye ile Afrika popülasyonları arasında 17 lokusta küçük düzey farklılaşma (<0,05) 7 lokusta orta düzey farklılaşma (0,05-0,15) ve 4 lokusta büyük farklılaşma (0,15-0,25) gözlendi. Kalan 6 lokusta ise çok büyük düzeyde farklılaşma (> 0,25) görüldü.
ID19 lokusu Türkiye ile karşılaştırılan popülasyonlarda Afrika popülasyonu ile orta düzeyde, Avrupa, Amerika, Güney Asya ve Doğu Asya popülasyonları ile çok büyük farklılaşma nedeniyle bu lokusun Türkiye popülasyonuna özgü gen sıklığı içerdiği ve heterozigotluk oranı yüksek olduğu için; bundan sonra biyocoğrafik soyla ilgili yapılacak çalışmalarda kullanılabilir. ID18 lokusuna bakıldığında ise Türkiye popülasyonu ile Doğu Asya arasında küçük düzey ve Avrupa ile orta düzey farklılaşma gösterirken, Afrika, Amerika, Güney Asya popülasyonları arasında çok büyük farklılaşma olması göze çarpmaktadır.

Ensembl veri tabanından Avrupa popülasyonlarından Finlandiya, İngiltere, İspanya, Finlandiya, İtalya, 34 InDel lokusuna ait genotip bilgilerinden yaralanarak Türkiye populasyonu ile karşılaştırma amacıyla Fst değerleri hesaplandı ve birbirlerine yakın değerlerle 3 Avrupa ülkesi (İngiltere, İspanya, İtalya) arasında küçük düzey farklılaşma ve Finlandiya arasında orta düzey farklılaşma olduğu görülmektedir (Tablo XVI). Fst değerlerini her lokus için ayrı hesapladığımızda ise; Finlandiya ile 26 lokusta küçük farklılaşma, 1 lokusta orta düzey farklılaşma (0,05-0,15), 5 lokusta büyük bir farklılaşma (0,15-0,25) ve ID15 lokusunda çok büyük farklılaşma (> 0,25) olduğu saptandı (Tablo XVIII). Türkiye ile İngiltere popülasyonları

arasında 31 lokusta küçük, 1 lokusta orta düzey farklılaşma (0,05- 0,15) gözlenirken ID19 lokusunda büyük (0,15-0,25) ve ID18 lokusunda çok büyük farklılaşma (> 0,25) tespit edildi (Tablo XVIII). Türkiye ile İspanya popülasyonlarına bakıldığında aralarında 31 lokusta küçük, 1 lokusta orta düzey, ID19 lokusunda büyük düzeyde ve ID18 lokusunda çok büyük farklılaşma gözlendi. Son olarak Türkiye ile İtalya popülasyonları arasında 30 lokusta küçük, 2 lokusta orta düzey, 2 lokusta büyük farklılaşma farklılaşma saptandı (Tablo XVIII). ID18 ve ID19 lokuslarında Türkiye ve Finlandiya, İngiltere, İspanya, İtalya popülayonları arasında büyük farklılaşma olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak; Türkiye popülasyonunun genetik farklılaşması (F_{ST}) çeşitli popülasyonlarla karşılaştırıldığında Avrupa popülasyonunun Türkiye popülasyonuna en yakın topluluk olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada InDel markırlarından oluşan, Türkiye popülasyonu için yüksek polimorfizm gösteren ve adli kimliklendirmede kullanılabilir yeni bir panel (36- InDelpleks) geliştirilmiştir. Paneli oluşturan lokusların alel frekansları, p değerleri ve diğer adli istatistik parametrelerleri gözönüne alındığında Jandarma, Polis ve diğer kriminal laboratuvarlarında babalık, akrabalık testlerinde ve kimliklendirmede kullanılabilecektir. InDel'in en büyük avantajı STR ve SNP markırlarının sağladığı avantajları tek başına karşılayabiliyor olmasıdır. InDel polimorfizmi, özellikle degrede örneklerde STR'ye ve pahalı/uzun laboratuvar prosedürlerine sahip biallelik SNP'ye alternatif olarak adli kimliklendirmede kullanılması beklenmektedir. Bunun için gelecekte daha çok InDel lokusunun araştırılması ve adli bilimlerde kullanıma uygun InDel panellerinin geliştirilebilir.

6. Kaynaklar

1. Murthy V, Jia LF, Samuel VP, Kademane K. Forensic identification by using insertion-deletion polymorphisms. Int J Hum Genet. 2015;15(2):55–9.

2. Pereira R, Gusmão L. Capillary electrophoresis of 38 noncoding biallelic mini-Indels for degraded samples and as complementary tool in paternity testing. Springer Science+Business Media; 2012. vol. 830.

3. Rodriguez-Murillo L, Salem RM. Insertion/Deletion Polymorphism. In: Gellman MD, Turner JR, editors. Encyclopedia of Behavioral Medicine [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 1076. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1005-9_706

4. Freeman S, Herron JC. Evrimsel Analiz. 2. Çıplak B, Başıbüyük HH, Karaytuğ S, Gündüz İ, editors. Ankara: Palme Yayıncılık; 2001. 76 p.

5. Klug WS, Cummings MR. Genetik. 2. Öner C, editor. Ankara: Palme Yayıncılık; 2003.

6. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Erratum: Initial sequencing and analysis of the human genome: International Human Genome Sequencing Consortium (Nature (2001) 409 (860-921)). Nature. 2001;412(6846):565–6.

7. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. An introduction to forensic genetics. John Willey & sons. 2007.

8. Jobling MA, Gill P, Le L, Court T, Park BB. ENCODED EVIDENCE : DNA IN FORENSIC ANALYSIS. 2004;5(October).

9. Systems PE. Uses of DNA and genetic markers for forensics and population studies. 2003;63:171–2.

10. Landsteiner K. Zur Kenntnis der antifermentativen, lytisichen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zentralbl Bakteriol. 1900;27:357–62.

11. Olsson ML, Guerreiro JF, Zago MA, Chester MA. Molecular Analysis of theOAlleles at the Blood Group ABO Locus in Populations of Different Ethnic Origin Reveals Novel Crossing-Over Events and Point Mutations. Biochem Biophys Res Commun. 1997 May 29;234(3):779–82.

12. Harris H. C. Genetics of Man Enzyme polymorphisms in man. Proc R Soc London Ser B Biol Sci [Internet]. 1966 Mar 22 [cited 2020 Sep 7];164(995):298–310. Available from: https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.1966.0032

13. Budowle B, Van Daal A. Forensically relevant SNP classes. Biotechniques. 2008;44(5):603–10.

14. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature [Internet]. 1985 [cited 2020 Aug 3];314(6006):67–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3856104/

15. Kidd KK, Pakstis AJ, Speed WC, Kidd JR. Understanding human DNA sequence variation. J Hered. 2004;95(5):406–20.

16. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. Am J Hum Genet [Internet]. 1989 Mar [cited 2019 Feb 25];44(3):388–96. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2916582

17. Litt M, Luty JA. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am J Hum Genet [Internet]. 1989 Mar [cited 2019 Feb 25];44(3):397–401. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2563634

18. Bulbul O, Duvenci A, Zorlu T, Gurkan C, Santos C, Phillips C, et al. Studies of East European populations with a 46-plex ancestry-informative indel set. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser. 2015 Dec;5:e16–8.

19. Schneider PM, Bender K, Mayr WR, Parson W, Hoste B, Decorte R, et al. STR analysis of artificially degraded DNA - Results of a collaborative European exercise. Forensic Sci Int. 2004 Jan;139(2–3):123–34.

20. Bender K, Mainz JG, Schneider PM, Bender K, Mayr WR, Parson W, et al. STR analysis of artificially degraded DNA - Results of a collaborative European exercise STR analysis of artificially degraded DNA — results of a collaborative European exercise t. 2018;(February).

21. Chen L, Du W, Wu W, Yu A, Pan X, Feng P, et al. Developmental validation of a novel six-dye typing system with 47 A-InDels and 2 Y-InDels. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2019;40(February):64–73. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.02.009

22. Martín P, García O, Albarrán C, García P, Alonso A. Application of mini-STR loci to severely degraded casework samples. Int Congr Ser. 2006 Apr;1288:522–5.

23. Hill CR, Kline MC, Coble MD, Butler JM. Characterization of 26 miniSTR loci for improved analysis of degraded DNA samples. J Forensic Sci. 2008 Jan;53(1):73–80.

24. Ünsal T, Filoğlu G, Sipahi E, Altunçul H, Rayimoğlu G. NEW miniSTR loci D10S1248, D14S1434, D22S1045, D4S2364, D2S441, D1S1677 validation and optimization on blood samples. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser. 2011;3(1).

25. Kartlar: PCB 3063 DNA Forensics | Quizlet [Internet]. [cited 2020 Aug 16]. Available from: https://quizlet.com/495947751/pcb-3063-dna-forensics-flash-cards/

26. Filoğlu G. 7 Tetramerik STR Lokusunun Kriminal İdentifikasyondaki Önemi [Internet]. İstanbul Üniversitesi; 1999. Available from: https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp

27. William G, Adrian L. Single nucleotide polymorphisms. In: An Introduction to Forensic Genetics [Internet]. John Wiley & Sons Ltd; 2007. p. pp:12-13, 51-61, 115-121. Available from: https://www.bio.bg.ac.rs/materijali_predmeta/introduction2forensicgenetics07.pdf

28. Twyman RM. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Techniques—An Overview. 2005;1117–25. Available from: http://www.twymanrm.com/downloads/4354%5E

29. Bülbül Ö. Kimliklendirme ve Nesep Tayini İçin Otozomal SNP Lokuslarının Belirlenmesi. 2013;10(1).

30. Bulbul O, Phillips C, Argac D, Shahzad MS, Fondevilla M, Acar E, et al. Internal validation of 29 autosomal SNP multiplex using a ABI 310 genetic analyser. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser. 2009;2(1).

31. Pakstis AJ, Haigh E, Cherni L, Elgaaied ABA, Barton A, Evsanaa B, et al. 52 additional reference population samples for the 55 AISNP panel. Forensic Sci Int Genet. 2015;19.

32. Bulbul O, Filoglu G. Development of a SNP panel for predicting biogeographical ancestry and phenotype using massively parallel sequencing. Electrophoresis. 2018;39(21).

33. Case JT, Wallace DC. Maternal inheritance of mitochondrial DNA polymorphisms in cultured human fibroblasts. Somatic Cell Genet [Internet]. 1981 Jan 1 [cited 2020 Aug 4];7(1):103–8. Available from: http://link.springer.com/10.1007/BF01544751

34. Wittig H, Koecke M, Sattler KU, Krause D. D-Loop-BASE is online now Central European database of mitochondrial DNA. Int Congr Ser. 2003;1239(C):505–9.

35. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Nucleic Acids Res [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2019 Feb 25];29(1):308–11. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11125122

36. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchl T, Minx PJ, Cordum HS, Hlllier LD, Brown LG, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. Nature [Internet]. 2003 Jun 19 [cited 2020 Aug 22];423(6942):825–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12815422/

37. Knijff BP De. Y-STRS Son , Give Up Your Gun : Presenting Y-STR Results in Court Y-STRS. 2003;3–5.

38. Budowle B, Allard MW, Wilson MR, Chakraborty R. F ORENSICS AND M ITOCHONDRIAL DNA : 2003;

39. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace aD. C. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 1980 [cited 2020 Aug 4];77(11 I):6715–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6256757/

40. Hutchison CA, Newbold JE, Potter SS, Edgell MH. Maternal inheritance of mammalian mitochondrial DNA. Nature [Internet]. 1974 [cited 2020 Aug 4];251(5475):536–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4423884/

41. Ginther C, Issel-Tarver L, King MC. Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. Nat Genet [Internet]. 1992 [cited 2020 Aug 4];2(2):135–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1303263/

42. Greenberg BD, Newbold JE, Sugino A. Intraspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. Gene [Internet]. 1983 [cited 2020 Aug 4];21(1–2):33–49. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6301949/

43. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. 2005;

44. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. Nat Rev Genet 2016 176 [Internet]. 2016 May 17 [cited 2022 Mar 30];17(6):333–51. Available from: https://www.nature.com/articles/nrg.2016.49

45. Ballard D, Winkler-Galicki J, Wesoły J. Massive parallel sequencing in forensics: advantages, issues, technicalities, and prospects. Int J Legal Med. 2020;134(4):1291–303.

46. Gettings KB, Borsuk LA, Ballard D, Bodner M, Budowle B, Devesse L, et al. STRSeq: A catalog of sequence diversity at human identification Short Tandem Repeat loci. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2022 Mar 30];31:111–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28888135/

47. Gettings KB, Aponte RA, Vallone PM, Butler JM. STR allele sequence variation: Current knowledge and future issues. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2015 Jun 10 [cited 2022 Mar 30];18:118–30. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26197946/

48. Delesyon - Vikipedi [Internet]. [cited 2022 Jun 7]. Available from: https://tr.wikipedia.org/wiki/Delesyon

49. İnsersiyon - Vikipedi [Internet]. [cited 2022 Jun 7]. Available from: https://tr.wikipedia.org/wiki/İnsersiyon

50. DF C, ME H. The population genetics of structural variation. Nat Genet [Internet]. 2007 [cited 2021 Jul 15];39(7 Suppl):S30–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17597779/

51. Hodgkinson A, Eyre-walker A. Variation in the mutation rate across mammalian genomes. 2011;12(November).

52. Jeffreys AJ, May CA, Ritchie AE, Shone AC, Stead JDH. Review Human minisatellites , repeat DNA instability and meiotic recombination. 1999;

53. Mills RE, Luttig CT, Larkins CE, Beauchamp A, Tsui C, Pittard WS, et al. An initial map of insertion and deletion (InDel) variation in the human genome. Genome Res. 2006;16(9):1182–90.

54. Weber JL, David D, Heil J, Fan Y, Zhao C, Marth G. Human Diallelic Insertion / Deletion Polymorphisms. 2002;854–62.

55. Variation and Polymorphism in DNA | Basicmedical Key [Internet]. [cited 2022 Mar 30]. Available from: https://basicmedicalkey.com/variation-and-polymorphism-in-dna/

56. Cortellini V, Brescia G, Carnevali E, Cerri N, Correa HSD, Nespeca P, et al. Genetic data and comparative study of 38 autosomal InDel markers in three Italian population groups. Forensic Sci Int Genet. 2020;44(September 2019):2019–21.

57. Song F, Liu Y, He Q, Hou W, Wei F, Liu L. DNA analysis of fingernail clippings: An unusual case report. Am J Forensic Med Pathol. 2014;35(2):96–9.

58. Oldoni F, Podini D. Forensic molecular biomarkers for mixture analysis. Forensic Sci

Int Genet. 2019;41(November 2018):107–19.

59. Zhang S, Zhu Q, Chen X, Zhao Y, Zhao X, Yang Y, et al. Forensic applicability of multi-allelic InDels with mononucleotide homopolymer structures. Electrophoresis. 2018 Aug 1;39(16):2136–43.

60. Mullaney JM, Mills RE, Stephen Pittard W, Devine SE. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes. Hum Mol Genet. 2010;19(R2):131–6.

61. Reid RS. Evaluation of Mitochondrial DNA Typing in a Forensically Relevant Population of Self-Identified U . S . African Americans. 2013;

62. Børsting C, Morling N. Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2015;18:78–89. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.02.002

63. Kunkel TA. The mutational specificity of DNA polymerase-beta during in vitro DNA synthesis. Production of frameshift, base substitution, and deletion mutations. J Biol Chem. 1985 May 10;260(9):5787–96.

64. Strachan T, Garland AR-HMG 4th ed. NY, 2011 undefined. Human genetic variability and its consequences.

65. Hall D, Castella V. DIP-STR: A new marker for resolving unbalanced DNA mixtures. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser [Internet]. 2011;3(1):e1. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigss.2011.08.065

66. Nachman MW, Crowell SL. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. Genetics [Internet]. 2000 [cited 2021 Jul 15];156(1):297. Available from: /pmc/articles/PMC1461236/?report=abstract

67. Pereira R, Pereira V, Gomes I, Tomas C, Morling N, Amorim A, et al. A method for the analysis of 32 X chromosome insertion deletion polymorphisms in a single PCR. Int J Legal Med. 2012;126(1):97–105.

68. Pereira R, Phillips C, Pinto N, Santos C, dos Santos SEB, Amorim A, et al. Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing. PLoS One. 2012;7(1).

69. C P, A S, JJ S, M F, A G-T, J A-D, et al. Inferring ancestral origin using a single multiplex assay of ancestry-informative marker SNPs. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2007 Dec [cited 2021 Jul 17];1(3–4):273–80. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19083773/

70. Santos NPC, Ribeiro-Rodrigues EM, Ribeiro-dos-Santos ÂKC, Pereira R, Gusmão L, Amorim A, et al. Assessing individual interethnic admixture and population substructure using a 48-insertion-deletion (INSEL) ancestry-informative marker (AIM) panel. Hum Mutat. 2010;31(2):184–90.

71. Carvalho A, Cainé L, Carvalho R, Pinheiro MF. Application of indels (investigator DIPplex) in mixture samples. Forensic Sci Int Genet Suppl Ser. 2011 Dec;3(1).

72. Pimenta JR, Pena SD. Efficient human paternity testing with a panel of 40 short insertion-deletion polymorphisms. Genet Mol Res. 2010;9(1):601–7.

73. LaRue BL, Ge J, King JL, Budowle B. A validation study of the Qiagen Investigator DIPplex?? kit; An InDel-based assay for human identification. Int J Legal Med. 2012;126(4):533–40.

74. Barni F, Lewis SW, Berti A, Miskelly GM, Lago G. Forensic application of the luminol reaction as a presumptive test for latent blood detection [Internet]. Vol. 72, Talanta.

Elsevier; 2007 [cited 2020 Sep 11]. p. 896–913. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19071703/

75. Semizoğlu İ. ADLİ DNA ANALİZLERİNDE KULLANILMAK ÜZERE MULTİPLEKS STR KİTİ OLUŞTURULMASI. Hacettepe Üniversitesi; 2016.

76. Schneider PM, Martin PD. Criminal DNA databases: the European situation. Forensic Sci Int [Internet]. 2001 Jun 15 [cited 2020 Aug 22];119(2):232–8. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073800004357

77. Ginther C, Issel-Tarver L, King MC. Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. Nat Genet [Internet]. 1992 [cited 2020 Aug 21];2(2):135–8. Available from: https://www.nature.com/articles/ng1092-135

78. Three steps of PCR — Science Learning Hub [Internet]. [cited 2020 Sep 7]. Available from: https://www.sciencelearn.org.nz/images/2983-three-steps-of-pcr

79. Kara U, Yükseloğlu HE. Temel Adli Genetik. In: Temel Adli Genetik. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Tic. Ltd. Şti; 2015.

80. Presciuttini S, Cerri N, Turrina S, Pennato B, Alù M, Asmundo A, et al. Validation of a large Italian Database of 15 STR loci. Forensic Sci Int. 2006 Jan 27;156(2–3):266–8.

81. Aulchenko YS. Effects of Population Structure in Genome-Wide Association Studies [Internet]. Analysis of Complex Disease Association Studies. Elsevier Inc.; 2011. 123-156 p. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-375142-3.10009-4

82. Del Vecchio C, Verrilli F, Glielmo L. Modelling and stability analysis in human population genetics with selection and mutation. Math Methods Appl Sci [Internet]. 2018;41(4):1492–508. Available from: http://doi.wiley.com/10.1002/mma.4679

83. Lewontin RC, Hartl DL. Population genetics in forensic DNA typing. Science (80-) [Internet]. 1991 [cited 2020 Aug 5];254(5039):1745–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1845040/

84. Statement by DNA Commission of the International Society for Forensic Haemogenetics concerning the National Academy of Sciences report on DNA Technology in Forensic Science in the USA [Internet]. Vol. 59, Forensic Science International. Forensic Sci Int; 1993 [cited 2020 Aug 5]. p. 1–2. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8505025/

85. Nei M (Columbia university. Molecular Evolutionary Genetics. 1987;

86. Pereira R, Phillips C, Alves C, Amorim A, Carracedo Á, Gusmao L. A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms. Electrophoresis. 2009;30(21):3682–90.

87. Stephens JC, Schneider JA, Tanguay DA, Choi J, Acharya T, Stanley SE, et al. Haplotype variation and haplotype linkage disequilibrium in 313 human genes. Science (80-) [Internet]. 2001 Jul 20 [cited 2020 Aug 10];293(5529):489–93. Available from: https://science.sciencemag.org/content/293/5529/489

88. Hodoğlugil U, Mahley RW. Turkish Population Structure and Genetic Ancestry Reveal Relatedness among Eurasian Populations. Ann Hum Genet. 2012;76(2):128–41.

89. Cinnioğlu C, King R, Kivisild T, Kalfoğlu E, Atasoy S, Cavalleri GL, et al. Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. Hum Genet. 2004;114(2):127–48.

90. Berkman CC, Dinc H, Sekeryapan C, Togan I. Alu insertion polymorphisms and an assessment of the genetic contribution of Central Asia to Anatolia with respect to the Balkans. Am J Phys Anthropol. 2008;136(1):11–8.

91. Charlesworth B, Charlesworth D. Population genetics from 1966 to 2016. Heredity (Edinb) [Internet]. 2017;118(1):2–9. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2016.55

92. Keeton WT, Gould JL, Grant Gould C. Genel Biyoloji. 5. Demirsoy A, Türkan İ, Gündüz E, editors. Ankara: Palme Yayıncılık; 2003. 453-455 p.

93. Hardy GH. July 10, 1908. Science (80-). 1908;XXVIII:49–50.

94. Basic Population Genetics [M.Tevfik Dorak] [Internet]. [cited 2020 Aug 5]. Available from: http://www.dorak.info/genetics/popgen.html

95. Griffiths AJ, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. An Introduction to Genetic Analysis. [Internet]. New York: W. H. Freeman; 2000 [cited 2021 Mar 7]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21847/

96. Kistler L, Johnson SM, Irwin MT, Louis EE, Ratan A, Perry GH. A massively parallel strategy for STR marker development, capture, and genotyping. Nucleic Acids Res. 2017 Sep 1;45(15).

97. Wu RX, Zhang HR, Niu SF, Zhai Y, Liu XF. Development of polymorphic microsatellites for Sillago sihama based on next-generation sequencing and transferability to Sillago japonica. Genet Mol Res. 2016 Nov 21;15(4).

98. Aksoy A, Tokdemir M, Konar V. ELAZIĞ İL POPÜLASYONU 15 STR LOKUSLARI İÇİN; HETEROZİGOTLUK, HOMOZİGOTLUK, DIŞLAMA GÜCÜ, TİPİK BABALIK İNDEKSİ, UYUŞMA OLASILIĞI, AYRIMLAMA GÜCÜ VE POLİMORFİK BİLGİ İÇERİĞİ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMES. In 1. International Health Sciences and Life Congress; 2018. p. 214–24.

99. Excoffier L, Heckel G. F O C U S O N S TAT I S T I C A L A N A LY S I S genetics data analysis : a survival guide. 2006;(August).

100. https://kimura.univ-montp2.fr/genetix/.

101. Home [Internet]. [cited 2020 Sep 10]. Available from: http://e.informer.com/megasoftware.net/mega.php

102. PowerStats Microsoft® Excel dosyası (Promega).

103. TÜİK Kurumsal [Internet]. [cited 2021 Feb 25]. Available from: https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Adrese-Dayali-Nufus-Kayit-Sistemi-Sonuclari-2018-30709

104. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods. SWGDAM Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing. Forensic Sci Commun [Internet]. 2014;1–20. Available from: https://www.fbi.gov/about-us/lab/biometric-analysis/codis/swgdam.pdf

105. Düvenci A. İnsersiyon/delesyon (InDel) lokuslarına ait kimliklendirme panelinin geliştirilmesi ve validasyonu. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Adli Tıp ve Adli Bilimler Enstitüsü; 2020.

106. Zhao X, Chen X, Zhao Y, Zhang S, Gao Z, Yang Y, et al. Construction and forensic genetic characterization of 11 autosomal haplotypes consisting of 22 tri-allelic indels. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2018;34(February):71–80. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.02.001

107. Lin L, Wang C, Modeste M, Zeye J, Wen D, Qu W. An 18 Multi-InDels panel for analysis of highly degraded forensic biological samples.

108. Oka K, Asari M, Omura T, Yoshida M. Genotyping of 38 insertion / deletion

polymorphisms for human identi fi cation using universal fl uorescent PCR. 2014;28:10–5.

109. Huang Y, Liu C, Xiao C, Chen X, Yi S, Huang D. Development of a new 32-plex InDels panel for forensic purpose. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2020;44(October 2019):102171. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102171

110. Huang J, Luo H, Wei W, Hou Y. A novel method for the analysis of 20 multi-InDel polymorphisms and its forensic application. Electrophoresis. 2014;35(4):487–93.

111. Li C, Zhao S, Zhang S, Li L, Liu Y, Chen J, et al. Genetic polymorphism of 29 highly informative InDel markers for forensic use in the Chinese Han population. Forensic Sci Int Genet. 2011;5(1):5–8.

112. Garcı O, Martı P. Forensic Science International : Genetics Population genetic data of 30 autosomal indels in Central Spain and the Basque Country populations. 2013;7:27–30.

113. Seong KM, Park JH, Hyun YS, Kang PW, Choi DH, Han MS, et al. Population genetics of insertion-deletion polymorphisms in South Koreans using Investigator DIPplex kit. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2014;8(1):80–3. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.06.013

114. Düvenci A. 30 İNSERSİYON/DELESYON (InDel) LOKUSUNUN TÜRKİYE'DEKİ POLİMORFİZMİ. İstanbul Üniversitesi, Adli Tıp Enstitüsü; 2015.

115. Tao R, Zhang J, Sheng X, Zhang J, Yang Z, Chen C. Forensic Science International : Genetics Development and validation of a multiplex insertion / deletion marker panel , SifaInDel 45plex system. Forensic Sci Int Genet [Internet]. 2019;41(April):128–36. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.04.008

EKLER

EK-1 ETİK KURUL ONAY FORMU

EK-2- 250 Kişiye ait genotip tablosu

Örnek	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID7	ID8	ID9	ID10	ID11	ID12	ID13	ID14	ID15	ID16	ID17	ID18
M1	indel	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	del
M2	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel
M3	ins	del	indel	ins	del	del	indel	ins	indel	ins	ins	del	indel	ins	indel	indel	del
M4	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del	del	indel	del	del	ins	ins	indel
M5	indel	del	indel	del	ins	indel	del	ins	del	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	ins
M6	indel	ins	del	del	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	del
M7	ins	indel	ins	del	indel	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	del	indel	del	indel	İns
M8	indel	indel	del	ins	ins	indel	ins	indel	ins	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	indel
M9	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	ins	indel	indel	ins	indel	ins	ins
M10	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	del	indel	ins	ins	del
M11	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	indel	indel	del	ins	del	indel	ins	del	indel	indel
M12	del	ins	del	indel	indel	ins	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	ins	indel	ins	del
M13	indel	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	del	del	indel	indel
M14	indel	ins	ins	indel	del	ins	indel	del	del	indel	indel	indel	del	del	ins	ins	indel
M15	indel	ins	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	ins	indel	del	ins
M16	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	indel
M17	indel	indel	del	indel	del	indel	ins	del	del	del	ins	indel	del	del	indel	ins	indel
M18	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	del	ins	del	ins	indel
M19	indel	indel	ins	indel	del	ins	indel	ins	ins	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel
M20	indel	indel	indel	del	ins	del	indel	ins	del	del	del	del	del	ins	indel	del	ins
M21	ins	indel	indel	indel	del	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins
M22	del	indel	indel	indel	ins	del	del	indel	indel	del	ins	del	indel	ins	del	indel	ins
M23	ins	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	del	indel	del	del
M24	del	indel	indel	del	ins	del	ins	indel	del	indel	indel	del	del	del	indel	del	indel
M25	indel	del	indel	ins	ins	indel	ins	ins	ins	indel	ins	indel	indel	ins	del	del	ins
M26	indel	del	ins	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel
M27	ins	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del
M28	ins	indel	indel	ins	ins	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	indel
M29	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	del	del	indel	indel	del
M30	del	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	indel	ins	del	indel
M31	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	ins	indel	indel	ins	del	indel	ins	del	indel	ins
M32	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	ins	indel	indel	ins
M33	indel	indel	del	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	ins	del	del	del
M34	del	indel	indel	del	del	indel	indel	del	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	indel
M35	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	del	del	indel
M36	ins	indel	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	indel	del	del	ins
M37	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	indel
M38	indel	ins	ins	indel	del	ins	del	del	indel	ins	indel	indel	ins	del	del	indel	indel
M39	ins	ins	indel	del	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	del	del	del	del
M40	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel
M41	indel	del	del	indel	indel	del	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins
M42	del	del	indel	del	indel	del	del	indel	ins	del	ins	del	ins	indel	indel	indel	ins
M43	ins	ins	ins	ins	del	del	del	del	ins	del	indel	indel	del	ins	ins	del	indel
M44	ins	indel	ins	del	del	ins	del	indel	del	indel	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel
M45	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	ins	indel	indel	ins	del	del	indel	ins	del	indel
M46	del	del	del	del	ins	del	ins	ins	indel	indel	ins	indel	del	del	ins	del	indel
M47	indel	indel	del	ins	ins	ins	del	indel	ins	del	ins	indel	del	ins	indel	indel	ins
M48	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel
M49	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	del
M50	ins	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	del

Örnek	ID19	ID20	ID21	ID22	ID23	ID24	ID25	ID26	ID27	ID28	ID29	ID30	ID31	ID32	ID33	ID34	ID35
M1	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	del	indel	ins	ins	ins
M2	del	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	del	ins	indel	indel	del	indel	del	del	indel
M3	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	ins	indel
M4	del	indel	del	del	indel	ins	del	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins
M5	indel	indel	del	indel	indel	del	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel
M6	del	indel	ins	indel	indel	ins	ins	ins	ins	ins	del	del	indel	ins	indel	ins	ins
M7	ins	ins	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	del	del	indel	del	indel	del	del	ins
M8	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	ins	indel
M9	del	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	ins	ins	indel	del	del	indel	indel	ins	del
M10	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	del	ins	indel	indel	indel
M11	del	del	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel
M12	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	ins
M13	del	del	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	del	del	indel	del	indel	indel	ins	del
M14	del	indel	ins	del	del	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel
M15	del	indel	ins	del	ins	indel	indel	indel	del	del	indel	del	indel	ins	indel	ins	del
M16	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	ins	del	del	indel	del	ins	del	del	indel
M17	indel	indel	del	ins	indel	del	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	del
M18	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	del	indel	indel	del	del	del	ins	del	indel
M19	indel	indel	del	del	del	ins	del	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel
M20	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel
M21	ins	indel	ins	indel	del	ins	indel	indel	indel	del	del	indel	del	del	ins	ins	del
M22	indel	ins	del	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins	del	indel	del	del	indel	indel	indel
M23	indel	del	del	del	indel	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	del
M24	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	ins	del	indel	del	indel	indel	ins	indel
M25	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel
M26	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	del
M27	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel
M28	del	ins	indel	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	ins
M29	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel
M30	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	del	indel	del	ins	indel
M31	del	del	indel	del	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	ins
M32	ins	indel	del	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins
M33	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel
M34	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	del
M35	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	del	del	indel	indel	del	ins	indel
M36	ins	ins	del	indel	ins	del	del	indel	del	del	del	indel	del	indel	del	ins	indel
M37	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	del	del	ins	indel	del
M38	del	del	indel	del	ins	ins	indel	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	indel
M39	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel
M40	ins	indel	del	indel	del	indel	del	del	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel
M41	ins	indel	ins	del	del	del	indel	ins	del	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	del
M42	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	del	indel	indel	del	indel	ins	ins
M43	indel	indel	indel	indel	del	ins	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	indel
M44	indel	ins	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del
M45	ins	indel	del	del	del	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	ins	ins	indel	indel	ins
M46	indel	ins	del	del	ins	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel
M47	ins	ins	indel	indel	del	del	del	del	indel	indel	del	indel	del	ins	ins	indel	del
M48	del	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel
M49	ins	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	ins	indel	ins	del
M50	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	ins	ins	ins	del	indel	indel	del	indel	ins	ins

Örnek	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID7	ID8	ID9	ID10	ID11	ID12	ID13	ID14	ID15	ID16	ID17	ID18
M51	ins	del	indel	indel	ins	ins	del	del	del	ins	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel
M52	del	indel	del	indel	ins	indel	indel	del	ins	indel	ins	ins	del	ins	indel	ins	ins
M53	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	del
M54	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel
M55	ins	ins	ins	del	del	indel	del	ins	ins	del	ins	indel	indel	del	del	indel	indel
M56	ins	del	ins	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	ins	ins
M57	ins	indel	del	indel	del	ins	indel	ins	indel	ins	ins	ins	del	ins	del	ins	ins
M58	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	del
M59	indel	indel	del	del	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	del
M60	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	del	indel
M61	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	ins	ins	indel	ins	del	del	ins	indel	ins	del
M62	ins	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	ins	indel	ins	del	indel	del	indel	del
M63	indel	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	ins	del	ins
M64	ins	del	ins	del	ins	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	del	ins	indel	ins	indel
M65	ins	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel
M66	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	ins	indel
M67	del	indel	indel	del	indel	ins	del	del	indel	ins	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel
M68	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	del
M69	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	del	indel
M70	indel	del	ins	indel	ins	del	indel	ins	ins	indel	del	ins	del	indel	del	indel	del
M71	del	indel	del	ins	ins	indel	ins	ins	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins
M72	ins	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel
M73	del	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel	del	ins	del	ins
M74	indel	indel	ins	ins	indel	del	del	ins	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel
M75	del	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	del
M76	ins	del	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del	ins	del	del	del	ins	del	indel
M77	ins	ins	indel	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	ins
M78	del	indel	indel	ins	ins	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins
M79	ins	del	ins	del	ins	ins	ins	indel	del	ins	ins	indel	del	del	indel	del	indel
G1	indel	del	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	ins
G2	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	del
G3	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	del	del	del	indel	indel	del	del	ins	ins	del
G4	ins	del	indel	indel	ins	indel	ins	indel	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	ins
G5	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	indel	del	del
G6	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	del
G7	indel	del	ins	del	ins	del	ins	indel	indel	indel	ins	del	del	ins	del	del	ins
G8	ins	ins	ins	indel	del	ins	ins	del	del	indel	ins	ins	indel	ins	del	indel	ins
G9	indel	indel	del	ins	del	ins	indel	indel	indel	ins	ins	ins	indel	ins	del	ins	indel
G10	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	del	del	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel
G11	del	indel	del	indel	indel	ins	ins	indel	ins	del	ins	del	del	ins	ins	del	indel
G12	ins	ins	del	del	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	del
G13	indel	ins	ins	ins	del	del	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	ins	del
G14	indel	indel	indel	del	indel	del	ins	del	indel	ins	ins	del	del	ins	del	ins	indel
G15	indel	indel	ins	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	ins	ins	ins	ins	indel	indel	indel
G16	ins	ins	ins	del	ins	indel	del	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	ins	del	del
G17	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	indel	del	ins	del	indel	ins
G18	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	ins	del	ins	indel	ins	ins
G19	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	ins	del
G20	indel	ins	del	del	ins	ins	indel	indel	del	indel	del	del	indel	ins	del	indel	ins
G21	del	ins	indel	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	del	del	del	indel

	ID19	ID20	ID21	ID22	ID23	ID24	ID25	ID26	ID27	ID28	ID29	ID30	ID31	ID32	ID33	ID34	ID35
M51	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins
M52	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	del	indel
M53	ins	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	indel	indel
M54	del	del	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins	del	del	del	del	del	del	ins
M55	del	del	indel	indel	del	del	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	del	ins	indel
M56	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	del	ins	del	indel	ins
M57	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	ins	ins	ins	indel
M58	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	ins	del	indel	indel
M59	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	ins
M60	indel	del	indel	indel	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	ins	indel
M61	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	del	ins	indel	del	indel	indel	del	indel	ins	del
M62	ins	ins	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	ins	del	del	del	del	indel	del	del
M63	del	ins	indel	del	del	indel	indel	del	indel	ins	del	indel	del	indel	ins	indel	ins
M64	del	ins	indel	indel	ins	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	del	del	ins	ins	indel
M65	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel
M66	indel	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	indel	ins	del	del	indel	ins	ins	del	indel
M67	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	ins	del	del	del	indel	del	indel	ins	indel	del
M68	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	indel	indel
M69	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	indel	ins	del	del	indel	del	ins	ins
M70	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins	del	indel	del	del	del	del	indel	indel	indel
M71	ins	indel	indel	del	del	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins	ins	del
M72	del	indel	indel	del	indel	del	ins	indel	indel	ins	ins	indel	ins	indel	del	ins	indel
M73	indel	ins	ins	ins	ins	ins	ins	ins	del	ins	ins	indel	del	ins	ins	ins	indel
M74	ins	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel
M75	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel
M76	del	indel	ins	del	indel	indel	ins	ins	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	ins	ins
M77	ins	del	del	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	del	indel	indel	indel	del	indel
M78	del	del	ins	ins	indel	ins	del	ins	indel	ins	del	del	del	indel	ins	ins	indel
M79	indel	indel	del	del	indel	indel	ins	del	del	indel	ins	indel	del	indel	ins	ins	ins
G1	indel	indel	ins	ins	del	del	indel	ins	indel	del	del	del	del	indel	indel	del	indel
G2	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel
G3	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	ins	indel	ins
G4	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	ins	ins	del	indel	indel	ins	del	ins	indel
G5	del	del	indel	del	del	indel	ins	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	del	indel	ins
G6	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel	del	ins	ins	del	indel	indel	del	indel	ins
G7	ins	indel	del	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	del	del	del	indel	del	indel
G8	del	del	indel	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	ins	del	del	indel	indel
G9	del	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	ins	del	ins	indel	del	ins	del	del	indel
G10	indel	ins	ins	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	del	del	ins	del	ins	ins
G11	indel	ins	del	del	ins	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel
G12	indel	ins	del	del	ins	ins	ins	del	indel	ins	ins	indel	del	del	ins	indel	ins
G13	del	ins	indel	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	del	del	del	ins	del	ins	del
G14	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	del	indel	del	indel	del	indel	indel
G15	ins	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel
G16	indel	indel	indel	del	del	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	del	del	del
G17	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	indel
G18	del	del	indel	ins	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	indel
G19	del	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	ins	indel
G20	ins	ins	indel	del	del	indel	del	del	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel
G21	ins	del	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	ins	del

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID7	ID8	ID9	ID10	ID11	ID12	ID13	ID14	ID15	ID16	ID17	ID18
G22	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins
G23	del	ins	ins	indel	del	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel
G24	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	del	indel	del	ins	indel	ins	ins	del	ins
G25	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	ins
G26	del	ins	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	ins
G27	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	del	indel	ins	indel	del	ins	indel	indel	indel
D1	indel	del	del	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del
D2	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel	del	ins	del	indel	indel
D3	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	ins	ins	ins	indel	del	ins	del	del
D4	del	indel	ins	indel	ins	indel	del	del	del	del	indel	indel	del	indel	ins	indel	del
D5	indel	ins	ins	del	indel	ins	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins
D6	indel	ins	del	indel	ins	del	indel	del	ins	ins	ins	ins	del	ins	del	ins	indel
D7	del	ins	del	indel	ins	indel	ins	del	indel	del	ins	indel	del	ins	indel	indel	del
D8	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	del	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel
D9	indel	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	del	indel	ins	ins	indel
D10	ins	indel	ins	indel	ins	indel	ins	ins	indel	ins	ins	indel	indel	del	ins	del	del
D11	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	del	indel	indel
D12	indel	del	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	ins	ins
D13	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	del
D14	indel	ins	del	del	ins	del	del	indel	del	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	ins
D15	del	ins	del	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins	ins	del	indel
D16	del	ins	del	ins	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel
D17	del	ins	del	indel	ins	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins
D18	indel	indel	del	ins	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del
D19	del	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins	indel	ins	indel
E1	del	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	ins	indel	del	indel	ins
E2	indel	ins	del	indel	ins	del	del	indel	indel	ins	indel	indel	del	del	del	indel	ins
E3	ins	ins	ins	indel	ins	del	ins	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	indel
E4	del	indel	ins	ins	indel	indel	del	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	indel
E5	indel	ins	del	del	indel	indel	ins	indel	ins	ins	indel	del	del	indel	indel	indel	indel
E6	ins	ins	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	ins
E7	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	indel	ins	indel
E8	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	ins	ins
E9	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	del	ins	ins	del	ins	ins	ins	del	ins
E10	indel	del	del	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins	ins	indel	del	ins	indel	ins	ins
E11	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del	del	ins	indel	indel
E12	ins	indel	ins	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	ins
E13	ins	indel	ins	del	indel	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	del	indel	del	indel	ins
E14	indel	ins	indel	del	indel	del	ins	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	ins
E15	indel	ins	ins	del	del	del	ins	del	ins	del	indel	ins	indel	indel	del	del	ins
E16	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel
E17	del	ins	del	indel	ins	del	indel	ins	ins	ins	ins	ins	ins	ins	indel	indel	indel
E18	del	ins	del	ins	del	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins
E19	ins	indel	del	del	ins	indel	ins	indel	del	ins	del	indel	del	del	ins	indel	ins
E20	ins	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel
E21	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	del
E22	del	del	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	del	ins	indel	del	ins	ins	del	ins
E23	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	ins	del	indel	ins	ins	ins	ins	indel	del	ins
E24	indel	indel	indel	del	indel	del	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	del
E25	del	ins	del	ins	del	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	ins	ins	del	indel

	ID19	ID20	ID21	ID22	ID23	ID24	ID25	ID26	ID27	ID28	ID29	ID30	ID31	ID32	ID33	ID34	ID35
G22	ins	ins	indel	indel	ins	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel	ins	ins	del
G23	del	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel
G24	ins	ins	ins	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	del	ins	del	indel	ins
G25	del	ins	indel	del	del	ins	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins
G26	ins	indel	indel	del	del	ins	del	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	ins
G27	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel
D1	indel	indel	del	indel	indel	del	del	indel	del	ins	ins	del	indel	indel	del	indel	indel
D2	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	ins	indel	indel	ins
D3	del	ins	del	indel	ins	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel
D4	indel	ins	indel	del	indel	del	ins	indel	ins	indel	indel	del	del	indel	del	indel	indel
D5	indel	ins	indel	del	ins	indel	indel	del	del	indel	del	del	ins	del	del	indel	indel
D6	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	del	del	indel	indel	indel	ins
D7	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	del	indel	ins	ins	ins	indel
D8	del	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins
D9	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	ins	del	del	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel
D10	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel
D11	indel	ins	ins	ins	ins	indel	del	ins	del	ins	del	del	indel	del	indel	del	indel
D12	ins	del	ins	del	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins
D13	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	del
D14	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	del	del	del	indel	del	del	ins	indel	ins	indel
D15	del	indel	del	del	del	ins	del	ins	del	ins	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel
D16	ins	ins	ins	del	del	indel	ins	del	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	indel
D17	del	ins	ins	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel
D18	del	ins	indel	del	indel	del	indel	del	indel	del	del	indel	del	del	ins	del	del
D19	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	indel	ins	indel
E1	ins	del	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	indel
E2	ins	indel	del	del	del	indel	indel	indel	del	del	indel	del	indel	indel	del	ins	indel
E3	del	indel	indel	del	del	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	indel
E4	ins	ins	indel	indel	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	indel
E5	indel	indel	ins	del	del	indel	del	del	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	ins	indel
E6	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	del	del	indel	ins	del	indel
E7	del	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	indel
E8	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	del	ins	ins	ins
E9	ins	indel	indel	del	del	del	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	del	ins	del
E10	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	indel	ins	ins	indel	ins	indel
E11	del	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	ins
E12	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	indel	indel	ins	indel	ins	del	indel	indel	ins
E13	ins	ins	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	del	del	indel	del	indel	del	del	ins
E14	del	del	indel	del	del	indel	indel	indel	del	del	indel	del	indel	del	del	ins	ins
E15	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	del	indel
E16	del	del	indel	ins	indel	del	indel	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	indel
E17	indel	indel	ins	del	ins	indel	ins	del	indel	ins	del	del	indel	indel	del	indel	indel
E18	del	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	del	del	indel	ins	indel	ins
E19	del	ins	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel
E20	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	del	ins	indel	indel	indel
E21	del	indel	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	indel	del	ins	indel	indel	indel
E22	del	indel	indel	ins	indel	ins	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	del
E23	indel	indel	ins	del	indel	ins	ins	indel	indel	ins	del	del	del	indel	del	indel	ins
E24	indel	indel	del	del	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	indel
E25	indel	ins	ins	del	indel	indel	del	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	del

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID7	ID8	ID9	ID10	ID11	ID12	ID13	ID14	ID15	ID16	ID17	ID18
E26	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	del	indel	del	ins	ins	indel	ins	indel	indel	del
E27	ins	indel	ins	ins	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins	indel	ins	indel
E28	indel	del	indel	indel	ins	del	del	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel
E29	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	del	indel	del
E30	ins	ins	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel
E31	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel
A1	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	indel	ins	del	indel	indel
A2	ins	indel	ins	del	del	indel	ins	del	del	indel	del	ins	del	del	indel	indel	indel
A3	del	del	indel	del	indel	ins	ins	ins	indel	indel	ins	del	indel	ins	ins	del	del
A4	del	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel	del	ins
A5	indel	indel	del	del	ins	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	del
A6	ins	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	ins	del	indel	del
A7	ins	ins	indel	indel	del	ins	ins	ins	indel	indel	ins	ins	del	ins	del	del	del
A8	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel
A9	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	indel	ins	indel	indel	indel
A10	ins	del	ins	del	indel	indel	del	del	del	indel	ins	del	ins	del	indel	indel	indel
A11	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins
A12	ins	ins	indel	ins	del	del	ins	indel	indel	del	ins	ins	ins	ins	ins	indel	ins
A13	indel	indel	del	ins	del	del	del	del	indel	indel	ins	del	del	indel	del	indel	del
A14	del	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	ins	ins	del	indel	indel	indel	ins	indel
A15	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel
A16	del	del	indel	del	del	del	indel	indel	ins	indel	ins	ins	del	ins	indel	indel	ins
A17	ins	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	del	ins	del
A18	del	del	indel	del	del	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	del	indel
A19	del	indel	ins	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	ins	indel	del	ins	ins	del	ins
A20	ins	indel	ins	del	ins	del	del	indel	del	del	ins	indel	del	ins	ins	del	del
A21	indel	del	del	del	del	indel	ins	del	del	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel
A22	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	ins	del	indel	ins	indel	ins	ins	del	del	ins
A23	ins	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel
A24	indel	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del
A25	del	indel	ins	indel	del	del	del	indel	indel	ins	ins	indel	del	indel	del	indel	del
A26	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	ins
A27	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	del	indel
A28	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	ins
A29	del	del	del	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	del	indel	del	del	indel
A30	del	del	del	del	del	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins
A31	del	ins	ins	ins	del	ins	ins	del	indel	indel	ins	del	indel	ins	indel	del	ins
İA1	indel	indel	ins	ins	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel
İA2	ins	indel	del	del	ins	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	ins
İA3	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	indel
İA4	indel	del	del	ins	ins	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	del	ins	del	del	del
İA5	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	ins	ins	del	ins	ins	indel	ins
İA6	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	ins	ins	indel	ins
İA7	ins	ins	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	indel	indel	del
İA8	del	ins	del	del	ins	indel	del	del	indel	indel	ins	del	del	del	del	ins	indel
İA9	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	del	del
İA10	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	indel
İA11	ins	indel	indel	del	del	del	ins	indel	ins	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel
İA12	indel	ins	ins	del	ins	del	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel
İA13	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	del	del	del	ins	ins	indel	ins	indel	del	indel

	ID19	ID20	ID21	ID22	ID23	ID24	ID25	ID26	ID27	ID28	ID29	ID30	ID31	ID32	ID33	ID34	ID35
E26	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	del	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel
E27	ins	indel	del	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	ins	ins	indel
E28	indel	indel	ins	del	del	ins	ins	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	indel	del	indel
E29	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	del	indel	indel	indel	ins	ins
E30	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	del	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	ins	indel
E31	del	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel
A1	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	del	indel	indel	indel
A2	ins	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	ins	ins	indel	indel	ins	del	ins	del	del
A3	ins	del	del	indel	ins	indel	ins	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel
A4	indel	indel	indel	del	del	ins	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	ins	indel	indel
A5	indel	ins	indel	indel	indel	ins	ins	ins	del	ins	del	del	indel	indel	ins	indel	indel
A6	ins	indel	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	del	indel
A7	del	del	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	del	del	indel
A8	ins	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	indel	indel	del	ins	ins	ins	ins
A9	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel
A10	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	ins	del	indel	indel	ins	ins	indel
A11	indel	del	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel
A12	indel	indel	indel	del	ins	ins	ins	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins
A13	ins	ins	indel	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	del
A14	del	ins	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	del
A15	del	del	indel	del	indel	ins	ins	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins
A16	indel	del	indel	indel	del	indel	del	del	del	ins	del	indel	indel	ins	ins	ins	ins
A17	ins	del	del	indel	ins	indel	del	del	ins	ins	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel
A18	del	indel	indel	del	del	ins	del	del	indel	ins	indel	indel	del	ins	ins	ins	indel
A19	ins	del	del	del	del	indel	indel	del	del	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del
A20	del	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins
A21	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	del	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel
A22	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	del	indel	del	indel	indel	indel	del
A23	indel	indel	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	ins	ins	indel
A24	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	indel
A25	ins	indel	del	ins	ins	indel	ins	indel	indel	del	del	del	ins	ins	del	indel	ins
A26	del	ins	del	indel	del	ins	del	ins	indel	ins	del	del	indel	indel	del	indel	ins
A27	indel	ins	indel	indel	ins	ins	ins	indel	indel	del	del	indel	indel	del	del	indel	ins
A28	ins	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	ins	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	ins
A29	ins	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	ins	ins	indel	ins	del
A30	indel	ins	del	del	ins	ins	del	del	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	del	indel
A31	del	ins	ins	indel	del	ins	indel	del	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	indel
İA1	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	indel	ins	indel	ins	del
İA2	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	ins	del	del	del	indel	ins	ins	indel
İA3	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	indel	del	indel	del	del	del	indel	indel
İA4	ins	ins	del	del	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	del	del	del	ins	indel	ins
İA5	del	ins	del	del	ins	ins	del	indel	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	del	del
İA6	indel	indel	indel	del	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	ins
İA7	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	del	ins	indel	del
İA8	ins	del	del	indel	del	ins	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins
İA9	del	indel	indel	del	del	ins	del	del	del	indel	del	indel	del	indel	del	ins	ins
İA10	indel	indel	indel	ins	ins	del	indel	ins	del	ins	del	indel	ins	del	indel	indel	del
İA11	indel	del	ins	del	ins	indel	del	ins	indel	ins	ins	indel	ins	ins	ins	ins	indel
İA12	indel	ins	del	ins	ins	ins	del	ins	ins	ins	indel	del	ins	indel	del	indel	indel
İA13	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	del	del	indel	indel

	ID1	ID2	ID3	ID4	ID5	ID7	ID8	ID9	ID10	ID11	ID12	ID13	ID14	ID15	ID16	ID17	ID18
İA14	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	del	del	del	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel
İA15	indel	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	del
İA16	del	del	indel	indel	del	del	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel
İA17	ins	del	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	indel	del	del	indel
İA18	del	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel
İA19	indel	indel	indel	ins	ins	del	del	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins	indel	ins	del
İA20	indel	del	ins	ins	del	indel	ins	indel	del	ins	ins	indel	del	del	ins	ins	ins
İA21	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel
İA22	indel	del	del	ins	ins	ins	indel	del	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	indel
İA23	ins	del	ins	indel	del	ins	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	del	ins
İA24	indel	indel	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	del
İA25	ins	indel	ins	indel	ins	indel	ins	del	indel	del	ins	del	indel	indel	del	del	del
İA26	indel	del	ins	del	del	del	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	del
İA27	indel	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	ins	del	del	ins	del	indel	ins
İA28	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	del	indel	indel	del	del	indel	indel	ins
İA29	indel	indel	del	indel	del	del	indel	indel	del	indel	indel	del	del	ins	indel	del	del
İA30	ins	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	indel	ins
İA31	ins	indel	indel	ins	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	del	del	ins	del	indel	indel
İA32	indel	indel	del	del	indel	indel	del	del	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel
İA33	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	ins	ins	del	indel	del	del	del	ins
İA34	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	del
İA35	del	del	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	ins	ins	del	del	ins	ins	del	indel
İA36	indel	indel	del	indel	ins	ins	indel	del	del	del	ins	indel	del	indel	del	del	indel
İA37	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	ins	indel	indel	indel	ins
İA38	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins	indel	indel	ins	indel	indel	indel
İA39	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	ins	del	del	del	ins
K1	indel	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	ins	ins	indel	del
K2	ins	del	ins	indel	del	ins	ins	del	del	ins	indel	indel	del	indel	ins	indel	indel
K3	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	ins	ins	del
K4	indel	indel	indel	del	indel	del	del	indel	del	ins	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins
K5	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	ins	indel	del	del	indel
K6	ins	ins	del	del	indel	del	indel	indel	ins	del	ins	del	indel	ins	indel	indel	indel
K7	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel	ins	indel	del	del	indel
K8	indel	indel	indel	ins	ins	indel	ins	del	del	ins	ins	indel	del	ins	indel	del	indel
K9	indel	indel	ins	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	del	del	indel
K10	ins	indel	ins	indel	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	del
K11	indel	del	indel	indel	ins	del	indel	del	indel	indel	ins	indel	del	ins	indel	ins	indel
K12	del	indel	indel	ins	del	ins	ins	del	indel	ins	indel	ins	ins	indel	del	indel	indel
K13	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	ins	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	del
K15	ins	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins	indel	del	del	indel	del	indel
K16	indel	indel	ins	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	ins	del	del	del	indel	ins
K18	ins	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	del	indel	ins	indel	ins	indel	del	indel	del
K19	indel	indel	indel	del	del	ins	ins	del	del	indel	ins	indel	del	ins	ins	ins	ins
K20	del	del	ins	del	del	del	indel	indel	indel	del	ins	del	del	ins	indel	indel	indel
K21	ins	ins	del	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins	ins	del	del	del	indel	indel	del
K23	indel	ins	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	del	del	del	del	del
K24	indel	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	del	del	indel	indel	del	ins	indel	ins	indel
K25	indel	del	indel	del	del	ins	del	del	del	del	indel	del	indel	ins	del	indel	del
K26	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	ins	indel	del	ins	indel	ins	ins
K27	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	del

	ID19	ID20	ID21	ID22	ID23	ID24	ID25	ID26	ID27	ID28	ID29	ID30	ID31	ID32	ID33	ID34	ID35
İA14	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins	del	indel	del	del	del	indel	indel
İA15	indel	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel
İA16	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	ins	indel	ins	del	indel	del	del	ins	ins	indel
İA17	del	ins	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	ins	ins	ins	ins
İA18	del	indel	ins	ins	indel	ins	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	ins	indel
İA19	del	indel	ins	indel	indel	ins	del	ins	indel	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel
İA20	indel	indel	ins	del	del	del	ins	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	ins	ins
İA21	ins	del	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	ins	del
İA22	del	indel	indel	del	del	indel	indel	indel	del	ins	del	indel	del	indel	ins	ins	del
İA23	del	del	indel	del	indel	ins	del	indel	ins	del	indel	indel	del	indel	indel	indel	indel
İA24	del	del	del	indel	ins	indel	indel	ins	ins	ins	del	indel	del	ins	indel	ins	del
İA25	del	indel	del	del	del	del	ins	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	ins	indel
İA26	indel	del	indel	del	ins	indel	ins	indel	indel	ins	del	del	indel	indel	indel	indel	ins
İA27	ins	ins	indel	del	del	indel	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel
İA28	del	del	ins	indel	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	del	del	del	indel	indel	indel
İA29	ins	del	del	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	ins	del	del
İA30	del	del	ins	indel	ins	del	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel
İA31	indel	del	indel	ins	ins	ins	indel	ins	ins	ins	indel	indel	ins	ins	ins	ins	indel
İA32	indel	ins	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins	ins	del	indel	indel	indel	indel	ins
İA33	del	ins	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	ins
İA34	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	del	indel	ins	ins	indel	ins	indel
İA35	ins	indel	ins	indel	indel	ins	ins	indel	ins	ins	indel	indel	del	del	ins	ins	ins
İA36	ins	del	ins	del	del	indel	indel	del	indel	ins	del	indel	del	ins	indel	del	indel
İA37	indel	ins	del	indel	del	ins	ins	indel	del	indel	indel	del	del	del	indel	ins	indel
İA38	del	indel	indel	indel	del	del	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins	indel	del	indel
İA39	del	ins	indel	del	indel	ins	del	del	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel	ins	ins
K1	del	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	indel	indel	indel	indel
K2	ins	del	del	del	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	del	del	indel	indel	ins	indel
K3	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	indel	ins	ins	indel	ins	ins
K4	del	indel	indel	del	indel	del	del	ins	ins	ins	indel	indel	del	ins	ins	ins	indel
K5	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	del	del	ins	del	del	indel	indel	del	indel	del
K6	del	del	del	indel	ins	ins	del	del	indel	indel	indel	indel	indel	indel	ins	ins	ins
K7	indel	ins	ins	del	indel	indel	del	ins	ins	ins	indel	indel	del	del	ins	indel	indel
K8	del	indel	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	ins	del	indel	indel	ins	del	ins	indel
K9	del	indel	ins	indel	del	indel	indel	del	ins	ins	indel	indel	indel	del	indel	indel	indel
K10	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	ins	ins	indel	del	indel	ins	ins	indel	indel	del
K11	ins	indel	ins	indel	ins	ins	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	indel	ins
K12	del	del	indel	ins	indel	indel	indel	indel	ins	indel	del	indel	del	del	ins	del	indel
K13	del	indel	del	del	del	ins	indel	indel	indel	ins	del	indel	del	ins	del	indel	ins
K15	indel	del	indel	indel	indel	indel	indel	del	indel	del	indel	del	indel	ins	indel	indel	del
K16	del	ins	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	ins	indel	indel	ins	ins	indel	indel	ins
K18	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	del	ins	indel	ins	indel	indel	del	indel	indel	indel
K19	indel	indel	indel	indel	ins	indel	indel	indel	del	ins	indel	indel	del	indel	del	ins	del
K20	indel	del	indel	indel	del	indel	del	indel	indel	indel	del	del	indel	ins	indel	ins	indel
K21	indel	indel	del	del	indel	ins	del	ins	del	indel	del	del	del	indel	indel	ins	ins
K23	ins	del	indel	del	indel	ins	indel	del	indel	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	ins
K24	del	del	indel	indel	del	ins	indel	del	indel	indel	ins	indel	indel	indel	ins	del	del
K25	ins	indel	indel	indel	indel	ins	del	del	indel	del	del	indel	indel	indel	ins	indel	indel
K26	ins	ins	ins	indel	del	ins	indel	indel	indel	del	del	indel	del	del	indel	ins	del
K27	ins	del	del	del	ins	del	indel	indel	indel	del	indel	del	del	indel	ins	ins	indel

EK 3 GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Gönüllü Olur Formu

İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü'nde akademik amaçlı yapılacak bir araştırmaya katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağının çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirseniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Formu imzalamanız çalışmanın kapsamı ve riskleri hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Bu onay formunun bir kopyası size verilecektir. Bu formda anlamadığınız ifadeler varsa çalışmadaki araştırmacılara sorarak bilgi edinebilirsiniz.

ADLİ KİMLİKLENDİRMEDE KULLANILMAK ÜZERE İNDEL LOKUSLARINA AİT KİT GELİŞTİRİLMESİ

Adli bilimlerde babalık - akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde ve kriminal araştırmalarda olay yerinden toplanan biyolojik örneklerin (kan, kan lekesi, semen, semen lekesi, tükürük, tükürük lekesi kıl, kemik v.s) kimliklendirilmesi DNA analizleri ile yapılmaktadır. Kimliklendirmede, genellikle STR genetik işaretlerinden yararlanılmaktadır. Bu lokuslar halen kullanılmakla birlikte, olay yerinden gelen aşırı derecede bozunmuş biyolojik örneklerde tipleme sorunları yaşanabilmekte ve sonuç alınamamaktadır. Son dönemlerde insersiyon-delesyon (INDELs) sonucu meydana gelen kalıtımsal değişiklikler de, insan genomunda genetik işaret olarak kullanılabilmektedir. İnsersiyon/delesyon polimorfizmi insan genomunda tek bir bazın eklenmesi veya kaybolması şeklinde oluşur ve genomun yapısında değişikliğe sebep olur. Bu da adli bilimler için oldukça önemlidir. İNDEL konusundaki çalışmalar oldukça kısıtlıdır. İNDEL ticari kitleri yerli üretim olmayıp yurt dışından ithal edilmektedir. Bunlar göz önüne alındığında Türkiye'de zorlu örneklerde kimliklendirmeye yardımcı olmak amacıyla İNDEL lokuslarına ait yerli üretim bir kit geliştirip ülkemizi dışa bağımlılıktan kurtarmak amacımız olmuştur.

Araştırmanın deneysel kısımları; sizden alınılacak ağız içi sürüntü örneğinden DNA izole edilecek, miktarı belirlenecek, PCR tekniği ile INDEL lokusları çoğaltılacak ve PCR ürünlerinin elektroforezi ve analizi yapılacaktır. Elde edilen genotiplerin alel frekansları hesaplanacaktır.

Araştırmaya katılmak tamamen gönüllülük esasına bağlıdır. 6698 sayılı kanununun 11. Maddesi uyarınca öğrenme, bilgi talep etme, düzeltilmesini talep etme ve verileri yok etme hakkınız bulunmaktadır. Araştırmaya katıldığınızda, araştırmanın herhangi bir aşamasında bir gerekçe göstermeksizin ayrılabilirsiniz. Bunun için herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalması söz konusu değildir. Ayrıca, araştırmacı tarafından da gerek görüldüğünde katılımcının araştırma dışı bırakılacağı bildirilebilir.

Alınan kişisel veriler, hukuka ve dürüslük kurallarına, bilimsel çalışma kurallarına uygun olarak, işbu proje kapsamında ve projenin yapılması amacı ile sınırlı ve ölçüde anonim olarak kullanılacaktır. Kişisel veriler işbu projenin yapılıp bitirilmesi için gerekli olan süre ile sınırlı olarak muhafaza edilecektir. Kişisel veriler projenin sona ermesini müteakip proje yürütücüsü tarafından silinecek veya anonim hale getirilecektir.

Sizden araştırma ile ilgili herhangi bir para talebinde bulunulmayacağı gibi kendisine de ödeme yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumundan (SGK)dan herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Araştırmanın sizin açınızdan hedeflenen herhangi bir klinik yararı bulunmamaktadır.

Araştırma konusu ile ilgili ve sizin araştırmaya katılmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde siz ya da yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verilmektedir.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü; 100 kişidir. Sizden pamuklu çubukla ağızdan sürüntü örneği alınacaktır. Sizden elde edilecek olan biyolojik materyal; proje yürütücüsü tarafından tıbbi personel yönetiminde ve denetiminde gerekli örnekler alınacaktır. Araştırma ile ilgili analizler İ.Ü Adli Tıp Enstitüsü Moleküler Genetik Laboratuvarında yapılacaktır.

Kendi haklarınız hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir bilgi almak istediğinizde, sorumlu araştırmacı Gönül Filoğlu'dur. Araştırmacıya günün 24 saatinde erişebilecek telefon numaraları; 0(532) 2260828 'dir.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen görevli tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi veya kendi isteğime bakılmaksızın araştırmacı tarafından da araştırma dışı bırakılabileceğimi biliyorum.

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

"Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere İndel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi" *akademik çalışması kapsamında alınan ağız içi sürüntü-tükürük örneğinin (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)*

☐ *Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.*

☐ *İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.*

☐ *Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum."*

Gönüllünün Adı Soyadı: **Doğum yeriniz ve tarihi:**
Gönüllünün İmzası
Tarih:

Yetkin Araştırmacının Adı: Soyadı: Yard. Doç. Dr. Gönül Filoğlu
Yetkin Araştırmacının İmzası:
Tarih:

ÖZGEÇMİŞ

SEBAHAT TAŞ

Doğum Tarihi ve Yeri:

Tel:

Email:

Eğitim

İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi 2015- 2022
Fen Bilimleri Anabilim Dalı, Adli Tıp Enstitüsü
(Doktora Programı)

Hamburg Üniversitesi 2010-2013
Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji
(Yüksek Lisans Programı)

Balıkesir Üniversitesi, Biyoloji 2004-2008
(Lisans Programı)

Sunum ve Poster

16. Adli Bilimler Programı Nisan 2019
İzmir, Türkiye, Poster
Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere InDel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi"

İş Tecrübeleri

Yeditepe Üniversitesi hastanesi, Mikrobiyoloji, (Temmuz, Ağustos), 2007, Stajer

Tubitak "Ulusal Yeni Fikirler Ve Urünler Arastırma Destek Programı" kapsamında 217S586 numaralı "Adli Kimliklendirmede Kullanılmak Üzere InDel Lokuslarına Ait Kit Geliştirilmesi" başlıklı proje, 2017-2019, Bursiyer