



**TÜBİTAK – BİDEB
LİSE ÖĞRETMENLERİ –FİZİK, KİMYA, BİYOLOJİ, MATEMATİK-
PROJE DANIŞMANLIĞI EĞİTİMİ ÇALIŞTAYI
LİSE3 (Çalıştay 2013)**



**BIYOLOJİ
GRUP TUHAF**

**PROJE ÖNERİSİ ADI
TUHAF MATERYALLERDEN İZOLE EDİLEN DNA ÖRNEKLERİNİN ADLİ TIPTA KULLANIM ÖRNEKLERİ**

Proje Ekibi

DENİZ SARAÇOĞLU

ERSİN ÇELİKBAŞ

PROJE DANIŞMANLARI

Prof. Dr. Gürcan GÜLERYÜZ

Doç. Dr. Kemal Melih TAŞKIN

**ÇANAKKALE
02-10 Şubat 2013**

PROJENİN AMACI

- İnsanın temas ettiği materyallerde iz bıraktığını tespit etmek.
- Bazı maddelerden DNA izolasyon yöntemleri kullanılarak DNA elde etmek.
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemini uygulayarak DNA' yı çoğaltmak.

GİRİŞ

Adli alanda DNA analizi ile kimlik tespiti tüm dünyada ve buna paralel olarak ülkemizde de uygulanmaktadır.

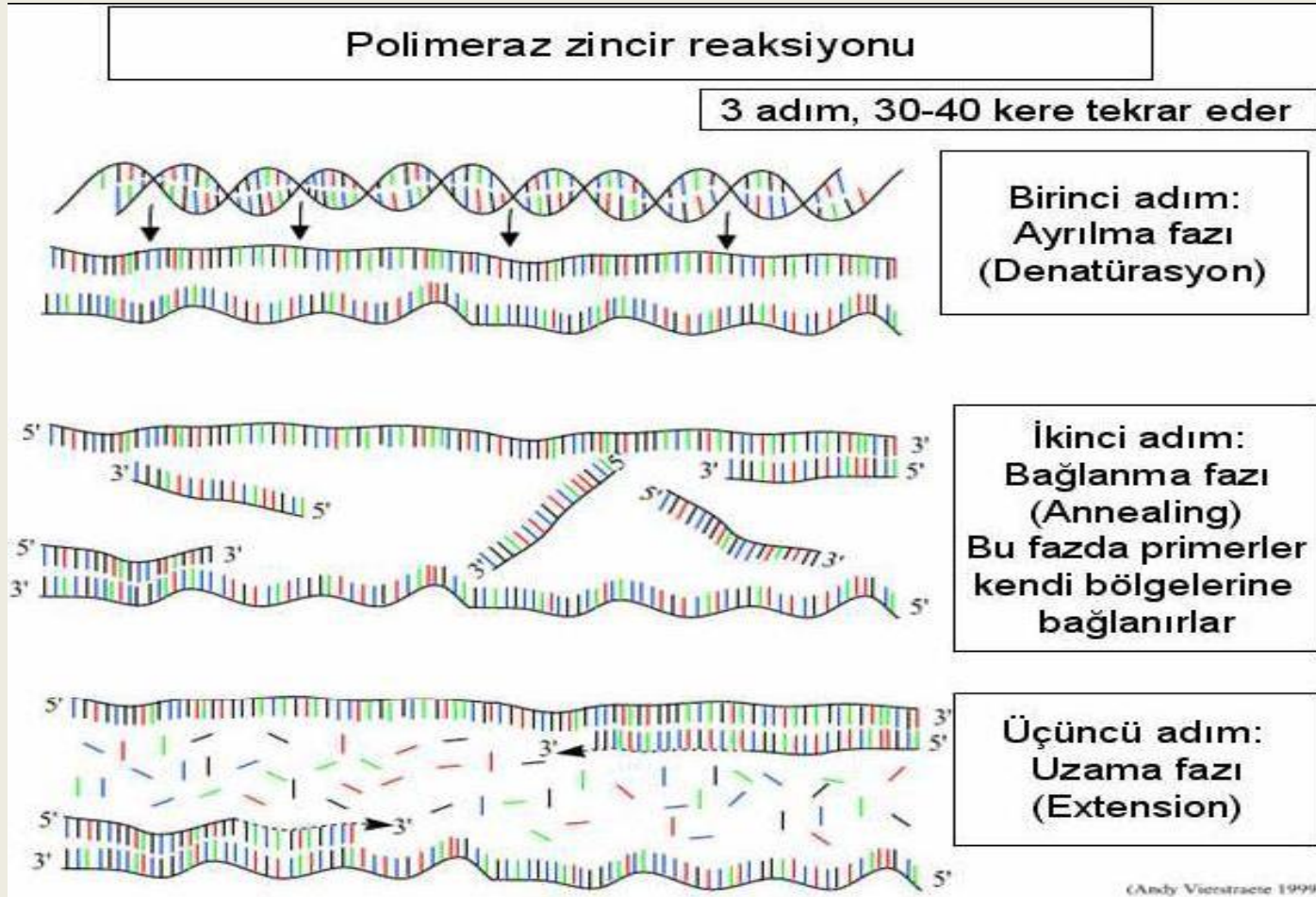
1. Kan ve kan lekeleri,
2. Meni ve meni lekeleri,
3. Dokular ve hücreler,
4. Kemikler ve organlar,
5. Kılıf hücreli saç kılları,
6. İdrar, tükürük ve tükürük lekeleri (çekirdek hücreli olan) gibi biyolojik numunelerden başarılı bir şekilde DNA izole edilerek analizi yapılabilmektedir.

Olay yerinde bulunan delil	Delil üzerinde DNA elde edilebilecek biyolojik materyalin olası yeri	Biyolojik materyalin cinsi
Şapka veya Maske	İç kısmı	Saç kılı
Gözlük	Burun ve Kulağa temas eden kısımları	Deri hücreleri
Kürdan	Uç kısımları	Tükürük (ağız epitel hücreler ve akyuvarlar)
Çiğnenmiş sakız	Yüzey kısmı	Tükürük
Dış fırçası	Fırça kısmı	Kan, tükürük
Isırık izi	Mağdur yada sanığın derisi ve/veya elbisesi	Tükürük
Sigara İzmariti	Filtreli kısmı	Tükürük
Pul ve zarf	Yapışkanlı kısım	Tükürük
Şişe,bardak,çatal,teneke kutu	Kenarlar , ağız kısmı	Tükürük
Kullanılmış prezervatif	İç/dış yüzeyi	Meni, vajinal veya rektal hüç.
İç çamaşır	İç/dış yüzeyi	Kan, meni, deri hücreleri
Giysi	Her yerinde	Kan, meni, saç kılı, vücut kılı, tükürük, deri hücreleri
Tırnak, tırnak parçası	Yüzey ve iç kısmında	Kan, doku
Tırnak makası	Yüzeyinde ve kesici kısmında	Kan, doku
Battaniye, yastık, çarşaf vb.	Yüzey kısmında	Kan, tükürük, meni lekesi, saç kılı, vücut kılı, mekonyum, amnion sıvısı lekesi
Silah	Kabza	Kan, doku, deri
Mermi çekirdeği	Dış yüzeyi	Kan, doku
Bıçak, balta vb.	Kabza, kesici yüzey	Kan, saç/vücut kılı, doku, deri
Fayans, Yer döşemesi, duvar, koltuk, perde	Yüzey kısmında	Kan, saç/vücut kılı
Ağaç, ağaç dalları, toprak, yaprak	Yüzey kısmında	Kan, saç/vücut kılı
Araba tamponu, far, asfalt vb.	Yüzey kısmında	Kan, doku, saç/vücut kılı

Moleküler genetik araştırmaların ilk adımı genomik DNA'nın saf bir şekilde elde edilmesidir.

- Genomik DNA'nın elde edilmesi;
- hücre zarının eritilmesi,
- proteinlerin parçalanması,
- proteinlerin ortamdan uzaklaştırılması,
- DNA'nın çöktürülerek saflaştırılması gibi başlıca adımları içerir.

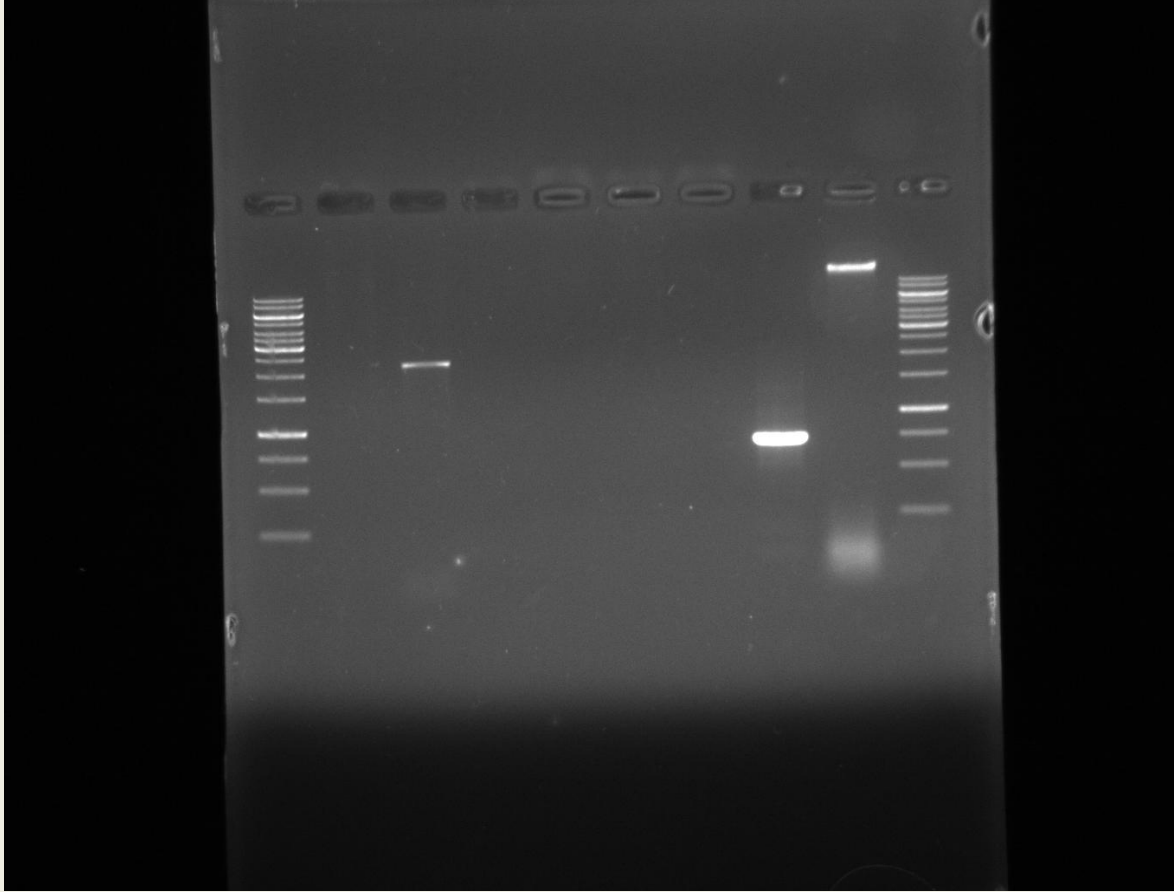
Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), *in vitro* koşullarında DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır. PZR spesifik ve hassas bir tekniktir .



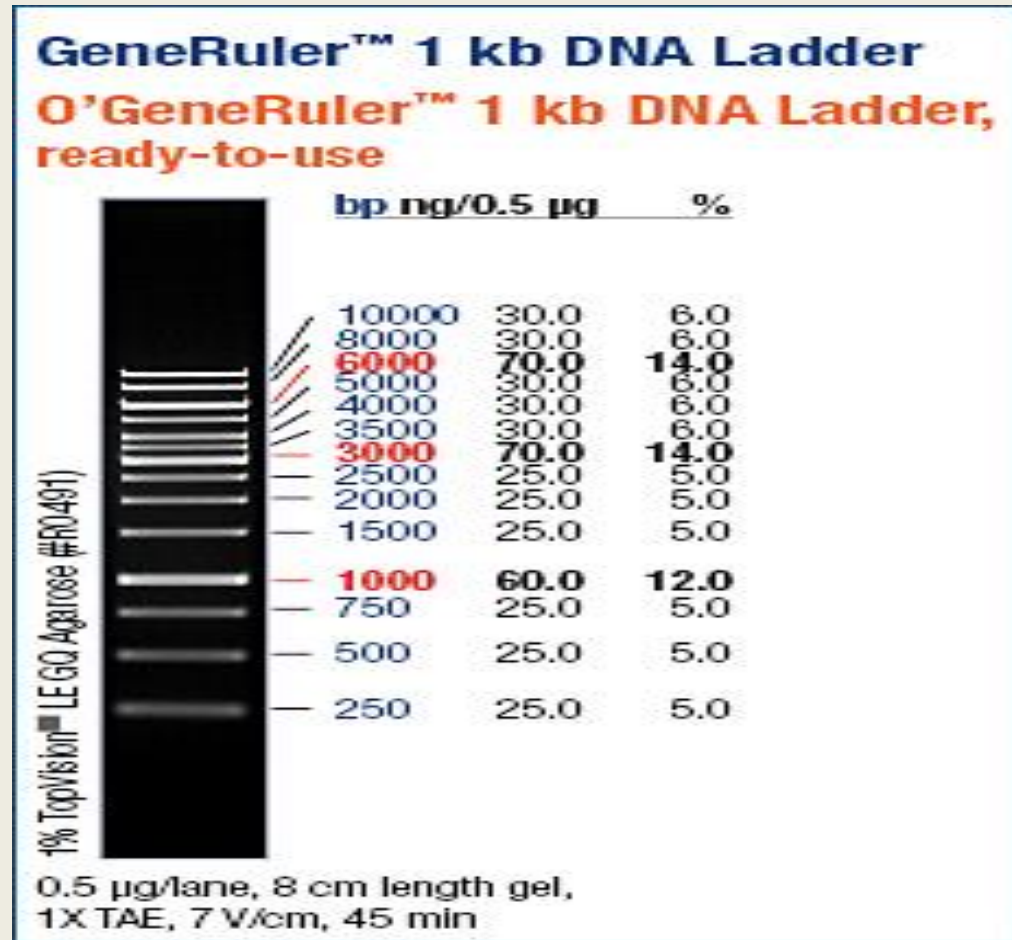
Çalışmalarda kullanılan PZR cihazı



PZR ürünleri UV ışığı altında görüntülenerek bantlar elde edilir.



Elde edilen bantlar numuneden alınan DNA örneklerinin büyüklüğü hakkında detaylı bilgi vermektedir.



Lochard'ın "her temas bir iz bırakır" sözü bize biyolojik delillerin vazgeçilmez olduğunu göstermektedir.



MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda tükürükten DNA izolasyonu için materyal

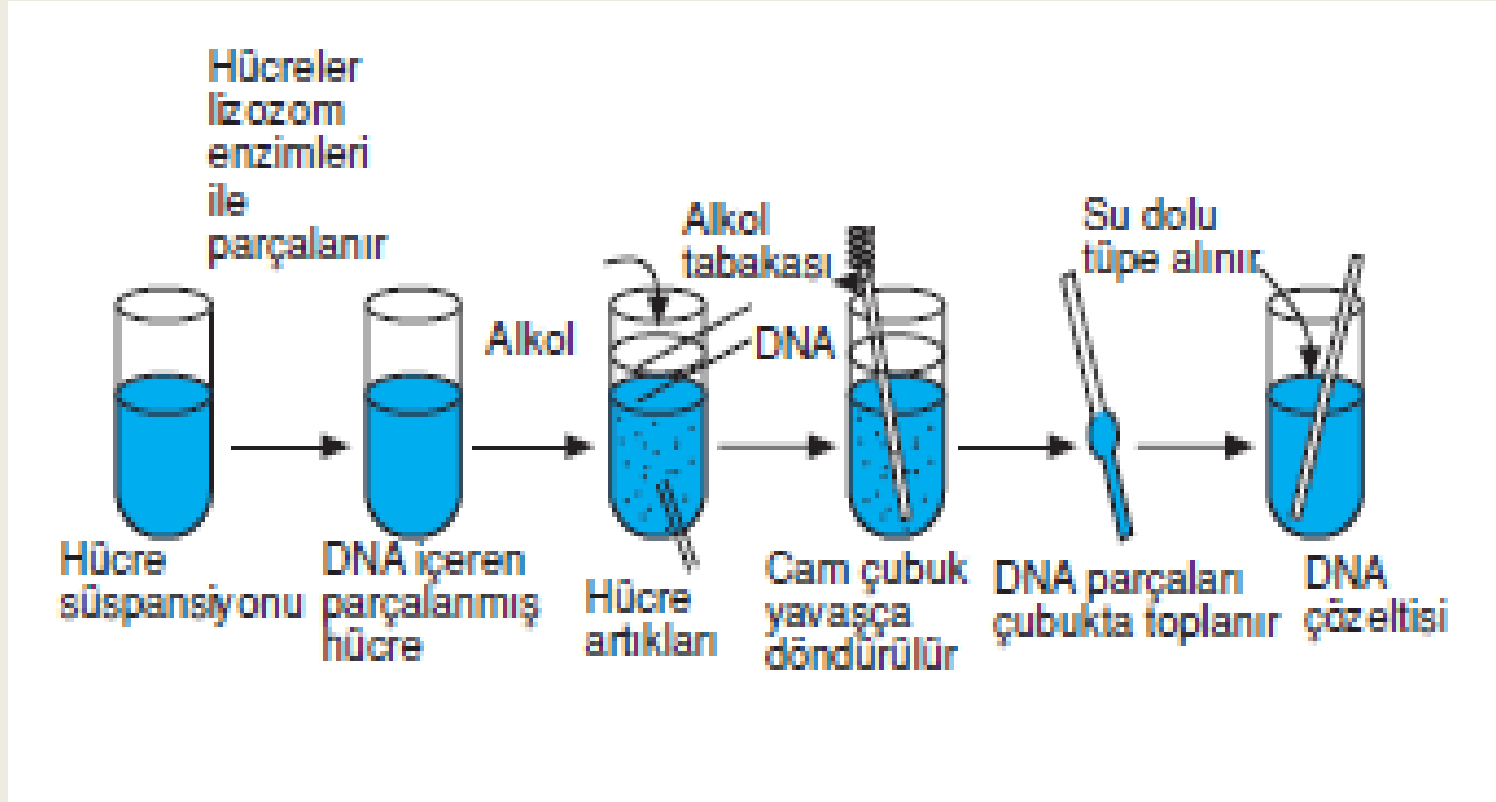
olarak;

- pet şişe
- sakız kullanılmıştır



Metot

DNA İzolasyonu: Numunelerden protokollere uygun şekilde DNA izolasyonu ve PZR çalışmaları yapılmıştır.



PZR Analizleri:

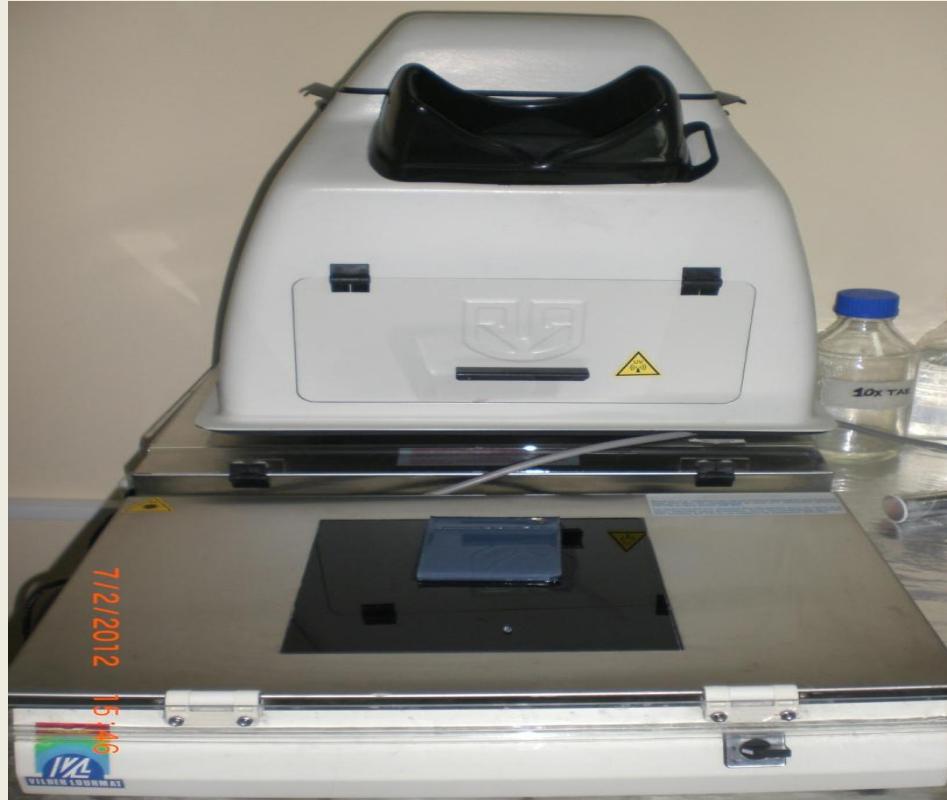
PZR analizleri Standart PZR cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışılan PZR karışımı 50 mikrolitre olacak şekilde hazırlanmıştır.

- PZR analizlerinde COX-U genine ait primerler kullanılmıştır.



- Etidyum bromür kullanılarak hazırlanan %1'lik agaroz jelde PZR ürünleri yürütülmüştür.
- Elektroforez işleminin ardından UV ışık altında görüntüleme sistemi ile bantların değerlendirilmesi yapılmıştır.



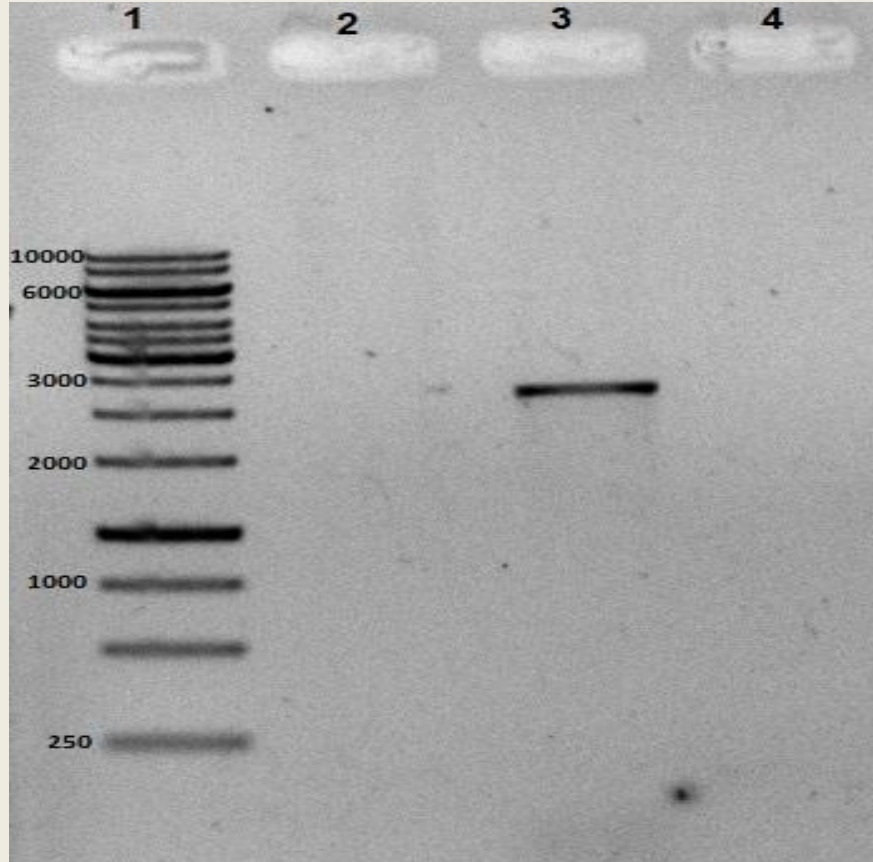
BULGULAR

- Çalışmada çiğnenmiş sakız ve kullanılmış bir pet şişeden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.
- İzole edilen DNA'ların miktarları çok düşük olduklarından agaroz jel elektrofezi ile tespit edilememiştir.
- Buna karşın az miktarda da olması PZR reaksiyonları için yeterli olabileceği bildirilmiştir.

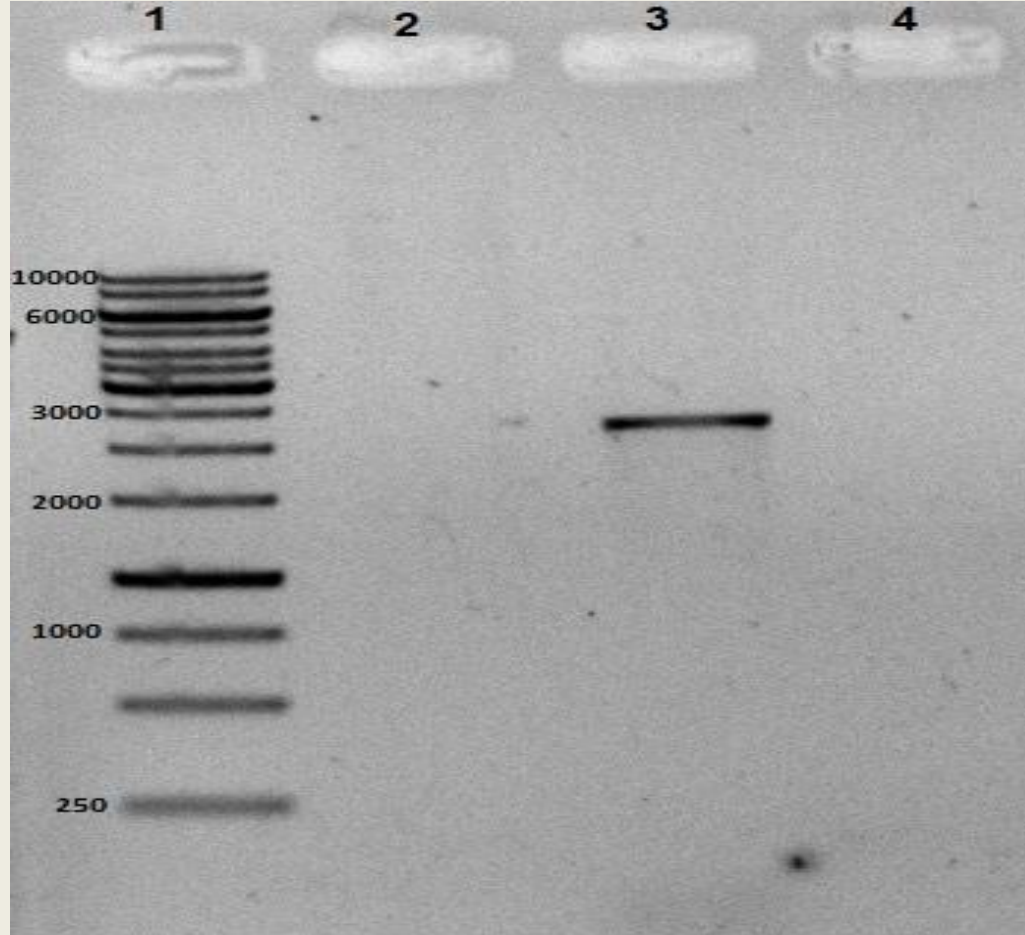
- PZR analizlerinde kalıp DNA'lardan COX-U geni çoğaltılması hedeflenmiştir.
- Bu çalışmada pozitif kontrol olarak insan DNA'sı kullanılmış ve bu DNA'nın kalıp olarak kullanıldığı PZR reaksiyonlarında beklenen boyutta bir bant elde edilmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Kalıp olarak sakızdan elde edilen DNA'nın kullanıldığı PZR reaksiyonunda ise beklenen düzeyde bir bant elde edilememiş olmasına rağmen jel üzerinde sürüntü ile karşılaşılmıştır.



Kalıp olarak pet şişeden elde edilen DNA'ların kullanıldığı PZR reaksiyonlarında beklenen boyutta bir bant elde edilememiştir



- Karşılaşılan sürüntünün nedeni;
- Proteinaz K enziminin kullanılmaması,
- Kalıp DNA miktarının,
- Primer, dNTP ve magnezyum miktarının uygun olmaması,
- Ayrıca az miktarda DNA kullanılan PZR'lerde karışımın toplam hacminin düşük tutulması yararlı olabilir.
- Genelde böyle düşük DNA miktarlarında hacmin fazla olduğu reaksiyonlarda bantlar görünmezken, toplam hacim azaltıldığında PZR ürünleri görüntülenebilir.

- Genomik DNA'nın kolay ve ucuz bir yöntemler izole edilmesini amaçlayan bu çalışmada farklı organizma ve biyolojik örneklerin bulunduğu materyallerden DNA izolasyon çalışması yapılmıştır.

- Bu çalışma ile basit, ucuz ve hızlı DNA izolasyonu sağlayan yöntemlerin daha da geliştirilerek laboratuvarlarda uygulanabileceğini düşünmekteyiz.
- Adli tıpta kullanılan yöntemlerin etkin ve kısa zamanda sonuç vermesi adalet sağlanmasında verimli olacaktır.

TEŞEKKÜRLER...