




# Karışım DNA Örneklerinde STR Analizi ve Yorumlanması

## STR Analysis and Interpretation of DNA Mixture Samples

 Tolga ZORLU<sup>a</sup>,  
 Özlem BÜLBÜL<sup>a</sup>,  
 Gönül FİLOĞLU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Adli Tıp Enstitüsü,  
İstanbul, TÜRKİYE

Received: 22.01.2019  
 Received in revised form: 27.03.2019  
 Accepted: 01.04.2019  
 Available online: 02.04.2019

Correspondence:  
 Özlem BÜLBÜL  
 İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
 Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul,  
 TÜRKİYE/TURKEY  
 ozlembulbul00@gmail.com

**ÖZET Amaç:** Adli vakaların değerlendirilme sürecinde birden fazla kişinin DNA'sını içeren karışım örnekleri ile sıklıkla karşılaşmaktadır. İki veya daha fazla kişinin genetik profilinin bir arada bulunduğu bu tür örneklerde, bazı faktörler (katılımcı sayısının bilinmemesi, allel çakışmalarının olması, düşük kalitede ve bozunmuş örnekler vb.) DNA analizini daha karmaşık hâle getirebilmektedir. Son yıllarda çeşitli ülkelerdeki hukuk sistemleri karışım DNA örneklerinin yorumlanmasında istatistiksel hesaplama işlemlerinden faydalanmaktadır. Ülkemizde karışım DNA analizlerinde kullanılacak herhangi bir prosedür bulunmamaktadır. Bu çalışmada; karışım örneklerinde profil olasılığı (GeneMapper® IDX v.1 Mixture Analysis) ve olabirlik oranı (Forensim LRmix™) kullanılarak, hem doğru genotipleme yapmak hem de katılımcı sayısını doğru bir şekilde belirlemek amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada, gönüllü kişilerden toplanan kan örneklerinden değişik oranlarda (1:1, 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:50) karışım DNA örnekleri oluşturularak valide edilen AmpFℓSTR® Identifiler kiti ile çoğaltıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ürünleri AB 3130 genetik analizörde yürütüldü ve Genemapper® IDX v.1 programında analiz edildi. Karışım örneklerini oluşturan katılımcıların tiplendirilmesi ve karışım oranlarının tahmin edilmesi Genemapper® IDX v.1. Mixture Analysis ile yapıldı. Karışım örneklerinin allel düşmesi aralığına göre performans testi ve katılımcıların örnek profilinde bulunma olasılıklarının istatistiksel değerlendirmesi Forensim LRmix™ uygulaması ile yapıldı. **Bulgular:** Analizde en sık karşılaşılan problem allel düşmesi olarak saptanmıştır. Olabirlik oranı yaklaşımı ve Forensim LRmix™ uygulaması kullanılarak oluşturulan karışım örneklerinin doğru bir şekilde DNA analizinin yapılabildiği belirlenmiştir. **Sonuç:** Karışım DNA örneklerinin objektif bir şekilde yorumlanabilmesi ve delilin gücünü ortaya koymak için istatistiksel yöntemler kullanılmalıdır. Bu çalışma; karışım DNA örneklerinin gelişmiş dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de benzer standartlarda yorumlanabilmesi için yapılan öncü bir araştırmadır.

**Anahtar Kelimeler:** Adli genetik; kompleks DNA karışımları; mikrosatelit tekrarları; STR profili; LRmix modülü

**ABSTRACT Objective:** In the process of evaluation of forensic cases, samples of the mixture containing more than one person are frequently encountered. In such examples of mixtures where the genetic profile of two or more persons are combined, some factors (Unknow number of contributors, presence of same alleles, poor quality and degraded samples, etc.) may further complicate DNA analysis. In recent years, legal systems in various countries have benefited from statistical calculations in the interpretation of mixture DNA samples. In our country, there are no procedures to be used in mixture DNA analysis. The aim of this study; to determine the correct genotypes and the number of contributors using the profile probability (GeneMapper® IDX v.1 Mixture Analysis) and likelihood ratio (Forensim LRmix™) in the mixture samples. **Material and Methods:** In this study, mixture samples were evaluated in different ratios (1:1, 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:50) from the blood samples which collected from volunteers. The polymerase chain reaction (PCR) was applied using validated AmpFℓSTR® Identifiler kit. PCR products were run in the AB 3130 genetic analyzer and analyzed in the Genemapper® IDX v.1 program. Typing of the contributors and estimating the mixture ratios were done on Genemapper® IDX v.1. Mixture Analysis. Forensim LRmix™ application was used to test the performance of the mixture samples according to the allele drop interval and to evaluate the probabilities of the participants in the sample profile. **Results:** The most common problem in the analysis was the allele drop-out. Likelihood ratio and Forensim LRmix module was determined as a useful and successful application on both mixture samples that composed on controlled conditions. **Conclusion:** As a result, statistical methods should be used to interpret mixture DNA samples and to demonstrate the strength of evidence. This work as a pioneering research conducted in order to interpret mixed DNA samples in similar standards in our country as in developed countries.

**Keywords:** Forensic genetic; complex DNA mixtures; microsatellite repeats; Short tandem repeats; LRmix module

Olay yerinden ele geçen fiziksel delillerin incelenmesi ve değerlendirilmesi adli vakaların aydınlatılmasında önemli rol oynamaktadır. DNA, adli bilimlerde son 25 yıl içerisinde bize kolaylıklar sağladığı gibi, yeni sorunları da beraberinde getirmiştir. Adli DNA analizlerinin en zorlu aşamalarından biri, elde edilen profillerin doğru değerlendirilmesi ve ifade edilmesidir.

Test edilen örnekte iki veya daha fazla kişinin genetik profili bulunduğu karışım örneğinden söz edilir. Karışım örneği, katılımcıların (Farklı kaynaktan gelen DNA örnekleri) içerdiği DNA miktarına göre majör ve minör olarak adlandırılmaktadır. Majör katılımcının DNA miktarı daha fazla olduğundan, allel pik de daha büyüktür. Minör katılımcının DNA miktarı daha az olduğundan, gözlenen allel pik daha küçüktür.<sup>1</sup> Floresan özellikli tarayıcılar ile AB 310, 3130 veya 3100 vb. kapiler elektroforez cihazı kullanarak elde edilen elektroforegramdaki kısa ard arda devam eden [Short Tandem Repeats (STR)] allellerinin rölatif allel pik yüksekliklerini veya alanlarını ölçmek mümkündür. Bu tür kantitatif bilgiler kullanılarak karışım örneğindeki katılımcı sayısı belirlenebilmektedir. Pikleri karşılaştırırken pik alanı ve şekil varyasyonları yerine pik yüksekliklerinin kullanılması daha geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir.<sup>2</sup> Uzmanlar için iki veya daha fazla kişinin karışımından oluşan delillerin yorumlanması zordur. Çünkü karışım örneklerinde katılımcı sayısının bilinmemesi, düşük kalitede veya bozunmuş örneklerde gözlenen stokastik dalgalanmalar ve yeni mikrovaryantların oluşumu gibi bazı faktörler DNA analizini daha da karmaşık hâle getirebilmektedir. Karışım örneklerinin yorumlanması, hem analistin yeterli tecrübesinin bulunmasını hem de matematiksel işlemleri gerektirmektedir.<sup>3-5</sup> Günümüzde karışım DNA analizlerinin yorumlanmasında karşılaşılan problemlerin üstesinden gelebilmek için birçok araştırmacı konuyla ilgilenmekte ve karışık DNA örneklerinin yorumlanmasında farklı istatistiksel yaklaşımlar önermektedir.<sup>5</sup> Bu yaklaşımlar; DNA profili elde edildikten sonra bu profilin eşleşme olasılığını tahmin etmek, dışlama olasılığını ve benzerlik olasılığını hesaplamak gibi işlemlerden oluşmaktadır.<sup>6</sup> Son yıllarda, bazı ülkelerdeki hukuk sistemleri, karışım örnek anali-

zinde bu istatistiksel hesaplama yöntemlerinden faydalanmaktadır. Bunun için birçok yazılım programı geliştirilmiştir.<sup>7-10</sup> Bu yazılımlardan Forensim LRmix™, adli DNA delillerinin istatistiksel yorumunu kolaylaştırmaya yönelik oluşturulan bir yazılım paketi olup, karışım örneğinde bulunan katılımcıların (Şüheli ve mağdur) olasılık oranları belirlenerek bu kişilerin delil örneğinde bulunma olasılıklarını hesaplayabilmektedir.<sup>6,11</sup> Olabilirlik oranında [LR, likelihood ratio] iki alternatif hipotezin ( $H_p$ = iddia hipotezi (prosecution hypothesis) ve  $H_d$ = Savunma hipotezi (defence hypothesis)] karşılaştırması yapılmaktadır. Bu oran; bir profilin iki alternatif hipotez altındaki olasılıkların oranının karşılaştırılması sonucu elde edilmektedir.

Bu çalışmada, karışım DNA örneklerinin yorumlanmasında hem doğru genotipleme yapmak hem de katılımcı sayısını doğru bir şekilde belirlemek amaçlanmıştır. Bu doğrultuda olabilirlik oranı (Forensim LRmix™) ve profil olasılığı (GeneMapper® IDX v.1 Mixture Analysis by Thermo Fisher Scientific) uygulanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### KARIŞIM ÖRNEKLERİNİN OLUŞTURULMASI VE POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Bu çalışmada karışım örnek çalışılmasına başlamadan önce, kişilerin kimliklendirilmesinde sıklıkla kullanılan AmpFℓSTR® Identifiler kitinin (Thermo Fisher Scientific) validasyonu yapıldıktan sonra karışım örnek çalışması gerçekleştirildi. Oluşturulan karışım örnekleri polimeraz zincir reaksiyonu [polymerase chain reaction (PCR)] ile çoğaltılarak AB 3130 genetik analizörde yürütüldü ve GeneMapper ID-X v1. Mixture Analysis yazılımı ile karışım oranı tahmini yapıldı. Daha sonra da Forensim LRmix™ kullanılarak karışım örneğini oluşturan katılımcıların, delil (karışım) örneğinde bulunma olasılıkları istatistiksel olarak değerlendirildi.<sup>7</sup>

Validasyon için, analiz eşik (limit of detection), dinamik alan (lineer çalışma alanı), duyarlılık (limit of quantification), stokastik eşik, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik parametreleri çalışıldı.<sup>12</sup> Validasyon ve karışım çalışmalarında 9947A pozitif kontrol örneği (Thermo Fisher

Scientific) kullanıldı. Çalışmaya katılmaya rıza gösteren ve bilgilendirilmiş olur formunu imzalayan gönüllülerden kan örnekleri alındı. Bu çalışma için, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 3 Mart 2013 tarih ve 83045809-5967 sayılı kararla onay alındı. Kan örneklerinin DNA izolasyonu QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen) yöntemi ile yapıldı. DNA miktarları Qubit® Florometre (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) cihazında, Quant-iT™ dsDNA HS (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific) kiti kullanılarak belirlendi.

İki kişiye (E1 kodlu bir erkek ve K1 kodlu bir kadın) ait farklı DNA karışım örnekleri oluşturuldu. Karışım örneklerinde toplam DNA konsantrasyonu 1 ng/5 µl olacak şekilde E1 (minör)/K1 (majör) ve K1(majör)/E1 (minör) örneklerinden 11 farklı oranda dilüsyonlar (1:1, 1:3, 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 ve 50:1 20:1, 10:1, 5:1, 3:1) yapıldı. Tablo 1'de örneklerin karışım oranları ve konsantrasyonları görülmektedir. Çalışmada, her konsantrasyondaki karışım örnekleri üçer kez tekrar edilerek yeniden oluşturuldu.

## VERİLERİN ANALİZİ VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

### Genemapper ID-Xv1. Mixture Analysis Tool ile Analiz

Karışım örneklerinin analizi iki aşamalı olarak yapıldı. İlk aşamada ABI 3130 cihazında yürütülen örneklerle Genemapper ID-Xv1. *Mixture Analysis Tool* (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak ön değerlendirme yapıldı. Bu ön değerlendirmede karışım DNA örneklerinin allel adlandırılması, katılımcılara ait allellerin belirlenmesi, stutter piklerin (gölge pikler) değerlendirilmesi ve katılımcıların karışım oranlarının tahmini yapıldı. Genemapper ID-X v1. yazılımı tarafından kullanılan formüller aşağıda görülmektedir:<sup>13</sup>

- Stutter pik yüzdesinin hesaplanması:

$$\text{Stutter Pik \%} = \frac{N-4 \text{ pik yüksekliği}}{\text{Allel pik yüksekliği}} * 100$$

- Karışım oranının hesaplanması:

Katılımcılara ait profiller belirlenirken karışım oranından ve stokastik eşik değerinden yararlanmak da mümkündür. Herhangi bir lokustaki karışım

örneği oranını belirlemek için aşağıdaki formül kullanılmıştır;<sup>14</sup>

$$M_x = \frac{\varphi a + \varphi b}{\varphi a + \varphi b + \varphi c + \varphi d}$$

ve

$$M_x = \frac{\varphi a + \varphi b}{\varphi a + \varphi b + \varphi c + \varphi d}$$

Formülde ilgili lokustaki karışım oranının  $\varphi a$  ve  $\varphi b$  ilk katılımcıya ait a ve b allellerinin pik yüksekliğini,  $\varphi c$  ve  $\varphi d$  ise diğer katılımcıya ait c ve d allellerinin pik yüksekliklerini simgelemektedir.

### Forensim LRmix™ yazılımı ile İstatistiksel Değerlendirme

İkinci aşamada Forensim LRmix™ yazılımı kullanılarak, karışım örneklerinden elde edilen genotiplerin (profilin) şüpheli veya mağdurun delil profilinde (karışım örneğinde) bulunma olasılıkları istatistiksel olarak değerlendirildi. Forensim LRmix™, adli DNA kanıtlarının istatistiksel yorumunu kolaylaştırmaya yönelik Haned tarafından oluşturulan bir yazılım paketidir.<sup>7</sup> Değerlendirme yapılırken K1 örneği mağdur ve E1 örneği şüpheli olarak hesaplama yapılmıştır. İddia (Hp) ve savunma (Hd) hipotezleri:

$H_p$  = Delil profili mağdur ve şüpheliden oluşmaktadır ( $E=V+S$ ).

$H_d$  = Delil profili mağdur ve şüpheli dışında başka bir kişiden oluşmaktadır ( $E=V+U$ ).

$$\text{LR değeri} = H_p / H_d = V+S / V+U.$$

Burada E harfi delil profilini, V harfi mağduru, S harfi şüpheliyi ve U harfi bilinmeyen kişiyi temsil etmektedir.

## BULGULAR

Bu çalışmanın ilk aşamasında, DNA tiplendirilmesinde kullanılacak kitin (AmpFℓSTR® İdentifiler) validasyon çalışması yapıldı. Validasyon parametrelerinden özellikle karışım örneklerinin değerlendirilmesinde kullanılan *analiz eşiği*; kitin en düşük tespit limitinin göstergesi olup laboratuvar dan laboratuvara değişmektedir. Bu çalışmada analiz eşik değeri 72,75 (RFU, relative fluorescence

units) olarak belirlendi. *Stokastik eşik*; aynı lokusta bulunan kardeş alleller arasında dengesizliklerin görülmeye başlandığı pik yüksekliği ya da hedef DNA konsantrasyonu olup, bu çalışmada 0,05 ng/µl'de heterozigot allel pik yüksekliği 76.826 olarak belirlenmiştir. *Dinamik alan*; tam DNA profili için gerekli hedef DNA konsantrasyonunun 0,05-0,5 ng/µl aralığında olması gerektiği belirlendi. *Hasasiyet*; tam ve güvenilir DNA profilinin elde edildiği en düşük DNA konsantrasyonunun 0,05 ng/µl olması gerektiği saptandı.<sup>15</sup>

#### KARIŞIM DNA ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI VE ANALİZİ

Gönüllülerden toplanan E1, K1 örnekleri ve pozitif kontrol 9947A örneğinin amelogenin (AMEL) ve 15 STR lokusuna ait profilleri **Tablo 2**'de görülmektedir.

Karışım örneklerinin 1:50 hariç tümünde, tüm lokuslar içerisinde en fazla dört allel gözlemlendiğinden bu karışım örneklerinin kişinin karışımından oluştuğunu söylemek mümkündür. Aşağıda oluşturulan her bir karışım örneğinin nasıl değerlendirildiği ile ilgili ayrıntılar verilmiştir.

#### 1:1 Karışım Oranındaki DNA Örneği ve İstatistiksel Değerlendirilmesi

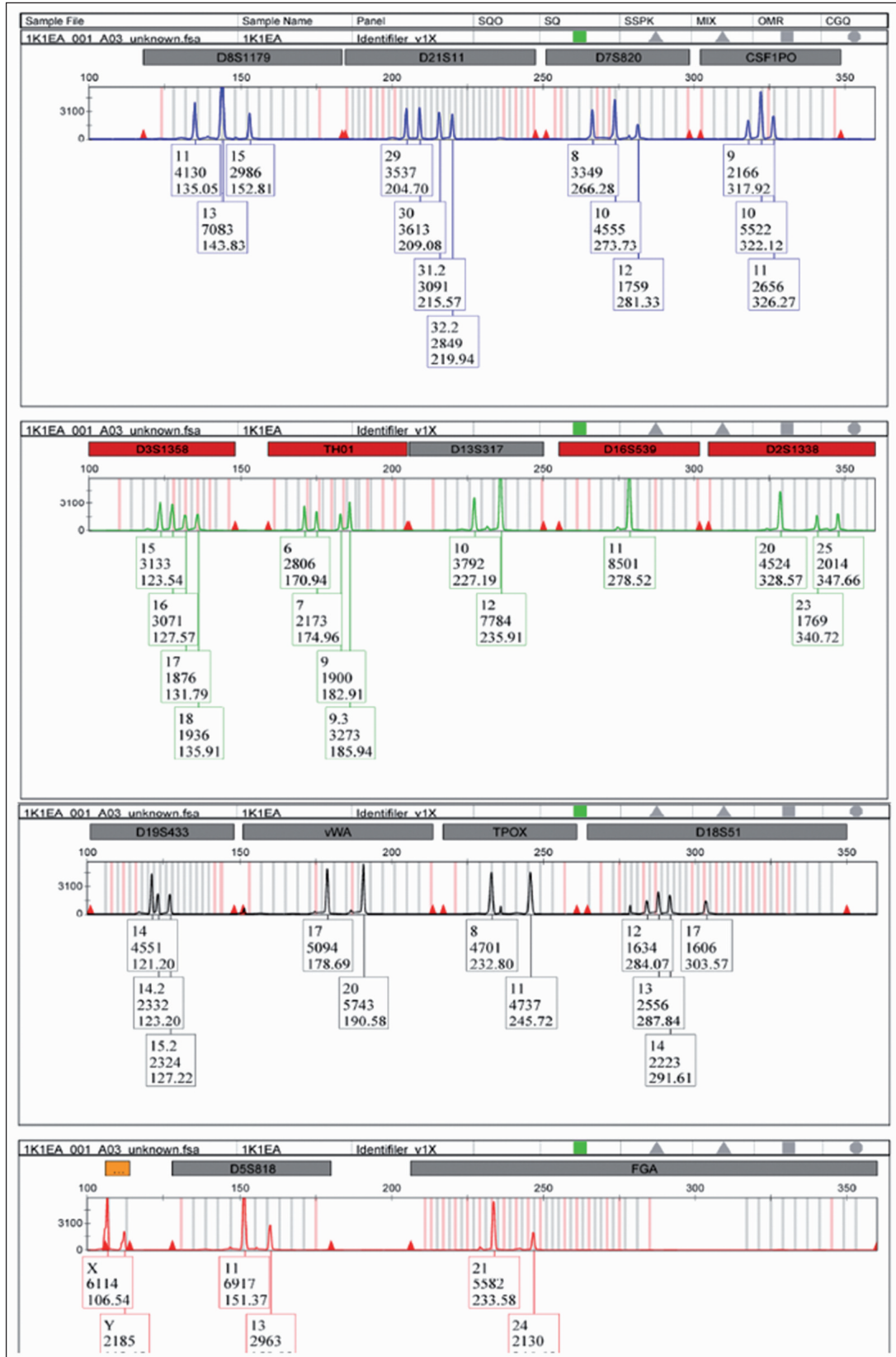
Eşit karışım (1:1) oranına sahip DNA örneğine ait elektroforegram **Şekil 1**'de görülmektedir. GeneMapper® IDX v.1 yazılımı ile yapılan profil analizinde AMEL lokusunda karışım oranı 1:1 olarak belirlenirken, diğer lokuslarda minör ve majör katılımcıların oranı belirlenememiştir (**Şekil 1**). Aynı program ile tahmin edilen allellerin doğruluğunu teyit etmek için önceden tiplendirilmiş olan K1 ve

**TABLO 1:** Karışım örneklerinin konsantrasyonları ve karışım oranları.

Karışım oranı	Kullanılan örnekler	Karışım DNA örneğinin son konsantrasyonu	K1/E1 ve E1/K1 (ng/5 µl)
1:1	1K1E	1 ng/5 µl	0,5/0,5
1:3	1K3E/1E3K	1 ng/5 µl	0,75/0,25
1:5	1K5E/1E5K	1 ng/5 µl	0,8/0,2
1:10	1K10E/1E10K	1 ng/5 µl	0,9/0,1
1:20	1K20E/1E20K	1 ng/5 µl	0,95/0,05
1:50	1K50E/1E50K	1 ng/5 µl	0,98/0,02

**TABLO 2:** AmpFℓSTR® İdentifiler kiti ile analiz edilen örneklerin DNA profilleri.

Lokuslar	E1 no.lu örnek	K1 no.lu örnek	9947A kontrol örneği
D8S1179	11-13	13-15	13-13
D21S11	30-32.2	29-31.2	30-30
D7S820	8-10	10-12	10-11
CSF1PO	10-11	9-10	10-12
D3S1358	15-16	17-18	14-15
TH01	6-9.3	7-9	8-9.3
D13S317	10-12	12-12	11-11
D16S539	11-11	11-11	11-12
D2S1338	20-20	23-25	19-23
D19S433	14-14.2	14-15.2	14-15
vWA	20-20	17-17	17-18
TPOX	8-11	8-11	8-8
D18S51	13-14	12-17	15-19
D5S818	11-11	11-13	11-11
FGA	21-24	21-21	23-24
AMEL	X-Y	X-X	X-X



**ŞEKİL 1:** 1:1 oranına sahip karşım DNA örneğinin elektroforegram görüntüsü. Pikler altında belirtilen rakamlar sırası ile allel ismi, pik yüksekliği ve büyüklük (size) değerlerini göstermektedir.

E1 profilleriyle karşılaştırılarak, katılımcıların tüm allellerinin doğru tahmin edildiği saptanmıştır. Belirlenen karışım örneklerinin istatistiksel yorumlanması ise Forensim LRmix™ ile yapılmıştır. Performans testi için ilgili populasyondan rastgele oluşturulan 100 kişinin şüpheli olma olasılığı logaritma 10 tabanında hesaplanarak performans aralığı oluşturulmuştur. Elde edilen LR değerinin bu aralık dışında kalması, şüphelinin o profilde bulunma olasılığının gücünü göstermektedir. LR değeri, Forensim LRmix™ modülü tarafından 4,02E+16 olarak hesaplanmıştır. Sonuç ifadesi her iki hipotez (Hp ve Hd) için şu şekildedir:

*“Şüpheli profilinin, delil profilinde olma olasılığı, aynı populasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişiye göre 40.200.000.000.000.000 kez daha olasıdır.”*

#### 1:3 ve 3:1/1:5 ve 5:1 Oranındaki Karışım DNA Örnekleri ve İstatistiksel Değerlendirmesi

1:3 ve 3:1/1:5 ve 5:1 oranındaki karışım oranlarına ait örnek elektroforegram görüntüleri [Şekil 2](#) ve [Şekil 3](#)'te görülmektedir. Profil analizinde D8S1179, D21S11, TH01, D3S1358, D16S539, CSF1PO ve D18S51 lokuslarında karışım oranı 3:1 olarak belirlenebilirken, diğer lokuslarda minör ve majör katılımcıların oranı belirlenememiştir. 1:5 ve 5:1 oranındaki karışımlarda 3:1 oranına benzer sonuçlar gözlenmiştir.

1:3 ve 1:5 oranında E1 örneği majör ve 3:1 ve 5:1 oranında K1 örneği majör durumdadır. Bu oranlarda katılımcıların tüm allelleri başarıyla tiplendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirilmede; 3:1 ve 1:3/5:1 ve 1:5 oranlarındaki karışım örneklerinde belirlenen alleller 1:1 oranındaki allellerden farklı olmadığından LR değeri aynıdır ([Tablo 3](#)).

#### 1:10 ve 10:1 Karışım Oranına Sahip DNA Örnekleri ve İstatistiksel Değerlendirilmesi

1:10 karışımına ait örneğinin elektroforegram görüntüsü [Şekil 4](#)'te görülmektedir. Profil analizinde AMEL, D21S11, TH01 ve D16S539 lokuslarında karışım oranı 1:10 olarak belirlenebilirken, diğer lokuslarda minör ve majör katılımcıların oranı belirlenememiştir. Bu karışımda E1 örneği majör durumda olup, katılımcının tüm allelleri gözlenir-

ken, minör katılımcının D7S820, CSF1PO, D3S1358, D2S1338 ve D18S51 lokuslarında sırasıyla 12, 9, 18, 23-25 ve 17. allellerinde allel düşmesi gözlenmiştir ([Şekil 4](#)).

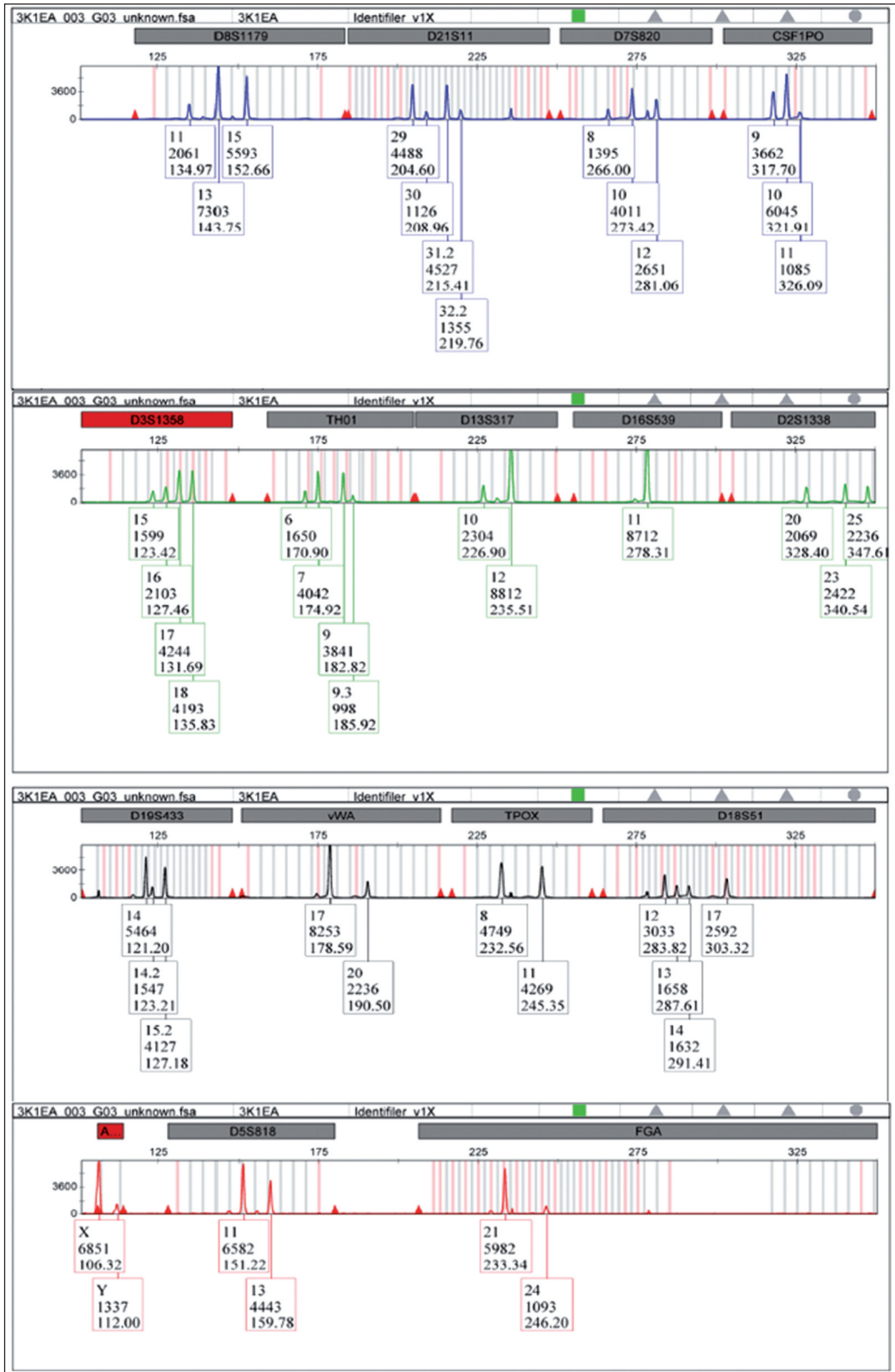
Genemapper IDX v1. yazılımı ile yapılan ön değerlendirme aşamasında, katılımcı oranı, katılımcı profilleri ve stutter piklerin değerlendirilmesi gibi parametreler yazılım tarafından yapılabilmektedir. Program tarafından hesaplanan bu parametrelere stutter pik ve katılımcı oranlarının tahminine ait örnek uygulaması bu karışım oranında (1:10) gösterilmiştir. 1:10 oranına ait karışım örneklerinin her üç tekrarında da (A, B ve C) D3S1358 lokusunda olası stutter piklere rastlanmıştır ([Şekil 5](#)). A ve C tekrarında 16. allel hem yerleşimine göre hem de % stutter pik formülüne göre stutter pik olarak değerlendirilmektedir. Buna göre; stutter pik A tekrarında %14, B tekrarında %20, C tekrarında %13 olarak belirlenmiştir.

[Şekil 6](#)'da 1:10 oranına ait örnek bir elektroforegram görüntüsü ve majör katılımcının karışım oranı (Mx) görülmektedir. Karışım oranı lokusta bulunan dört allel pik için 0,91 ve 0,09 olarak bulunmuştur, bu da beklendiği şekilde ~1:10'dur. Bu formül ile sadece karışım oranı değil, aynı zamanda alleller arasındaki heterozigot dengesi belirlenerek majör ve minör katılımcıların doğruluğu da belirlenebilmektedir.

Forensim LRmix™ uygulamasında yapılan istatistiksel değerlendirmede ise K1 örneği mağdur ve E1 örneği şüpheli varsayılarak hesaplama yapılmıştır. Buna göre;

*“Mağdur profilinin delil profilinde bulunma olasılığı, aynı populasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişinin profilinin bulunmasından 9.670.000.000 kez daha fazladır.”* ([Tablo 3](#)).

10:1 oranındaki karışım örneğinde K1 örneği majör durumda olup, tüm allelleri gözlenirken, minör katılımcının D21S11 ve FGA lokuslarında (Sırasıyla 31.2 ve 24 allelleri) iki allel düşmüştür. Genemapper® IDX v.1 Mixture Analysis yazılımı ile yapılan profil analizinde AMEL, TH01, D3S1358, D16S539, FGA CSF1PO ve D18S51 lokuslarında karışım oranı 8:1 olarak belirlenirken, diğer lokuslarda minör ve majör katılımcıların oranı belirlenememiş-



**ŞEKİL 2:** 3:1 oranına sahip bir karışım DNA örneğinin elektroforegram görüntüsü. Pikler altında belirtilen rakamlar sırası ile allel isimleri, pik yüksekliği ve büyüklük (size) değerlerini göstermektedir.

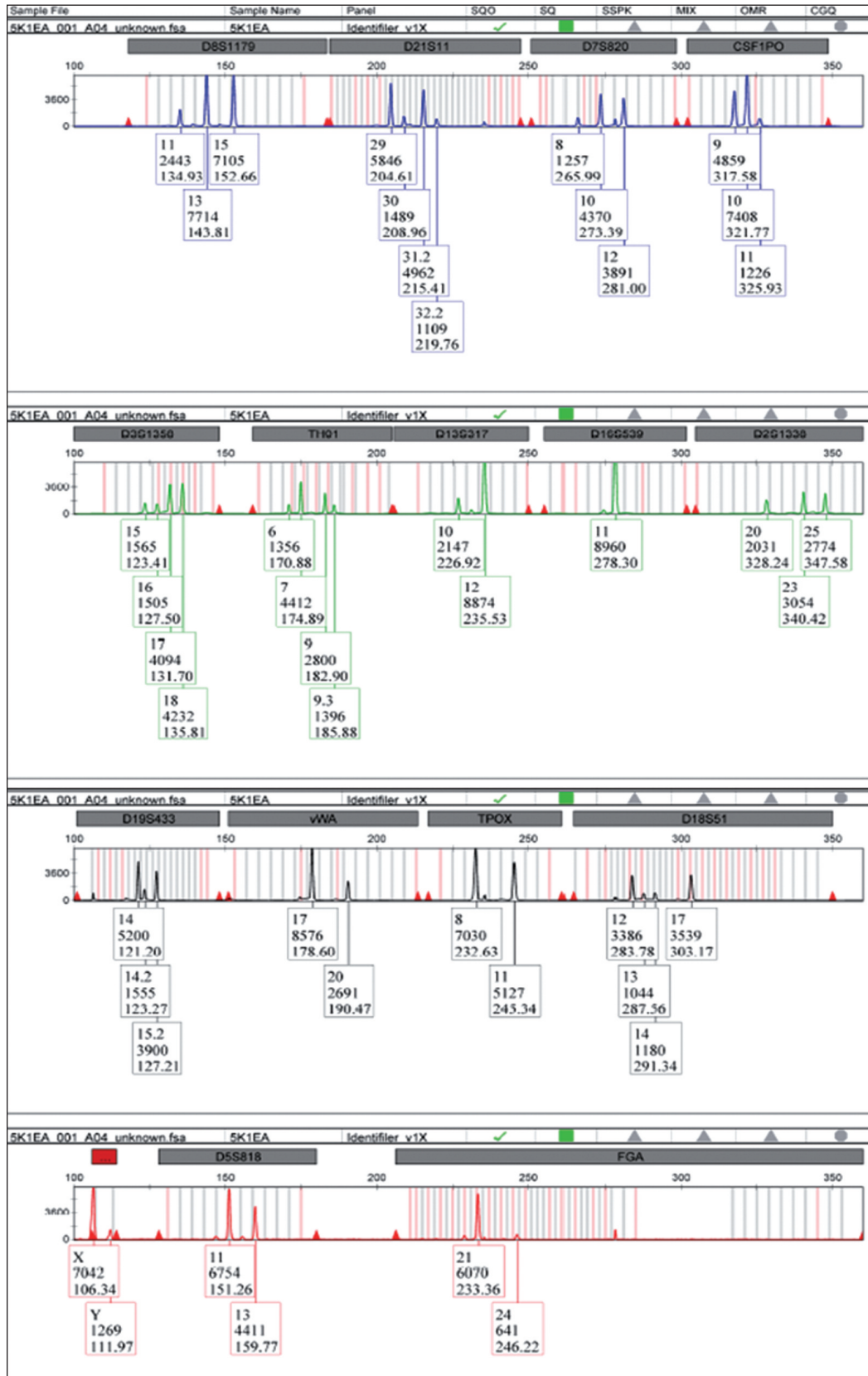
**TABLO 3:** Oluşturulan tüm karışım oranlarında gözlenen allel düşmesi sayısı ve LR değeri.

Karışım örneği oranı (A,B,C tekrarları)	Gözlenen allel düşmesi	Olası allel düşmesi aralığı	Genemapper® IDX v.1 ile karışım oranı tahmini	Son olabirlik oranı (LR Değeri)	Performans testi sonuçları
1:1 (A,B,C)*	Allel düşmesi yok	0,01-0,16		4,02E+16	-
1:3 (A,B,C)*	Allel düşmesi yok	0,01-0,16	~ 3:1	4,02E+16	A: log10 <sup>32/10</sup> B: log10 <sup>29/7</sup> C: log10 <sup>29/12</sup>
3:1 (A,B,C)*	Allel düşmesi yok	0,01-0,16	~ 3:1	4,02E+16	A: log10 <sup>29/7</sup> B: log10 <sup>30/8</sup> C: log10 <sup>27/8</sup>
1:5 (A,B,C)*	Allel düşmesi yok	0,01-0,16	~ 3:1/~ 4:1	4,02E+16	A: log10 <sup>31/8</sup> B: log10 <sup>31/6</sup> C: log10 <sup>32/7</sup>
5:1 (A,B,C)*	Allel düşmesi yok	0,01-0,16	~ 3:1/~ 4:1	4,02E+16	A: log10 <sup>33/9</sup> B: log10 <sup>30/6</sup> C: log10 <sup>27/9</sup>
1:10 (A,B,C)*	6	0,11-0,37	~ 5:1/~ 8:1	9,67E+10	A: log10 <sup>21/5</sup> B: log10 <sup>27/8</sup> C: log10 <sup>22/4</sup>
10:1 (A,B,C)*	2	0,01-0,22	~ 5:1/~ 8:1	2,44E+11	A: log10 <sup>28/7</sup> B: log10 <sup>31/6</sup> C: log10 <sup>28/9</sup>
1:20 (A,B,C)*	11	0,22-0,47	~ 8:1/10:1/20:1	0,004271	A: log10 <sup>18/6</sup> B: log10 <sup>12/8</sup> C: log10 <sup>12/5</sup>
20:1 (A,B,C)*	4	0,062-0,32	~ 8:1/10:1/20:1	1,514e+09	A: log10 <sup>28/8</sup> B: log10 <sup>31/8</sup> C: log10 <sup>29/11</sup>
1:50 (A,B,C)*	Tüm minör katılımcı allelleri	-	-	-	-
50:1 (A,B,C)*	Tüm minör katılımcı allelleri	-	-	-	-

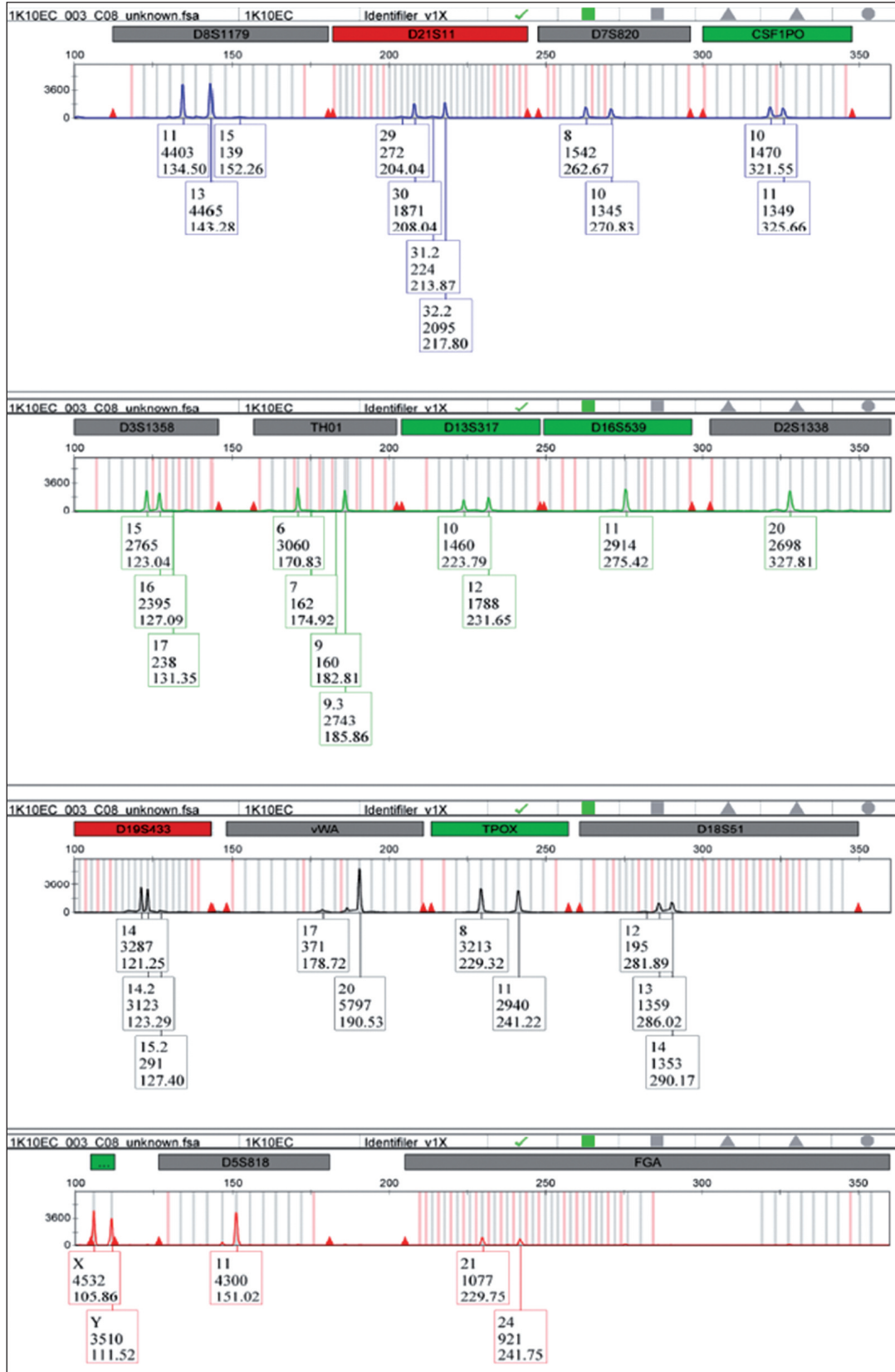
\* Her bir karışım örneğinin üçlü tekrarı göstermektedir.

LR: Olabirlik oranı.

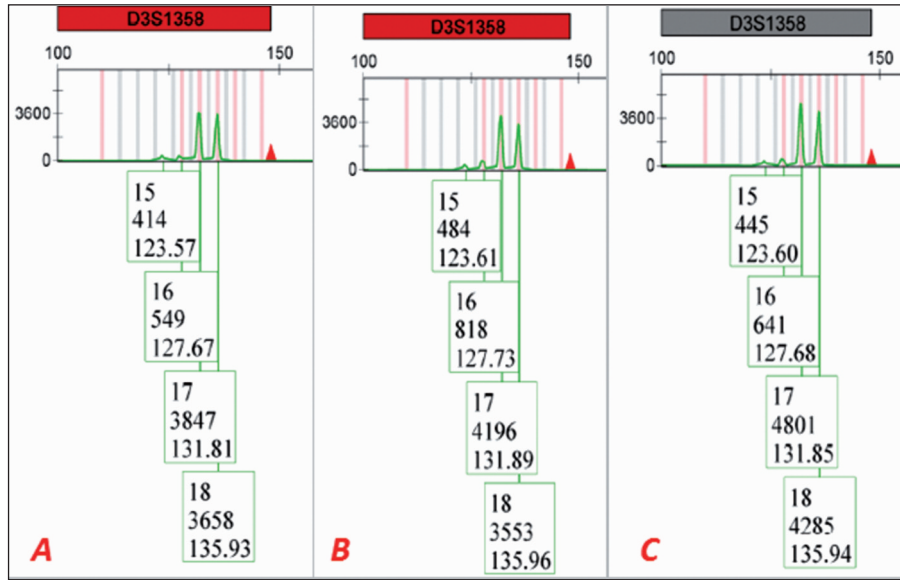




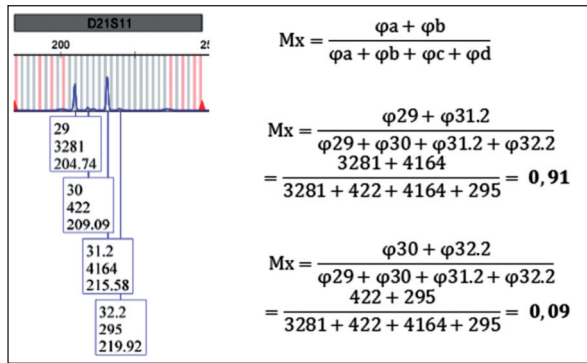
**ŞEKİL 3:** 5:1 oranına sahip bir karışım DNA örneğinin elektroforegram görüntüsü. Pikler altında belirtilen rakamları sırası ile allel isimleri, pik yükseklikleri ve büyüklük (size) değerlerini göstermektedir.



**ŞEKİL 4:** 1:10 oranına sahip kanşım DNA örneklerinin elektroforegram görüntüleri. Pikler altında belirtilen rakamları sırası ile allel, yükseklik ve büyüklük değerlerini göstermektedir.



ŞEKİL 5: 1:10 oranına ait karışım örneğinde D3S1358 lokusunda görülen stutter pikler.



ŞEKİL 6: 1:10 karışım örneğinde D21S11 lokusu elektroforegram görüntüsü.

tir. Bu karışım örneklerinin Forensim LRmix™ uygulaması kullanılarak hesaplanan LR değeri, 2,442E+11 olup, buna göre yapılan istatistiksel değerlendirme şu şekildedir.

*“Şüpheli profilinin delil profilinde bulunma olasılığı, aynı popülasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişinin profilinin bulunmasından 244.200.000.000 kez daha fazladır.” (Tablo 3).*

#### 1:20/20:1 Oranına Sahip Karışmış DNA Örnekleri ve İstatistiksel Değerlendirilmesi

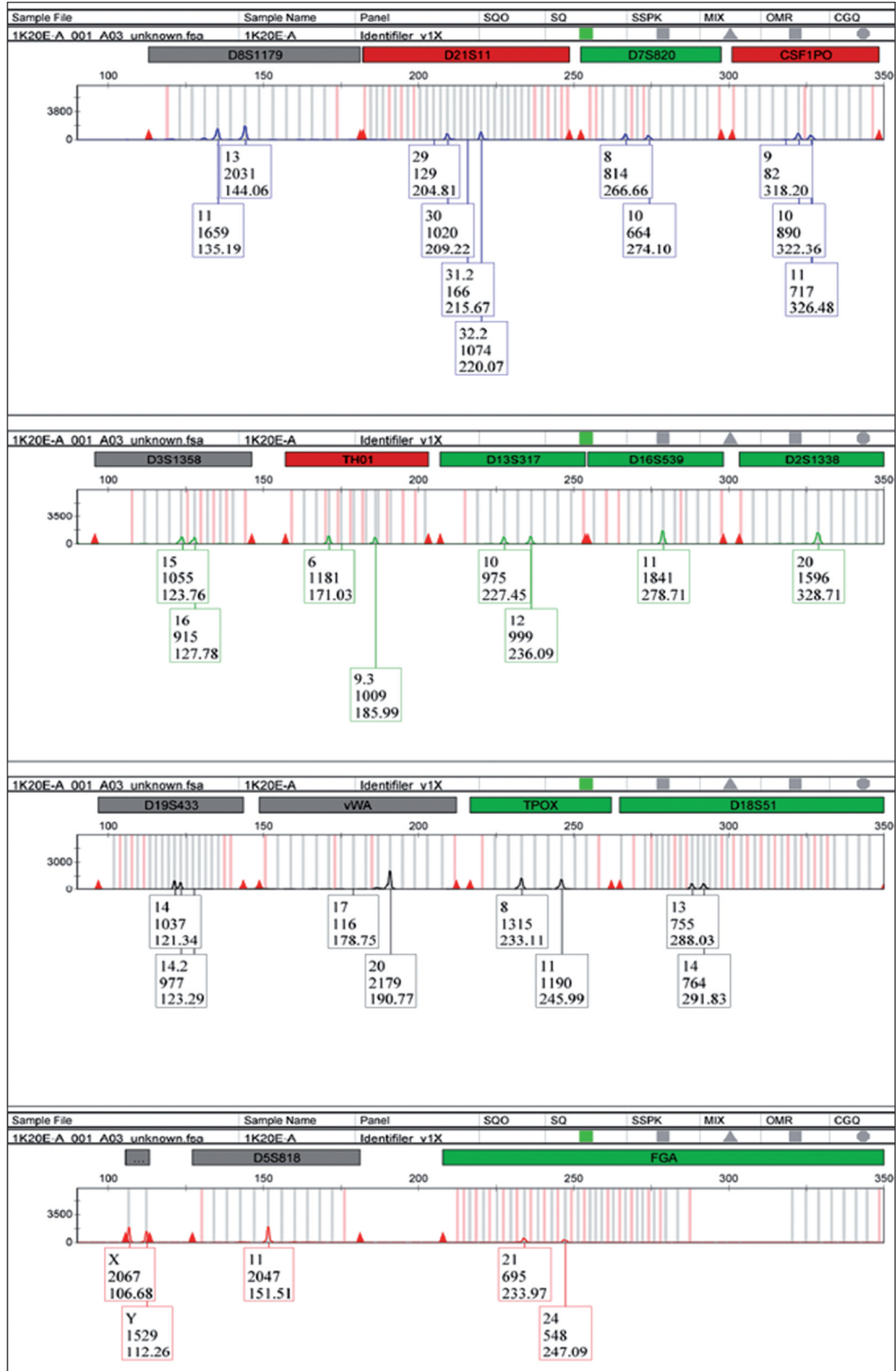
1:20/20:1 oranındaki karışım DNA örnekleri 0,95/0,05 ng/5 µl ve 0,05/0,95 ng/5 µl şeklinde oluşturuldu. 1:20 oranına sahip örnek elektroforegram Şekil 7’de görülmektedir. Majör ve minör alleller Genemapper® IDX v.1 yazılımı ile dört lokusta

(AMEL, D21S11, CSF1P0 ve D16S539) doğru olarak tahmin edilmesine rağmen, tüm lokuslarda belirlenen karışım oranları doğru tahmin edilememiştir. Şekil 7’deki elektroforegram görüntüsü incelendiğinde, K1 majör olup tüm allelleri gözlenirken, minör katılımcının yedi tane lokusunda toplam 11 allel kaybı gözlenmiştir.

Forensim LRmix™ uygulamasında LR değeri, LRmix modülü tarafından 0,004271 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3). Bu durumda sonuç ifadesi her iki hipotez için şu şekildedir:

*“Mağdur profilinin delil profilinde bulunma olasılığı, aynı popülasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişinin profilinin bulunmasından 0.004271 kez daha fazladır.”*

20:1 oranındaki karışım örneklerinde Gene-mapper® IDX v.1 Mixture Analysis yazılımı ile yapılan profil analizinde AMEL, TH01, D3S1358, D16S539, CSF1P0, FGA, vWA ve D18S51 lokuslarında karışım oranı farklı olarak belirlenirken, diğer lokuslarda minör ve majör katılımcıların oranı belirlenmemiştir. Majör ve minör karışım oranı FGA dışındaki tüm lokuslarda yanlış olarak belirlenmiştir. Karışımında K1 majör olup, tüm allelleri gözlenirken, minör katılımcının D7S820, vWA ve CSF1P0 lokuslarında sırasıyla 8, 11 ve 20 allelleri olmak üzere dört allel düşmesi gözlenmiştir. Bu karışım örneği-



ŞEKİL 7: 1:20 oranına sahip bir karışım örneğinin elektroforegram görüntüsü. Pikler altında belirtilen rakamları sırası ile allel, yükseklik ve büyüklük (size) değerlerini göstermektedir.

nin LR değeri, LRmix modülü tarafından 1,514E+09 olarak hesaplanmıştır. Sonuçta iddia (Hp) ve savunma (Hd) hipotezleri doğrultusunda (Tablo 3) sonuç ifadesi her iki hipotez için şu şekildedir:

*“Şüpheli profilinin delil profilinde bulunma olasılığı, aynı popülasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişinin profilinin bulunmasından 1.514.000.000 kez daha fazladır.”*

#### 1:50 ve 50:1 Oranındaki Karışım DNA Örnekleri ve İstatistiksel Değerlendirilmesi

1:50 oranındaki karışım DNA örneklerinde yapılan üç tekrarda da majör katılımcı profili, minör katılımcı profilini baskılandığından 1:50 oranındaki örneklerde sadece majör durumda şüpheli (E1) profili elde edilmiştir. Aynı şekilde, 50:1 oranındaki karışım DNA örneklerinin üç tekrarında da majör katılımcı profili, minör katılımcı profilini baskılandığından 50:1 oranındaki örneklerde sadece majör durumdaki mağdur (K1) profili elde edilmiştir. Bu durumda her iki karışım örneğinde katılımcı profilinin tahminine yönelik herhangi bir istatistiksel değerlendirme yapmak mümkün değildir.

Tüm karışım örneklerinde gözlenen allel düşmesi sayıları ve Forensim LRmix™ modülünde yapılan istatistiksel değerlendirmede hesaplanan LR değerleri Tablo 3'te görülmektedir. Karışım örneklerinden 1:10, 10:1, 1:20 ve 20:1 oranlarında allel düşmesi gözlenmiştir. Allel düşmesi gözlenen düşük DNA konsantrasyonlarında daha düşük LR değerleri elde edilmiştir (Tablo 3).

## TARTIŞMA

Olay yerinden elde edilen deliller çoğunlukla birden fazla kişinin DNA'sını içeren karışım örneklerinden oluşmaktadır. Bu tür örneklerde birden fazla kişinin olaya karışmış olabileceği düşünülmektedir. Bu durumda katılımcıların profillerinin doğru analizi ve katılımcıların olaya dâhil olma olasılıklarının doğru tahmin edilebilmesi çok önemlidir. Gelişen teknoloji ile geliştirilen her yöntem veya uygulama için standardizasyon ve kalite güvencesini sağlamak adli laboratuvarların en büyük gereksinimi hâline gelmiştir.<sup>16</sup>

Adli kimliklendirme yapan laboratuvarlar, kullandıkları yöntemin validasyonunu yaptıktan sonra

güvenilir ve doğru analiz yapabilmektedirler.<sup>17</sup> Validasyon parametrelerinden olan analiz eşik değeri, yöntemin en düşük tespit limitinin göstergesi olup, laboratuvaradan laboratuvara değişen bir değerdir. Çalışmamızda, analiz eşik değeri 72,75 rfu olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla 72,5 rfu üzerindeki pikler gerçek pik (allel) olarak kabul edilmiştir. Bu değer altında kalan pikler allel olarak değerlendirilmemiştir. Karışım örnek analizinde önemli bir diğer parametre stokastik eşik (Hb, heterozygosity balance) değeridir. Uluslararası Adli Genetik Komisyonu (ISFG- International Society of Forensic Genetics) bu değeri  $Hb \geq 0,6$ , Birleşik Krallık DNA çalışma grubu (UK DNA Technical Working Group)  $Hb \geq 0,5$  ve Amerika Birleşik Devletleri DNA grubu (USA DNA Working Group)  $0,6 \leq Hb$  olarak kabul etmektedir.<sup>5,18,19</sup> Çalışmamızda, stokastik eşik değeri  $0,7 \leq Hb$  olarak belirlenmiştir. Bu değer, özellikle karışım olduğu düşünülen örneklerde, aynı lokusta bulunan heterozigot allellerin birbirlerine olan oranlarının bilinmesiyle bunların aynı ya da farklı kaynaklardan gelip gelmediğine karar verilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca bu değer bilmesi; stutter pikler, pull-up gibi istenmeyen piklerin bertaraf edilmesinde de önemlidir. Diğer önemli parametreler ise en alt ve üst DNA miktar seviyelerinin tespit edilmesine yönelik yapılan dinamik alan ve hassasiyet parametreleridir. Bu çalışmada, hem dinamik alan hem de hassasiyet açısından tam profilin elde edilmesi için gerekli hedef DNA konsantrasyonunun  $0,05 \text{ ng}/\mu\text{l} \leq$  olması gerektiği belirlenmiştir. Bu konsantrasyon AmpFℓSTR® İdentifiler kitin önerdiği konsantrasyon ile uyumludur.<sup>15</sup>

Bir olay ile ilgili olarak karışım olduğu düşünülen biyolojik örneklerden, doğru bir şekilde yorum yapabilmek için ön değerlendirme yapmak gerekmektedir. Bu değerlendirmenin amacı; delil örneğinin karışım olup olmadığını, katılımcı sayısını, karışıma katılan kişilerin profillerini ve oranlarını belirlemektir.<sup>5,18</sup>

Karışım örneklerinde katılımcı sayısı, tüm lokuslardaki allel sayısına bakılarak belirlenmektedir. Tüm lokuslar incelendiğinde bir veya daha fazla lokusta en fazla dört allel bulunması durumunda karışımın iki kişinin profilinden oluştuğunu söylemek mümkündür. Bir veya daha fazla lokusta

allel sayısının beş ve üstünde olması durumunda, karışımda üç veya daha fazla kişinin varlığından söz edilebilmektedir. Katılımcı sayısı belirlenirken allel düşmesi ve stutter piklerin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu tür istenmeyen piklerin varlığı katılımcı sayısının ve profillerinin belirlenmesinde önemli etkiye sahiptirler.<sup>14</sup>

Çalışmamızda, iki katılımcı tarafından oluşturulan karışım örneklerinde (1:50 ve 50:1 oranları dışındaki) bir veya daha fazla lokusta en fazla dört allele rastlanmıştır. Karışımdaki katılımcıları belirlemek için allel pik yükseklikleri ve heterozigotluk dengesi gibi parametrelerden yararlanılmıştır. E1 ve K1 kodlu iki kişiden oluşturulan karışım örneklerinde AmpF $\ell$ STR® Identifiler kitinin toplam 16 lokusundan altısında heterozigotluk ve 10 lokusta ise paylaşılan (ortak) allel gözlenmiştir. Ortak allel içeren lokuslarda heterozigotluk varlığının belirlenmesi için karışım oranının bilinmesi gerekmektedir. Ancak, PCR sonrası bu dengenin kendini koruyup koruyamayacağı büyük bir soru işareti olmaktadır. Heterozigotluk dengesi çeşitli laboratuvar kaynaklı koşullardan ve sporadik kontaminasyonlardan kolayca etkilenmektedir.<sup>20</sup>

STR analizinde elektroforegramda sıklıkla stutter pikler gözlenebilmektedir. Stutter pikler, gerçek allel pik yüksekliğinin %15'inden daha kısa, dört baz çifti daha küçük olarak gözlenen ve DNA polimerazın kayması sonucunda oluşan atrefakt piklerdir.<sup>21</sup> Stutter piklerin oluşma oranı ortalama olarak %2 civarındadır.<sup>22</sup> Çalışmamızda, 1:10 oranına ait karışım örneklerinin A ve C tekrarında D13S1358 lokusunda 16 numaralı allel stutter pik olarak görülmektedir (Şekil 5). Ancak, minör katılımcı genotipine bakıldığında, 15-16 allellere sahip olduğu açıkça görülmektedir. Bu durumda 16 numaralı allelin stutter pik olarak değerlendirilmesi doğru değildir. Ayrıca, 16 numaralı pik validasyon sonucu belirlediğimiz analiz eşik değeri (72,75 rfu) değerinden yüksek olduğundan, bu allel gerçek bir pik olarak değerlendirilebilmektedir.

Katılımcı profillerine ait allelleri ve katılımcı oranları belirlenirken Genemapper® IDX v.1Mixture Analysis yazılımından yararlanılmıştır. Yazılım ortak allel içermeyen lokuslarda tahmini olarak

katılımcı profillerine ait allelleri ve bu allellerin hangi oranda karıştığını belirlemek amacıyla istatistiksel kurallara dayalı tahminler yapmaktadır. Tüm oranlardaki karışım örneklerinde, allel düşmesi bulunmayan ve ortak allel içermeyen lokuslarda, tahmin edilen katılımcıya ait profiller doğru olarak belirlenmiştir. 1:1, 1:3 ve 3:1 oranları haricindeki diğer karışım oranları yanlış olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Bunun nedeni PCR'de katılımcı DNA konsantrasyonlarının sabit kalmamasından kaynaklanmaktadır. Bu durumda, real-time (eş zamanlı) PCR kullanılarak hedef lokusun hangi miktarlarda çoğaldığı gözlenebilmektedir.<sup>23</sup>

Karışım örneklerinde karşılaşılan en büyük sorunlardan biri de allel düşmesidir. Allel düşmesi, degrade olmuş ve/veya az miktarda DNA bulunan örneklerde görülebilmektedir.<sup>24,25</sup> Çalışmamızda, oluşturulan karışım örneklerinde 1:1, 1:3, 3:1, 1:5 ve 5:1 oranlarında allel düşmesi gözlenmemiştir. 1:10, 10:1, 1:20 ve 20:1 oranlarında sadece belirli lokuslarda sırasıyla 6, 2, 11 ve 4 allel düşmesi gözlenmiştir (Tablo 3). Minör katılımcı profillerinin gözlenen allel düşmesi; kullanılan kitin validasyonunda belirlenen dinamik alan 0,05-0,5 ng/ $\mu$ l aralığı dışında olan oranlarda (1:10 oranındaki minör katılımcı DNA konsantrasyonu: 0,02 ng/ $\mu$ l ve 1:20 oranındaki minör katılımcı DNA konsantrasyonu: 0,01 ng/ $\mu$ l) minör katılımcılarda allel düşmesi beklenen bir sonuçtur. 1:50 ve 50:1 oranlarında minör katılımcılara ait alleller saptanmamıştır. Bu durumda herhangi bir karışım örneğinin varlığından söz etmek mümkün değildir. Bu orandaki karışım örneklerinde sadece majör profil elde edilebilmiştir. Allel düşmesinin sebebi minör katılımcının DNA konsantrasyonunun (0,004 ng/ $\mu$ l) çok düşük olmasından ve dinamik alan dışında kalmasından kaynaklanmaktadır. Haned ve ark.'nın 2015 yılında yaptıkları çalışmada; genotiplerinin bilindiği üç, dört ve beş kişiden oluşan farklı oranlarda hazırlanmış toplamda 252 karışım örneği analiz edilmiştir. Bu karışım örneklerinde allel düşmesi ve stokastik etkilerin hesaba katıldığı Forensim'in LRmix modülü kullanılarak hesap yapmışlardır. Altın standart olarak adlandırdıkları modülün en büyük özelliğinin allel kaybının (droup-out) göz

önünde bulundurarak olasılık oranını hesaplanmasının yargı için adil ve konseptif olduğunu bildirmişlerdir.<sup>6,11</sup> Çalışmamızda **Tablo 3**'te görüldüğü gibi, allel düşmesi olabilirlik oranı değeri ile ters orantılıdır. Allel düşmesinin fazla olduğu karışım örneklerinde (1:20,1:10 gibi) LR değeri daha düşüktür. Forensim LRmix™ modülü ile yapılan istatistiksel değerlendirmede daha çok allel düşmesi gözlenen düşük DNA konsantrasyonlarında daha düşük LR değerleri elde edilmiştir. Farklı sayıda allel düşmesi görülen karışım oranlarında birbirinden farklı LR değerlerinin elde edilmesi de beklenen bir durumdur. Düşen allel sayısının artması ile olası allel düşmesi aralığının değeri de doğru orantılı olarak yükselmektedir. Bunun nedeni, bu allellerin gen sıklıklarının hesaba katılmamasından kaynaklanmaktadır. Tam profil elde edilen karışım oranlarında (1:1, 1:3, 3:1, 1:5 ve 5:1) belirlenen olası allel düşmesi aralığı ve hesaplanan LR değerleri birbirinin aynısıdır (**Tablo 3**).

ISFG tarafından, olasılık oranını (LR) kullanarak kanıtın değerini ortaya koymak için hesaplama yapılması gerektiği önerilmektedir.<sup>26</sup> EuroforGenoE'nin 18 farklı laboratuvar katılımı ile karışım analizinde ve hesaplanmasında LRmix programının kullanıldığı çalışmada; DNA karışımların yorumlanması yalnızca "yanıt" vermek için bazı yazılımlar kullanmaktan ibaret olmadığını, bir davanın değerlendirilmesi bir suçun şartlarının göz önünde bulundurulmasıyla başladığını, karışımı oluşturan kişilerin sayıları hakkında yapılan varsayımlar, kısmi profillerin varlığında savunma hipotezleri arasındaki farklılıkların olabileceğini göstermişlerdir.<sup>27</sup> Forensim LRmix™ modülünün, LR değerinin hesaplanması dışında diğer bir önemli fonksiyonu da performans testidir. Bu test, karışım örneğinde bulunan katılımcıların yerine geçebilecek olan ve aynı popülasyonda bulunan bireylerin olabilirlik oranını log10 tabanında verebilmektedir. Diğer bir deyişle, aynı popülasyonda bulunan rastgele 100 kişinin, karışımı oluşturan katılımcıların yerine geçme olasılığını göstermektedir. Rastgele bireyler oluşturulurken modülde ilgili popülasyonun verisi kullanılmaktadır. Bu değer, hipotez değerlendirmesi sonucu elde edilen değere uzak olması, elde edilen değerlerin güvenilirliğini gös-

termektedir. **Tablo 3**'te 1:1 oranındaki karışımın LR değeri ve performans değerinin arasındaki fark son derece yüksektir. Fakat 1:20 oranındaki minör katılımcıda 11 allel düşmesi gözlemlendiğinden, LR değeri düşüktür ve performans testi sonucuna da nispeten yakındır. Forensim LRmix™ modülünün performans testi sonucu, Avrupa mahkemelerinde karışım DNA örneği içeren delillerin raporlanmasında kullanılmaktadır.<sup>27</sup> Performans testi raporlarını iken, 1:1 oranındaki karışım örneği için kullanılan ifade şu şekildedir: **"Delil profilinin, şüpheli profiline ait olma olasılığı, aynı popülasyon içerisinde seçilen herhangi bir kişinin profiline göre 4020000000000000 kez daha olasıdır. Aynı toplum içerisinde rastgele seçilen 100 kişinin şüpheli profiline sahip olması 10<sup>10</sup> ve 10<sup>32</sup> kez daha az olasıdır."**

## SONUÇ

Olay yerinde ve vaka dosyalarında sıklıkla rastlanılan karışım örneklerinin yorumlanmasında her laboratuvar; uygulamış olduğu yöntemin analiz eşiği, dinamik alan, stokastik eşik gibi validasyon parametrelerini belirlemelidir. Bununla birlikte, sonucu yanlış etkileyebilecek stutter pik, allel düşmesi ve pull-up gibi istenmeyen durumların önüne geçmek için analizlerin tekrar edilmesi gerekmektedir. Olabilirlik oranı (LR) Avrupa laboratuvarları tarafından kullanılan ve karışım örnekleri değerlendirilirken gözlenen stutter pikleri ve allel düşmesi gibi parametreleri dikkate alan konservatif bir yöntemdir.<sup>26,27</sup>

Bu çalışmada, olabilirlik oranı yaklaşımı ve Forensim LRmix™ uygulaması kullanılarak karışım örneklerinde doğru bir DNA analizi yapılabildiği belirlenmiştir. Bu yaklaşımın diğer istatistiksel yöntemlerden farkı, delil profilinin hem mağdur hem de şüpheli tarafından değerlendirilebilmesidir. Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de karışım örneklerinin yorumlanmasında hem delilin gücünü ortaya koymak hem de objektif bir şekilde değerlendirme yapabilmek için istatistiksel tahmin yöntemlerini kullanmak ve hâkim, savcı, avukat gibi adli yargıda bulunan görevlilere basit ve anlaşılır ifadeler kullanarak aktarmak gerekmektedir.

## Finansal Kaynak

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından (Proje No: 28881) desteklenmiştir.

## Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

## Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu; **Tasarım:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu, Özlem Bülbül; **Denetleme/Danışmanlık:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Tolga Zorlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Tolga Zorlu, Özlem Bülbül, Gönül Filoğlu; **Kaynak Taraması:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu, Özlem Bülbül; **Makalenin Yazımı:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu, Özlem Bülbül; **Eleştirel İnceleme:** Gönül Filoğlu, Özlem Bülbül; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu; **Malzemeler:** Tolga Zorlu, Gönül Filoğlu.

## KAYNAKLAR

1. Evett IW. Analysis of DNA multilocus profiles in a paternity case in which the child's profile may be partial. *J Forensic Sci Soc.* 1990;30(5):293-7. [Crossref]
2. Gill P, Sparkes R, Pinchin R, Clayton T, Whitaker J, Buckleton J. Interpreting simple STR mixtures using allele peak areas. *Forensic Sci Int.* 1998;91(1):41-53. [Crossref]
3. Butler JM. Short tandem repeat typing technologies used in human identity testing. *Biotechniques.* 2007;43(4):ii-v. [Crossref]
4. Gill P. The utility of 'substrate controls' in relation to 'contamination'. *Forensic Sci Int.* 1997;85(2):105-11. [Crossref]
5. Gill P, Brenner CH, Buckleton JS, Carracedo A, Krawczak M, Mayr WR, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the interpretation of mixtures. *Forensic Sci Int.* 2006;160(2-3):90-101. [Crossref] [PubMed]
6. Haned H, Pene L, Sauvage F, Pontier D. The predictive value of the maximum likelihood estimator of the number of contributors to a DNA mixture. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(4):281-4. [Crossref] [PubMed]
7. Haned H. Forensim: an open-source initiative for the evaluation of statistical methods in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(4):265-8. [Crossref] [PubMed]
8. Swaminathan H, Qureshi MO, Grgicak CM, Duffy K, Lun DS. Four model variants within a continuous forensic DNA mixture interpretation framework: effects on evidential inference and reporting. *PLoS One.* 2018;13(11): e0207599. [Crossref] [PubMed] [PMC]
9. Bieber FR, Buckleton JS, Budowle B, Butler JM, Coble MD. Evaluation of forensic DNA mixture evidence: protocol for evaluation, interpretation, and statistical calculations using the combined probability of inclusion. *BMC Genet.* 2016;17(1):125. [Crossref] [PubMed] [PMC]
10. Budowle B, Onorato AJ, Callaghan TF, Della Manna A, Gross AM, Guerrieri RA, et al. Mixture interpretation: defining the relevant features for guidelines for the assessment of mixed DNA profiles in forensic casework. *J Forensic Sci.* 2009;54(4):810-21. [Crossref] [PubMed]
11. Haned H, Benschop CCG, Gill PD, Sijen T. Complex DNA mixture analysis in a forensic context: evaluating the probative value using a likelihood ratio model. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;16:17-25. [Crossref] [PubMed]
12. Methods SWGoDA. SWGDAM Interpretation Guidelines for Autosomal STR Typing by Forensic DNA Testing Laboratories; 2017. p.28.
13. Scientific TF. GeneMapper® ID-X Software Version 1.1 (Mixture Analysis Tool); 2008.
14. Clayton D. On inferring presence of an individual in a mixture: a Bayesian approach. *Biostatistics.* 2010;11(4):661-73. [Crossref] [PubMed] [PMC]
15. Collins PJ, Hennessy LK, Leibelt CS, Roby RK, Reeder DJ, Foxall PA. Developmental validation of a single-tube amplification of the 13 CODIS STR loci, D2S1338, D19S433, and amelogenin: the AmpFISTR Identifier PCR Amplification Kit. *J Forensic Sci.* 2004;49(6): 1265-77. [Crossref] [PubMed]
16. Malkoc E, Neuteboom W. The current status of forensic science laboratory accreditation in Europe. *Forensic Sci Int.* 2007;167(2-3):121-6. [Crossref] [PubMed]
17. Szibor R, Edelmann J, Hering S, Plate I, Wittig H, Roewer L, et al. Cell line DNA typing in forensic genetics--the necessity of reliable standards. *Forensic Sci Int.* 2003;138(1-3):37-43. [Crossref] [PubMed]
18. Gill P, Brown RM, Fairley M, Lee L, Smyth M, Simpson N, et al. National recommendations of the Technical UK DNA working group on mixture interpretation for the NDNAD and for court going purposes. *Forensic Sci Int Genet.* 2008;2(1):76-82. [Crossref] [PubMed]
19. Bright JA, Turkington J, Buckleton J. Examination of the variability in mixed DNA profile parameters for the Identifier multiplex. *Forensic Sci Int Genet.* 2010;4(2):111-4. [Crossref] [PubMed]
20. Manabe S, Mori Y, Kawai C, Ozeki M, Tamaki K. Mixture interpretation: experimental and simulated reevaluation of qualitative analysis. *Leg Med (Tokyo).* 2013;15(2):66-71. [Crossref] [PubMed]
21. Walsh PS, Fildes NJ, Reynolds R. Sequence analysis and characterization of stutter products at the tetranucleotide repeat locus vWA. *Nucleic Acids Res.* 1996;24(14):2807-12. [Crossref] [PubMed] [PMC]
22. Leclair B, Frégeau CJ, Bowen KL, Fournay RM. Systematic analysis of stutter percentages and allele peak height and peak area ratios at heterozygous STR loci for forensic casework and database samples. *J Forensic Sci.* 2004;49(5):968-80. [Crossref] [PubMed]
23. Alonso A, Martín P, Albarrán C, García P, García O, de Simón LF, et al. Real-time PCR designs to estimate nuclear and mitochondrial DNA copy number in forensic and ancient DNA studies. *Forensic Sci Int.* 2004;139(2-3):141-9. [Crossref] [PubMed]
24. Van Nieuwerburgh F, Goetghebeur E, Vandewoestyne M, Deforce D. Impact of allelic dropout on evidential value of forensic DNA profiles using RMNE. *Bioinformatics.* 2009;25(2):225-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
25. Tvedebrink T, Eriksen PS, Mogensen HS, Morling N. Estimating the probability of allelic dropout of STR alleles in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2009;3(3-4):222-6. [Crossref] [PubMed]
26. Gill P, Gusmão L, Haned H, Mayr WR, Morling N, Parson W, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: recommendations on the evaluation of STR typing results that may include drop-out and/or drop-in using probabilistic methods. *Forensic Sci Int Genet.* 2012;6(6):679-88. [Crossref] [PubMed] [PMC]
27. Prieto L, Haned H, Mosquera A, Crespillo M, Alemañ M, Aler M, et al. EuroforGen-NoE collaborative exercise on LRmix to demonstrate standardization of the interpretation of complex DNA profiles. *Forensic Sci Int Genet.* 2014;9:47-54. [Crossref] [PubMed]