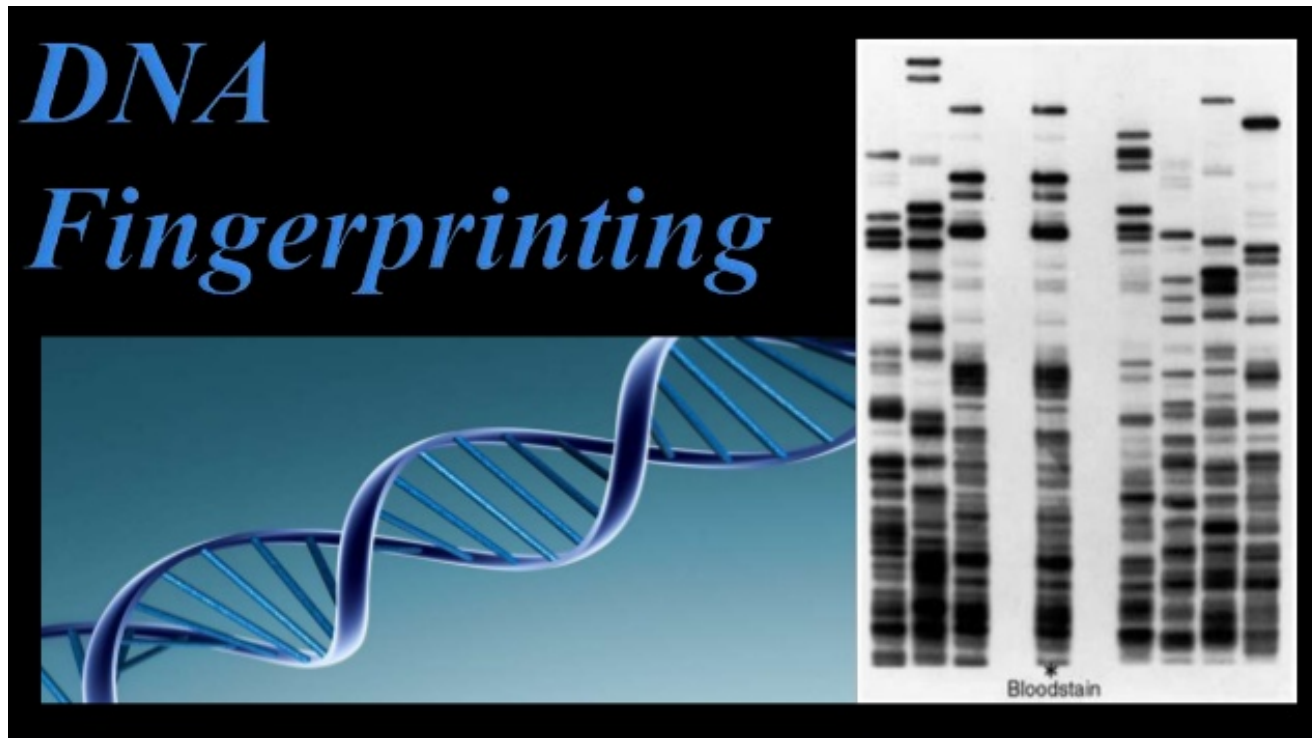
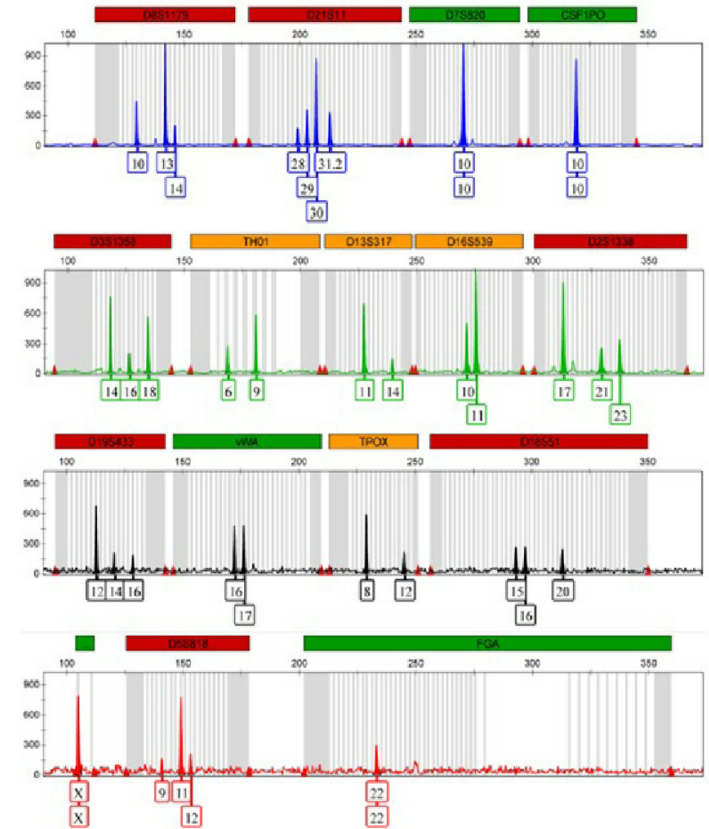


DNA PROFİLLEME, ADLİ ve DİĞER UYGULAMALAR



DNA profilleme

- İnsanların DNA profillerine dayanarak, onların kimliklerinin tespitini kolaylaştırmak için adli bilimcilerin kullandığı bir tekniktir.
- DNA testi, DNA tiplemesi ve genetik parmak izi olarak da adlandırılır.



DNA profilleme ne için kullanılır?

- Kayıp insanların araştırılması
- Yakın genetik ilişkilerin belirlenmesi
- Tıbbi tanı
- Evrimsel ilişkilerin kurulması
- Genetik çeřitliliđin belirlenmesi
- Adli arkeoloji
- Bitki ve hayvanların akrabalıklarının belirlenmesi

Kişiler arasındaki farklılık ne kadardır?

- Herhangi iki insan arasındaki DNA benzerliği % 99.0-% 99,9 arasındadır.
- DNA profillemeye metotlarında % 0.1-% 1.0'lık DNA dizi farklılığı kullanılır.
- Bu fark kişiyeye özgü parmak izi, kimlik vs. belirlenmesinde kullanılır.

Protein polimorfizmlerine dayalı farklılık

- Protein polimorfizmleri bireyler arasındaki genetik farklılığı belirlemek için kullanılabilir.
- Örneğin;
 - ABO kan grupları
 - MHC (Major Histocompatibility Complex) antijenleri
 - HLA (Human Leukocyte Antigen) antijenleri
 - Kırmızı kan hücresi enzimleri

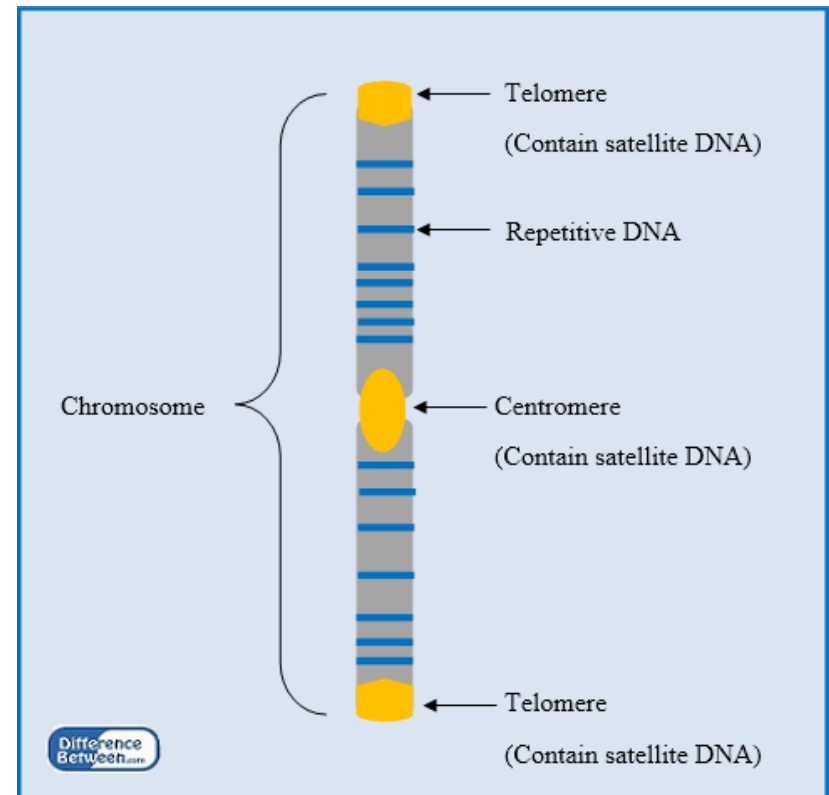
Satellit DNA

- İnsan genomu 3 milyar baz çiftinden oluşur.
- İnsan genomunun büyük kısmını tekrarlayan DNA oluşturur.
- Bu tekrarlayan DNA'nın fonksiyonu belirlenememiştir ya da herhangi bir fonksiyonu yoktur.



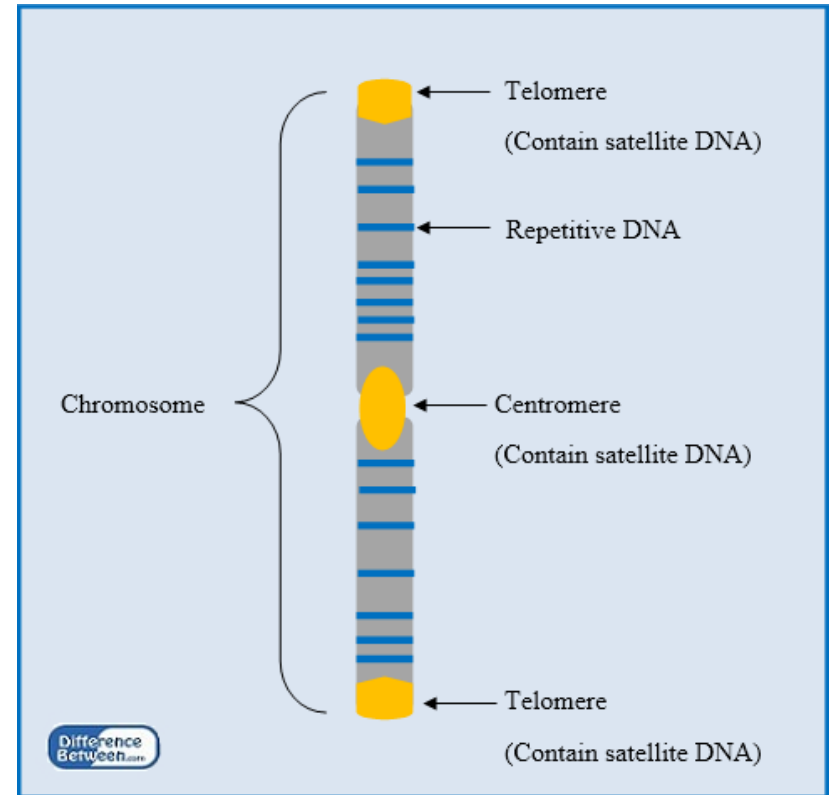
Satellit DNA

- Ardışık tekrarlayan diziler:
Genomun yaklaşık % 10'unu oluşturur.
- Serpiştirilmiş tekrarlayan diziler:
Genomun % 5-20'sini oluşturur.
- Uzun ve kısa dizilerle
bölünmüştür.
- 500 bpden daha kısa dizilere SINE'ler, 500 bpden daha uzun dizilere ise LINE'ler denir.



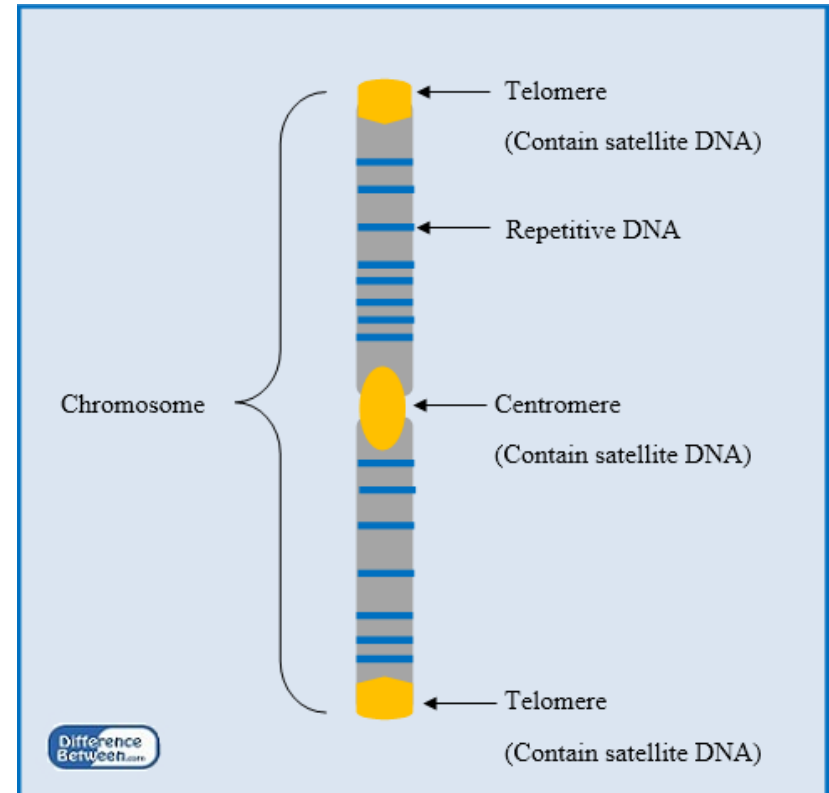
Satellit DNA

- Satellit DNA ilk olarak CsCl yoğunluk gradient santrifügasyonu sırasında keşfedilmiştir.
- Genomik DNA'nın GC içeriği, CsCl santrifügasyonu sırasında tüpteki DNA pozisyonunu etkiler.
- Ökaryotik DNA genellikle santrifügasyon sırasında birden fazla bant oluşturur.
- En küçük bantta 'satellit DNA' bulunur.



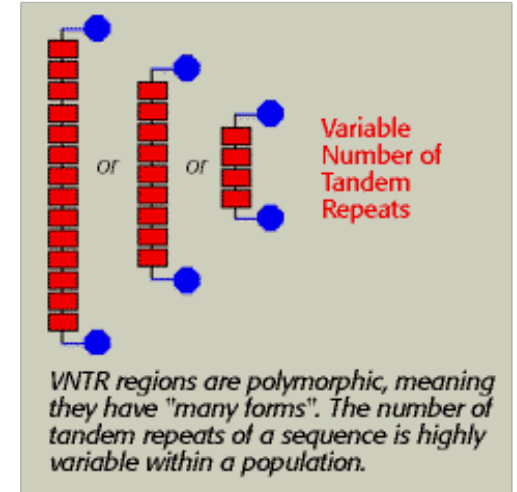
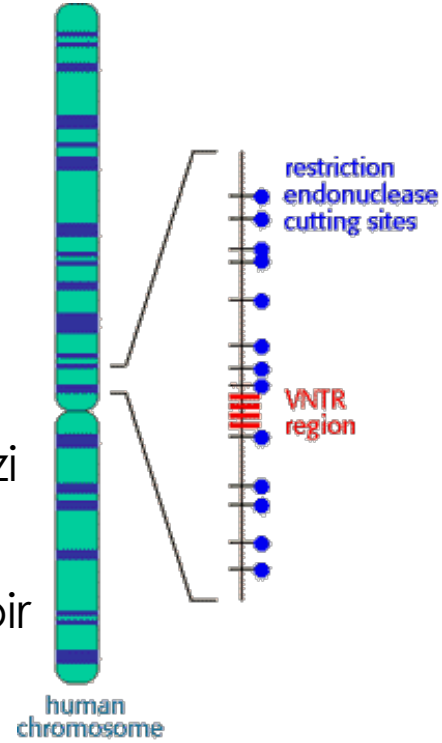
Satellit DNA

- Ardışık tekrarlı DNA;
 - sentromer
 - mikrosatellit ve
 - minisatellit DNA'ların yanındaki uzun makrosatellit bölgelerinden oluşur.
- Bunlar genom boyunca dağılmıştır.



VNTR'ler (Variable Number of Tandem Repeats)

- Tekrar sayıları bireyler arasında değişen ardışık tekrarlı çekirdek dizileridir.
- İnsan DNA'sının çoğu, kodlama yapmayan kısa ardışık tekrarlı dizilerden oluşur.
- VNTR, en sık görülen DNA dizi uzunluk polimorfizmidir.
- Polimorfizmler, bir VNTR'de bir çekirdek dizinin tekrar sayısının farklılığıyla oluşturulur.



VNTR'lerdeki polimorfizmler nasıl tespit edilir?

- Polimorfizmleri tespit etmek için;
 - DNA, VNTR bölgesi dışında uygun restriksiyon enzimleri ile kesilir.
 - DNA fragmentleri jel elektrofezi ile ayrılır.
 - Bir naylon membrana emdirilir.
 - Komplementer bir prob ile bir bant deseni (parmak izi) oluşturur.

VNTR'lerdeki polimorfizmler nasıl tespit edilir?

- Spesifik bir restriksiyon endonükleaz ile kesilen DNA, iki birey arasındaki bir VNTR lokusunun uzunluğundaki farklılığın belirlenmesine izin verir.
- Uzunluk farklılıklarını görmek için PCR kullanılır.
- Enzimin kestiği yerdeki fragment uzunluklarının farklılıkları dizi birimlerinin tekrar sayılarına bağlıdır.

Polimorfizm sonuçları nerede kullanılır?

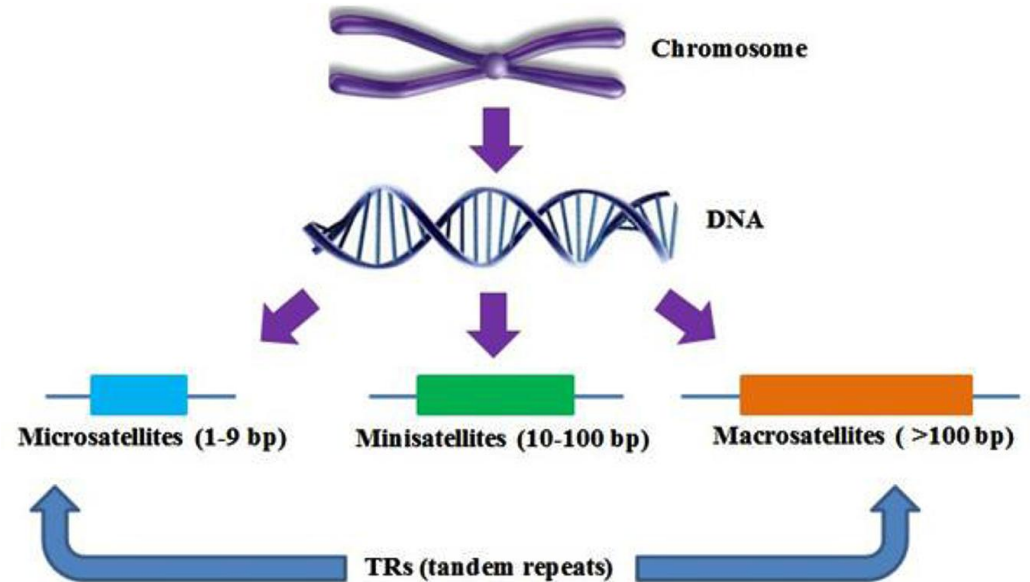
- Uzunluk polimorfizmleri;
 - Bireylerin ayırt edilmesinde,
 - Soy belirlenmesinde ve
 - Diğer yakın akrabalıkların belirlenmesinde kullanılır.

- Bir bireyin faklı lokuslarındaki değişkenlikler toplandığında, bireyin bileşik profili, o birey için spesifik hale gelir.

- Kan, doku ve saç kökünden izole edilen DNA, bireyin spesifik DNA profilini oluşturmak için kullanılır.

VNTR çeşitleri

- Satellit DNA sadece ökaryot organizmalarda bulunur, prokaryotik organizmalarda bulunmaz.
- VNTR'ler büyüklüğüne göre üç sınıfa ayrılır:
 - Mikrosatellitler
 - Minisatellitler
 - Makrosatellitler



Mikrosatellitler (STR)

- Genom içinde rastgele dağılmış kısa ardışık tekrarlardır.
- Bireyler arasındaki kopya sayıları yüksek oranda değişkenlik gösterir.
- Oldukça kısadırlar, 2-5 bp'den oluşur.
- Tekrar uzunluğunun toplamı genellikle 1 kb'dan daha kısadır.
- STR birimlerinin uzunluğu genellikle 70-200 bp arasında değişir.
- Replikasyon kayması nedeniyle uzunlukları değişkendir.

Mikrosatellitler (STR)

- İnsan genomunda gözlenen bir çok ortak motif $(CA)_n$ – $(GT)_n$ 'dir (n : tekrar sayısı).
- Bu motif tüm ökaryotların genomu boyunca dağılmıştır ve çok sayıda kopya içerir.
- En iyi bilinen tekrarlardan biri $(AC)_n$ 'dir (n : 10-60 arasında değişebilir).
- İnsan genomunda yaklaşık olarak 50.000 tekrarı mevcuttur.

Mikrosatellitler (STR) ne amaçla kullanılır?

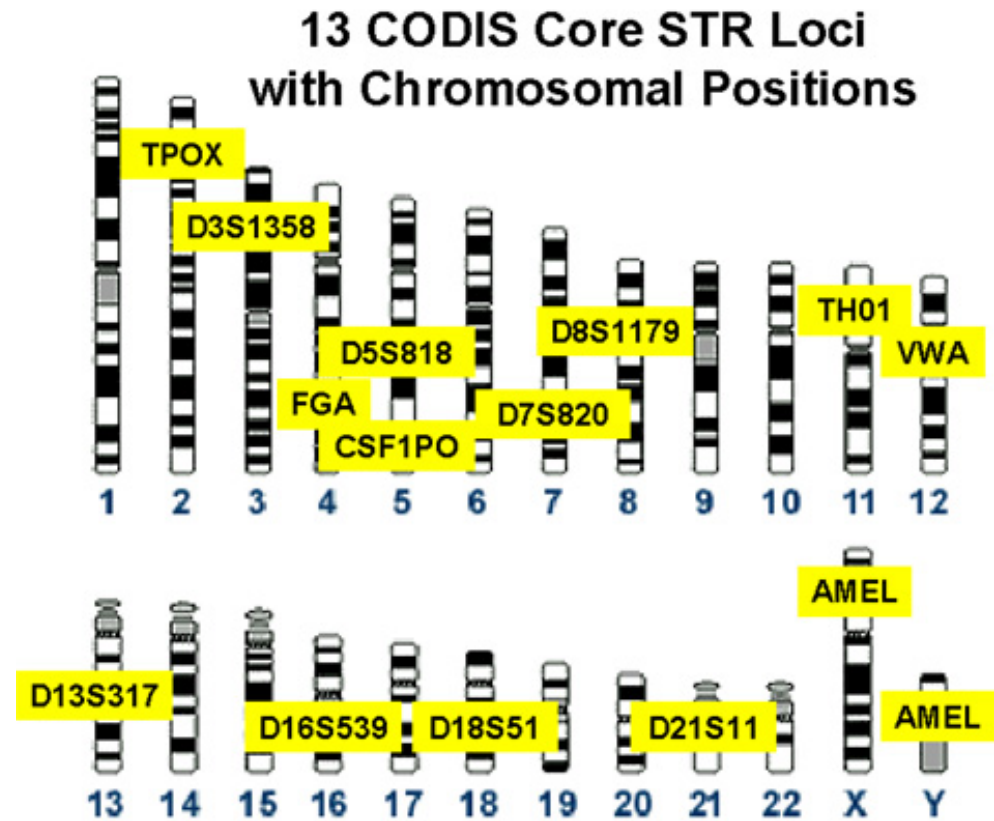
- Polimorfizmler insan genomunun haritalanmasında önemli marker olarak kullanılır.
- Oldukça çok değişkenlik gösteren (çok fazla allelik formu bulunan) STR'ler, ailesel genetik hastalık çalışmalarında ve soy tartışmalarında kullanılırlar.

Mikrosatellitler (STR) ne amaçla kullanılır?

- (AGC)_n ve (AATG)_n gibi bir çok mikrosatellit tanımlanmıştır.
- Tekrarlar üç ya da dört nükleotide dayalı olduğu için allel çeşitliliği daha fazladır.
- Multipleks PCR denilen yöntemle birkaç lokus aynı anda incelenebilir.

FBI mikrosatellitlere (STR) güvenir

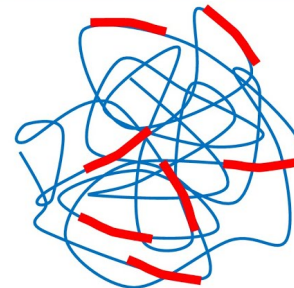
- FBI (The Federal Bureau of Investigation), DNA profillemde iyi tanımlanmış 13 STR lokus setini kullanır.
- Günümüzde, STR dizileri özellikle adli DNA profillemde kullanılmaktadır.



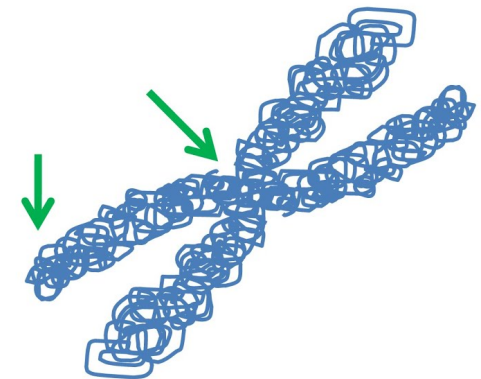
Minisatellitler (telomer dizileri)

- Minisatellitler ilk olarak 1986-1987 yılları arasında karakterize edilmiştir.
- 16. kromozomdaki α -globin gen lokusu ve 14. kromozomdaki immunoglobulin gen lokusu ile yakın ilişkide olduğu belirlenmiştir.

Quickly
understand

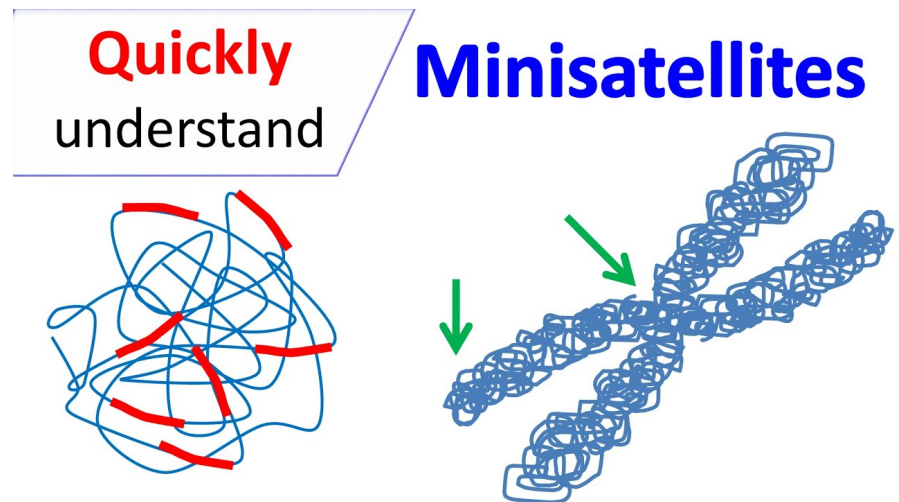


Minisatellites



Minisatellitler (telomer dizileri)

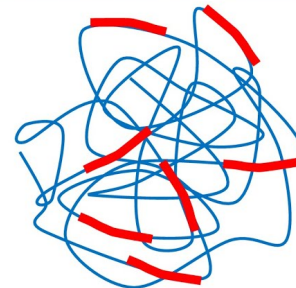
- Telomerler olarak adlandırılan minisatellitler genellikle kromozomların uçlarına yakın bölgelere yerleşmişlerdir.
- Alleller arasındaki rekombinasyon nedeniyle değişkenlik gösterirler.



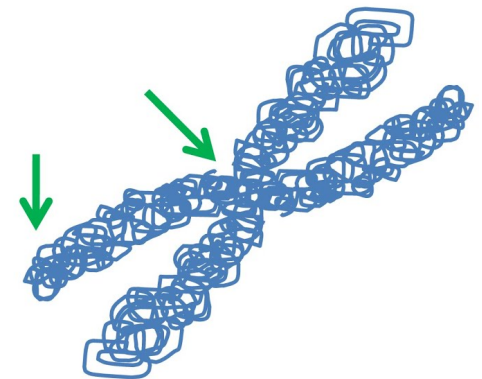
Minisatellitler (telomer dizileri)

- Bir çok minisatellit yaklaşık olarak 20 bp içeren bir çekirdek diziyi paylaşır.
- Bu çekirdek dizi her bir minisatellit lokusundaki tekrar birimlerinin bir parçasıdır.

Quickly
understand



Minisatellites



Minisatellitler (telomer dizileri)

- Her bir lokus farklı bir tekrar birimine sahip olmasına rağmen bu lokusların sayısı binlerce olabilir.
- Bu diziler genom boyunca dağılmış uzunluk polimorfizmlerini belirlemek için kullanılır.
- Böylece multilokus profilleri oluşturulur.

Makrosatellitler

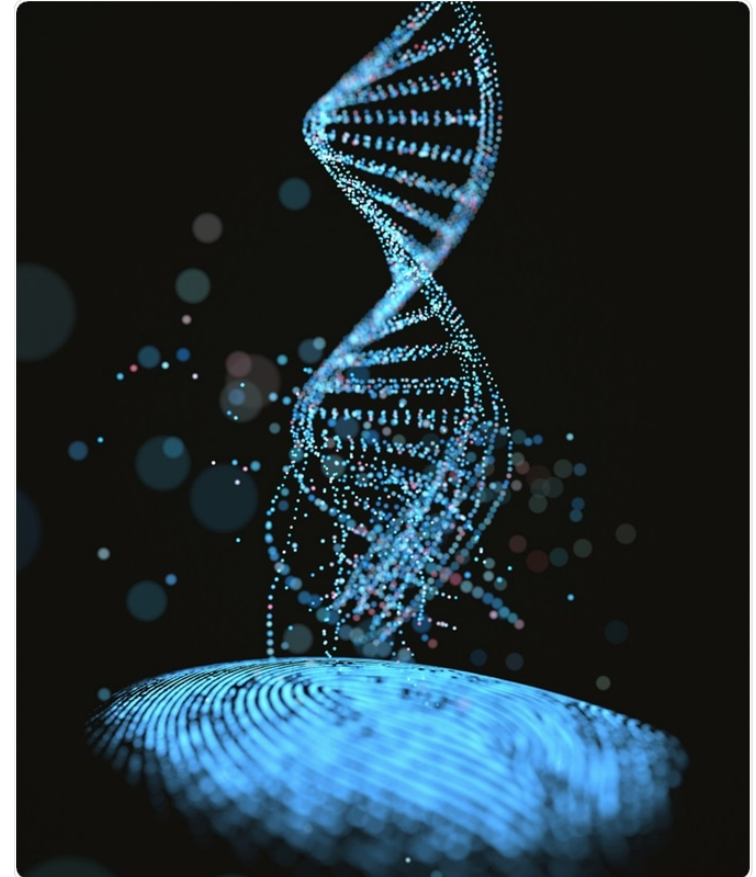
- Makrosatellit DNA'lar sentromer ve telomerlerin yakınında bulunurlar.
- Bu DNA dizileri oldukça büyüktür (Mb büyüklüğünde).
- Ayırmak için özel bir elektroforez yöntemi gerekir (Pulse Field Gel Electrophoresis-PFGE)
- Boyutları nedeniyle adli uygulamalarda kullanılmazlar.

VNTR'lerin adli analizlerdeki önemi

- Adli analizlerde VNTR'ler kullanılır.
- Bu VNTR'ler 100 ya da daha fazla allele sahip olabilir.
- Bir homozigot, birbiriyle aynı uzunlukta bir VNTR'nin iki kopyasına sahipken, bir heterozigot birbirinden farklı uzunlukta iki kopyaya sahiptir.

Allelik polimorfizmler

- Bir popülasyondaki allelik polimorfizmler, rastgele genetik sürüklenme ya da doğal seleksiyonla sağlanır.
- Popülasyonda bireye özgü diziler olarak bilinen veriler, milyarlarca insanın birbirinden farklı DNA parmak izine sahip olduğunu gösterir.
- Benzerlik ancak birkaç milyarda bir görülür.



Mahkemelerde kullanılan minisatellit problemleri

- Mahkemelerde kullanılan ve A. Jeffreys tarafından geliştirilen ilk minisatellit problemleri;
 - 33.6-33.15
 - 18 kez tekrar eden (AGGGCTGGAGG)
 - 29 kez tekrar eden (AGAGGTGGGAGGTGG)çekirdek birimlerinden oluşur.



DNA parmak izinin diğere alanlardaki kullanımı

- DNA parmak izinin,
 - Bitki ve hayvan yetiştiriciliği,
 - Koruma biyolojisi ve
 - Populasyon genetiği gibi uygulama alanları vardır.

- DNA parmak izi ayrıca, göç ve soy tartışmalarında yeterince güvenilir olduğu için sıklıkla kullanılır.



Mikrosatellitlerin tek-lokus VNTR desenleri

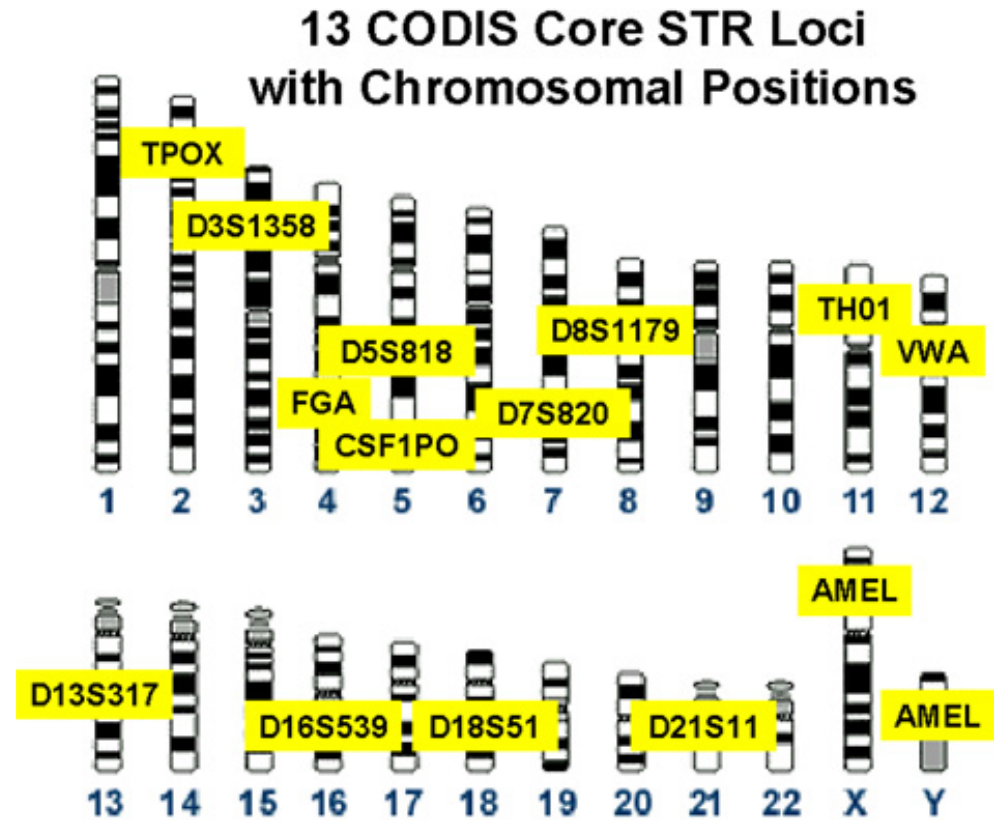
- Mikrosatellitlerin (STR) tek-lokus VNTR desenleri, tek bir DNA fragmenti (homozigot birey) veya iki DNA fragmenti (heterozigot birey) oluşturur.
- Bu desen, bir bireyin imzası olarak kullanılabilen özgün parmak izidir.

Tek-lokus allelerini çoğaltmak

- Günümüzde tek-lokus allelerini çoğaltmak için PCR en çok tercih edilen yöntemdir.
- Bu alleleri bir multilokus probu ile çoğaltmak için en az 4-5 tek-lokus primer seti kullanılır (multiplexing PCR).
- Multipleks PCR, tek reaksiyon ile çoklu STR'lerin (mikrosatellitlerin) profilenmesine olanak verir.

FBI STR (mikrosatellit) lokuslarını kullanır

- FBI, suçları saptamada kullanmak için gelişmekte olan DNA profillemeye teknolojisinde bir lider konumundadır.
- 1997'de FBI, CODIS (Combined DNA Index System) olarak bilinen Birleşik Devletler veritabanının çekirdeğini oluşturmak için 13 STR lokusu belirlemiştir.



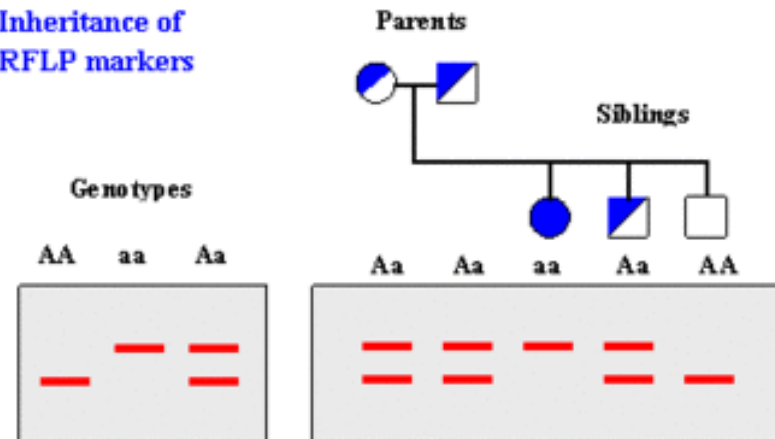
STR'ye (mikrosatellit) dayalı profillemenin avantajları

- STR'ye dayalı DNA profillemeye birkaç nedenden dolayı diğer metodlardan daha üstündür:
 - STR analizleri, RFLP analizlerinden daha az emek gerektirir.
 - Bozulmuş DNA'ların profilleri elde edilebilir.
 - Çok küçük miktarlarda (0.5-1.0 ng) DNA gerekmesine rağmen, hedef DNA'nın 0.2 ng'dan daha az olması yeterlidir.
 - Küçük miktarlardaki kontaminantlar, anormal PCR ürünlerinin oluşumuna neden olmaz.
 - Karışık DNA örnekleri birbirinden ayrıt edilebilir (örn; karışık kan lekeleri).

RFLP (Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi)

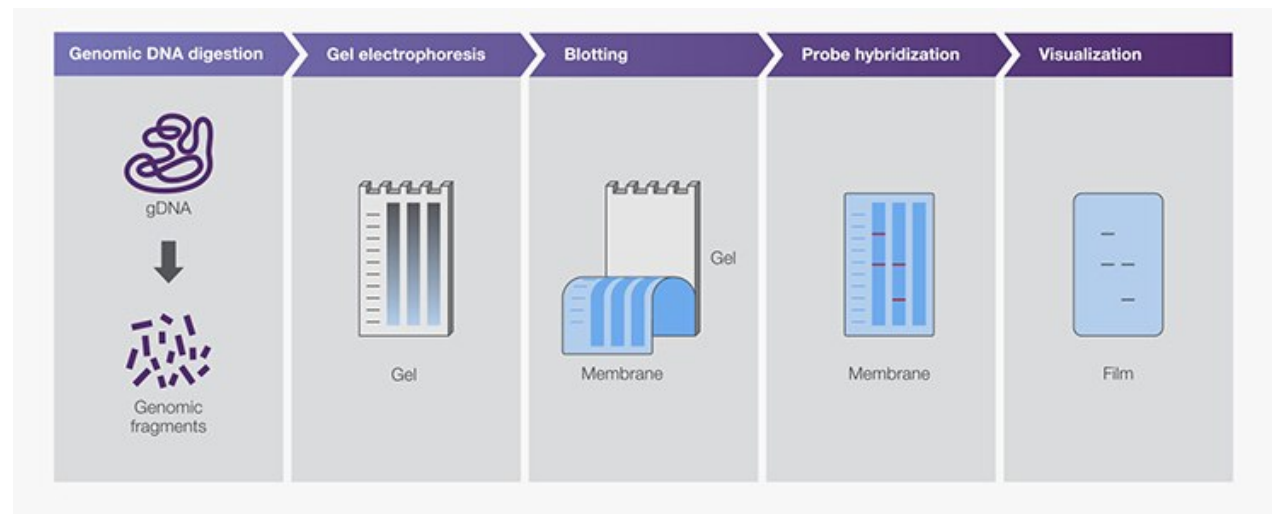
- Tek baz değişikliklerini veya farklı büyüklükte minisatellitleri belirleyebilen bir tekniktir.
- Restriksiyon endonükleazlarla DNA'nın farklı büyüklüklerdeki fragmentlere ayrılarak incelenmesine dayanmaktadır.

Inheritance of RFLP markers



RFLP iki yolla gerçekleştirilebilir

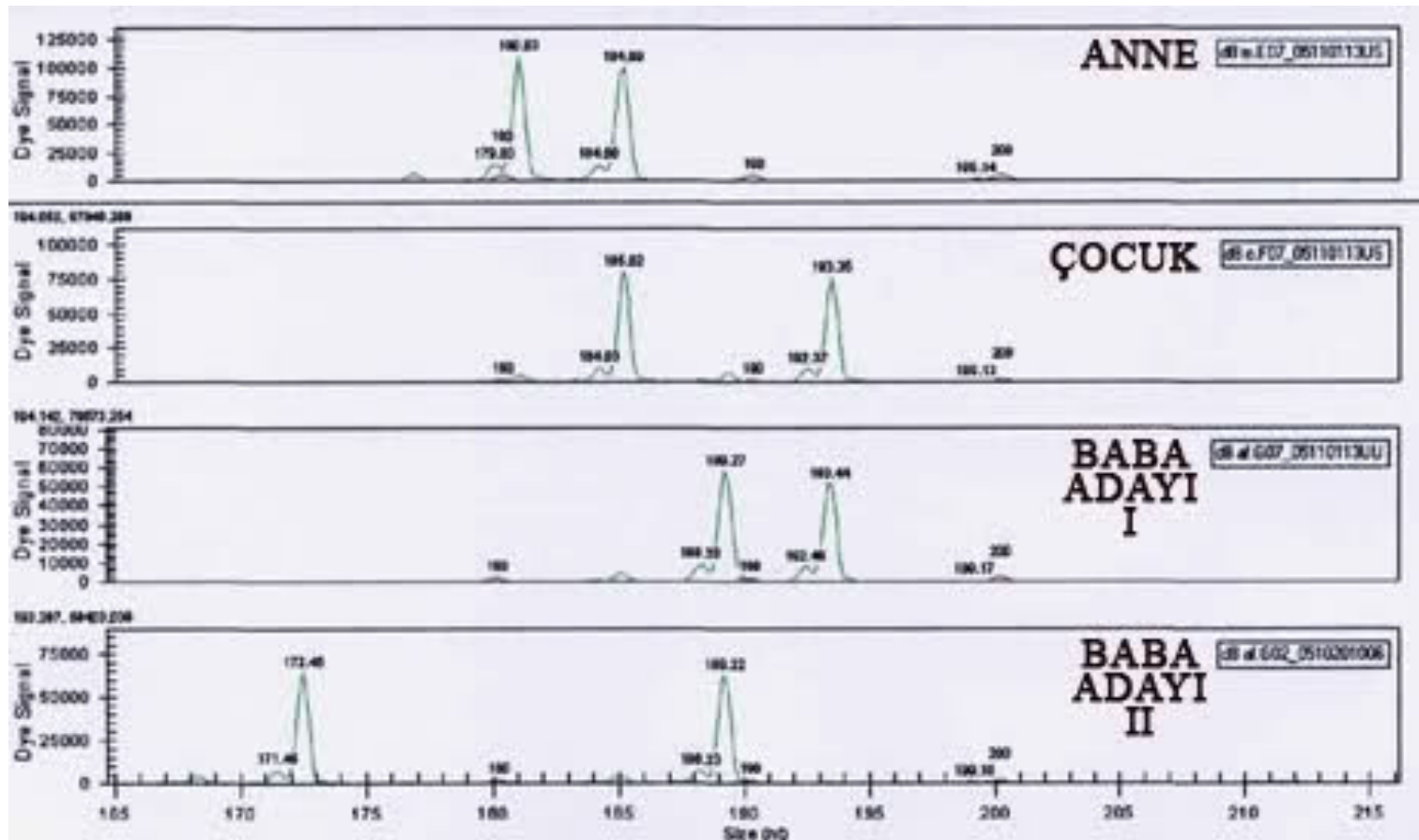
- Agaroz jel elektroforezi ve ardından southern blot hibridizasyonu
- Bir DNA fragmentinin PCR amplifikasyonu, ardından seçilen bir restriksiyon enzimi ile kesimi ve agaroz jel elektroforezi



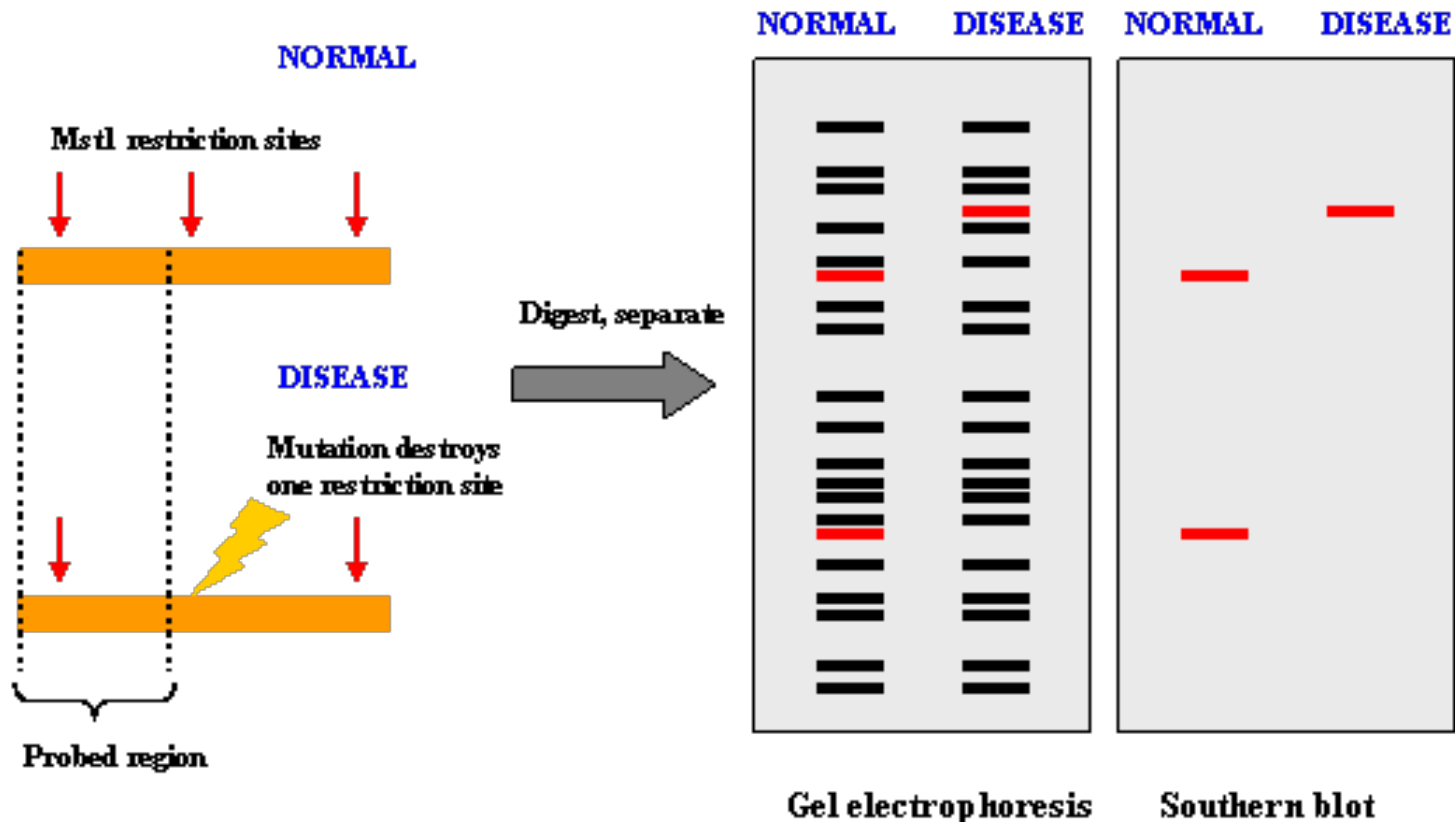
RFLP ne amaçla kullanılır?

- Basit RFLP analizleri, bir DNA dizisindeki tek baz değişimlerinin (polimorfizmlerin) belirlenmesine izin verir.
- DNA dizi polimorfizmleri, hayvan popülasyonlarında ortaktır ve kalıtılabilir markerlar olarak kullanılabilir.
- Bu polimorfizmler, analık-babalık testleri için genetik haritalamaya izin verir.
- Birçok modern STR metodu bulunmadan önce, bir suçta şüpheliyi temize çıkarmak için adli uygulamalarda kullanılmıştır.

Örnek bir RFLP analiz sonucu



RFLP hastalıkların teşhisinde de kullanılır



DNA parmak izi elde etmek için kullanılan metotlar

- Southern blot hibridizasyon (restriksiyon enzimleri ile kesim, jel elektroforezi, bir VNTR probu ile hibridizasyon ve otoradyografi)
- PCR

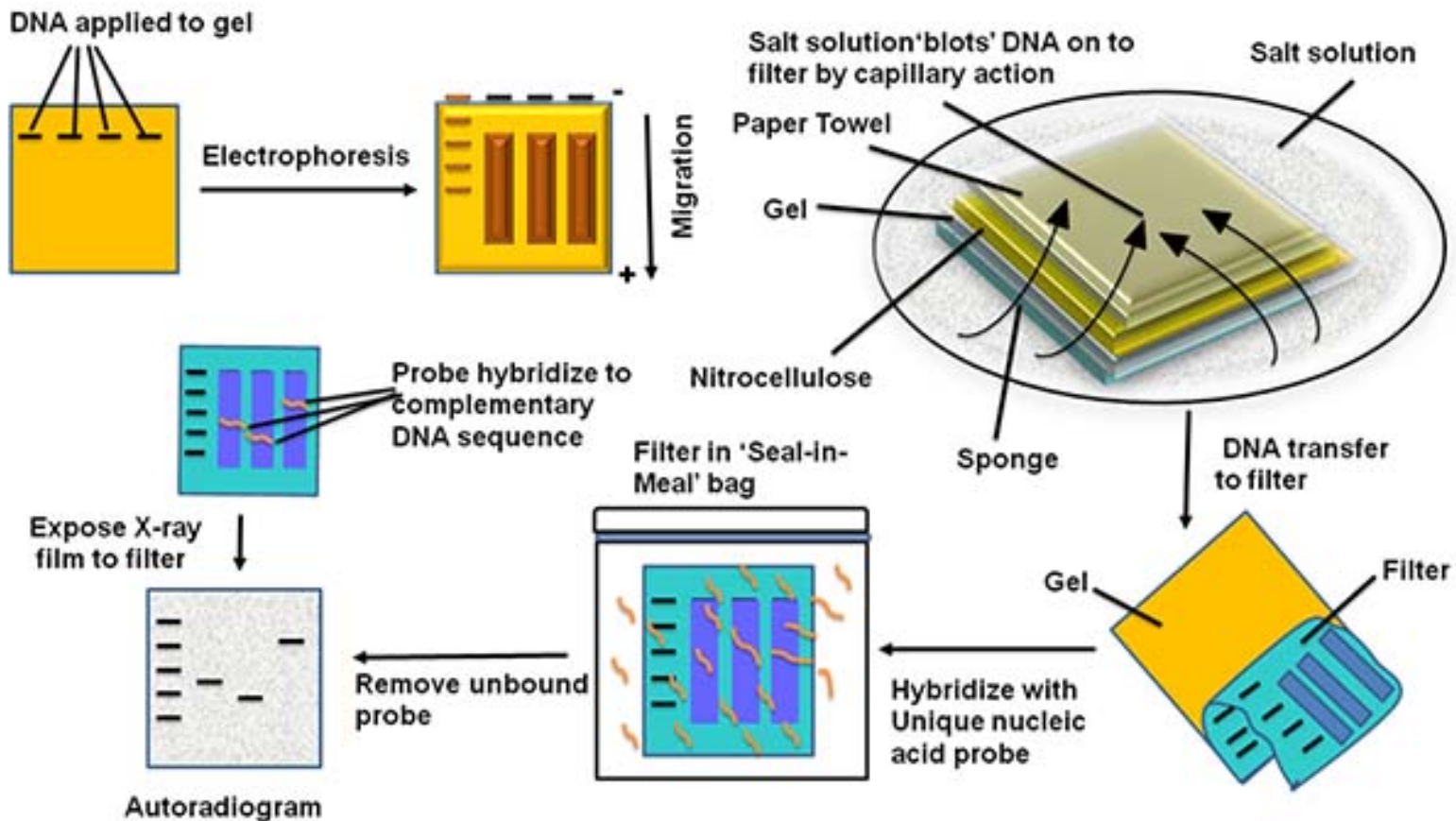
Hangi dokulardan örnek alınır?

- İdrar,
- Sperm,
- Tükürük vb. vücut sıvıları veya
- Kan,
- Kemik veya
- Deri

Southern blot hibridizasyon

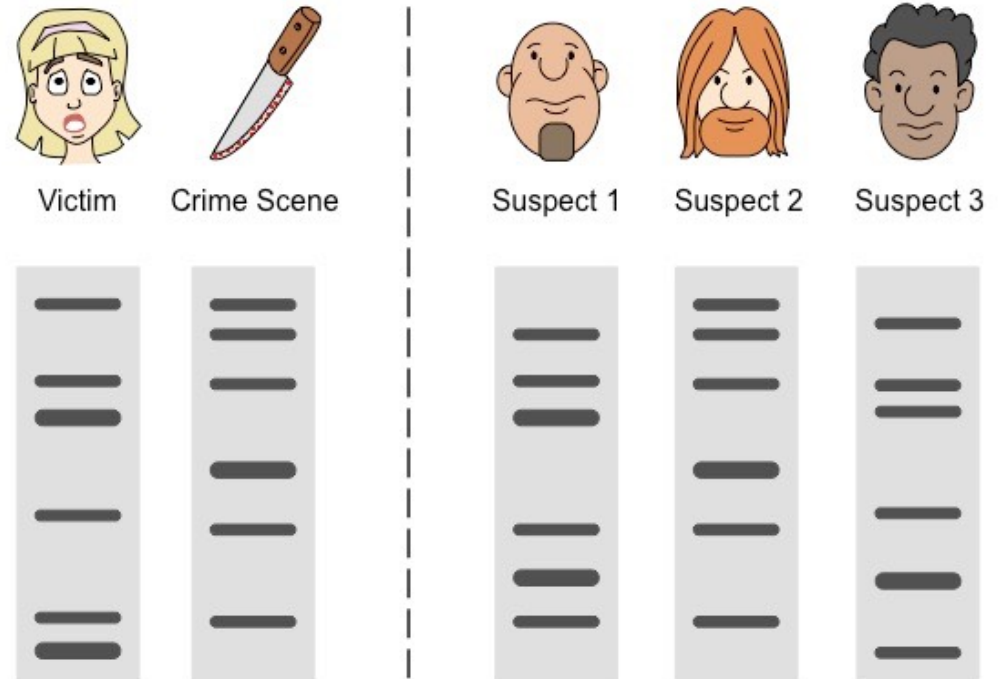
- X-ray film üzerindeki DNA profili, bantların veya DNA fragmentlerinin pozisyonlarını belirlemek için analiz edilir.
- Beraberinde, büyüklüğü bilinen DNA standartları (marker) aynı jelde yürütülür.
- Göç mesafesi, büyükük ya da fragmentlerin uzunluğu ile ters orantılıdır.

Southern blot hibridizasyon



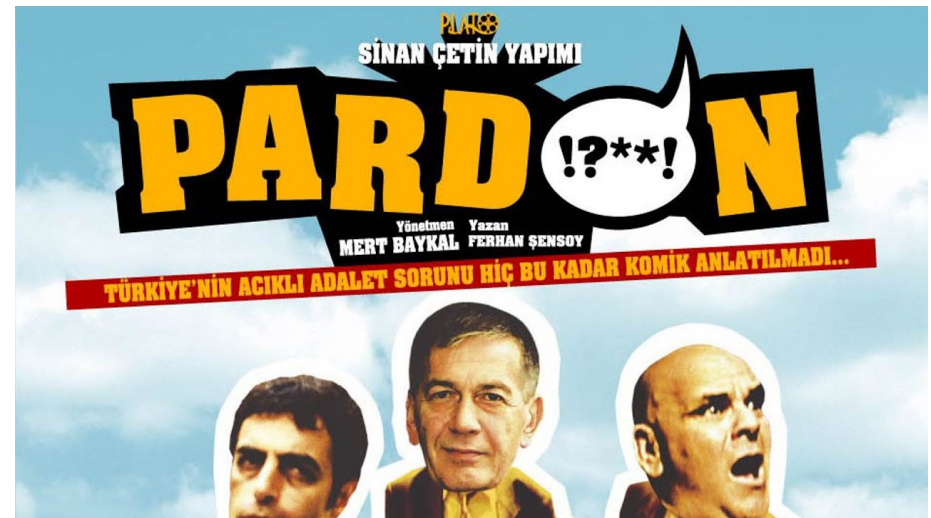
DNA profillemenin amacı

- Bir şüpheliden ve suç mahallinden toplanan örnekler arasındaki olası eşleşmeyi belirlemektir.



Yanlış analizler adli kaoslara neden olur!

- DNA parmak izinin tekrarlanabilirliğini sağlamak için, standart metotların izlenmesi gerekmektedir.
- Bu yöntemler takip edilmediğinde, DNA profilleri, yanlış suçlamaların yanı sıra, bir şüpheliyi yanlışlıkla olay dışında tutabilir.



Hataları önlemek için

- İnsan kaynaklı hataları önlemek ve tutarlılığı sağlamak için dikkat edilmesi gereken hususlar:
 - DNA'nın bütünlüğünün korunması
 - Restriksiyon enzimlerle DNA'nın tamamen kesilmesi
 - Hibridizasyonun standartlaştırılması
 - Uygun problemlerin seçimi

Hata kaynakları nelerdir?

- Hataların oluřum nedenleri:
 - Örnek kontaminasyonu
 - DNA'nın yapısal bütünlüğünün bozulması
 - X-ray filmi üzerindeki bantların yorumlanmasındaki zorluklar (fazladan bant oluşumu, bantların kaybolması, bantların kayması)
 - Bir eşleşmenin istatistiksel olarak yanlış yorumlanması

DNA'nın miktar ve kalitesi

- Örneklerdeki DNA'nın tümü aynı kalite ve miktarda değildir.
- DNA miktarı sınırlı olabilir ve DNA kısmen veya tamamen bozulmuş olabilir.
- Bir bireyin DNA örneđi, diđerlerinininki ile, hatta bakteriyal DNA ile, kontamine olabilir.
- DNA sıcak ve nemli koşullarda kolayca degrade olmasına rağmen, bazı ortamlarda binlerce yıl bozulmadan kalabilir.

Eski DNA örnekleri

- Eski DNA örnekleri;
 - Bitki fosilleri
 - Kehribardaki böcek ve bakteriler
 - Mumyalar
 - Kemik fosilleri
 - Donmuş insan ve hayvan dokularından izole edilmiştir.



DNA kesim işlemindeki hataların muhtemel nedenleri

- Restriksiyon enzimleriyle DNA'nın tamamı kesilemediğinde, DNA profillerinde yanlışlık olabilir.
- DNA'nın eksik kesiminin nedenleri:
 - düşük enzim aktivitesi
 - optimal olmayan koşullar
 - kesim solüsyonundaki reaktifler veya
 - dokudaki kontaminantlar

Metilasyon, DNA kesimini etkileyebilir

- Metillenmiş DNA, enzim kesimini etkileyebilir.
- DNA, seçilmiş restriksiyon enzimleri tarafından tanınan bölgelerinden metillenmişse, bu bölgeler enzimlerle kesilemeyebilir.
- DNA parmak izinde kullanılan enzimler metilasyondan etkilenmemelidir.



Ortam koşulları, DNA kesimini etkileyebilir (star aktivite)

- Optimal olmayan koşullarda (örn; tamponun iyonik kuvvetindeki değişimler), enzimler normal tanıma bölgelerinden farklı bir bölgeyi keser.
- Bu da DNA profillerinde hataya neden olur.
- Düşük tuz konsantrasyonlarında, EcoR1 enzimi GAATTC'ye ek olarak AATT dizilerini ve diğer dizileri tanır.
- Bu yanlışlık 'star' aktivite olarak adlandırılır.

Elektroforez, bant profilini etkileyebilir

- DNA profillerinin bant modelini etkileyen faktörler:
 - Jel matriksinin seçimi
 - Agaroz/poliakrilamid konsantrasyonu
 - DNA fragmentlerinin ayrılmasında kullanılan elektrik akımı
 - Tampon seçimi ve konsantrasyonu
 - Jelin kalınlığı
 - Jeldeki DNA'nın pozisyonu
 - DNA örneğinin miktarı
 - Kuyucuklardaki DNA konsantrasyonu

Kullanılan jelin bant profillerine etkisi

- Poliakrilamid, küçük DNA fragmentlerini ayırmada kullanılır.
- STR (mikrosatellit) fragmentlerini ayırmada kullanılan en yaygın polimerdir.
- Agaroz/poliakrilamid konsantrasyonu, DNA fragmentlerinin göçünü etkiler.
- Büyük DNA fragmentlerini ayırtmak için düşük bir konsantrasyon gerekirken, daha küçük fragmentleri ayırmak için daha yüksek jel konsantrasyonu kullanılır.

Elektrik akımı, sıcaklık ve tuz konsantrasyonunun etkisi

- Jelde DNA fragmentlerinin göçü, jele uygulanan voltaj gradiyentinden etkilenir.
- Yüksek voltaj küçük fragmentleri iyi ayrıştırırken, düşük voltaj daha büyük fragmentlerin ayrılmasında tercih edilir.
- Yüksek tuz konsantrasyonu, bantların ayrılmasını azaltır ve sıcaklığı yükseltir.
- Sıcaklık, DNA profillerinin kalitesini etkiler, çünkü sıcaklık artışıyla göç hızı artar.

Jel kalınlığı ve boyamanın etkisi

- Jel kalınlığı göç hızını etkiler.
- İnce jeller çok iyi ayrışma sağlar.
- Etidyum bromit ile boyama DNA fragmentlerinin göçünü oldukça etkiler.
- Örnekleri jele yüklerken, yakın kuyucuklardaki örneklerin karışmamasına dikkat edilmelidir.
- Bu da DNA profillerinin hatalı yorumlanmasına neden olabilir.

Prob seçimi

- VNTR dizileri tam olarak bilindiğinde, genellikle sentetik oligonükleotid probları kullanılır.
- Bu prob, VNTR birimlerinde tüm bilinen dizi varyantlarını içermelidir.

Prob seçimi

- DNA, bakteriyal diziyi belirlemek için bir bakteriyal prob ile hibridize olabilir.
- Genellikle, adli dokular bakterilerle kontamine olmuştur ve VNTR problemlerinin bakteriyal DNA ile hibridize olduğu bilinmektedir.
- Bu da hatalı DNA profillerinin oluşmasına neden olur.

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

- VNTR DNA bölgelerinin PCR ile amplifikasyonu polimorfizmleri belirler.
- PCR kolay uygulanır ve sonuçlar hızlı bir şekilde elde edilir.
- Degrade olmuş DNA çoğaltılabilir, çünkü PCR amplifikasyonunda kullanılan primerler DNA'nın küçük bir fragmentine bağlanabilir (örn; iskelet kalıntıları, posta pulu üzerindeki tükürük vb.).

PCR sonucunda ilgilenilen bantların tespiti (dot blot hibridizasyonu)

- PCR ürünleri membran üzerine tespit edilir ve etiketli problar ile hibridizasyona bırakılır.
- Genetik varyasyonları belirlemede, diziye spesifik problar, allellerin dizi farklılıklarını belirlemek için kullanılır.
- Diziye özgü kısa oligonükleotidler (15-30 baz), dot blot hibridizasyon ile söz konusu lokusun PCR ürünleri ile hibridize olur.

PCR sonucunda ilgilenilen bantların tespiti (dot blot hibridizasyonu)

- X-ray filmine maruz bırakıldıktan veya renk oluşumundan sonra, oluşan spotlar, hibridizasyonun oluştuğu yeri gösterir.
- Bu metodun duyarlılığı, PCR ürünlerinin tek nükleotid farklılığının belirlenmesine izin vermesidir.

PCR'de başarıyı etkileyen diğer faktörler

- PCR'da etkili amplifikasyon için ideal marker alleller 100-500 bp olmalıdır.
- Ayrıca tüm alleller, elektroforez ve hibridizasyon ile ayrışabilmelidir.
- Örnek toplama metotlarının yanı sıra, PCR testlerinin kontrolleri ve standartlara uygunluğu güvenilirliği arttırır.

Dijital DNA tiplendirmesi

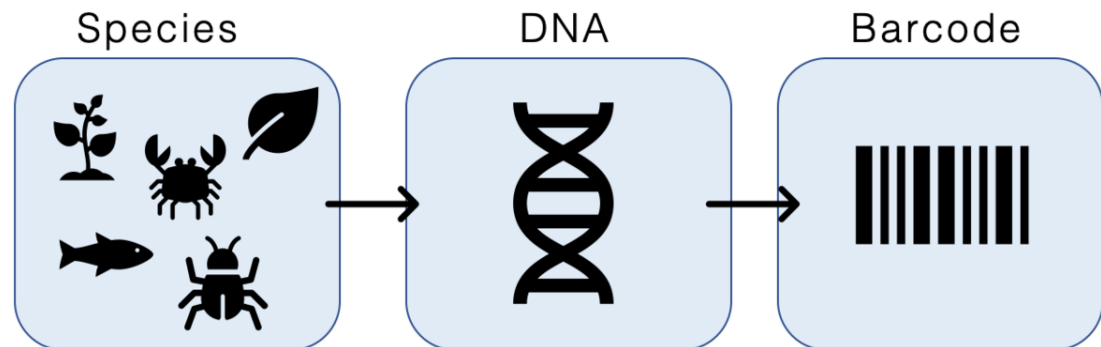
- Dijital tiplendirme, minisatellitler için, 1991'de Jeffreys tarafından geliştirilmiştir.
- Dijital tiplendirme metodunda temel olarak PCR kullanılır.
- Lokusun PCR amplifikasyonundan sonra, DNA HaeIII restriksiyon enzimi ile muamele edilir.
- Biri HaeIII enzimi (5'GGCC3') ile kesilen, diğeri HaeIII tanıma bölgesi mevcut olmadığı için kesilemeyen iki tekrar sınıfı elde edilir.

Dijital DNA tiplendirmesi

- Her bir tekrar için numaralar belirlenir:
 - amplifiye edilmiş PCR fragmentleri HaeIII tarafından kesilirse '1' olarak,
 - kesilmemiş fragment '2' olarak adlandırılır.
- Bir lokusta bir allel, HaeIII tarafından kesilir ve diğer allel kesilmezse '3' olarak adlandırılır (1 ve 2'nin ikisinin de mevcut olduğu anlamına gelir).
- Örnek olarak; 7 lokus kullanılmış ise barkod numarası 7 sayıdan oluşur (örneğin; 2-1-3-3-2-1-2).

Örnekleri barkodlamanın avantajları

- Bir birey veya bir örnek için (kan veya doku) oluşturulan barkod, diğerleriyle kolaylıkla karşılaştırılabilir.
- Bu yöntemin başlıca avantajları,
 - DNA bantlarının boyutlandırılmasındaki ihtiyacı karşılaması ve
 - bant kayması, bantların ortak göçü nedeniyle oluşan belirsizliği ortadan kaldırmasıdır.



Adli davalarda bilimsel kanıtların kabul edilebilirliği

- Tüm mahkemeler, kanıtların kabul edilebilirliğini belirlemek için bir ön duruşma yapar.
- Ön duruşmalar bilimsel kanıtların uygunluğu, doğruluğu ve kabul edilebilirliğini belirlemek için yapılır.
- Bu duruşmalarda hakim, jüriye sunulmadan önce davadaki gerçeklere uygun kanıtlar olup olmadığını belirlemek için tüm kanıtları değerlendirir.
- Savunma ve iddia makamının her ikisi de bilirkişi, kanıtları değerlendirir.

DNA ve DNA profillemeye dayalı duruşma standartları

- DNA ve DNA profillemeye dayalı kanıt adliyede ilk kullanıldığında, bu kanıtlara izin verilmeden önce belli standartların oluşturulması gerekmiştir.
- Bu standartlar şunlardır:
 - Daubert standardı: Connecticut, Hindistan, Kentucky, Yeni Mexico, ve Teksas
 - Frye standardı: Alaska, Arizona, Colorado, Kansas ve Pennsylvania

DNA ve DNA profillemeye dayalı duruşma standartları

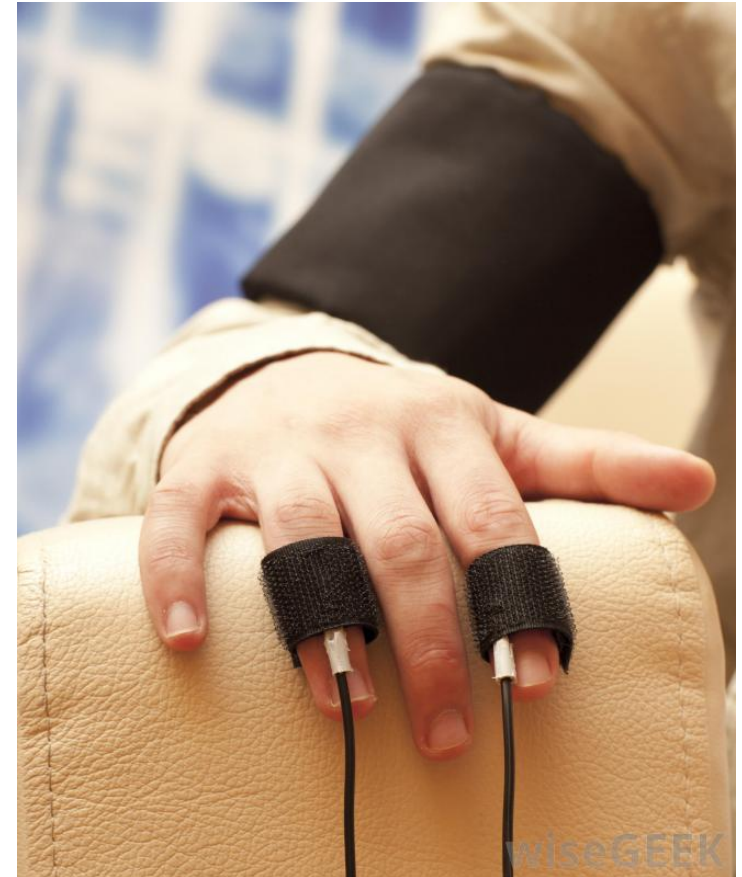
- Standardın ya da testin çeşidi ülkeye bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.
- Diğer ülke ya da eyaletler, kabul edilebilirlik için kendi testlerini kullanabilirler (örn; Montana, Utah, Arkansas veya Georgia).

DNA ve DNA profillemeye dayalı duruşma standartları

- Mahkemelerde geniş çapta kabul gören DNA profillerine rağmen, bir davadaki taraflar, alanında çok iyi kurgulanmış bir bilimsel prensibin olduğunu kanıtlamak için, Frye ya da Daubert duruşmasından birini sunmak zorunda kalabilir.
- Her ne kadar kişilerin tanıklığı ikna edici bilgiler içerse de, DNA kanıtı Frye veya Daubert'ten biri altında kabul edilebilir.
- DNA kanıtının reddi, örneklerin olası kontaminasyonu ve DNA toplamak için kullanılan yöntemler gibi faktörlere bağlıdır.

Frye standardı

- Bu standarda göre,
 - delil oluşturmak için kullanılan metot veya teknikler güvenilir olmalıdır,
 - bilimsel çevreler tarafından kabul edilmelidir ve
 - bilimsel ilkeler ile desteklenmelidir.



Frye standardı

- Güvenilir olmayan bilimsel prosedürler ya da kanıtlara dayalı geçersiz görüşlerin jüriye sunulmasını önlemek için tasarlanmış bir standarttır.
- Davada, DNA profillemeye ile oluşturulmuş kanıtların güvenilir olduğunu savunur.

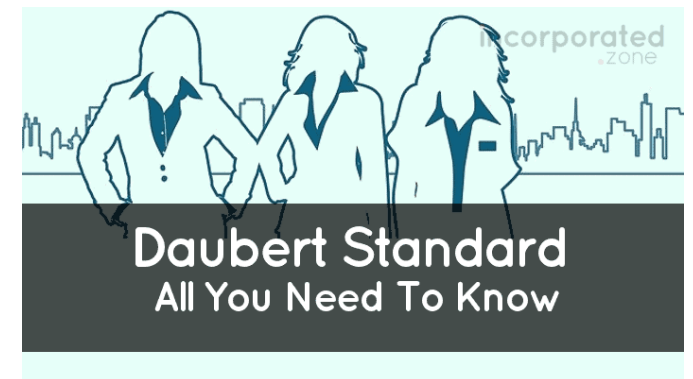


Frye standardı

- Bilirkişi, metodun güvenilirliğini içeren herhangi bir tartışmayı ve kapsadığı bilimsel prensipleri anlamak için, onlara izin veren akademik ve profesyonel kimliklere sahip olmalı ve alanında uzman olmalıdır.
- Bir yöntemin genel kabul görmesi, onun güvenilir olduğunu kanıtlamaz.
- Güvenilirliğin ispatlanmış olması gerekmektedir.
- Örnek toplama, profillemeye metotları ve istatistiksel yorumlama standartlaştırılmalıdır ve metotlar titizlikle uygulanmalıdır.

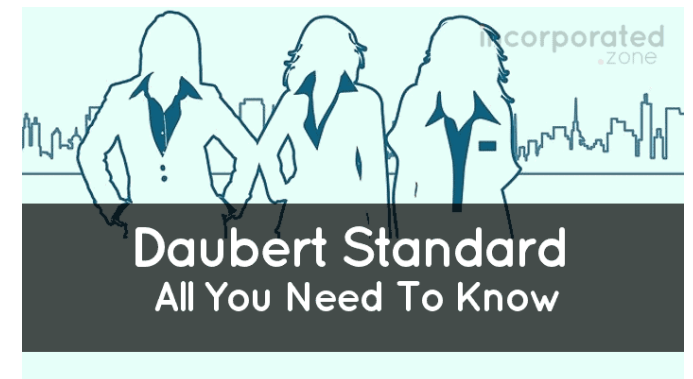
Daubert standardı

- Daubert standardı, bir bulantı ilacının kusurlu doğuma neden olduğu iddiasını içeren bir davada, Birleşik Devletler Yüksek Mahkemesinden alınan bir karardan doğmuştur.
- Davacı Daubert, kusurlu doğumun Benedict adlı ilacın kullanımına bağlı geliştiğini iddia etmiştir.



Daubert standardı

- Yerel mahkeme, Daubert tarafından sunulan bilimsel kanıtı reddetmiştir.
- Ancak Yüksek Mahkeme, Frye standartlarının yetersiz olduğu kanısına vararak yeni standartların geliştirilmesine hükmetmiştir.



Yüksek Mahkemenin dikkate aldığı noktalar

- Bilimsel uzman tarafından sunulan hipotez sınanabilir mi?
- Teori veya metot, eleştiriye açılmış ya da yayınlarında incelenmiş midir?
- Metodun bilinen veya potansiyel hata oranı nedir?
- Uzmanın, bilimsel çevrelerdeki niteliği, kişiliği ve yeri nedir?
- Metot bir uzmanın donanımı ve özel becerilerine dayanır mı?
- Metot ve sonuçlar, mahkeme ve jürinin kanıtları anlayabileceği ve değerlendirebileceği şekilde açıklanmış mıdır?

Daubert standardı

- Daubert davası, Daubert standartlarının ortaya çıkmasını sağlamıştır.
- Burada standartlar, bilimsel metotlar kullanılarak üretilmiş olmalıdır ve bilimsel çevrelerce yapılan eleştiriler ile desteklenmelidir.
- Uzmanın tanıklığı, iddia ve savunma makamında, sözde 'uzmanların çatışmasını', hafifletmeye yardımcı olabilir.

Veri tabanları

- Bireyler hakkındaki bilgiler (DNA veya kimlik) gelecekte kullanmak için veritabanlarında depolanabilir.
- Populasyonlar hakkındaki genetik bilgi, DNA veri tabanları veya veri bankalarında toplanabilir.
- Veri tabanları, tıbbi kayıtlarda, sigorta ve finansal raporlarda bireyler hakkındaki detaylı kişisel bilgileri depolar.

Veri tabanları

- Veri tabanları, doku uyumsuzluk antijenleri ve kan grupları gibi genetik özellikler ve diş kayıtları, parmak izleri, fiziksel özellikler (göz rengi, boy ve kilo) gibi bir kişi hakkında tanımlayıcı bilgileri içerir.
- Hükümet, kayıp bireylerin kimliğinin belirlenmesinde ve cinayetlerin aydınlatılmasında bu bilgileri kullanır.

Veri tabanları

- Veri tabanları;
 - ameliyat ve biyopsi sırasında alınan doku örnekleri,
 - kan örnekleri,
 - neonatal taramalar,
 - silahlı kuvvetlerin üyelerinden alınan örnekler ve
 - adli koleksiyonlardan gelen verileri içerir.

Veri tabanları

- ▣ Veri tabanları ayrıca, farklı etnik gruplarda DNA profil eşleşmelerinin istatistiksel olasılıklarını hesaplamak için çok değerli bilgiler sağlar.

DNA profillemeye metotları şu alanlarda kullanılır

- Hastalıkla ilişkili genlerin haritalanması
- Hastalıkların tanısı
- Vahşi hayvan ve kuşların ilişkilerinin belirlenmesi
- Hayvan popülasyonlarının genetik olarak karakterize edilmesi,
- Bitki türlerinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi

RAPD

(Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)

- Çeşitliliği belirlemek için kullanılan bir yöntemdir.
- PCR ile rastgele DNA dizilerinin amplifiye edilmesi ve jel elektroforezi kullanılarak rastgele amplifiye edilmiş bu polimorfik DNA dizilerinin varlığının veya yokluğunun belirlenmesine dayanır.
- RAPD dizileri, PCR ile amplifiye edilen bölgedeki polimorfizmleri veya çeşitliliği belirlemek için kullanılır.

RAPD

(Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)

- Genellikle 8-10 nükleotid içeren primerler kullanılır.
- Bu primerler, rastgele seçilirler.
- Populasyondaki bireylerin çeşitli büyüklükteki DNA dizileri uygun primerler ile çoğaltılır.
- Bir populasyondaki her birey için jeldeki bant profili aynı değildir.

AFLP

(Çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi)

- AFLP, DNA profillemeye oldukça hassas bir yöntem olarak bilinir.
- Bir çok alanda (tıbbi tanı, bitki ve hayvan yetiştiriciliği, adli analizler, bakteriyal tiplendirme) kullanılır.
- AFLP, RAPD analizlerinin geliştirilmiş bir çeşididir.
- AFLP genellikle RAPD metoduna göre, reaksiyon başına daha çok polimorfizmi belirler.
- Restriksiyon enzimleriyle kesilmiş genomik DNA'nın PCR amplifikasyonuna dayalıdır.

AFLP (Çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi)

- Bu metot, hedeflenen spesifik lokustan ziyade tüm genomdaki polimorfizmleri belirler.
- Tekrar edilebilirliği oldukça yüksek bir analiz yöntemidir (>%99).
- Bu durum, AFLP'yi, populasyon genetiği çalışmaları için kusursuz bir marker yapar.

AFLP (Çoğaltılmış fragment uzunluk polimorfizmi)

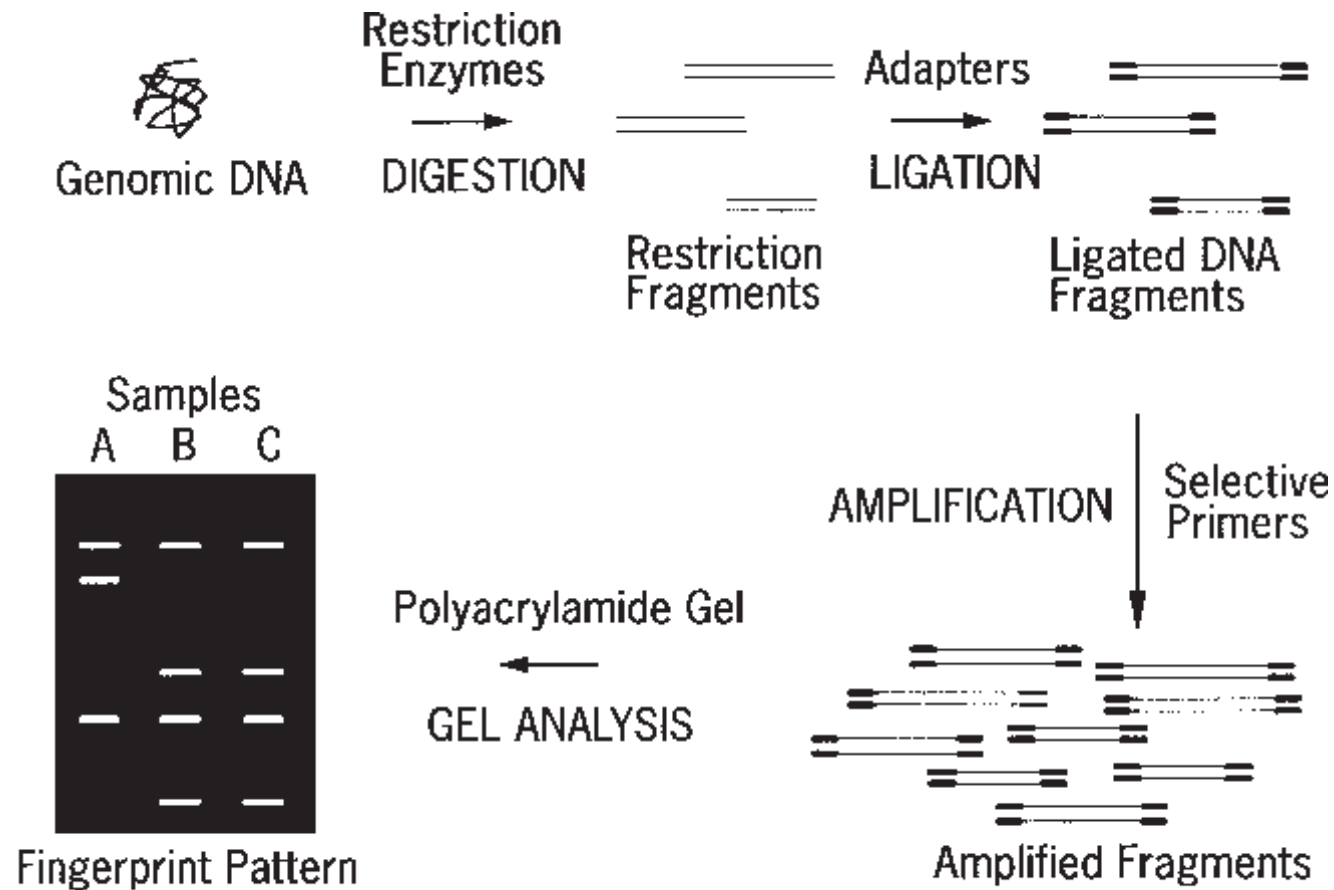


Figure 1 A schematic displaying the four basic steps of AFLP: digest

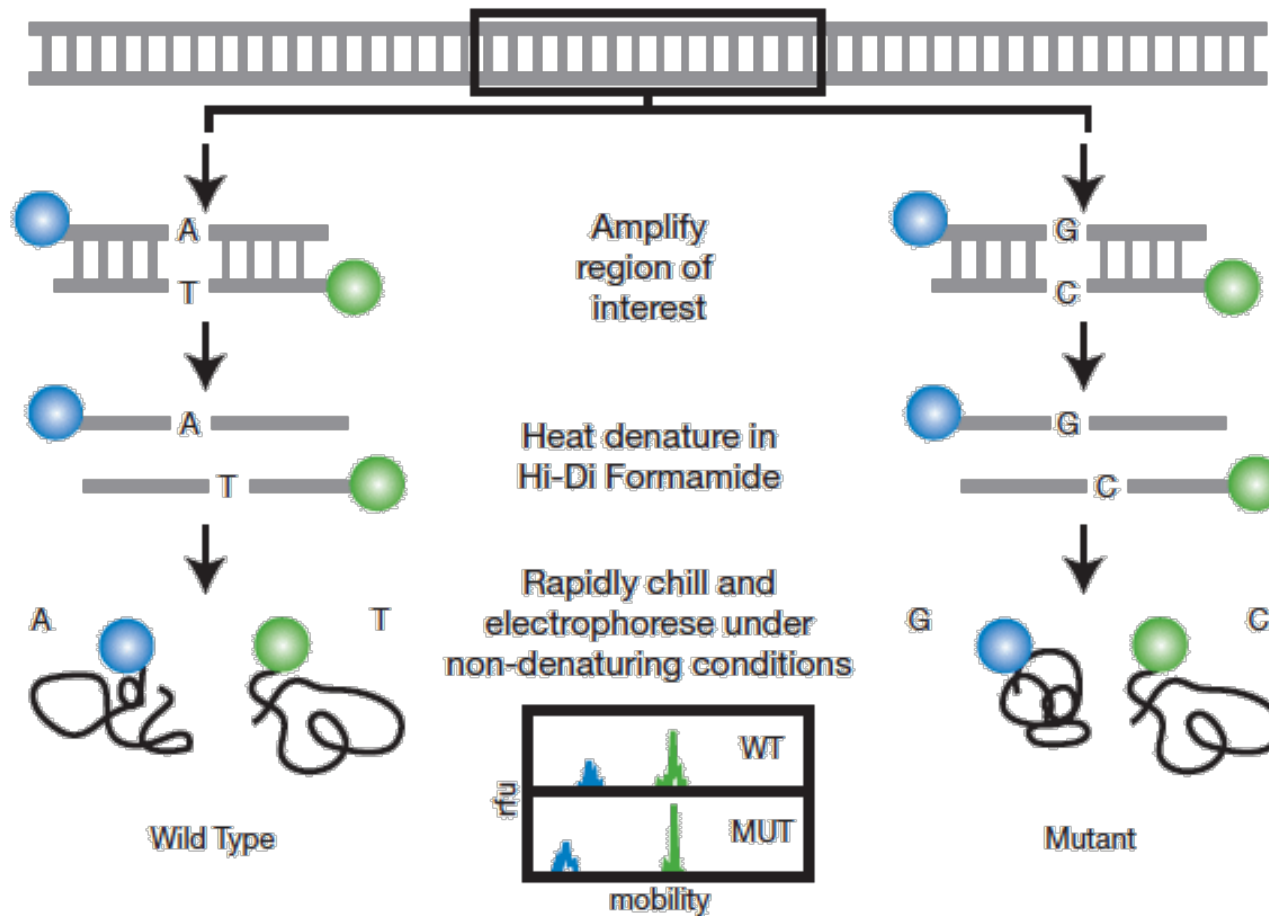
AFLP nerelerde kullanılır?

- Doğal bitki ve hayvan populasyonlarının genetik çeşitliliğini belirlemek
- Yetiştirme programları için yakalanan hayvanların genotipini belirlemek
- Bitki türlerinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek

SSCP (Tek iplik konformasyon polimorfizmi)

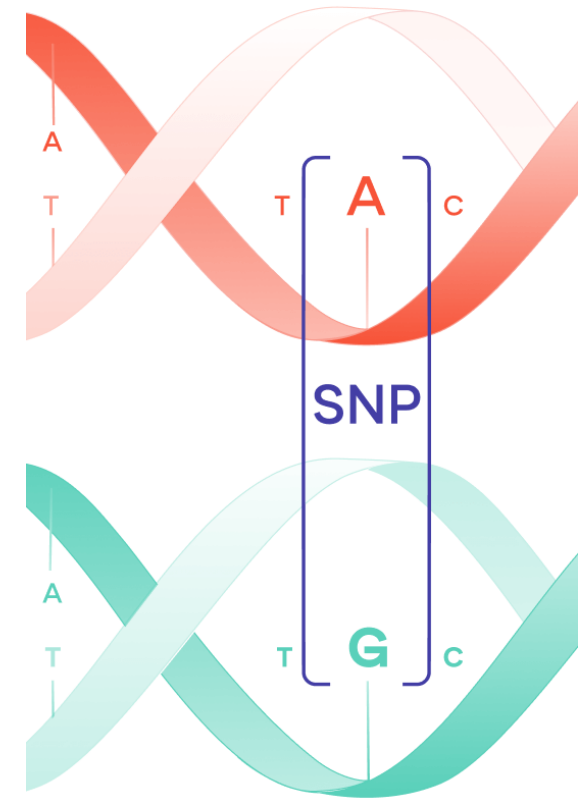
- DNA dizilerindeki modifikasyonlar, DNA konformasyonunu ya da stabilitesini değiştirebilir.
- Bu, jel elektroforezi sırasında hareketteki değişimler yoluyla belirlenebilir.
- Bu değişimler çift iplikli DNA dizisinden genellikle bağımsızdır.
- Bu yüzden tek iplikli DNA kullanılır.
- Bu durum, tek iplik konformasyon polimorfizminin temelidir.

SSCP (Tek iplik konformasyon polimorfizmi)



SNP (Tek nükleotid poliforfizmi)

- Populasyondaki bireylerin genomunun çeşitli bölgelerinde tek nükleotidlik değişimlerin meydana gelmesine bağlı polimorfizm durumudur.
- SNP'ler, kromozomlardaki hastalıkla ilişkili genlerin haritalanmasında ve genlerdeki mutasyonların belirlenmesinde önemlidir.

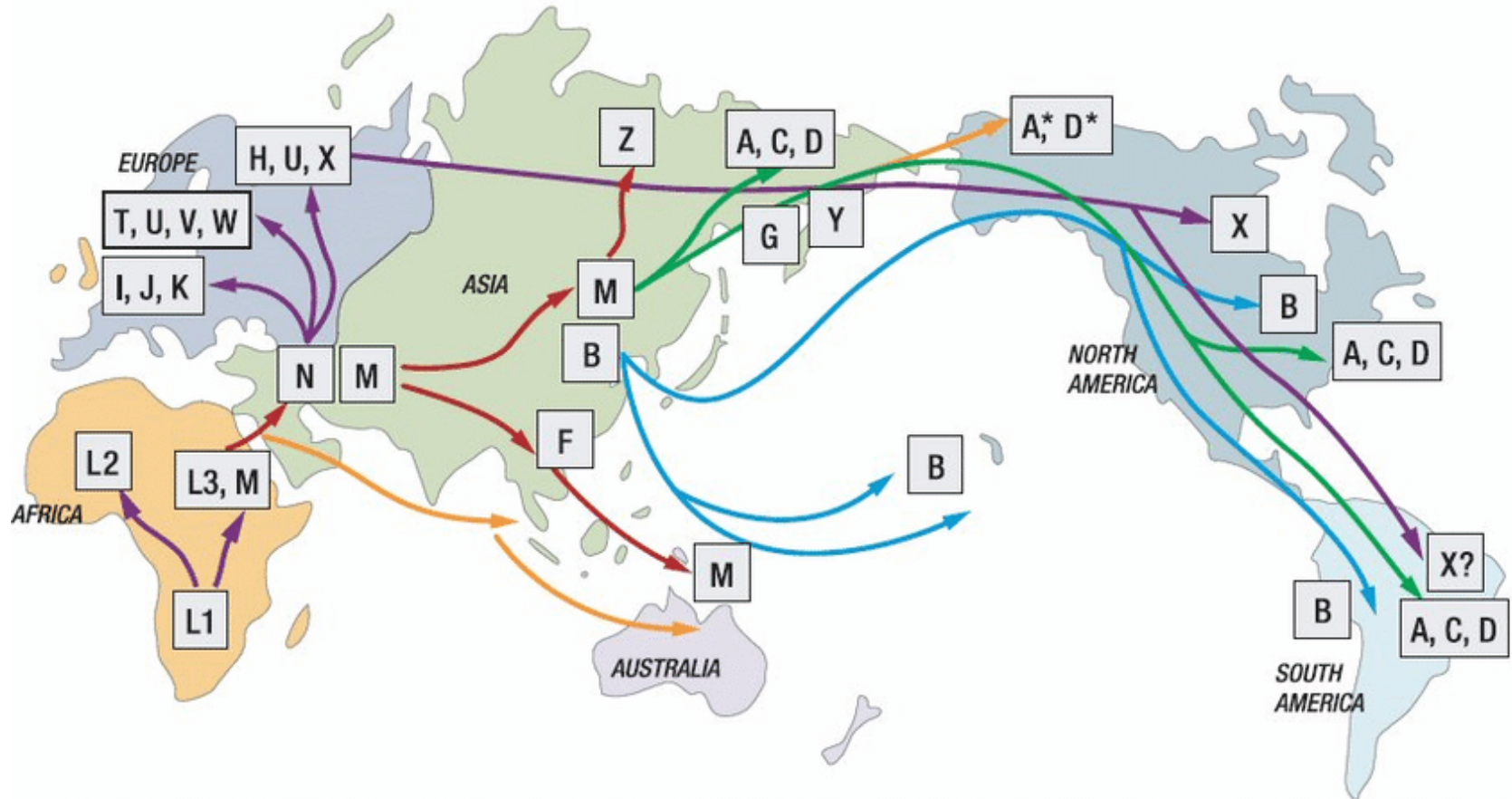


Mitokondriyal DNA dizi çalışmaları

- Çeşitli insan populasyonlarında mitokondriyal DNA çalışmaları sonucunda aşağıdaki bulgulara ulaşılmıştır:
 - Modern insanların ataları Afrika'dan köken almıştır.
 - Modern insanlar, kurucu bir populasyondan meydana gelmiştir.
 - En yakın atalarımız yaklaşık 171.500 yıl önce evrimleşmiştir.
 - Anatomik olarak modern insanlar, diğer hominid'lerin yerini almak için dünyanın diğer bölgelerine göç etmişlerdir.

(Hominid: Bipedal olarak da bilinir. Dik duran primatlardır ve erken akrabaları ve nesli tükenmiş atasal formları içerir.)

Mitokondriyal DNA dizi çalışmaları



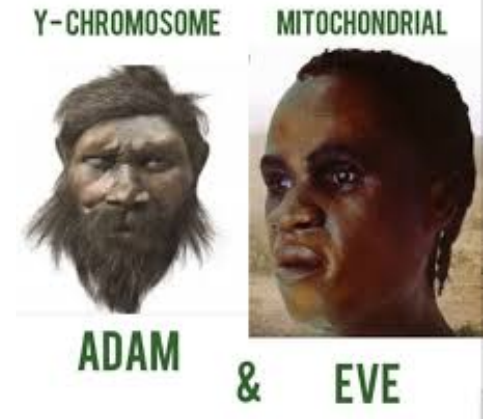
'Mitokondriyal Eve'

- Mitokondriyal DNA dizilerini çalan bir çok bilim insanı, tüm modern insanların yaklaşık 171.500 yıl önce bir kadından ortaya çıktığına inanır.
- Bu kadın 'Mitokondriyal Eve' olarak adlandırılır.



'Mitokondriyal Eve'

- Mitokondri, insanda yaklaşık 16.500 bp uzunluğundadır ve kendi genomuna sahiptir.
- Bu genom, 13 adet protein kodlayan gen, 22 tRNA ve 2 rRNA geni içerir.



Neden mitokondriyal genom?

- İnsan ve hayvanların evrimsel tarihini araştırmada kullanılan mitokondriyal DNA'nın birkaç avantajı vardır:
 - Mitokondriyal DNA, nükleer DNA'dan daha yüksek bir hızda mutasyon geçirir.
 - Mitokondriyal DNA maternal kalıtılır.
 - Mitokondriyal DNA rekombinasyon geçirmez.

Y kromozomu üzerindeki çalışmalar

- Y kromozomu yakın zamanda dizilenmiştir.
- Adli arkeoloji ve insan evrimi çalışmalarında kullanılmak için yeni fırsatlar sunar.
- Y kromozomu babadan erkek çocuğa (paternal) kalıtılır.
- Oluşan küçük polimorfizmler, insanların evrimsel tarihini belirlemek için kullanılır.
- Y kromozomu, profillemeye için marker bölgeler içerir.

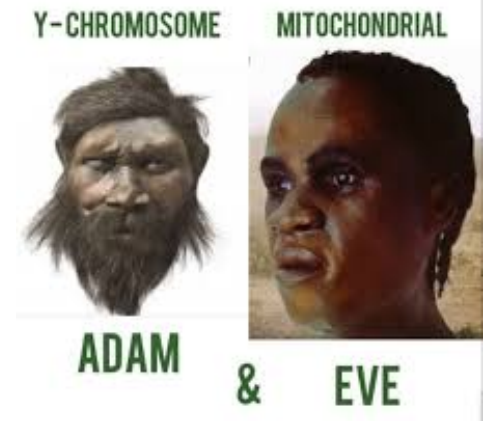
'Y kromozomal adam'

- X kromozomu, mayoz ve gamet oluşumu esnasında DNA değişimi geçirir.
- Y kromozomu ise sadece kromozomun uç bölgelerinde DNA değişimi geçirir.
- Y kromozomunun, ortak bir erkekten (Y kromozomal Adam) köken aldığı düşünülmektedir.



'Y kromozomal adam'

- DNA analizlerinden elde edilen bilgiler, tüm erkeklerin 'Y kromozomal Adam'ın soyundan geldiğini ve
- Y kromozomal Adam'ın, 35.000-90.000 yıl önce yaşayan tek bir erkek ata olduğunu gösterir.



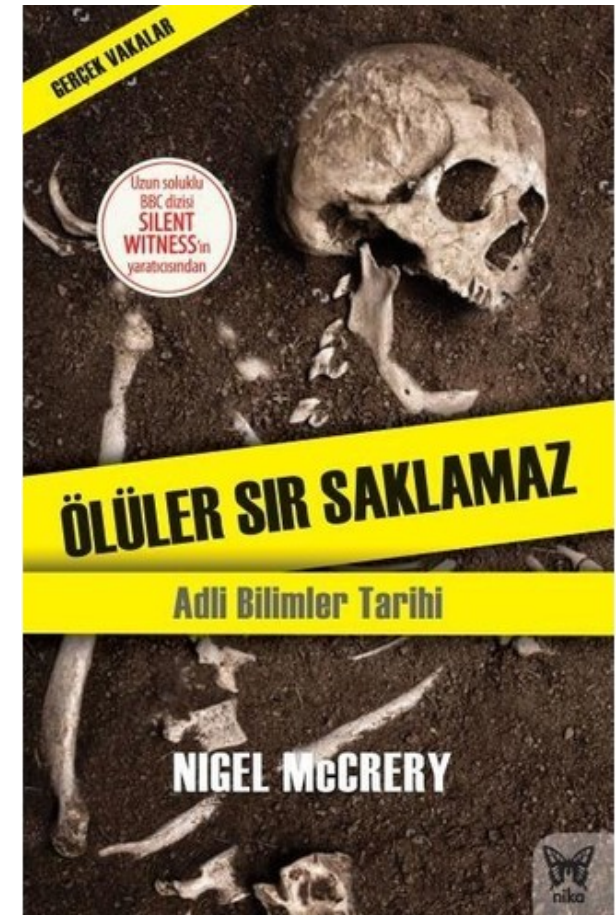
'Y kromozomal adam'

- Bugün Afrika'da yaşayan insanların DNA'sına göre, Y kromozomal Adam ve mitokondriyal Eve'nin Afrika'da yaşadığına inanılmaktadır.
- Dolayısıyla, mitokondriyal DNA sonuçlarına benzer şekilde, Y kromozomu da Afrika'dan köken almıştır ve Afrika'dan çıkış teorisini destekler.



Adli arkeoloji

- Adli arkeoloji, arkeolojik keşifler hakkında çıkarımlar ve incelemeler yapmak için adli bilimlerin kullanılmasıdır.
- Ayrıca arkeolojik metotlar, suçları araştırmak için kullanılır.
- Antik kalıntılar için DNA profillemeye yöntemlerinin geliştirilmesi, arkeoloji alanında çok yararlı olmuştur.



DNA bilgilerinin arkeolojide kullanımı

- Bireylerin kimliklendirilmesi
- İnsan ve hayvan evrimi çalışmaları (örn; tüylü mamutlar ile filler arasındaki akrabalığın araştırılmasında)
- İnsan ve hayvanların (soyu tükenmiş gruplar da dahil) göç yollarının izlenmesi
- Dünya çapındaki farklı etnik grupların akrabalık ilişkilerinin ve kökenlerinin izlenmesi
- Antik kalıntıların aile ilişkilerinin belirlenmesi

Spesifik araştırma örnekleri

- Mısır'daki arkeologlar, ölü firavunlar ile diğer bilinen insan kalıntılarındaki ilişkilerin nasıl olduğunu belirlemek için DNA'ları karşılaştırmışlardır.



Spesifik araştırma örnekleri

- Yakın atalarımızın kim olduğunun belirlenmesinin yanı sıra, insanların nerede ve nasıl evrimleştiğini belirlemek için Afrika ve diğer bölgelerdeki eski insan DNA'ları çalışılmıştır.



Spesifik araştırma rnekleri

- Kuzey Amerika'daki grupların gücü DNA kullanılarak çalışılmıştır.

