

15 STR Lokusu ile Babalığı Dışlanamayan Dede Olgusu

Unexcluded Paternity Case of Grandfather Using 15 STR Loci

Ramazan EMRE,^a
Kemal Murat CANTÜRK,^a
Bünyamin BAŞPINAR,^a
Muhammed DOĞAN,^b
Kubilay KINOĞLU^a

^aAdli Tıp Kurumu Başkanlığı,
İstanbul

^bAdli Tıp Kurumu

^cTrabzon Grup Başkanlığı,
Trabzon

Geliş Tarihi/Received: 05.03.2015

Kabul Tarihi/Accepted: 01.06.2015

Yazışma Adresi/Correspondence:

Ramazan EMRE

Adli Tıp Kurumu Başkanlığı,

İstanbul,

TÜRKİYE/TURKEY

dremreramazan@yahoo.com

ÖZET Hem ESSplex hem de IDplex STR (Short Tandem Repeat) kitlerini kullanarak bir çocuk için babalığı sorulan baba ve oğula nesep tayini yapıldı. Anne, iki baba adayı ve erkek çocuğun kan örneği çalışıldı. On beş STR lokusu içeren ESSplex kit ile iki baba adayının da babalığı dışlanamaz iken, IDplex kit ile baba olan şahsın babalığı iki STR lokusunda (*D13S317-TPOX*) reddedildi. Toplam 20 lokusun yer aldığı her iki STR kitinin analizi sonucunda oğul baba adayının babalık indeksi 20.438.967.205,199 olarak hesaplandı ve %99,99999999 olasılıkla çocukla arasında uyumlu alel kalıtımı saptandı. Annenin analizi yapılmadığı zaman dedenin 20 STR lokusu çalışılmasına rağmen babalığı dışlanmadı. Babalık indeksi ise 5.723.409,271 ve %99,9999 olasılıkla çocuğun babası olabileceği hesaplandı. İddia edilen ebeveyn adaylarının birbirine çok yakın akraba olduğu durumlarda, nesep testlerinde yanlış kabul vermemek için anne, baba ve çocuğun DNA profilleri birlikte değerlendirilmeli ve birden fazla STR kiti ile çalışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Babalık; adli genetik

ABSTRACT In our paternity case, two alleged fathers who are father and the son were analyzed with using ESSplex and also IDplex STR (Short Tandem Repeat) kits. Analysis performed on blood examples from mother, two alleged fathers (father and son) and boy. Analysis performed with ESSplex kit based on 15 STR loci; however, no exclusions could be achieved. Then IDplex kit analysis was performed and the paternity of father was rejected only on 2 STR loci (*D13S317-TPOX*). According to results of analysis with both STR kits, sons paternity index was calculated as 20.438.967.205,199 and the probability of exclusion is calculated as 99,99999999% of compatible allele inheritance between the child was detected. While no tests were performed on mother, the analysis of 20 STR loci; however, no exclusions could be achieved. So paternity index was calculated as 5.723.409,271 the probability of exclusion is calculated as 99,9999%. To avoid false acceptance in paternity cases, where individuals are close relatives to each other, it may be necessary to evaluate mother, father and son's DNA profile and more than one STR kits must be used.

Key Words: Paternity; forensic genetics

Türkiye Klinikleri J Foren Med 2015;12(2):47-50

Nesep tayininde STR analizi uzun bir süredir kullanılmakta ve bu analizi yapan birçok firmaya ait onlarca ticari kit piyasada bulunmaktadır.^{1,2} Bu kitler adli genetik laboratuvarlarında rutin olarak kullanılmaktadır. Ancak, genelde 15 civarındaki lokus çoğaltıldığı için bazı vakaların çözülmesinde yetersiz kalabilmektedir.³ STR kitlerinin yetersiz kaldığı durumlar üç gruba ayrılabilir:

doi: 10.5336/forensic.2015-44819

Copyright © 2015 by Türkiye Klinikleri

1. STR lokuslarında mayoz esnasında mutasyon olması: Bu durum nesep tayininde ebeveyn ile çocuk arasında genetik olarak bir uyumsuzluk olarak görülmekte ve analizlerin değerlendirilmesinde sorun yaratabilmektedir.⁴

2. Ebeveynlerden sadece biri üzerinden değerlendirme yapıldığı eksik vakalar: Bu durumlarda çalışılan 15 STR bölgesinde bazen baba adayını veya anne adayını dışlamak için yeterli veri sağlayamamakta ve yanlış annelik veya yanlış babalık verilmesine neden olabilmektedir.⁵

3. Baba/anne adayının birden fazla olduğu ve bu şahısların birbirleriyle yakın akraba olduğu durumlar: Bu vakalarda iki şahıs arasındaki ortak alel paylaşımı toplumdaki herhangi iki kişiye göre daha fazla olduğu için çalışılan 15 STR bölgesi vakanın sonuçlandırılmamasına ya da yanlış sonuçlandırılmasına neden olabilmektedir.⁶

Söz konusu üç durumda da yaşanan sıkıntıları aşmak için ek analizler çalışılmalı, yani çalışılan STR bölge sayısı artırılmalıdır. Çalışılan STR bölge sayısının artırılması ayırım gücünü de artıracaktır.^{3,7} Çalışılacak olan ek kitler otozomal STR bölgelerini içeren kitler olabileceği gibi, gonozomal STR bölgelerini içeren kitler de olabilir.^{4,8} Bu vakada ise baba oğul olan iki baba adayı ile birlikte anne ve çocuk mevcuttur. 15 STR bölgesi içeren tek bir kit (ESSplex) ile analiz yapıldığında, her iki baba adayının da -annenin varlığında bile- çocuk için babalıkları reddedilemez iken, ancak ek bir kit ve farklı beş STR bölgesinin de (IDplex) çalışılmasıyla iki baba adayından biri olan dede dışlanabilmiştir.

OLGU SUNUMU

Mahkeme kararı ile babalık tayini istenen, baba oğul olan iki baba adayından, anneden ve erkek çocuktan alınan kan örnekleri Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesinde çalışıldı.

Şahısların önce ESSplex kit (Tablo 1) ile STR analizi yapılmış olup, iki baba adayının da dışlanamaması üzerine bu sefer beş farklı STR bölgesi içeren IDplex kit (Tablo 2) ile STR analizi yapıldı. Örneklerin DNA izolasyonu, kolon filtrasyon tekniğini kullanan biorobot üniversal otomatik DNA izolasyon robotu (Qiagen) kullanılarak yapıldı.

TABLO 1: Baba adayları, anne ve çocuğun ESSplex STR profilleri.

	Baba 1	Baba 2	Anne	Çocuk
AM	XY	XY	XX	XY
THO1	7-7	6-7	7-7	7-7
D3S1358	15-17	16-17	15-17	17-17
vWA	15-16	15-17	16-16	15-16
D21S11	29-30	30-32,2	29-31,2	30-31,2
D16S539	11-13	11-13	9-13	9-11
D8S1179	13-13	13-13	13-16	13-16
D2S441	10-14	10-14	11,3-11,3	11,3-14
D12S391	17-19	19-19	18-19	19-19
D10S1248	14-15	14-15	14-14	14-14
D22S1045	11-11	11-11	16-16	11-16
FGA	22-26	24-26	23-24	24-26
D19S433	14-16	14-16	14-14	14-14
D2S1338	17-20	17-17	16-16	16-17
D18S51	15-15	15-15	13-15	13-15
D1S1656	13-15	13-15	11-11	11-15

TABLO 2: Baba adayları, anne ve çocuğun IDplex STR profilleri.

	Baba 1	Baba 2	Anne	Çocuk
AM	XY	XY	XX	XY
THO1	7-7	6-7	7-7	7-7
D3S1358	15-17	16-17	15-17	17-17
vWA	15-16	15-17	16-16	15-16
D21S11	29-30	30-32,2	29-31,2	30-31,2
TPOX	8-9	9-11	9-9	9-11
D7S820	9-10	9-12	11-11	9-11
D19S433	14-16	14-16	14-14	14-14
D5S818	11-11	11-11	10-11	10-11
D2S1338	17-20	17-17	16-16	16-17
D16S539	11-13	11-13	9-13	9-11
CSF1PO	12-13	11-13	11-11	11-13
D13S317	8-11	11-12	8-11	8-12
FGA	22-26	24-26	23-24	24-26
D18S51	15-15	15-15	13-15	13-15
D8S1179	13-13	13-13	13-16	13-16

Örneklere ait DNA miktar tayini insan DNA'sına spesifik Quantifiler Duo PCR Reaksiyon kiti kullanılarak 7500 Real Time PCR cihazı (Applied Biosystems) ile yapıldı. Miktar tayini yapılan örnekler hem ESSplex STR (Qiagen) kiti hem de IDplex (Applied Biosystems) kiti kullanılarak amp-

lifiye edildi. Ardından ABI 3130 genetic analyser (Applied Biosystems) kullanılarak analizi ve GeneMapper v3.5 programı kullanılarak veri analizi yapıldı.

TARTIŞMA

ESSplex kit ile yapılan analiz sonuçlarına göre 15 STR bölgesinde, annenin de varlığında iki baba adayının da çocuk için biyolojik babalığı reddedilememektedir (Tablo 1). Sadece ESSplex kiti ile yapılan çalışma vakayı çözüme noktasında yetersiz kalınca, ek çalışma olarak örneklerin IDplex kiti ile analizi de yapıldı. Tablo 2'de de bu analiz sonuçları görülmektedir. IDplex kiti analizine göre 1 no'lu baba adayının *TPOX* ve *D13S317* bölgeleri itibarıyla çocuk için biyolojik babalığının reddedildiği görülmektedir. 2 no'lu baba adayının ise 20 STR bölgesinde de çocuk ile uyumlu alel kalıtımı saptandı. Bu bölgeler itibarıyla babalık indeksi 20.438.967.205,199 ve baba olma ihtimali %99,99999999 olarak hesaplandı. Şayet vakada anne çalışmaya dâhil edilemeseydi; her iki kit çalışması ile de iki baba adayının da çocuk için babalığı reddedilemeyecekti. Annenin olmadığı durumu göz önüne aldığımızda, 1 no'lu baba adayının babalık indeksi 5.723.409,271, baba olma ihtimali %99,9999 olarak hesaplanacaktı. Yani, biyolojik babayı belirlemek için iki farklı STR kitinin yanında üçüncü, hatta belki dördüncü bir STR kitine ihtiyaç duyulacaktı.

Gonzalez-Andrade ve ark., 2009 yılında bildirdikleri iki baba adayını ile çocuğun bulunduğu, annenin bulunmadığı bir vakada toplam 19 otozomal STR lokusu analiz edilmiş olmasına rağmen her iki baba adayını da reddedilememiş ve vakanın çözüme kavuşması için gonozomal Y-STR analizine ihtiyaç duyulmuştur.³ Yine Borsting ve ark., 2011 yılında yaptıkları çalışmada, sadece baba ve çocuğun olduğu bir vakada 15 STR lokusu analizi neticesinde baba adayının babalığı kabul edilirken, aynı şahıslara SNP analizi de yapılmış ve ilk durumda babalığı kabul edilen baba adayının aslında biyolojik baba olmadığı ortaya çıkmıştır.⁴ Poetsch ve ark.nın 2005 yılında yaptıkları çalışmada ise 336 çocuk ve bu çocuklarla akrabalık ilişkisi bulunma-

yan 348 kişi bir bilgisayar programı yardımıyla tek tek çaprazlanmış ve aralarındaki olası baba-çocuk ilişkisi 13-15 STR lokusuna bakılarak araştırılmıştır. Toplamda yapılan 116,004 çaprazlamanın 26 tanesinde herhangi bir alel aktarım uyumsuzluğuna rastlanmamış ve anne olmadan yapılan babalık testlerindeki risk ve tehlikelere dikkat çekilmiştir.⁵ Doğan ve ark., 2014 yılında yaptıkları çalışmada, kardeş iki baba adayını, anne ve çocuğun Identifiler kit ile yapılan çalışmasında iki baba adayının babalığı dışlanamayınca, ek olarak ESSplex kit ile yapılan analiz sonucunda *D12S391* ve *DIS1656* lokuslarında amcağı reddedebilmişlerdir. Bu vakada ise ESSplex kit ile dışlanamaz iken, ancak IDplex kit ile dedenin babalığı reddedilebildi.⁹ Gerek Poetsch ve ark.nın gerekse Gonzalez-Andrade ve ark.nın yaptığı çalışmalarda, 15 STR bölgesinde babalığı reddedilemeyen ve gerçekte baba olmadığı bilinen şahıslarla yine aynı davadaki çocuklar arasında herhangi bir akrabalık bağının bulunmadığı bildirilmiştir.^{3,5} Aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan baba/çocuk çiftlerinin çaprazlamalarında bile bu gibi sonuçlar elde edilebiliyorken; birbirleriyle akraba olan baba/çocuk çiftlerinin çaprazlamalarında benzer sonuçların elde edilmesi daha olasıdır. Şayet nesep tayini analizine konu olan kişiler akraba ise; akraba olan iki şahıs arasındaki ortak alel paylaşımı toplumdaki herhangi iki kişiye göre daha fazla olduğu için bu tip vakaları değerlendirirken daha dikkatli olunmalı ve üçlü çalışma ve analiz edilen bölge sayısının artırılması gibi önlemler alınmalıdır.

Anne, baba ve çocuk üçlüsünün birlikte değerlendirildiği nesep testlerinin ayırım gücü daha yüksek olmakla birlikte, tek kit ile yapılan üçlü nesep analizleri sonuca ulaşmada yeterli olmayabilir. Diğer yandan vakada ve atıf yapılan vakalarda da görüldüğü üzere ebeveynlerden birinin bulunmadığı ikili nesep analizlerinde birden fazla kit ile analiz yapılmasına rağmen annelik/babalık netleştirilemeyebilir. Bu gibi problemlerin yaşanmaması için nesep testlerinde mümkün olduğunca üçlü çalışma tercih edilmeli ve çalışılan STR bölgesi sayısı da vakanın türüne göre gerektiği kadar artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. *J Forensic Sci* 2006;51(2): 253-65.
2. Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques* 2007;43(4):ii-v.
3. González-Andrade F, Sánchez D, Penacino G, Martínez Jarreta B. Two fathers for the same child: a deficient paternity case of false inclusion with autosomic STRs. *Forensic Sci Int Genet* 2009;3(2):138-40
4. Børsting C, Morling N. Mutations and/or close relatives? Six case work examples where 49 autosomal SNPs were used as supplementary markers. *Forensic Sci Int Genet* 2011;5(3): 236-41.
5. Poetsch M, Lüdcke C, Repenning A, Fisher L, Mályusz V, Simeoni E, et al. The problem of single parent/child paternity analysis--practical results involving 336 children and 348 unrelated men. *Forensic Sci Int* 2006; 159(2):98-103.
6. Von Wurmb-Schwark N, Mályusz V, Simeoni E, Lignitz E, Poetsch M. Possible pitfalls in motherless paternity analysis with related putative fathers. *Forensic Sci Int* 2006;159(2):92-7.
7. Goodwin W, Ballard D, Simpson K, Thacker C, Syndercombe Court D, Gow J. Case study: paternity testing-when 21 loci are not enough. *International Congress Series* 1261. Elsevier 2004. p.460-2.
8. Edelmann J, Lessig R, Klintschar M, Szibor R. Advantages of X-chromosomal microsatellites in deficiency paternity testing: presentation of cases. *International Congress Series* 1261. Elsevier 2004. p.257-9.
9. Dogan M, Kara U, Emre R, Fung WK, Canturk KM. Two brothers' alleged paternity for a child: who is the father? *Mol Biol Rep* 2015;42(6): 1025-7.