

ÜLKEMİZDE DNA ANALİZİ (HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG VE GC LOKUSLARI) İLE DEĞERLENDİRİLEN İLK PATERNİTE OLGULARI

Introduction of DNA-based paternity determinations in Turkey

Burçak VURAL*, Eyüp ATLIOĞLU**, Uğur ÖZBEK*, Sevim BÜYÜKDEVRİM*, Özdemir KOLUSAYIN***, ****, Tayfun ÖZÇELİK*, *****

Vural B, Atlıoğlu E, Özbek U, Büyükdevrim S, Kolusayın Ö, Özçelik T. Ülkemizde DNA analizi (HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG ve GC lokusları) ile değerlendirilen ilk paternite olguları. Adli Tıp Bülteni, 2002; 7 (1): 5-13.

ÖZET

Moleküler genetiğin son yıllarda gösterdiği hızlı gelişim, babalık tayini davalarında kullanılan benzemezlik testleri arasında DNA analizinin de girmesine yol açmıştır. Bu test diğer benzemezlik testleri ile karşılaştırıldığında, ayırım gücü en yüksek olanıdır. Adli amaçlı DNA analizlerinin ülkemizde kullanımını için Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü ve Adli Tıp Kurumu 1993 yılı Mart ayından itibaren ortaklaşa bir çalışma başlatıldı. Bu çalışmanın kapsamında babalığın belirlenmesini amaçlayan benzemezlik testleri arasında DNA analizi eklendi. Söz konusu DNA analizi için Türk toplumunda allel ve genotip frekansları belirlenmiş olan altı genomik lokus seçildi. Bunlar HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarıdır. Genotip ve fenotip incelemeleri birlikte yürütülen 96 dosyanın 26'sında baba olduğu iddia olunan davalı dışlandı. Bu 26 dosyanın 12 tanesinde babalığın reddi yalnız DNA analizi ile mümkün oldu. Fenotip incelemesi ile babalığın reddi mümkün olmayan dosyaların üç tanesinde ilgili baba adaylarının baba olma olasılıkları yalnız fenotip testleri göz önüne alındığında % 99.90, % 99.87 ve % 99.82 olarak hesaplanmış olmasına rağmen DNA analizinin kullanımı ile bu kişiler dışlandı. DNA ve fenotip analizleri ile baba adayının dışlanamadığı diğer 70 dosyanın 68'inde ise baba olma olasılığı %99.73 ve üzerinde bulundu. Bu sonuçlar babalığın belirlenmesi için kullanılan benzemezlik testleri arasında DNA analizlerinin kullanımının gerekliliğini gündeme getirdi.

Anahtar kelimeler: DNA analizi, babalık tayini, PCR,

HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC

SUMMARY

DNA analysis for paternity determination has been in use since March 1993 in Turkey. This was accomplished with the collaboration of Istanbul University, Institute for Experimental Medicine (DETAM) and Council of Forensic Medicine, Ministry of Justice. The allele and genotype frequencies of six genomic loci (HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 and GC) have been determined in the Turkish population. These six polymorphic loci were used in the analysis of 96 cases of disputed paternity. In 26 of these 96 cases, the putative father was excluded. In 12 of these 26 cases, exclusion was possible by DNA analysis alone. It is striking that in three of these DNA-based exclusions, phenotype analysis alone resulted in attribution of the paternity with 99.90 %, 99.87 % and 99.82% certainty. In the remaining 70 cases for whom paternity could not be excluded either by DNA or phenotype analyses, paternity index values were determined. Attribution of the paternity was done with over 99.73 % certainty in 68 cases.

Key words: DNA analysis, paternity, PCR, HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, GC

GİRİŞ

Günümüzde, babalığın belirlenmesinde kullanılan benzemezlik testleri fenotip ve genotip incelemeleri ola-

* İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

** Adalet Bakanlığı, Adli Tıp Kurumu, İstanbul, Türkiye

*** İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

**** Bilkent Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ankara, Türkiye

rak ikiye ayrılmaktadır. Fenotip incelemelerinde kan grubu sistemleri, serum proteinleri, enzim allotipleri ve lökosit antijenleri (1,2); genotip incelemelerinde DNA polimorfizmleri kullanılmaktadır (3, 4). DNA polimorfizmi terimi DNA molekülünün yapısında bulunan nükleik asitlerin kişiler arasında normalde olabilen dizilim farklılığını ifade etmektedir. Bu polimorfik DNA dizileri "DNA profili" ve/veya "DNA parmakizi" tayini metodları ile belirlenebilmektedir. DNA profili tayini için seçilen nükleik asit probu genomda tek bir lokusun allelleri belirlerken, DNA parmakizi tayini için kullanılan nükleik asit probu aynı anda birden fazla genomik lokusun allelleri hakkında bilgi vermektedir (2). Babalığın belirlenmesinde kullanılan bir benzemezlik testinin ayırım gücü, o testin dışlama olasılığı ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Tablo 1'de de görüldüğü gibi benzemezlik testleri içinde dışlama olasılığı en yüksek olanı genotip incelemesi testleri yani DNA analizidir. Dışlama olasılığı insan lökosit antijen sistemleri (HLA) hariç diğer fenotip inceleme testleri için tek başına ele alındığında % 1-20 gibi düşük değerlerde seyretmekte, değerlendirme kümülatif olarak yapıldığında ise ancak % 91.6 seviyesine ulaşılabilir. Dışlama olasılığı HLA-antijenleri için tek başına % 95, diğer fenotip inceleme testleri ile kümülatif olarak ise % 99.58 değeri civarındadır. Halbuki bu oran yalnız başına genotip inceleme testlerinde % 99'un üzerine çıkmakta, DNA profili tayini için kullanılan altı polimorfik lokus için ise yaklaşık % 99.97 olmaktadır. Bu dışlama olasılığı değerlerindeki ortaya koyduğu gibi, günümüzde var olan benzemezlik testleri içinde en güçlü olanı DNA analizidir. Bunun nedeni polimorfizm'lere en fazla olarak DNA molekülünde rastlanılmasıdır. İşte bu polimorfik DNA dizilerinin analizine dayanan genotip incelemeleri 1980'li yılların ikinci yarısından başlayarak bazı ülkelerde Adli Tıp alanında uygulamaya girmiştir (2,3,4).

Türkiye'de DNA'ya bağlı kimlik belirleme teknolojinin adli tıp ve özellikle babalık tayini alanında uygulamaya girmesi için bu çalışma başlatıldı. Bu amaçla, ilk olarak altı farklı genomik lokusun allel ve genotip frekanslarını Türk toplumunda belirlendi (5,6,7). Bunlar insan lökosit antijeni DQ a (HLADQ A1) (8, 9), düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLR) (10), glikoforin (GYPA) (11), hemogloblin G gammaglobin (HBGG) (12), D7S8 (13) ve gruba özgü bileşen (GC) (14) lokuslarıdır. Mart 1993'den Kasım 1995'e kadar Adli Tıp Kuru-

mu ile ortaklaşa 96 babalık tayini dosyası üzerinde çalışıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

96 babalık tayini dosyası kapsamında Türkiye'nin değişik bölgelerinden gelen toplam 294 bireye ait kan örneği incelendi. Adli Tıp Kurumu tarafından yürütülen fenotip incelemelerinde klasik hemogenetik metodları kullanılarak, kırmızı kan hücreleri antijenleri (ABO, RH, MNS, KEL, FY, JK) ve enzimleri (AK1, PGM1, ESD, GLO1, EAP/ACP1) ile serum proteinleri (GC, TF) saptandı (1, 2).

Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı'nda yürütülen DNA analizleri için ilgili kişilerden 1-10 ml. kan örnekleri vakumlu ve EDTA'lı tüpler içine alındı ve proteinazK-tuzla çöktürme metodu ile DNA izole edildi (15). Bu DNA izolasyon metodu ile, ilk önce kırmızı kan hücreleri parçalanmakta (+4°C de 30 dak), daha sonra örnek santrifuj edilerek (1500 rpm de 10 dak) beyaz hücreleri elde edilmektedir. Beyaz hücreler, SDS(sodium dodesil sülfat) ve proteinaz K ile bir gece boyunca 56°C de inkube edilerek membranlar parçalanmakta ve proteinler degrade edilmektedir. İnkübasyon sonrası proteinler amonyum asetat çözeltisi ile çöktürülmektedir (3000 rpm de 25 dak santrifuj). Üst faz temiz tüpe aktarılarak, üzerine absölu alkol eklenip, DNA elde edilmektedir. % 70 lik alkol ile yıkanan DNA örnekleri TE (tris-EDTA) içinde saklandı (+4°C).

DNA örneklerinin saflığı spektrofotometrede (Jasco-7800, UV/VIS), 260-280 nm dalga boyundaki değerler ölçülerek saptandı. 260/280 nm değerleri 1.8±1 olan örnekler polimeraz zincir reaksiyonu için kullanıldı. 1.8±1 değerinin altında olan örneklerden tekrar DNA izolasyonu yapılarak DNA lar saflaştırıldı. Ölçümleri yapılan DNA örneklerinin konsantrasyonları (mg/ml) hesaplandı. Hesaplamalar, A 260 x Seyreltme katsayısı x DNA sabiti (çift zincirli DNA için bu sabit 50 dir) = mg/ml formülü ile yapıldı.

Saflığı ve konsantrasyonu (yaklaşık 100 nanogram) hedeflenen düzeyde olduğu saptanan DNA örneklerinde HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarına ait alleller polimeraz zincirleme reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. Allellerin tayini için ters dot blot tekniği kullanıldı. Bunun için naylon membranlar üzerinde sabitleştirilmiş allel spesifik oligonükleotid (ASO) problemleri ile PCR ürünü DNA fragmanlarının hibridizas-

Tablo 1: Babalık belirlemede kullanılan benzemezlilik testlerinin sınıflaması ve dışlama olasılıkları.

Grup a:	I. Fenotip inceleme testleri	Dışlama Olasılığı (%)	
	Kan Grubu Sistemleri	Tek başına	Kümülatif
	ABO	16	
	MNS	13	26.9
	RH	16	38.6
	KEL	4	41.1
	P1	3	42.8
	FY	6	46.3
	JK	6	49.5
	LU	3	51.0
	XG	1	51.5
Grup b:	Serum proteinleri ve enzim allotipleri		
	FUT2	2	52.5
	EAP/ACP1	13	58.6
	AK1	3	59.9
	ADA	5	61.9
	PGD	3	63.0
	PGM1	20	70.4
	GPT	6	72.2
	ESD	7	74.1
	GLO1	7	76.0
	HP	7	77.6
	GC	18	81.7
	IGHG1 + IGHG3 (Gm)	20	83.7
	IGKC (Km)	6	84.7
	C3	8	85.9
	BF	8	87.0
	TF	13	88.7
	P1	18	90.7
	PLG	9	91.6
Grup c:	HLA Antijenleri		
	HLA-A+B+C, HLA-DR+DQ	95	99.58
Grup d:	II. Genotip inceleme (DNA) testleri	Dışlama Olasılığı (%)	
	DNA parmakizi multilokus problemleri	Tek başına	Kümülatif
	Jeffrey 33.6 ve 33.15	>99	>99
Grup e:	DNA profili tek lokus problemleri		
	Altılı sistem		
	HLADQA1, LDLR, GYPA,		
	HBGG, D7S8, GC	>99	>99

İsmlendirmede kullanılan nomenklatür “Human Gene Mapping Nomenclature Committee” den (4, 19); dışlama olasılıkları Grunbaum ve ark. ilgili makalesinden (1) alınmıştır.

yonu yapıldı. PCR amplifikasyonu ve genotipleme için Perkin Elmer firmasına ait iki kit (N808-0056 ve N808-0057) kullanıldı. Amplifikasyon reaksiyonları için Perkin-Elmer Thermal Cycler 480 kullanıldı.

PCR amplifikasyonunda, bir PCR karışımı, 20 ml ddH₂O; 40 ml PCR karışımı (biyotin işaretli altı çift primerler, AmpliTaq DNA polimeraz, dATP, dGTP, dCTP, dTTP, reaksiyon solusyonu ve tuzunu içeren hazır bir kit karışımı); 40 ml MgCl₂ ve 0.1 ng-2 ng/ml DNA içermektedir. Kullanılan PCR koşulları ise, 94°C de 60 sn denatürasyon, 60°C de 30 sn bağlanma, 72°C de 30 sn uzama olmak üzere 32 döngü ve daha sonra 94°C de 60 sn denatürasyon, 60°C de 30 sn bağlanma, 72°C de 7 dak uzama olmak üzere 1 döngüdür.

Perkin Elmer firmasına ait iki kiti (N808-0056 ve N808-0057) yapılan, allel spesifik oligonükleotid (ASO) problemleri ile PCR ürünü DNA fragmanlarının hibridizasyonu işlemi, (1) çoğaltılmış DNA örneklerinin membran üzerindeki DNA problemlerine hibridizasyonu, (2) hibridize olmuş PCR ürünlerinin HRP-SA'nın (horseradish peroxidase-streptavidin-enzim konjugatı) bağlanması, (3) membranlar üzerine bağlı, spesifik olarak hibridize olmayan PCR ürünlerinin uzaklaştırılması için yıkama işlemini içine almaktadır. HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarının allellere ait problemleri taşıyan membranlar, üzerine hibridizasyon çözeltisi eklenerek, 95°C de denatüre edilmiş PCR ürünleri ile hibridize edildi (55°C). Daha sonra membranlar, yıkama solusyonları ile yıkandıktan sonra HRP-SA enzim konjugatı ile eklendi. Membranlar tekrar yıkandıktan sonra renk gelişim çözeltisi ile örneklerin görüntülenmesi gerçekleştirildi.

BULGULAR

HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarının allel ve genotip frekansları aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 360 kişi (720 allel) üzerinde belirlendi (5,6,7). Buna bağlı olarak 1993 yılı Mart ayından 1995 yılı Kasım ayına kadar Türkiye'nin değişik bölgelerindeki mahkemelerden gönderilen 96 babalık davası dosyasında DNA analizi sonuçlarını fenotip analizi sonuçları ile birlikte değerlendirildi ve kombine paternite indeksi ile baba olma olasılıklarını hesaplandı. Burada kullanılan formüller Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Bakanlığı'nın ilgili kitabından alındı (16).

Bu dosyaların sonuçları Tablo 2A, 2B ve 2C'de ayrıntılı olarak verilmektedir. Toplam 96 dosyanın 26'sında

(% 14.5) iddia olunan baba adayı dışlanmaktadır (Grup I ve II). Bu dosyaların 12'sinde iddia olunan baba adayını yalnız DNA incelemesi sonuçları ile dışlanmaktadır (tüm dosyaların %12.5'i; dışlanan dosyaların % 48.1'i); geriye kalan 14 dosyada ise iddia olunan baba adayını DNA incelemesinin yanında fenotip incelemesi ile de dışlandı (tüm dosyaların % 14.5'i; dışlanan dosyaların % 55.7'si) (Tablo 2A).

İddia olunan baba adayının DNA ve fenotip analizi ile dışlanmadığı dosyalar üç gruba ayrıldı. Bunlar: a) Grup III: Baba olma olasılığı DNA + fenotip için >99.73, yalnız fenotip için <99.73 olan dosyalardır. 52 adettir ve tüm dosyaların % 54.2'sini oluşturmaktadır. b) Grup IV: Baba olma olasılığı DNA + fenotip için >99.73, yalnız fenotip için >99.73 olan dosyalardır. 16 adettir ve tüm dosyaların % 16.7'sini oluşturmaktadır. c) Grup V: Baba olma olasılığı DNA + fenotip için <99.73, iki adettir ve tüm dosyaların % 2.1'ini oluşturmaktadır (Tablo 2B ve 2C).

TARTIŞMA

Bu çalışmanın kapsamında ülkemizde ilk kez HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarının DNA analizleri Adli Tıp alanında kullanılmaya başlandı ve incelenmesi tamamlanan 96 babalık tayini dosyasında elde edilen sonuçlar adli mercilerin değerlendirmesine sunuldu. Fenotip ve DNA incelemelerinin birlikte yürütüldüğü babalık tayini dosyalarının 26'sında (%27) iddia olunan baba adayını çeşitli benzemezlik testleri ile dışlandı. Bu dosyaların 12 tanesinde (% 12.5) dışlama yalnız DNA analizi ile mümkün oldu. Fenotip analizleri tek başına değerlendirildiğinde ise dışlanan dosya sayısının 14 adet olduğu, baba adayının dışlandığı dosya oranının % 27'den % 14.5'e düştüğü görüldü. Bu sonuçlar DNA analizi yapılmayan dosyaların % 12.5'inde iddia olunan baba adayının dışlanmadığını göstermektedir.

Yargıtay İkinci Hukuk Dairesi'nin 1993 yılında verdiği iki hüküm (17,18) sonucunda babalık davaları ile ilgili bozma kararları alınmaktadır. Bu hükümler babalık davaları, irs ve ilişkilerinin kuşkuya yer bırakmayacak nisbette açığa çıkarılması halinde kabul edilebileceğini ve bu konu için ilgili benzemezlik testlerinin yapılmasının gerekliliğini belirtmektedir. Yargıtay Hukuk Dairesinde daha önce görülen bir başka babalık davasında da benzer bir bozma kararı alınmıştır. Bu bozma kararına göre; da-

Tablo 2A: Babalık belirlenmesi için yapılan genotip ve fenotip incelemelerinin sonuçları.

Dosya Numarası	Kişiler	Fenotipler	Fenotip Sonuçları	DNA Lokusları	Fenotip + DNA Sonuçları
Grup I: <i>Yalnız DNA incelemesi ile baba adayının dışlandığı dosyalar</i>					
(n= 12; %12.5)					
1) ADLT41	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.87	+ (1-6)	Red (1)
2) ADLT67	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.90	+ (1-6)	Red (1)
3) ADLT62	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%94.44	+ (1-6)	Red (1)
4) ADLT77	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.99	+ (1-6)	Red (1, 5)
5) ADLT79	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.04	+ (1-6)	Red (1)
6) ADLT81	İBA1,2, A, Ç	+ (a,b,c)	%92.3İBA1, %85.2İBA2	+ (1-6)	Red İBA1%99.31İBA2
7) ADLT97	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.08	+ (1-6)	Red (1)
8) ADLT106	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%90.91	+ (1-6)	Red (1, 5)
9) ADLT131	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.04İBA1, %99.04İBA2	+ (1-6)	Red İBA1%99.77İBA2
10) ADLT136	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.82	+ (1-6)	Red (2)
11) ADLT179	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%93.07	+ (1-6)	Red (1, 2, 6)
12) ADLT189	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%58.62	+ (1-6)	Red (3, 4)
Grup II: <i>DNA + Fenotip incelemesi ile baba adayının dışlandığı dosyalar</i>					
(n= 14; %14.5)					
13) ADLT34	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a)	+ (1-6)	Red (1)
14) ADLT51	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a, b)	+ (1-6)	Red (3, 5)
15) ADLT54	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (b)	+ (1-6)	Red (6)
16) ADLT72	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (b)	+ (1-6)	Red (1, 2, 3, 4)
17) ADLT76	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (b)	+ (1-6)	Red (5)
18) ADLT86	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (c)	+ (1-6)	Red (4)
19) ADLT89	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a, b)	+ (1-6)	Red (6)
20) ADLT114	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a, c)	+ (1-6)	Red (2)
21) ADLT120	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a)	+ (1-6)	Red (3, 4)
22) ADLT121	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a, c)	+ (1-6)	Red (1)
23) ADLT130	İBA, A, Ç1,Ç2	+ (a,b,c)	Red (Ç1-a, Ç2-a)	+ (1-6)	Red (Ç1-1; Ç2-1,2,3,4)
24) ADLT181	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a)	+ (1-6)	Red (5)
25) ADLT194	İBA, A, Ç1,Ç2	+ (a,b,c)	Red (Ç2-a)	+ (1-6)	Red (Ç2-1)
26) ADLT211	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	Red (a, b)	+ (1-6)	Red (3)

İBA: İddia olunan baba adayı; **A:** Anne; **Ç:** Çocuk; **%:** Baba olma olasılığı; **a:** Alyuvar antijenleri; **b:** Eritrosit enzimleri; **c:** Serum proteinleri; DNA lokus 1: HLADQA1, 2: LDLR, 3: GYPA, 4: HBGG, 5: D7S8, 6: GC; **n=** dosya sayısı.

vacı, çocuk ve davalının öncelikli olarak fenotip incelemelerine dayanan benzemezlik testlerinin mutlaka yapılması gerektiği belirtilmiş, baba olduğu iddia olunan kişinin % 99.73 oranından daha az olasılıkla baba olabileceği belirlenmiş ise, ek fenotip testleri ile sonuca gidilmesi-

nin gerekliliği vurgulanmış, yine de aynı oranda bir sonuç elde edilemiyor ise DNA tiplmesi yapılması imkanının araştırılması ön görülmüştür. Davalının baba olmayacağı olasılığının tamamen kaldırılıp delillerin hep birlikte takdirinin gerekeceği sonucuna varılmıştır (19).

Tablo 2B: Babalık belirlenmesi için yapılan genotip ve fenotip incelemelerinin sonuçları.

Dosya Numarası	Kişiler	Fenotipler	Fenotip Sonuçları	DNA Lokusları	Fenotip + DNA Sonuçları
Grup III: Baba adayının dışlanamadığı dosyalar I					
(n=52; %54.2) (DNA+fenotip: >%99.73; yalnız fenotip: <%99.73)					
27) ADLT18	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%96.84	+ (1-6)	%99.73
28) ADLT43	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.56	+ (1-6)	%99.96
29) ADLT45	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.53	+ (1-6)	%99.94
30) ADLT46	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.58	+ (1-6)	%99.98
31) ADLT47	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%90.97	+ (1-6)	%99.79
32) ADLT53	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.36	+ (1-6)	%99.94
33) ADLT55	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.59	+ (1-6)	%99.88
34) ADLT57	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.34	+ (1-6)	%99.78
35) ADLT59	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%96.87	+ (1-6)	%99.78
36) ADLT60	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.54	+ (1-6)	%99.98
37) ADLT61	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.42	+ (1-6)	%99.98
38) ADLT66	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.61	+ (1-6)	%99.81
39) ADLT73	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.56	+ (1-6)	%99.99
40) ADLT75	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.34	+ (1-6)	%99.84
41) ADLT78	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.49	+ (1-6)	%99.90
42) ADLT80	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.47	+ (1-6)	%99.99
43) ADLT82	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.80	+ (1-6)	%99.99
44) ADLT83	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.97	+ (1-6)	%99.95
45) ADLT87	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%95.53	+ (1-6)	%99.89
46) ADLT91	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.70	+ (1-6)	%99.93
47) ADLT92	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.84	+ (1-6)	%99.92
48) ADLT94	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.53	+ (1-6)	%99.74
49) ADLT101	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.60	+ (1-6)	%99.77
50) ADLT104	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%89.32	+ (1-6)	%99.99
51) ADLT122	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.60	+ (1-6)	%99.99
52) ADLT124	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.82	+ (1-6)	%99.89
53) ADLT126	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.37	+ (1-6)	%99.98
54) ADLT133	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.38	+ (1-6)	%99.98
55) ADLT138	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.75	+ (1-6)	%99.91
56) ADLT140	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%90.77	+ (1-6)	%99.97
57) ADLT142	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.71	+ (1-6)	%99.92
58) ADLT144	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%96.65	+ (1-6)	%99.88
59) ADLT145	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%92.79	+ (1-6)	%99.79
60) ADLT147	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.50	+ (1-6)	%99.98
61) ADLT150	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.77	+ (1-6)	%99.89
62) ADLT154	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.18	+ (1-6)	%99.97
63) ADLT156	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.36	+ (1-6)	%99.99
64) ADLT157	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.02	+ (1-6)	%99.95
65) ADLT160	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.52	+ (1-6)	%99.96

Dosya Numarası	Kişiler	Fenotipler	Fenotip Sonuçları	DNA Lokusları	Fenotip + DNA Sonuçları
66) ADLT162	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.61	+ (1-6)	%99.97
67) ADLT163	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%96.81	+ (1-6)	%99.73
68) ADLT166	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.42	+ (1-6)	%99.93
69) ADLT169	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%97.93	+ (1-6)	%99.82
70) ADLT170	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.54	+ (1-6)	%99.85
71) ADLT177	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%98.17	+ (1-6)	%99.94
72) ADLT187	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%96.26	+ (1-6)	%99.91
73) ADLT188	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%94.64	+ (1-6)	%99.79
74) ADLT190	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%90.37	+ (1-6)	%99.76
75) ADLT27	İBA, A, Ç1, 2	+ (a,b,c)	%95 Ç1; %98 Ç2	+ (1-6)	%99.95 Ç1;%99.95Ç2
76) ADLT65	İBA, A, Ç1, 2	+ (a,b,c)	%99.9 Ç1; %98.2	+ (1-6)	%99.99 Ç1;%99.96Ç2
77) ADLT118	İBA, A, Ç1, 2	+ (a,b,c)	%79.7 Ç1; %95.7	+ (1-6)	%99.93 Ç1;%99.99Ç2
78) ADLT194	İBA, A, Ç1, 2	+ (a,b,c)	%99.3 Ç1	+ (1-6)	%99.78 Ç1

İBA: İddia olunan baba adayı; **A:** Anne; **Ç:** Çocuk; **%:** Baba olma olasılığı; **a:** Alyuvar antijenleri; **b:** Eritrosit enzimleri; **c:** Serum proteinleri; DNA lokus 1: HLADQA1, 2: LDLR, 3: GYPA, 4: HBGG, 5: D7S8, 6: GC; **n**=dosya sayısı.

Biz de bu kararları dikkate alarak iddia olunan baba adayının yalnız DNA analizi ile dışlanabildiği 12 dosyada yalnız fenotip incelemelerine dayanan baba olma olasılıkları hesaplandı (Tablo 1). Her ne kadar dosyaların dokuz tanesinde 99.73 değerine ulaşamamakta, bu sonuç ise DNA analizini gerekli kılmaktaysa da diğer üç dosyadan elde edilen sonuçlar dikkat çekicidir. Şöyle ki, bu üç dosyada baba olma olasılığı değerleri % 99.90, % 99.87 ve % 99.82 olarak bulundu. 99.73 değerinin üzerinde olan bu üç değer iddia olunan baba adayının baba olma olasılığının adli makamlarca bir hükme bağlanmasını sağlayabilecek düzeydedir. Böyle bir sonuç adaletin yerine gelmemesinin mümkün olabileceğini ve benzemezlik testlerinin seçiminde dışlama olasılığı en yüksek olan sistemin kullanılmasının gerekliliğini göstermektedir. Buna dayanarak, fenotip analizleri ile iddia olunan baba adayının dışlanamadığı babalık davası dosyalarının tümünde, 99.73 değeri göz önüne alınmaksızın, DNA analizlerinin yapılmasını önermekteyiz. Özellikle bu üç dosyanın toplam dosyaların % 3.1'ini oluşturduğu göz önüne alınırsa, DNA analizlerinin gerekliliği daha iyi vurgulanmış olmaktadır.

İddia olunan baba adayının fenotip ve DNA analizi ile

dışlanamadığı 70 adet dosyada paternite indeksi ve baba olma olasılığı belirlendi. Her iki analiz metodunun birlikte değerlendirilmeye alınması ile yapılan hesaplamalarda dosyaların % 97'sinde 99.73 değerinin üzerine çıktığı görülmüşken; yalnız fenotip analizi sonuçları göz önüne alınarak yapılan hesaplamalarda dosyaların % 23'ünde 99.73 değerinin üzerine çıkılabilmektedir. Bu değerler de DNA analizlerinin gerekliliğini bir kez daha vurgulamaktadır.

İleri teknolojiye sahip ülkelerde yapılan babalık tayini incelemelerinde son yıllarda DNA analizleri benzemezlik testleri arasında ön plana çıkmış bulunmaktadır (20). Bu çalışmanın sonuçlarında babalık tayinlerinde ayırım gücünün mümkün olan en yüksek seviyeye çıkarılmasının gerekliliğini gösterildi ve ülkemizde yapılan babalık tayini davalarında DNA'ya bağlı benzemezlik testlerinin kullanımının gerekliliğini gündeme getirdi.

Bu çalışma ile, ülkemizde ilk kez HLADQA1, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8 ve GC lokuslarının DNA analizleri adli tıp alanında kullanılmaya başlandı. Bu ilk uygulamadan sonra, Adli Tıp Kurumu'nun sevk ve yönlendirmesi ile, DNA analizleri, Adli Tıp alanında son 7-8 yıldır değişik merkez ve birimlerde çalışılmaya ve rapor verilmeye başlandı.

Tablo 2C: Babalık belirlenmesi için yapılan genotip ve fenotip incelemelerinin sonuçları.

Dosya Numarası	Kişiler	Fenotipler	Fenotip Sonuçları	DNA Lokusları	Fenotip + DNA İncelemesi Sonuçları
Grup IV: Baba adayının dışlanamadığı dosyalar II (n=16; %16.7) (DNA + fenotip > %99.73; yalnız fenotip > %99.73)					
79) ADLT48	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.88	+ (1-6)	%99.98
80) ADLT49	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.91	+ (1-6)	%99.99
81) ADLT56	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.93	+ (1-6)	%99.99
82) ADLT68	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.84	+ (1-6)	%99.98
83) ADLT71	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.90	+ (1-6)	%99.99
84) ADLT84	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.74	+ (1-6)	%99.98
85) ADLT85	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.97	+ (1-6)	%99.99
86) ADLT88	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.93	+ (1-6)	%99.99
87) ADLT100	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.79	+ (1-6)	%99.97
88) ADLT113	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.94	+ (1-6)	%99.99
89) ADLT115	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.96	+ (1-6)	%99.99
90) ADLT125	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.92	+ (1-6)	%99.89
91) ADLT172	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.97	+ (1-6)	%99.99
92) ADLT180	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.99	+ (1-6)	%99.95
93) ADLT183	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.81	+ (1-6)	%99.99
94)ADLT192	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%99.93	+ (1-6)	%99.99
Grup V: Baba adayının dışlanamadığı dosyalar III (n=2; %2.1) (DNA + fenotip < %99.73; yalnız fenotip < %99.73)					
95) ADLT37	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%94.50	+ (1-6)	%99.54
96) ADLT40	İBA, A, Ç	+ (a,b,c)	%77.82	+ (1-6)	%99.58

İBA: İddia olunan baba adayı; A: Anne; Ç: Çocuk; %: Baba olma olasılığı; a: Alyuvar antijenleri; b: Eritrosit enzimleri; c: Serum proteinleri; DNA lokus 1: HLADQA1, 2: LDLR, 3: GYPA, 4: HBGG, 5: D7S8, 6: GC; n=dosya sayısı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Dünya Sağlık Örgütü (WHO - World Health Organisation) ve Birleşmiş Milletler Kalkınma Programı (UNDP - United Nations Development Program) tarafından sağlanan TUR/CLR/00/UNDP-TUR/86/012 numaralı proje ve beraberinde İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu ile TÜBİTAK - Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu'nun destekleriyle gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Grunbaum BW, Selvin S, Myhre BA, Pace N. Distribution of gene frequencies and discrimination probabilities for 22 human blood genetic systems in four racial groups. J Forensic Sci JFSCA, 1980;25:428-444.

2. Debenham PG. Review article: DNA fingerprinting. J Pathol, 1991;164:101-106.
3. Sajantila A and Budowle B. Individuals with DNA testing. Ann Med, 1991;23:637-642.
4. Lander ES and Budowle B. DNA fingerprinting dispute laid to rest. Nature, 1994;371:735-738.
5. Özçelik T, Vural B, Athoğlu E, Kulusayın Ö, Büyükdevrim S. HLA-DQA1 allel ve genotip frekanslarının Türk toplumunda dağılımı ve DNA'ya bağlı kimlik tespitinde kullanımı. Kurultay Özet kitabı. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi 12. Tıp Kurultayı, İstanbul, Türkiye, 1993.
6. Özçelik T, Vural B, Athoğlu E, Öztürk M, Kulusayın Ö, Büyükdevrim S. Altı farklı genomik lokusun allel ve genotip frekanslarının Türk toplumunda dağılımının DNA analizi ile saptanması ve tayininde kullanımı. Kongre özet

- kitabı. I. Adli Bilimler Kongresi 12-15 Nisan, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adana, Türkiye,1994;140.
7. Vural B, Atlıoğlu E, Kolusayın Ö, Togan İ, Büyükdevrim S, Özçelik T. Turkish population data on the HLA-Da, LDLR, GYPA, HBGG, D7S8, and GC loci. *Int J Legal Med*, 1998;111:(1):43-45.
 8. Gyllensten UB and Erlich HA. Generation of single stranded DNA by polymerase chain reaction and its application to direct sequencing of HLADQA1 locus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85:7652-7656.
 9. Helmuth R, Fildes N, Blake E, Luce MC, Chimera J, Madej R, Gorodezky C, Stoneking M, Schmill N, Klitz W, Higuchi R, and Erlich HA. HLA-DQa allele and genotype frequencies in various human populations determined by using enzymatic amplification and oligonucleotide probes. *Am J Hum Genet*, 1990;47:515-523.
 10. Yamamoto T, Davis CG, Brown MS, Schneider WJ, Casey ML, Goldstein JL and Russell DW. The human LDL receptor: A cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell*, 1984;39:27-38.
 11. Siebert PC and Fukuda M. Molecular cloning of a human glycoprotein B cDNA: nucleotide sequence and genomic relationship to glycoprotein A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987;84:6735-6739.
 12. Slightom JL, Blechl AE and Smithies O. Human fetal Gg and Ag globin genes: complete nucleotide sequences suggest that DNA can be exchanged between these duplicated genes. *Cell*, 1980;21:627-638.
 13. Horn GT, Richards B, Merrill JJ and Klinger KW. Characterization and rapid diagnostic analysis of DNA polymorphism closely linked to the cystic fibrosis locus. *Clin Chem*, 1990;36:1614-1619.
 14. Yang F, Brune JL, Naylor SL, Apples RL and Naberhaus KH. Human group specific component (GC) is member of the albumin family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 82: 7994 -7998.
 15. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis J. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 1989 2nd ed. Pp9.16-9.23, New York: Cold Spring Harbor Laboratory.
 16. *Paternity establishment (Third ed.)*. Department of Health and Human Services. Family Support Administration. Office of Child Support Enforcement. National Institute for Child Support Enforcement 1990.
 17. T.C. Yargıtay İkinci Hukuk Dairesi Bozma Kararı. Esas: 1993/8685; Karar: 9405;18 Ekim1993.
 18. T.C. Yargıtay İkinci Hukuk Dairesi Bozma Kararı. Esas: 1993/11751; Karar: 12275; 15 Aralık 1993.
 19. T.C. Yargıtay İkinci Hukuk Dairesi Bozma Kararı. 1992/9929; Karar: 10547; 30 Ekim 1992.
 20. Mayr WR, Brinkman B, Rand S. Paternity testing-Quo vadis? *Blood*, 1991;5:51-54.

Yazışma Adresi:

Prof. Dr. Tayfun ÖZÇELİK

Bilkent Üniversitesi, Biyoloji ve Genetik Bölümü

06533 - Ankara