



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİTOKONDRIYAL GENOMUN İLERİ DEĞİŞKEN
HVRI ve HVRII BÖLGELERİNDE GÖRÜLEN
VARYASYONLARIN TÜRKİYE TOPLUMUNDA
ANALİZLERİ**

Dilan BAŞTUĞ

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN**

**ANKARA
2022**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİTOKONDRIYAL GENOMUN İLERİ DEĞİŞKEN
HVRI ve HVRII BÖLGELERİNDE GÖRÜLEN
VARYASYONLARIN TÜRKİYE TOPLUMUNDA
ANALİZLERİ**

Dilan BAŞTUĞ

**DİSİPLİNLERARASI ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN**

**ANKARA
2022**

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum **“Mitokondriyal Genomun İleri Değişken HVRI ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyasyonların Türkiye Toplumunda Analizleri”** başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Dilan BAŞTUĞ

Tarih:

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Disiplinlerarası Adli Bilimler Anabilim Dalında

Dilan BAŞTUĞ tarafından hazırlanan “Mitokondriyal Genomun İleri Değişken HVRI ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyasyonların Türkiye Toplumunda Analizleri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Üniversitesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x

1. GİRİŞ	1
1.1. Adli Bilimlerde Kimliklendirme	1
1.2. DNA ve Yapısal Özellikleri	2
1.3. Mitokondri	3
1.4. Mitokondriyal DNA	4
1.5. Mitokondriyal DNA Replikasyon	6
1.6. Mitokondriyal DNA'da Transkripsiyon	8
1.7. MtDNA Kalıtımı	8
1.8. MtDNA'da Mutasyon	10
1.9. MtDNA'da Heteroplazmi	11
1.10. MtDNA'da Homoplazmi	13
1.11. MtDNA'da Polimorfizm	13
1.12. MtDNA'nın Adli Tıp İçin Önemi	14

2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1. Çalışmaya Kabul Edilme Kriterleri (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	16
2.2. Bireylerden Örnek Alımı Aşaması (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	16
2.3. DNA İzolasyonu (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	17
2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	19
2.5. Agaroz Jel Elektrophorezi (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	22
2.6. Yeni Nesil Sekanslama (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)	23
2.6.1. Örnek Hazırlama	24
2.6.2. Küme Oluşturma	24

2.6.3. Senteze Göre Dizileme (SBS)	25
2.6.4. Base Calling	26
2.6.5. Hizalama	26
2.7. MtDNA Verilerinin Analizi	26
2.8. Verilerin İstatistiksel Analizi	32
3. BULGULAR	33
3.1. Örneklem Grubu	33
4. TARTIŞMA	72
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	75
ÖZET	78
SUMMARY	79
KAYNAKLAR	80
6.EKLER	85
Ek-1. Etik Kurul Onayı	85
Ek-2. Yönetim Kurulu Kararı	86
Ek-3. İntergen Genetik Tanı Merkezi	87
ÖZGEÇMİŞ	89

ÖNSÖZ

Günümüzde nükleer DNA (nDNA) analizi yapılamadığı durumlarda mitokondriyal DNA (mtDNA) analizi yapılarak kimliklendirme yapılmaktadır. Özellikle adli olaylarda kimliklendirmenin yapılmasının güç olduğu nDNA analizlerinde, mtDNA büyük önem taşımaktadır. Retrospektif dosya bilgisi çalışması olarak planlanan bu araştırmada, klasik dizi analizi ve Yeni Nesil Sekanslama yöntemi ile yapılan mitokondriyal DNA dizi analizi verileri kullanılarak, HVRI ve HVRII bölgelerinin Türk toplumuna özgü varyasyonların belirlenmesi hedeflenmektedir.

Yüksek Lisans kabul gördüğüm süreçte tanışmış olduğum, geniş bilgi birikimi, yol göstericiliği, göstermiş olduğu çabasını desteklerini üzerimden eksik etmeyen, hoşgörülü, sevgi dolu, güler yüzünü bizlerden esirgemeyen saygı değer ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN'a,

Sevgi dolu, her zaman başarabileceğime inanan sevgili dostum, sevgili meslektaşım Fethiye EKEN AKSOY'a

Çalışmam için İstatiksel Analizi yapılmasında yardımcı olan sevgililerini ve desteklerini benden esirgemeyen Prof. Dr. Erdem KARABULUT ve Doç. Dr. Derya ÇALIŞKAN KARAGÖZ'e

Tezim için yardımcı olan desteklerini benden esirgemeyen Şiir ERASLAN, Cansel ÇİFTÇİ, Hasan Ersin GÖKÇE, Berfin HİÇYILMAZ, Dr. Mustafa BAKIRTAŞ, Işılso ÇAĞLAR'a

Hayatımın her anında yanımda olan yardımlarını, desteklerini benden esirgemeyen annem Belgizar BAŞTUĞ sevgili kardeşim Yaren BAŞTUĞ'a aramızda olmasa da başarabileceğime inanan her zaman beni destekleyen sevgili babam Mustafa Kemal BAŞTUĞ'a

Üniversite hayatımda tanıştığım her zaman yanımda olan kıymet verdiğim, yol arkadaşım, saygı ve sevgisini benden esirgemeyen en büyük destekçim Burak AKYÜREK'e teşekkür ederim.



SİMGELER ve KISALTMALAR

ATP	Adenozin Tri Fosfat
CRS	Cambridge Reference Sequence
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
D-Loop	Yer Değişirme Döngüsü (Displacement Loop)
EDTA	Etien Diamin Tetra Asetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
HVR	İleri Değişken Bölge (Hypervariable region)
MtDNA	Mitokondriyal DNA
mRNA	Mesajcı RNA
ml	Mililitre
s	Saniye
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR: polymerase chain reaction)
rpm	Dakikada Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
µl	Mikrolitre
rRNA	Ribozomal RNA
RNA	Ribo Nükleik Asit
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket (Statistical Package for the Social Sciences)
tRNA	Transfer RNA
TAS kutusu	Sonlandırma İlişkili Diziler (Termination Associated Sequences)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. 5'-3' Yönünde Nükleotit Sentezi	3
Şekil 1.2. Watson Crick DNA Modeli	3
Şekil 1.3. Mitokondrinin Hücre İçerisindeki Gösterimi	4
Şekil 1.4. İnsan Mitokondriyal DNA Genomu	6
Şekil 1.5. Mitokondriyal DNA	7
Şekil 1.6. Mitokondriyal DNA'nın Anneden Kalıtımı	9
Şekil 1.7. Heteroplazmi	12
Şekil 1.8. Heteroplazminin Sekans Görüntüsü	12
Şekil 2.1. DNA İzolasyon Basamağı	18
Şekil 2.2. PZR Cihazları	20
Şekil 2.3. Elektroforez Tankı	22
Şekil 2.4. Agaroz Jel Görüntüsü	22
Şekil 2.5. Illumina Miseq Cihazı	23
Şekil 2.6. MiSeq Flow Cell	24
Şekil 2.7. Cluster	25
Şekil 2.8. Senteze Göre Sıralama Görüntüsü	26
Şekil 2.9. IGV Programı	28
Şekil 2.10. Dataların Yüklenilmesi	28
Şekil 2.11. Verilerin Programa Yüklenmesi Sonucu Bireylerin Verilerinin Görsel Gösterimi	29
Şekil 2.12. Kalite Skoru (Base)	29
Şekil 2.13. Histogram Görüntüsü	30
Şekil 2.14. Referans Dizi Okumalarının Farklı Okumaları	30
Şekil 2.15. Treshod (Eşik Değer)	30
Şekil 2.16. Delesyon Görüntüsü	31
Şekil 2.17. Homozigot Değişimin Görüntüsü	31
Şekil 2.18. PZR veya Sekans Hatasının Okuma Yapmayan Kısımları	32

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. mtDNA ve nDNA Arasındaki Farklılıklar	15
Çizelge 2.1. Gerçek Zamanlı PZR Protokolü	21
Çizelge 3.1. HVRI Bölgesinde Tespit Edilen Değişimler	34
Çizelge 3.2. HVRII Bölgesinde Tespit Edilen Değişimler	35
Çizelge 3.3. HVRI ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyantlar	36
Çizelge 3.4. HVRI Bölgesinde 16052 A>G	39
Çizelge 3.5. HVRI Bölgesinde 16068 C>T	40
Çizelge 3.6. HVRI Bölgesinde 16070 C>T	41
Çizelge 3.7. HVRI Bölgesinde 16094 T>C	42
Çizelge 3.8. HVRI Bölgesinde 16127 T>C	43
Çizelge 3.9. HVRI Bölgesinde 16146 G>A	44
Çizelge 3.10. HVRI Bölgesinde 16164 A>G	45
Çizelge 3.11. HVRI Bölgesinde 16173 C>T	46
Çizelge 3.12. HVRI Bölgesinde 16188 C>T	47
Çizelge 3.13. HVRI Bölgesinde 16191 C>T	48
Çizelge 3.14. HVRI Bölgesinde 16195 C>T	49
Çizelge 3.15. HVRI Bölgesinde 16225 T>C	50
Çizelge 3.16. HVRI Bölgesinde 162633 T>C	51
Çizelge 3.17. HVRI Bölgesinde 16296 C>T	52
Çizelge 3.18. HVRI Bölgesinde 16298 C>T	53
Çizelge 3.19. HVRII Bölgesinde 73 G>A	54
Çizelge 3.20. HVRII Bölgesinde 143 G>A	55
Çizelge 3.21. HVRII Bölgesinde 146 T>C	55
Çizelge 3.22. HVRII Bölgesinde 150 T>C	57
Çizelge 3.23. HVRII Bölgesinde 152 T>C	58
Çizelge 3.24. HVRII Bölgesinde 153 A>G	59
Çizelge 3.25. HVRII Bölgesinde 185 G>A	60
Çizelge 3.26. HVRII Bölgesinde 189 A>G	61
Çizelge 3.27. HVRII Bölgesinde 194 A>G	62
Çizelge 3.28. HVRII Bölgesinde 195 C>T	63

Çizelge 3.29. HVRII Bölgesinde 199 C>T	64
Çizelge 3.30. HVRII Bölgesinde 200 A>G	65
Çizelge 3.31. HVRII Bölgesinde 204 T>C	66
Çizelge 3.32. HVRII Bölgesinde 207 G>A	67
Çizelge 3.33. HVRII Bölgesinde 288 G>A	68
Çizelge 3.34. HVRII Bölgesinde 263 G>A	69
Çizelge 3.35. HVRII Bölgesinde 295 C>T	70
Çizelge 3.36. HVRII Bölgesinde 285 C>T	71
Çizelge 3.37. Ülkeler Arası Varyantların Karşılaştırması ve Türk Toplumunda Daha Az Görülen Varyantların Belirtmesi	70



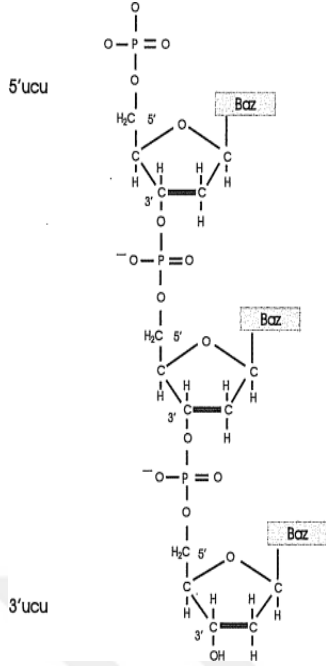
1. GİRİŞ

1.1. Adli Bilimlerde Kimliklendirme

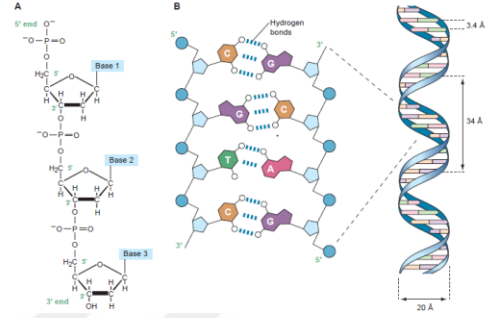
Bir insanın tanınmasında, diğer insanlardan ayırt edilmesindeki özelliklerin bütününe kimlik adı verilir. Ölmüş ya da yaşayan bir kişide bu özelliklerin irdelenmesine kimlik tespiti denir (Zeyfeoğlu ve ark., 2001). Adli Tıp için iki tür kimliklendirme mevcuttur. Adli kimliklendirme ve tıbbi kimliklendirme olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Bireyin fiziksel özelliklerinin tümüne (saçı, saç rengi, yara izi, dövme, kilosu, boyu, ten rengi cilt lekeleri vb) tıbbi kimliklendirme denilir. Adli kimliklendirme de bireyin nüfus kayıtlarından alınan bilgileri dahilinde elde edilen kimliklendirmedir. Ölmüş birey üzerinden kimlik çıkmaması durumunda kimliklendirme yapılması için tıbbi kimliklendirmeye başvurulmaktadır. Doğal afetler sonucunda (sel, yanardağ patlaması, toprak kayması, tsunami) ve doğal afetler dışında (trafik kazaları, savaşlar ve uçak kazaları gibi) kimliği bilinmeyen bireylerin kimliğinin tespiti adli tıp için önemlidir (Prinz ve ark., 2007). Kimliklendirme yapılırken cinsiyet, yaş ve ırk gibi bireysel özelliklerin yanı sıra bilimsel verilerin kullanılması ile elde edilen biyolojik materyalin (kan, kemik, eski kompakt kemik, vücut sıvıları ve diş kökü) kullanılması kimliklendirme yapılırken kesin sonuçlar vermektedir (Konigsberg ve ark., 2009; Zeyfeoğlu ve ark., 2001). Adli bilimlerde kimliklendirme (identifikasyon) her bireyi diğerinden ayıran ve kişileri kendi özellikleri ile ifade edilmesi diğer bireylerden ayıran genomik bilgiyi DNA'yı (deoksiribonükleik asit) içermektedir. DNA'ya (deoksiribonükleik asit) dayalı identifikasyonu en güvenilir ve kesin metotlar haline gelmiştir. Degrade olmuş biyolojik materyal sonucunda nDNA elde edilmemektedir. Köksüz kıl bulunan olay yerinde lineer yapıda kırılğan yapıya sahip olması sonucunda nDNA eldesi yapılamamaktadır (Wilson ve ark., 1995). Eski kompakt kemik, köksüz kıl gibi nükleer DNA bulunmadığı veya yoğun degrade olduğu durumlarda kimliklendirme yapılabilmesi için mtDNA'ya başvurulmaktadır (Elmas ve ark., 2009; Ginter ve ark., 1992 ve Wilson ve ark., 1995). MtDNA önemli bir özelliği maternal olarak kalıtılmasıdır. Anne soyundaki bireyler ile aynı mtDNA'yı taşımaktadır.

1.2. DNA ve Yapısal Özellikleri

Organizmaların kalıtım birimi DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)'dir. Bu kalıtım birimi içerisinde hayati faaliyetlerin sürdürülebilmesi için gerekli bütün bilgiler depolanır. Canlıların genetik bilgi birikimidir. DNA molekülünü oluşturan yapı; fosfat, beş karbonlu deoksiriboz şeker ve azotlu organik bazlardan (Adenin, Guanin, Sitozin ve Timin) meydana gelmektedir. DNA molekülü komplementer çift sarmal (Double Helix) ve lineer yapıya sahiptir. Double helix yapı polinükleotit zincirlerin yapısal ve kimyasal özellikleri sonucu oluşur (Cooper, 1996). DNA, genetik materyal olarak davranması için dört önemli özelliği taşımaktadır. Birincisi genetik materyalin replikasyonu (kendi başına üreme özelliği), ikinci özelliği bilgi depolanması, üçüncü özelliği bilgi verici makromolekülün bilgiyi ifade edebilmesi ve dördüncü özelliği mutasyona uğrayarak özgüllüğünü ortaya koymasısıdır (Klug ve ark., 2011). Çift sarmalolan yapıda bazlar arasında hidrojen bağı ile birbirine bağlanır (Şekil 1.). Adenin ve timin arasında ikili bağ, sitozin ve guanin arasında üçlü birbirine bağlayan hidrojen bağları vardır. Azotlu organik bazlardan oluşan farklı DNA dizilimleri insan genomunu oluşturmaktadır. İnsan genomu takribi üç milyar baz içerirken yarısı anneden diğer yarısı babadan gelmektedir. İnsan genom projesi (İGP) genomun tüm dizisini 2001 yılında taslak olarak yayınlanmıştır. Son verilerin elde edilmesiyle 2004 yılında Uluslararası İnsan Genom dizisi açıklandı. Genomun %24 intron (kodlanmayan bölge), %75 intergenik DNA içerirken %1 ekzonları (kodlanan bölge) kapsamaktadır (Venter ve ark., 2001). İnsan genom projesinin gayesi bütün gen dizilimini açıklamak, genlerin fonksiyonlarının belirlemek ve hastalıklarla ilişkili genlerin ortaya çıkmasını sağlamaktır (Klug ve ark., 2011; Nussbaum ve ark., 2016).



Şekil 1.1. 5' -3' Yönünde Nükleotit Sentezi
(Nussbaum ve ark., 2016)

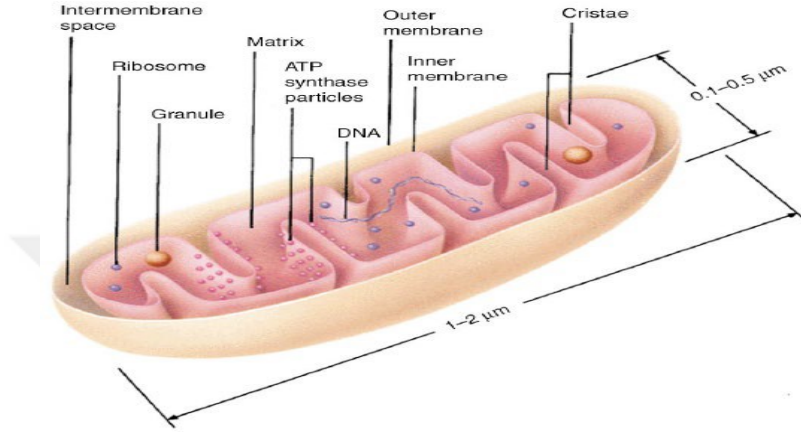


Şekil 1.2. Watson Crick DNA Modeli
(Nussbaum ve ark., 2016)

1.3. Mitokondri

Mitokondri kendine has genomu olan çift tabakalı membrana sahip bir organeldir. Ökaryotik hücrelerde sitoplazmada yer almaktadır (Mazzarello, 1999). Oksijenin işlenmesi ve tüketilen gıdalardaki karbonhidrat, protein ve yağ asitleri oksidatif fosforilasyon işlemiyle ATP' ye dönüştüren hücrenin işlevleri için gerekli enerji üretiminden sorumlu dinamik bir organeldir. Oksidatif fosforilasyon hücre içi sinyalleşme ve programlanmış hücre ölümü (apoptoz) gibi kritik olaylarda görev alır (Cogliati ve ark., 2016). Hücre sitoplazmasında dağınık halde bulunan mitokondri hücrenin enerji ihtiyacına göre farklı dokularda farklı sayıda bulunabilir. Enerji ihtiyacı duyulduğu zamanda sayısını arttırabilir. Örneğin, beyin ve kas hücreleri daha fazla mitokondri içerirken kemik gibi hücrelere daha az miktarda mitokondri içermektedir (Picard ve ark., 2015). Diğer organellerden farklı olarak kendilerine ait DNA, RNA (ribonükleik asit) ve ribozomları bulunmaktadır. Mitokondri, nükleer DNA ve mitokondriyal DNA olarak iki genetik materyal içermektedir (Şekil 1.3.).

Mitokondriyal genomun yaklaşık olarak 1500 gen içerdiği düşünülmektedir. Mitokondriyal DNA 37 adet gen içerirken, geri kalan genler nükleer DNA tarafından oluşmaktadır (Brendan Lee ve ark., 2014). Mitokondriyal DNA (mtDNA); kendi kendini eşleyebilir (replikasyon), translasyon ve transkripsiyon gerçekleştirebilir (Alberts ve ark., 2008).

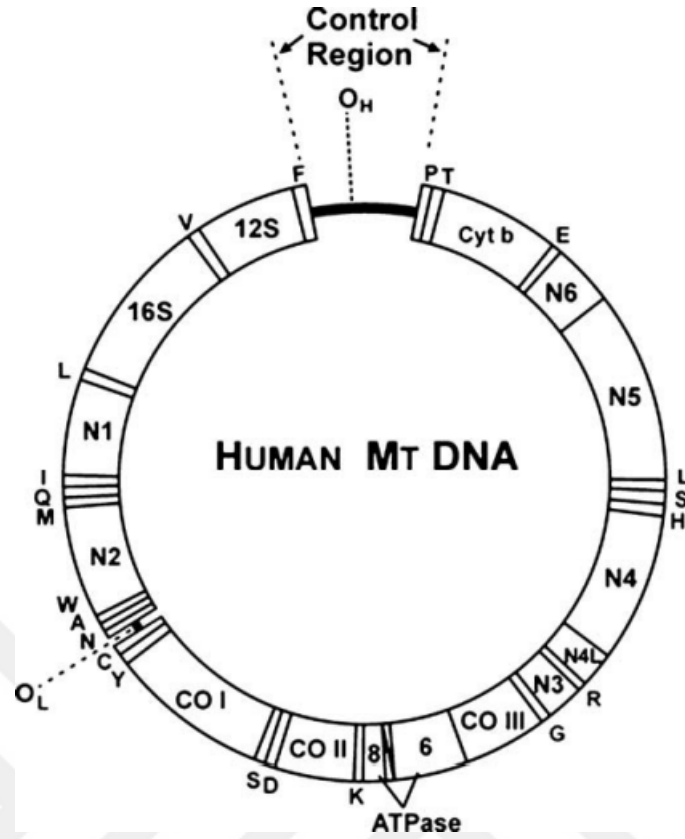


Şekil 1.3. Mitokondrinin Hücre İçerisindeki Gösterimi (Frey ve ark., 2000).

1.4. Mitokondriyal DNA

İnsan mitokondriyal DNA (mtDNA) genomu Andreson ve arkadaşları tarafından 1981 yılında Anderson dizisi ya da “Cambridge Reference Sequence (CRS)” referans dizi olarak kullanılmıştır. 1999 senesinde tekrar gözden geçirilerek nükleotitte değişiklik yapılan Anderson dizisi günümüzde ‘revised CRS (rCRS)’ adıyla yeniden düzenlenmiştir ve referans dizi olarak kullanılmaktadır (Anderson ve ark., 1981; Andrews ve ark., 1999). İnsan mitokondriyal DNA’sı (mtDNA) 16,569 nükleotit içerir. Mitokondriyal DNA matrikste yer alır, çift ipliklidir ve kapalı halkasal yapıdadır. Tek hücreli ökaryotik hücrelerin doğrusal yapıya sahip olduğu birkaç özel durum vardır (Krebs ve ark., 2017). İnsan mtDNA’sı 22 taşıyıcı RNA (tRNA), 16S ile 12S olmak üzere iki ribozomal RNA (rRNA) ve oksidatif fosforilasyon için gerekli olan 13 polipeptidi kodlayan üç farklı RNA

grubunda 37 gen bulunmaktadır. Halkasal yapıda hafif ve ağır olmak üzere iki zincirden oluşmaktadır. İplikler yoğunluk farkı nedeni ile ağır zincir ve hafif zincir olarak isimlendirilmektedir. Baz dizilimi olarak hafif (light) zincir C (sitozin) ve T (timin) bazları açısından zenginken, ağır (heavy) olan zincir ise G (guanin) ve A (adenin) nükleotitleri açısından zengindir. Mitokondri genleri 28 ağır zincir (H) tarafından kodlanırken 9'u hafif zincir (L) tarafından kodlanmaktadır (Anderson ve ark., 1981). Pürin bazlarını içeren ağır zincir pürimidin bazlarını içeren hafif zincirden oluşmaktadır. Mitokondriyal DNA'da kodlama yapmayan D-Loop (displacement loop) bölgesi yaklaşık 1125 bp uzunluğunda dizi en çok varyasyon sergileyen bölgelerdendir. D-loop bölgesi çok fazla dizi değişkenliği içermesi nedeni ile en polimorfik bölge olarak adlandırılmaktadır (Butler ve ark., 1998; Kato ve ark., 2009). MtDNA D-loop bölgesinde tanımlanan değişimlerin genel olarak 3 ayrı polimorfik bölgede yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bu bölgeler 16,024-16,365 baz çifti arasında bulunan bölge İleri Değişken Bölge I (Hypervariable region I- HVRI), 73-340 baz çifti arasında kalan bölge 'İleri Değişken Bölge II' (Hypervariable Region II- HVRII) ve 438-574 baz çifti arasında kalan bölge 'İleri Değişken Bölge III' (Hypervariable region III- HVRIII) olarak belirtilmiştir (Luzt ve ark., 1998). Adli bilimler, HVRI ve HVRII bölgeleri içerisinde yer alan ve polimorfizme uğrama oranının daha yüksek gözlemlendiği bölgeye odaklanır. Bireyler arasında, benzer olmayan özellikleri ortaya koyarak kimliklendirme yapılması için değişkenlik gösteren bu bölgeler kullanılır (Butler ve ark., 2001).

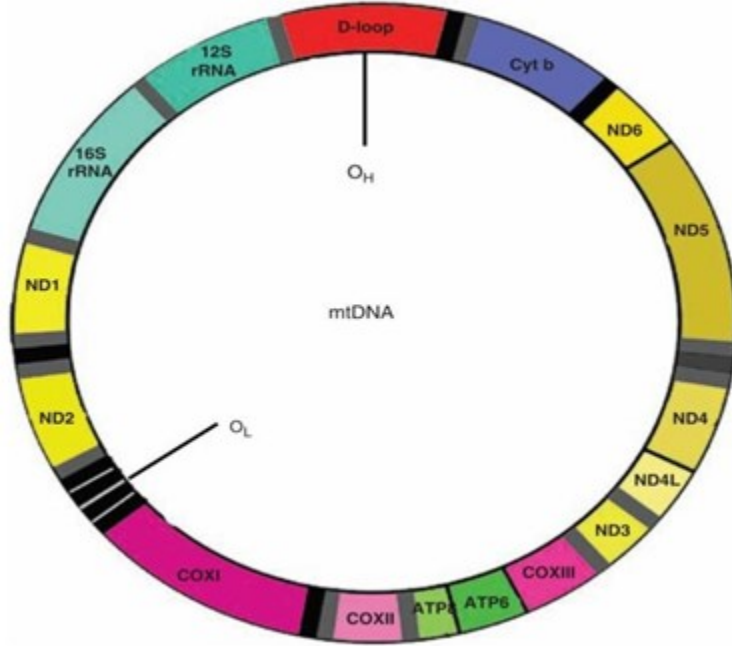


Şekil 1.4. İnsan Mitokondriyal DNA Genomu (Pakendorf ve ark., 2005)

1.5. Mitokondriyal DNA Replikasyon

Mitokondriyal DNA replikasyonu, hücre apoptoz olana kadar görülür ve hücrenin metabolik ihtiyacı karşılayacak oranda bulunmaktadır (Miralles Fusté ve ark., 2014). Nükleer DNA'dan bağımsız şekilde replikasyon sistemi bulundurmaktadır. MtDNA kendini çoğaltabilmek için kendine ait bir DNA polimeraz bulundurmaktadır. Bu mtDNA polimeraz nDNA aracılığı ile kodlanmaktadır (Stewart ve ark., 2001). MtDNA'da Displacement loop (D-Loop) adı verilen bölge bulunmaktadır. MtDNA replikasyonu D-Loopta yer alan düzeneğe göre replike olur. İlk aşaması, ağır ipliğin replikasyon merkezinden 5'-3' saat yönüne doğru sentez hareketine geçmektir. Yeni sentezlenmiş olan ağır ipliğin üçte ikisi bittiğinde, hafif ipliğin replikasyon merkezine vardığı zaman aksi yönde ilerler ve

hafif zincir sentezlenir bunun sonucunda zincir-yer değiştirme modeli olarak açıklanmaktadır. MtDNA çevresinde ikili replikasyon çatalı olarak devam etmektedir (Mckinney ve ark., 2013; Miralles Fusté ve ark., 2014). İki zincir birbirinden farklı iki replikasyon merkezi içerir. Korunmuř dizi olan TAS kutusu (Termination Associated Sequences) D-loop bölgesinde yer almakta ve ağır zincir replikasyonunda rol oynamaktadır (St John ve ark., 2010). Replikasyon TAS bölgesinde başlayıp 5'-3' yönünde ilerler. Replikasyonun başlamasıyla birlikte ağır zincir açılır. Yeni sentezlenmiş ağır zincir replike olmaya hazır hale gelir. MtDNA nükleer DNA'dan farklı olarak Okazaki fragmentleri içermemektedir. Okazaki fragmentlerinin içermemesi sebebiyle mtDNA nükleer DNA'ya göre daha fazla mutasyona uğramaktadır (Wallace ve ark., 1992).



şekil 1.5. Mitokondriyal DNA (Singh 2009)

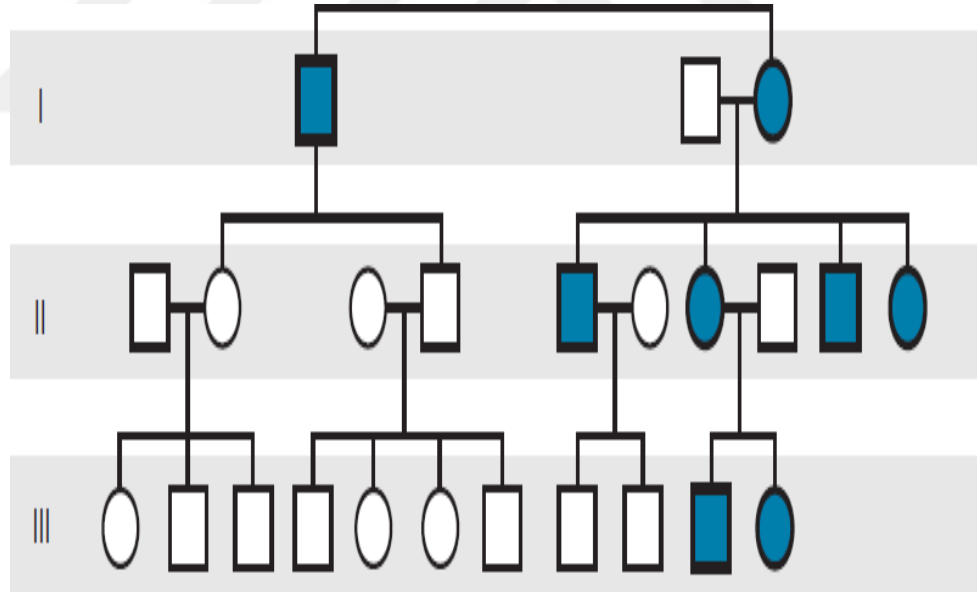
1.6. Mitokondriyal DNA'da Transkripsiyon

D-loop'lar transkripsiyonu başlatma bölgesi olarak işlev yapmaktadır. D-Loop bölgesindeki konsensüs dizisinden oluşan ağır ve hafif zincir promotordan birbirine aksi yönde başlar. Hafif zincir ve ağır zincir transkripsiyonu aynı zamanda başlar. Transkripsiyonda genetik bilgiyi içeren polisistronik RNA'lar meydana gelmektedir. Transkripler sonucunda tRNA, rRNA ve mRNA'lar oluşur (Falkenberg ve ark., 2007; Sutovsky ve ark., 2000 ve Wallace, 1992). İnsan mtDNA'da bazı kodonlar nükleer DNA'dan farklı görev almaktadır. MtDNA'da UGA kodonu triptofanı kodlarken nDNA'da sonlandırıcı kodon olarak görev yapmaktadır. MtDNA'da AUA metiyonin kodlarken nDNA'da izolösin kodlamaktadır. Sonlandırıcı kodon olarak işlev yapan AGA ve AGG kodonları nDNA'da arginin sentezlemektedir (Anderson ve ark., 1981).

1.7. MtDNA Kalıtımı

İnsan mtDNA'sı stokastik-tek ebeveynli olarak kalıtılmaktadır (Giles ve ark., 1980). Anne soyundan aktarılan aynı mitokondriyal DNA taşınmaktadır (Parson ve ark., 2014). MtDNA anneden evlatlarına geçer, erkek ve kız kardeşler ve anne tarafından olan akrabalar da eş mtDNA profiline sahiptir. Bireylerin kendisine özgü mtDNA'ları yoktur, anne soyunu devam ettirir (Şekil 1.6.). MtDNA'nın tek ebeveynli kalıtılması, araştırmacılara olanak sağladığı için mtDNA'nın kullanılması avantaj sağlamaktadır. Anne atalarını vurgulayarak ilgili soyları zaman zarfında maziye doğru takip etmek, iki ebeveynli kalıtımın zihin kurcalayan etkileri olmadan bir popülasyonun incelenmesi bakımından avantaj sağlamaktadır (Sutovsky ve ark., 2000). Spermden üretilen paternal mitokondri genel olarak döllenmeden müteakiben oosit sitoplazmasına ulaşır ve çok miktarda maternal mitokondri ile beraber zigotta geçici olarak bir arada bulunur. Bir arada bulunmasının tahribinde, babadan gelen mitokondri DNA'sı bir şekilde yok edilir ve yavrulara aktarılmaz. MtDNA'nın maternal kalıtılmasının açıklanması için hipotezler öne sürülmüştür. Daha az kopya sayısına sahip olan baba mtDNA'sı, anneden aktarılan mtDNA'sının fazlalığı bakımından mitokondride erken embriyogeneizde seçici yıkım, inaktivasyonu basit

düzeyde dilue edilmesi ve netice olarak evlatlarda güç tespit edilmektedir (Ankel Simons ve ark., 1996). Diğer bir hipotez, babanın mtDNA'sı sonraki nesillere aktarılması önlenmesi için, döllenmeden önce spermin kuyruk kısmının atılması sonucu seçici olarak bozulduğu düşünülmektedir. Babaya ait mitokondri ve kamçı kuyruğunu ihtiva eden spermin orta kısmı yumurtanın dış kısmında kalır ve fertilizasyondan sonra oosit sitoplazmasına ulaşamaz (Al Khatib ve ark., 2019; Luo ve ark., 2018). Memeli spermatozoondaki mitokondri döllenmiş oositte imha edilir (Falkenberg ve ark., 2007). Babanın mtDNA'sının bir sonraki kuşağa aktarabileceğini savunan makaleler de mevcuttur (Gyllensten ve ark., 1991). Sperm mitokondrileri döllenme esnasında yumurtadaki yıkımdan kaçabilir, böylece embriyo maternal ve paternal mtDNA molekülü için az seviyede heteroplazmi ile karşılaşabilmesi mümkündür. Heteroplazminin görülmesi durumu babadan aktarımın olduğunu savunmaktadır. Babanın mtDNA'sının görülebilmesi ender bir olaydır. MtDNA'nın maternal kalıtım ile aktarıldığı bilgisi hâlâ geçerliliğini sürdürmektedir.



Şekil 1.6. Mitokondriyal DNA'nın Anneden Kalıtımı (Nussbaum ve ark., 2016)

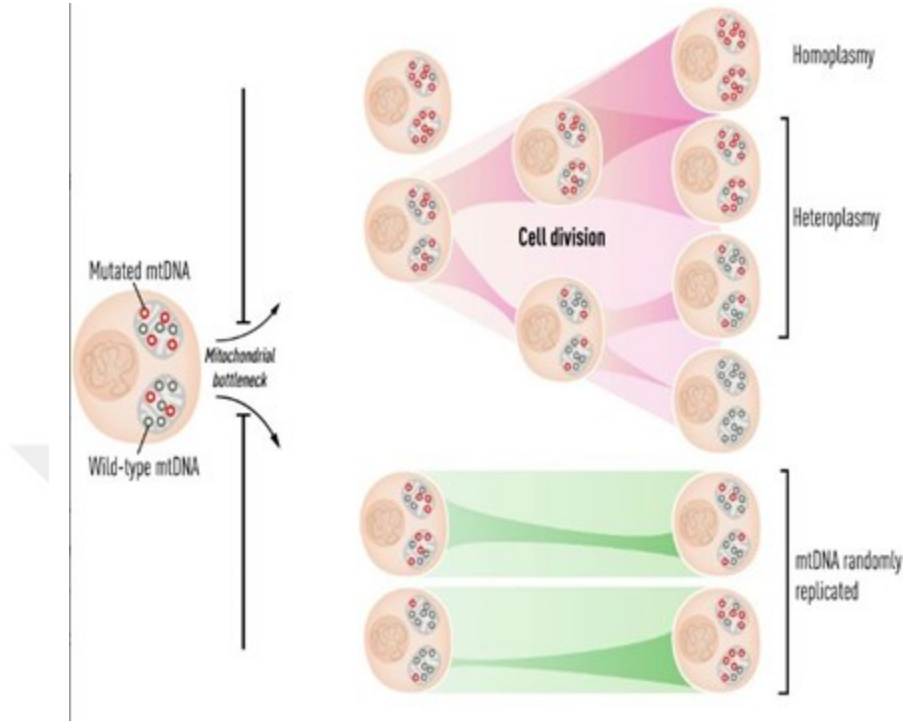
1.8. MtDNA’da Mutasyon

DNA, nükleotit dizilerinde veya düzenlenmesindeki değişikliklere mutasyon denilmektedir. Genom mutasyonları, kromozom mutasyonları ve gen mutasyonları olmak üzere üç bölümde incelenmektedir. Tüm kromozom sayılarının değişimlerine genom mutasyonları denilmektedir. Anöploid örnek verilmektedir. Kromozom mutasyonları, kromozom yapısındaki değişimler sonucunda meydana gelmektedir. Kromozomlarda bazı parçaların artması, bazı parçaların kaybolması veya yer değiştirme sonucu oluşan değişiklikler sonucu kromozom sayısı aynı kalmakla birlikte; genetik yapı değişikliğe uğramaktadır (Temizkan, 2010). Duplikasyon, inversiyon delesyon ve translokasyonlar örnek verilmektedir. Gen mutasyonlarına nokta mutasyonları, insersiyon, çerçeve kayması ve delesyon örnek verilmektedir. DNA örneğinin referans dizi ile karşılaştırılması sonucunda ortaya çıkan farklılıklar, varyasyonları belirlemede yol gösterir. Kodlama yapmayan displacement loop (D-loop) adı verilen yaklaşık 1125 bp uzunluğunda dizi en çok varyasyon sergileyen bölgelerdendir. D-loop bölgesi çok fazla dizi değişkenliği içermesi nedeni ile en polimorfik bölge olarak adlandırılır (Butler ve ark., 1998; Kato ve ark., 2009). Adli bilimlerde nükleer DNA’nın elde edilemediği, degrade olmuş örneklerde MtDNA’nın HVRI ve HVRII bölgeleri analiz için kullanılmaktadır (Elmas ve ark., 2009). MtDNA’nın anneden kalıtılması, HVRI ve HVRII bölgelerinin sık mutasyona uğraması nedeniyle kişiden kişiye farklılık göstermesi adli bilimde bizlere önemli veriler sağlamaktadır (Bendall ve ark., 1996). HVRI ve HVRII bölgesi incelenmesi sonucu mutasyona uğrama oranı yüksek noktalarda belirlenen polimorfizmde veri gücü azaldığı görülürken, mutasyona uğrama oranının düşük noktada belirlenmesi ise polimorfizmdeki verinin gücünü artırdığı görülmektedir (Salas ve ark., 2001). MtDNA’nın nükleer DNA’ya göre 17 kat daha yüksek oranda mutasyona uğramaktadır (Tuppen ve ark., 2010). Mutasyona uğrama oranının fazla olması DNA polimeraz etkinliğinin az oranda bulunması, histon proteinlerinden yoksun olması, rekombinasyona uğramaması, DNA tamir sisteminin nDNA kadar etkin olmamasından dolayı parça değişimi gerçekleşmez ve mutasyonlar tamir sisteminin eksikliğinden dolayı daha sık gerçekleşmektedir (Singh ve ark., 2009; Wallace, 1992). MtDNA’da meydana gelen gen mutasyonları tek ya da daha fazla

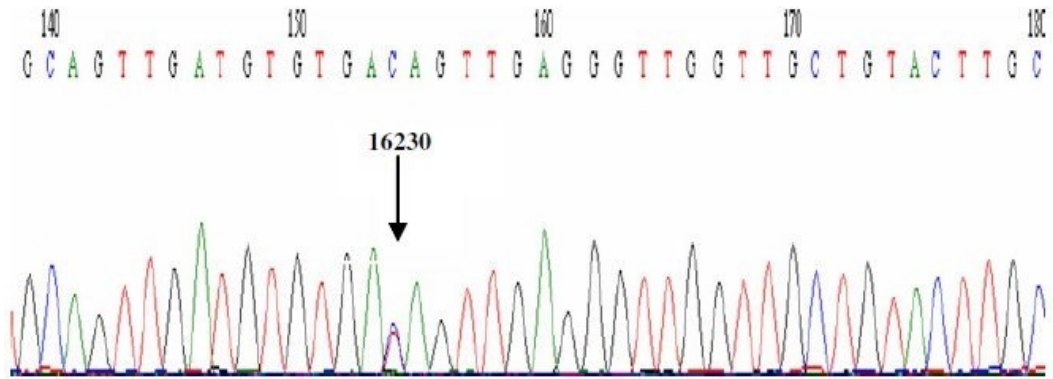
sayıda baz eklenmesi (insersiyon) ya da tek veya daha fazla sayıda DNA molekülünden baz silinmesi (delesyon), nokta mutasyonları, tek baz çiftinin değişikliği sonucunda meydana gelen pürin -pürin değişikliği ya da pirimidin-pirimidin değişikliği (transisyon) veya pürin-pürimidin değişikliği (transversiyon) olarak tespit edilebilir (Lutz ve ark., 1998). Pirimidin -pirimidin (T→C) ve pürin -pürin (G→A) Transisyonel olarak adlandırılırken, pirimidin-pürin (T→A) veya pürin-pirimidin (G→C) transversiyonel değişimler görülmektedir (Kuru ve ark., 2005).

1.9. MtDNA’da Heteroplazmi

Mutant ve normal organelin bir arada bulunması durumuna heteroplazmi denir. Heteroplazmi, iki veya daha fazla popülasyonun (saf ve mutant) bir arada bulunmasıdır (Şekil 1.8.). Çok sayıda normal işleve sahip mitokondri bulunmasından dolayı birkaç organelin mutasyona sahip olması mutantın var olan etkisini seyreltir. Mutasyon sonucunda farklı mtDNA profilleri oluşabilir. Homozigot mutant ve yabancı tip mtDNA’lar yavru hücrelere aktarıldığı zaman oransal olarak dengesiz dağılım gösterirler. Heteroplazmik allele sahip olan anne, çocuklarına homoplazmik yapıyı aktarabilir. Heteroplazmi ikiye ayrılır. Bunlar uzunluk heteroplazmisi ve nokta heteroplazmisidir. Uzunluk heteroplazmisi kontrol bölgelerinde en sık karşılaşılan heteroplazmidir. Nokta heteroplazmisi ise, tek baz çiftinde görülen değişimlerdir. Uzunluk heteroplazmisinin görülme sıklığı nokta heteroplazmisine göre daha yüksektir (Holland ve ark., 1999). Uzunluk heteroplazmisine örnek olarak ileri değişken bölge bir ve ikide polisitozinler (C) verilir (Melton, 2004). MtDNA’da saf ve mutant genom bir arada gözlemlenir. Heteroplazminin zaman içerisinde genetik darboğazın etkisi ile değişime uğradığı görülmektedir. Heteroplazmik genotipin zaman içerisinde hızlı ayrışmanın görülmesi nedeni ile homoplazmiye dönüşmesi örnek verilebilir (Al Khatib ve ark., 2019). Darboğaz ne kadar büyük ise gelecek neslin atasal kaynağa benzeme oranı yüksektir (Lutz ve ark., 2000).



Şekil 1.7. Heteroplazmi (Wei1 ve ark., 2022)



Şekil 1.8. Heteroplazminin Sekans Görüntüsü (Nur Haslindawaty ve ark., 2010)

1.10. MtDNA’da Homoplazmi

İnsan hücrelerinde birçok kopyası bulunan tüm mtDNA’nın genomunun bütün kopyası özdeştir. Tüm kopyalar saf bir normal mtDNA popülasyonu ya da tüm kopyalar saf mutant popülasyon içermesi homoplazmi olarak bilinmektedir. MtDNA popülasyonları, genetik olarak benzer olabileceği gibi (homoplazmi) mutasyon, gen tedavilerinden oluşan bir genetik karışımdan da (heteroplazmi) oluşabilir (Lechuga Vieco ve ark., 2022).

1.11. MtDNA’da Polimorfizm

İnsanların DNA dizileri birbirine %99,9’u benzerlik gösterir (Nussbaum ve ark., 2016). İnsanların birbirinden ayrılmasını sağlayan %0,1 kısım mutasyonlar veya polimorfizmlerden kaynaklanmaktadır. Polimorfizimlerin popülasyonda görülme sıklığı %1 fazladır. %1’den az görülen değişiklikler ise mutasyon olarak tanımlanmaktadır. Polimorfizmlerin popülasyonda görülme oranı yüksektir. Mutasyonlar popülasyonda polimorfizmlere göre nadir görülür. Protein kodlayan ya da kodlamayan bölgelerde polimorfizmler görülmektedir (Nussbaum ve ark., 2016; Özden ve ark., 2006). Adli bilimlerde mtDNA’da kodlanmayan D-loop bölgesinde meydana gelen polimorfizmler bireylerin kimliklendirilmesi için önemli bilgi verir. İki çeşit polimorfizm vardır. Bunlar tek nükleotit polimorfizmi ve uzunluk polimorfizmidir (Reid, 1998). MtDNA polimorfizmlerin isimlendirilmesine örnek olarak 73. Pozisyonda Guanin bazı bulunurken, analiz edilen başka çalışma sırasında Guanin bazı yerine Adenin bazı saptanır ve saptanan bu farklılık 73 A olarak isimlendirilmektedir. 303 baz çiftinde delesyon var ise 303d olarak adlandırılırken, 303 baz çiftinde Sitozin ilavesi var ise 303.1C ya da birden fazla eklenme var ise heteroplazmi gözlemlendiğinde ise, 16052.baz pozisyonunda C ve T varlığı 16052. Y olarak yazılmaktadır. Heteroplazmi seviyesi eşit miktarda görülmemekte ise daha yüksek oranda görünen baz çifti C>T olarak yazılır. MtDNA’da okunmayan baz dizisi var ise N ile ifade edilir (Tully ve ark., 2000).

1.12. MtDNA'nın Adli Tıp İçin Önemi

Adli bilimlerde MtDNA önemli bir kaynaktır. Nükleer DNA kan, saç/kıl kökü, kemik, sperm, diş ve tükürük gibi örneklerden elde edilir. Nükleer DNA analizi yapılamadığı durumlarda mitokondriyal DNA (mtDNA) analizi yapılmaktadır (Elmas ve ark., 2009; Ersoy ve ark., 2003). Eski kompakt kemik, saç folikülleri, köksüz kıl gibi nükleer DNA bulunmadığı veya yoğun degrade olduğu durumlarda kimlik tespiti, kitlesel ölüm ve nesep tayininde mtDNA'dan yararlanılır (Elmas ve ark., 2009; Ginter ve ark., 1992 ve Wilson ve ark., 1995). MtDNA; evrim çalışmalarında, antropolojide, genetik ve adli tıp gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Kimliği belirlenemeyen cesetlerde, uçak kazalarında, kitlesel ölümlerde nDNA eldesi zor olabilmektedir. MtDNA'nın önemi burada ortaya çıkmaktadır. Mitokondriyal DNA'yı nükleer DNA'dan ayıran bazı özellikler mevcuttur (Çizelge 1.). Mitokondriyal DNA analizlerinin adli olaylarda büyük önemi anneden yavrularına maternal olarak geçişidir. Maternal kalıtım, rekombinasyonun gerçekleşmemesi sonucu bir sonraki kuşağa aktarılan genlerin değişmeden kaldığını göstermekte olup anne soyu ile benzer mtDNA'yı taşımaktadır. MtDNA mutasyonlarla değiştikleri için insan popülasyonları ve diğer türler arasında olduğu gibi insandan insana da farklılıklar olduğu açıklanmaktadır. MtDNA'nın evrim hızının nDNA'ya göre yüksek olması mutasyona uğrama oranının yüksek olmasından kaynaklıdır. Mitokondriyal DNA'da en sık polimorfizime sahip bölge HVRI ve HVRII bölgeleridir (Sally 2016; Van Oven ve ark., 2009). Kodlama yapmayan genlerin mutasyona uğrama oranı daha yüksektir ve kişilerin birbirinden ayırt edilmesini sağlamaktadır (De Knijff ve ark., 1997). Kodlama yapmayan bu bölgeler Adli Tıp tarafından bilinen en ayırt edici genetik belirteçlerdir. Yüksek polimorfizm, bireyleri birbirinden ayırt etmek için önemlidir ve aynı popülasyonu paylaşan insanlar arasında farklılıkları yansıtır.

Çizelge 1.1. mtDNA ve nDNA Arasındaki Farklılıklar

mtDNA	nDNA
Çift zincirli ve dairesel yapıya sahiptir.	Çift zincirli ve doğrusal yapıya sahiptir
16,569 baz çifti içerir	Yaklaşık 3 milyar baz çifti içerir
İntrondan yoksundur	İntron içerir
Tek kromozom içerir	46 kromozom içerir
37 genden oluşmaktadır	Yaklaşık olarak 20.000–25.000 genden oluşmaktadır
Mutasyona uğrama oranı yüksektir	Koruma mekanizmalarının olması nedeni ile daha düşük oranda mutasyona uğramaktadır.

Bu Yüksek Lisans tezi araştırması ile mtDNA da HVRI ve HVRII bölgelerinde ortaya çıkan değişimlerin belirlenmesi, Türk toplumuna özgü varyasyonlarının araştırılması ve HVRI ve HVRII bölgelerinin analizleri ile olgu çözümüne destek sağlanması en temel hedeflerimizdendir. Varyasyonların belirlenmesi, bireyleri birbirinden ayırt etmek için önemlidir ve aynı popülasyonu paylaşan insanlar arasındaki farklılıkları yansıtmaktadır. Türkiye’de yaşayan 526 bireyin verilerinin analiz edildiği daha kapsamlı çalışmanın bulunmaması bu araştırmayı Türkiye’de yapılan diğer çalışmalardan ayırmaktadır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu'nca ile onaylanmıştır (Karar No:2022000201, 2022/201). Retrospektif dosya bilgisi olarak gerçekleştirilen çalışmada, Ankara Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı Adli Genetik laboratuvarı ve İntergen Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezinde 2015-2021 tarihleri arasında analizleri yapılan 526 bireyin, mtDNA HVRI ve HVRII bölgelerindeki varyant tespiti gerekli izinler alınarak yapılmıştır.

- IGV programında bireylerin verileri analiz edilmiştir.
- Dizileme sonucu elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v.22.0 tarafından analiz edilmiştir.

2.1. Çalışmaya Kabul Edilme Kriterleri

MtDNA verilerinin analizi Ankara Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı Adli Genetik laboratuvarı ve İntergen Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezinden gerekli izinler kapsamında 526 bireyin mtDNA HVRI ve HVRII bölge verileri alınmıştır. MtDNA maternal kalıtıldığından dolayı bireylerin çalışmaya dahil edilebilmesi için akraba olmamaları gerekmektedir.

2.2. Bireylerden Örnek Alımı Aşaması (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)

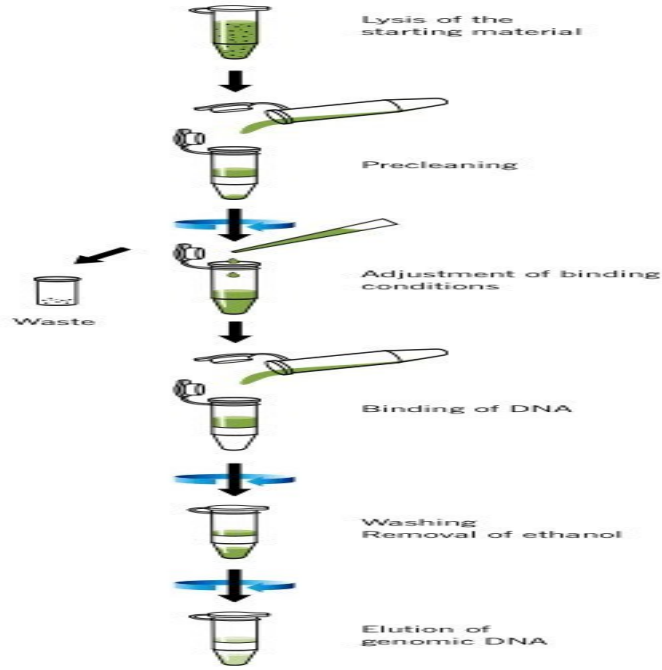
Bireylerden periferik kan örnekleri EDTA içerikli tüp içerisine alınmıştır. Periferik kandan elde edilen mtDNA örnekleri +4 °C muhafaza edilmiştir.

2.3. DNA İzolasyonu (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)

DNA izolasyonu yapılmasındaki amaç, hücre membranının parçalanarak çekirdeğin içinde bulunan genetik materyal olan DNA'nın elde edilmesini amaçlamaktadır. DNA izolasyonu deneyin en önemli basamağıdır. Saf ve temiz şekilde izole edilen DNA bir sonraki basamak olan PZR aşamasında büyük önem taşımaktadır.

- Steril 1,5 ml eppendorf tüp içine 25 ml Proteinaz K, 200 ml periferik kan ve ML B3 Lysis Buffer eklenir.
- Eklenen malzemeler vortekslenir.
- 60 -70 °C sıcaklıkta 12 -14 dakika arasında ısı bloğunda bekletilir.
- 210 ml %96 Etanol eklenir.
- Karışımlar vortexlenir ve spin atılarak kapakta kalan malzemeler tüpün alt kısmına inmesi sağlanır.
- Temiz bir tüp alınır ve karışım spin kolona aktarılır.
- 13 rpm 1 dakika santrifüj edilir.
- Dibe çöken alt kısımları atılır ve kolonun üst kısmı yeni bir tüpe yerleştirilir.
- 500 ml BW eklenir.

- 10 rpm 1 dakika santrifüj edilir.
- 500 ml B5 eklenir ve 10 rpm 1 dakika santrifüj edilir.
- Asıl tüpler hazırlanır ve kolonda kalan DNA'ların üzerine 60-70 ml Elution Buffer eklenir ve 10 rpm 1 dk santrifüj edilir.
- DNA elde edilir.
- Kaliteli DNA eldesi için 260/280 değerinin =1,80 ve 260/230 değerinin = 2,00 üzerinde olması beklenir.



Şekil 2.1. DNA İzolasyon Basamağı

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)

Polimeraz zincir reaksiyonu çift zincirli DNA molekülünün enzimatik reaksiyonlar ile ileri ve geri primerleri ile çoğaltılma işlemidir. Reaksiyon hazırlanırken;

- DNA (çoğaltılmak istenen kalıp DNA)
- Primer İleri (F) ve Geri (R) (tek zincirli sentetik DNA) (hazır primer mix)
- Buffer (Reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olan ortamın sağlanması)
- Termostabil Polimeraz Enzimi (MYTAQ, PHIRE II, BİOLABS PHUSİO,ONETAQ enzimleri kullanılmaktadır).
- dNTPs (hedef zincir boyunca primer uzatma sırasında kullanılan yapı taşlarıdır)
- Mg^{2+} iyonu (enzimin aktifliği için)
- ddH₂O



Şekil 2.2. PZR Cihazları

PZR sırasında denatürasyon basamağında çift zincirli DNA yapısı açılmakta ve iki sarmalda karşı zincirini tamamlamaktadır. Kullanılan enzimin aktivasyonuna göre denatürasyon basamağında sıcaklık ve zaman ayarlanmaktadır. Sıcaklık ortalama 95°C'dir. DNA molekülünde çalışmak istenilen bölge primerler yardımı ile tek zincirli yapı DNA molekülüne bağlanmaktadır. Primerlerin uzunluğuna göre primerin bağlanma sıcaklığı değişmektedir. Primer bağlanma sıcaklıkları 55-66°C arasında değişmektedir. Primerler çoğaltılmak istenen bölgelere bağlandıktan sonra Taq polimeraz enzimi ile zincirin geri kalan kısmı tamamlanması için uzatılmaktadır. Taq polimeraz ısıya duyarlı enzimdir. Enzimin en iyi çalıştığı sıcaklık 72 °C'dir. Yarım kalan amplifikasyonların tamamlanması 72 °C de gerçekleşmektedir.

Protokol belirlendikten sonra polimeraz zincir reaksiyonun üç basamakta meydana gelmektedir. Denatürasyon, primer bağlanması ve primer uzaması aşamalarından oluşmaktadır. Amplifikasyonun gerçekleşebilmesi için çalışmamızın PZR şartları şu şekilde gerçekleşmiştir (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Gerçek Zamanlı PZR Protokolü

Denatürasyon	95 °C	1 dk	
Primer bağlanması	95 °C	10 sn	X 45 Döngü
	60 °C	2,5dk	
	72 °C	40sn	
Primer uzaması	72 °C	5 dk	
	20 °C	∞	

Çizelge 2.2. PZR’da Kullanılan Malzemeler

Reaksiyonda bir örnek için (µl)	
	MYTAQ PZR mix
İleri primer (20 pmol)	0,5µl
Geri primer (20 pmol)	0,5 µl
MgCl₂	1 µl
Buffer	5 µl
ddH₂O	14,8 µl
DNA	2,5 µl
Taq	0,2 µl
dNTPs	0,5 µl
Toplam	22 µl miks + 2,5 µl DNA: 25 µl

- PZR reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için kalıp DNA’nın çoğaltılmak istenen bölgelerde, her birey için 2,5 µl kalıp DNA kullanılmaktadır.

- Kalıp DNA’nın çoğaltılması için gerekli bölgelerin belirlenmesini sağlayan Forward (ileri) ve Reverse (geri) primerler kullanılmaktadır. İleri ve geri primerleri hazır mix olarak kullanıldığı için dizilimleri mevcut değildir.

- PZR'dan en kaliteli neticenin elde edilebilmesi için buffer, dNTPler, enzim ve ddH₂O kullanılmıştır.

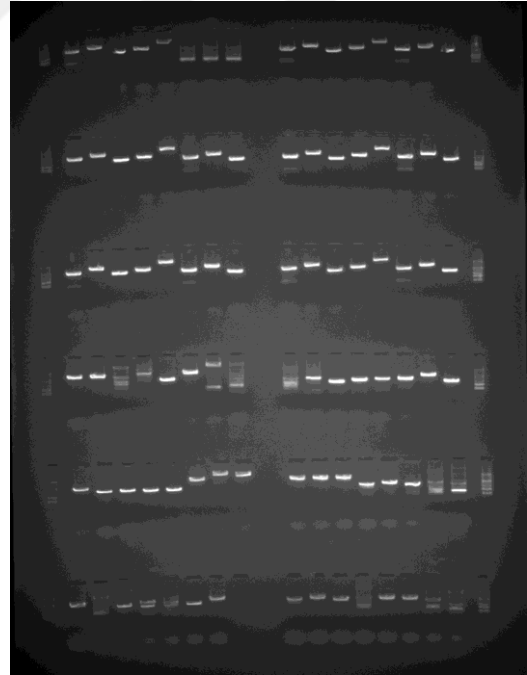
2.5. Agaroz Jel Elektroforezi (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)

PCR ile amplifiye edilen DNA'nın tespitini sağlamak için agaroz jel elektrofrezinde kontrol edilmektedir. Elektrofrez, elektriksel bir alanda moleküllerin ağırlıklarına, büyüklüklerine ve yüklerine göre ayrıldıkları bir yöntemdir.

- Agaroz
- TBE (Tris- Boric Acid- Edta Solüsyonu)
- Jel Tarakları
- Jel Dökme Tepsisi
- EtBr (Etidyum Bromür)



Şekil 2.3. Elektrofrez Tankı



Şekil 2.4. Agaroz Jel Görüntüsü

2.6. Yeni Nesil Sekanslama (Rutin hizmet kapsamında mtDNA analizi)

Üç temel aşamada yürütölmektedir;

- Kütüphane hazırlama: Kütüphane oluşturmak için belirli bir DNA parçasının nükleotid dizisinin belirlenmesi, DNA önce rastgele parçalara bölünmektedir.
- Amplifikasyon (Çoğaltma): Tek bir DNA parçasından amplifikasyonu katı yüzey üzerinde rastgele yerleştirilen DNA parçalarının köprü amplifikasyon PCR ile çoğaltılmasıdır.
- Dizileme: Rastgele (Shotgun) okumalar olur. Çok sayıda kısa parçanın paralel okuma sonrası kısa parçaların yazılım ile birleştirilmesi veriler elde edilmektedir. Verileri analiz edilmek için uygun hale gelmektedir.



Şekil 2.5. Illumina MiSeq Cihazı

2.6.1. Örnek Hazırlama

DNA parçaları rastgele kısa parçalar haline getirilmektedir. Tek bir DNA parçasının amplifikasyonu PCR ile çoğaltılmaktadır. Primerlerin uçlarına adaptör dediğimiz DNA'lar eklenilmekte ve sekanslaması sağlanmaktadır.

2.6.2. Küme Oluşturma

Bu basamak Flow Cell üzerinde gerçekleşmektedir (Şekil 2.5). Miseq cihazına eklenen DNA'lar Flow Cell'in üzerine yapışmış durumda olan primerler aracılığıyla DNA parçaları ile hibridize olmaktadır. Primerler Flow Cell'in üzerine yapıştığı noktada PCR gerçekleşmektedir. PCR'ın gerçekleşmesi sonucunda tek DNA'dan klonlanmış yaklaşık 1000 kopya içeren cluster adı verilen yapılar meydana gelmektedir (Şekil 2.6)



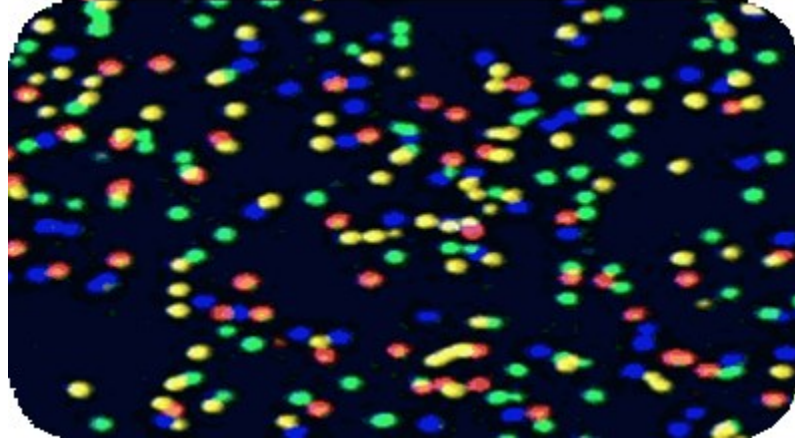
Şekil 2.6. MiSeq Flow Cell



Şekil 2.7. Cluster

2.6.3. Senteze Göre Dizileme (SBS)

Clusterlerin oluşması sonrasında sekanslama aşamasına geçilmektedir. Dizileme sırasında akış hücresi kanalına dört dNTP ve DNA polimeraz enzimi eklenmektedir. Ek olarak, bu metotta kullanılmakta olan dNTP'lerin 3'-OH grupları kimyasal olarak bloke edilmekte ve her dNTP farklı farklı floresan olarak etiketlenmektedir. Görüntülemenin yapılması için kalıp DNA'ya bir baz ekleme adımından sonra gerçekleştirilmektedir. Bu basamakta reaksiyonun gerçekleştiği akış hücresinin şablon DNA'sına hangi bazların ekleneceği belirlenmektedir. Bir sonraki basamakta, dNTP'nin 3'-OH ucunu kimyasal olarak bloke eden grubu çıkarmaktır. Belirlenen döngü sayısında tekrar edilmekte ve farklı nükleotitlerin farklı renklerde olan okumaları görülmektedir (Şekil 2.7).



Şekil 2.8. Senteze Göre Sıralama Görüntüsü

2.6.4. Base Calling

Arka arkaya elde edilen görüntülerin analiz edilmesi sonucunda o noktadaki cluster dizisi ortaya çıkmaktadır. Miseq cihazının RTA Reporter Yazılımı ile okumalar yapılmaktadır.

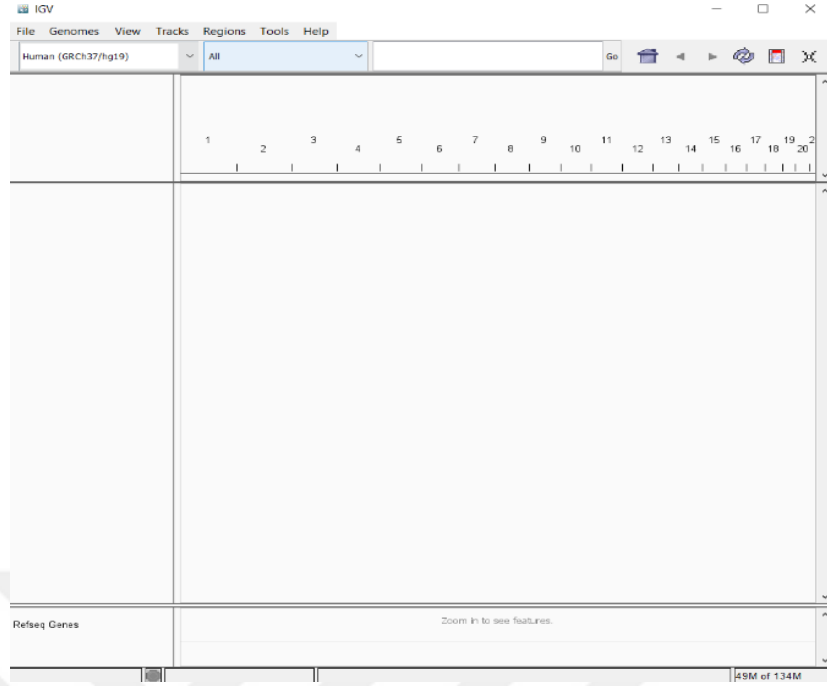
2.6.5. Hizalama

Elde edilen 15 milyon okuma, yazılım programlarının yardımı ile parçalanmış dizinin tekrar birleştirilmesiyle kesintisiz dizi elde edilerek analiz aşamasına hazır hale gelmektedir.

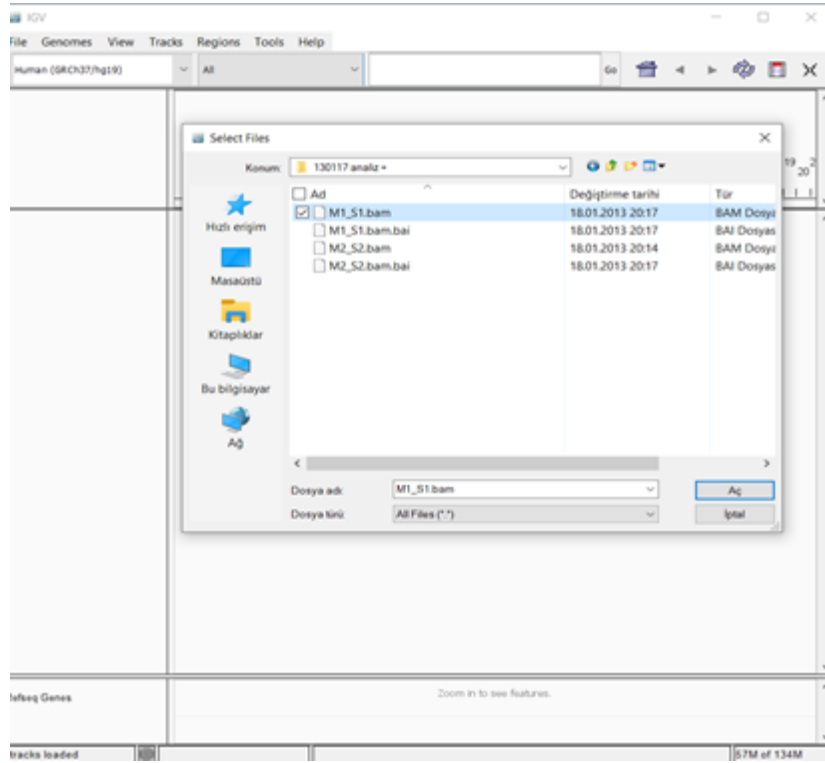
2.7. MtDNA Verilerinin Analizi

Yeni nesil sekanslama sonrasında elde edilen 16,569 baz çifti uzunluğundaki mtDNA verileri Integrative Genomics Viewer (IGV) analiz programına yüklenir. (Şekil 2.9.). Genomik veri setlerinin analiz edilmesi için kullanılan yüksek performanslı görselleştirme aracıdır (Şekil 2.10.). Verilerin analiz edilebilmesi için bam dosyaları kullanılır. Bam dosyaları, elde edilen okumaların belirtilen genom

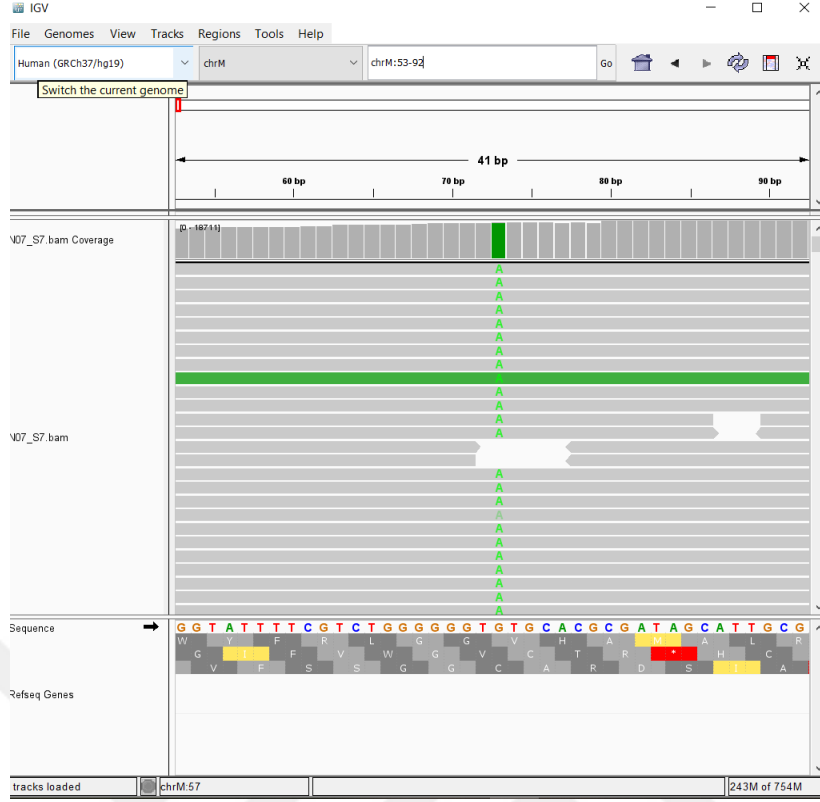
üzerinde hizalanmış halidir. Analizi yapılacak bam dosyası programa yüklenir. Arama çubuğuna üzerinde çalışılacak genin ismi yazılır (Şekil 2.11.). Analiz edilecek verilerin okuma kalitesi önem arz etmektedir. Kalite skoru 20'nin üzerinde olan bireyler analiz edilir (Şekil 2.12.). Programda histogramlar ile verilerin gösterildiği bölümler mevcuttur (Şekil 2.13.). Histogramlarda toplam okuma sayısı belirtilir. Belirtilen bu sayıya göre okumalardaki Adenin, Timin, Guanin, Sitozin oranları elde edilir. Histogramda okuma yapılmayan noktalar N ile ifade edilmektedir. Heterozigot bir değişiklik görünüyorsa bu değişikliğin %50 olması beklenir. Referans genom dizisi ile bireye ait dizi karşılaştırıldığında çıkan sonuç referans genom ile aynıysa histogram üzerinde aynı renkte, bir değişim var ise farklı renkte görünmektedir (Şekil 2.14.). Görsellerde boş alanların görünmesi PCR sırasında veya sekans sonrası oluşan hatalardan kaynaklanmaktadır (Şekil 2.18.). Ayarlar kısmından threshold (eşik değeri) belirlenir. %10'un üzerinde oluşan değişimler histogramda gösterilmektedir (Şekil 2.15.). Delesyon, duplikasyon, insersiyon histogramda görülmemektedir (Şekil 2.16.). Referans diziye bakılarak IGV programında gösterilen değişiklikler her birey için kaydedilmektedir. 526 bireyin mtDNA verileri programa yüklenerek analiz edilmektedir. Değişiklikler Excel tablosunda belirtilmektedir. Referans dizide A görülmesi gereken yerde IGV programının hologram görüntüsünde T görünüyorsa ve oranı %100 ise homozigot bir değişiklik olduğu belirtilmektedir (Şekil 2.17.).



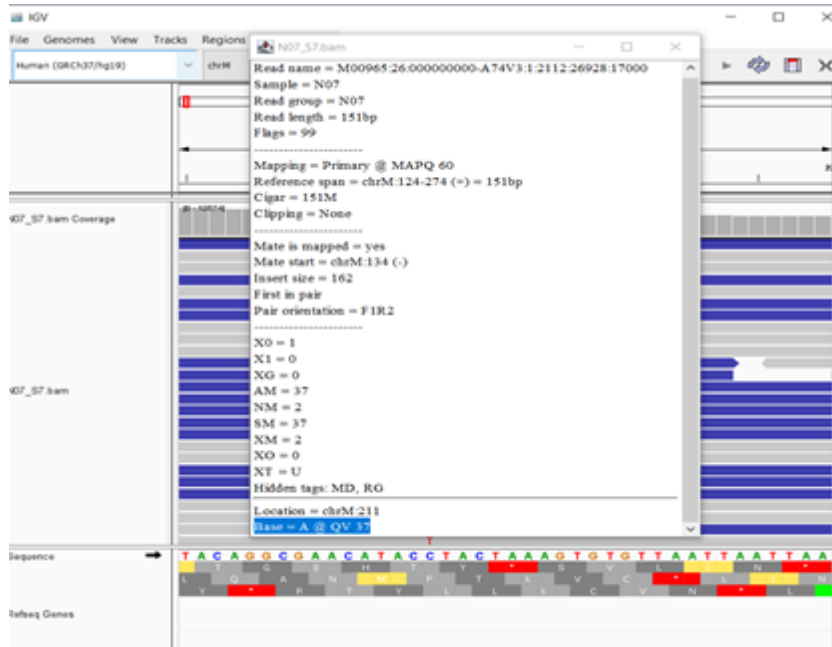
Şekil 2.9. IGV Programı



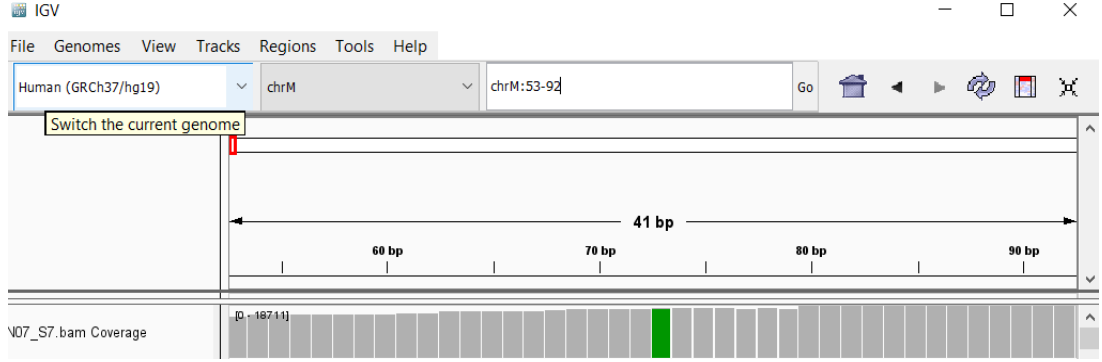
Şekil 2.10. Dataların Yüklenilmesi



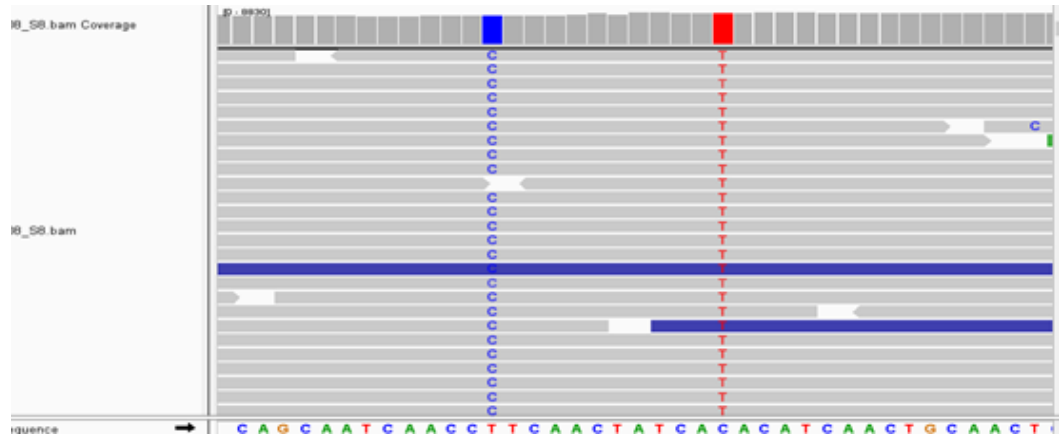
Şekil 2.11. Verilerin Programa Yüklenmesi Sonucu Bireylerin Verilerinin Görsel Gösterimi



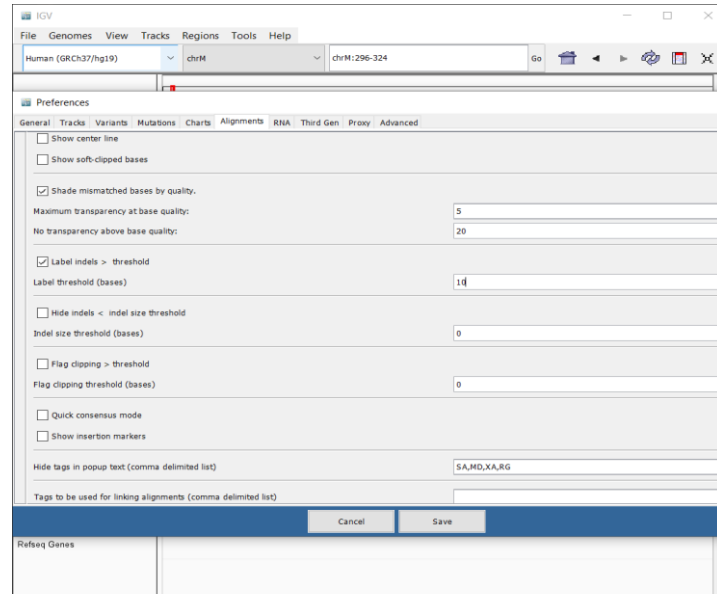
Şekil 2.12. Kalite Skoru (Base)



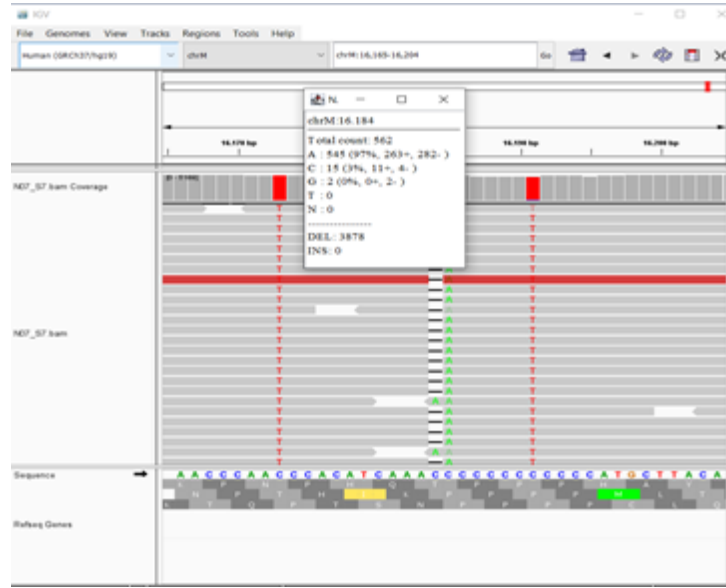
Şekil 2.13. Histogram Görüntüsü



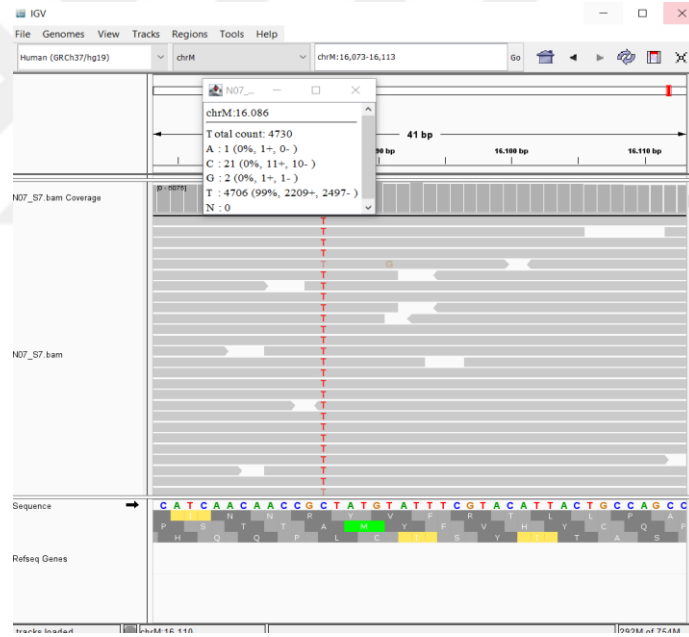
Şekil 2.14. Referans Dizi Okumalarının Farklı Okumaları



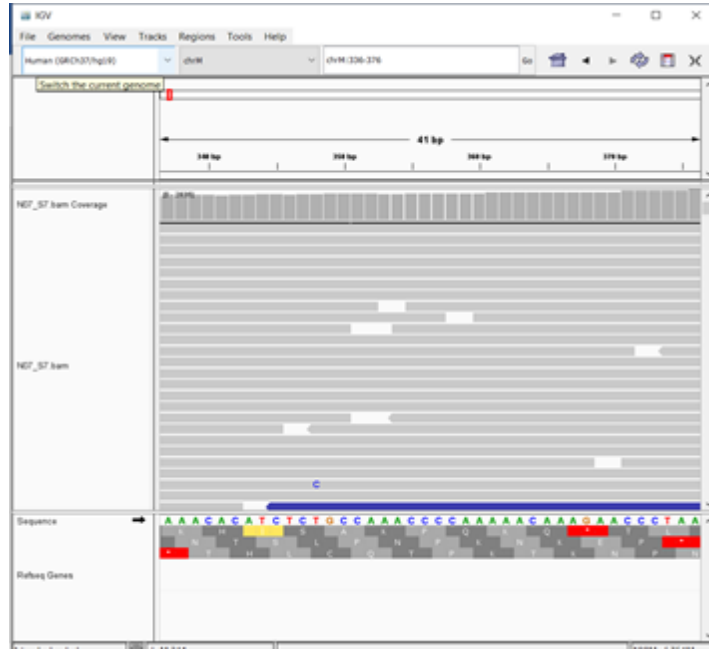
Şekil 2.15. Threshold (Eşik Değer)



Şekil 2.16. Delesyon Görüntüsü



Şekil 2.17. Homozigot Değişimin Görüntüsü



Şekil 2.18. PZR veya Sekans Hatasının Okuma Yapmayan Kısımları

2.8. Verilerin İstatistiksel Analizi

MtDNA verilerinin değerlendirilmesi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 analiz programı kullanılmıştır. Analizde tüm veriler %95'lik güven aralığında ve anlamlılık derecesi $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Yapılan analizde mtDNA'nın HVRI ve HVRII bölgeleri arasındaki değişimlerin istatistiksel analizinde ki-kare testi uygulanmıştır.

MtDNA çalışma grubu ile popülasyonlar arası değerlendirilmesi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 analiz programı kullanılmıştır. Analizde tüm veriler %95'lik güven aralığında ve anlamlılık derecesi $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir. Yapılan analizde mtDNA'nın HVRI ve HVRII bölgeleri Türkiye'de yaşayan bireyle ve diğer popülasyonlarda görülme sıklıkları istatistiksel analizinde ki-kare testi ve Fisher'in kesin testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Örneklem Grubu

Rutin hizmet kapsamında mtDNA dizi analizi yapılan 526 bireyin dosya bilgilerinden, mtDNA HVRI ve HVRII bölgelerinin varyant analizi yapılmıştır. Örneklem grubunda bireylerin akraba olmamaları gerekmektedir. Toplam 350 varyasyonun 224'ü HVRI bölgesinde, 126'sı HVRII bölgesinde tespit edilmiştir. HVRI bölgesinde meydana gelen 78 varyasyon tek kişiye ait değişiklikler olarak tespit edilirken, 111 varyasyon ise birden fazla kişide görülen değişimler olarak tespit edilmiştir. HVRI bölgesinde görülen 224 varyasyonun 35'i transisyon olarak tespit edilmiştir. HVRII bölgesinde meydana gelen 56 varyasyon tek kişiye ait değişiklikler olarak tespit edilmiştir. 49 varyasyonun ise birden fazla kişide olduğu tespit edilmiştir. HVRII bölgesindeki 126 varyasyonun 19'u transisyon, 2'si delesyon ve 1 adeti de inversiyondur.

Varyasyon	Bölge						Kikare	P
	1		2		Toplam			
	n	%	n	%	n	%		
Transisyon	3063	74,8	2262	92,8	5325	81,5	415,6	<0,001
Transversiyon	531	13,0	22	0,9	553	8,5		
Del	502	12,3	139	5,7	641	9,8		
İnsersiyon	0	0,0	15	0,6	15	0,2		
Toplam	4096	100,0	2438	100,0	6534	100,0		

İki bölge arasında varyasyonlar açısından anlamlı farklılık bulunmuştur (kikare=415,6; p<0,001).

Çizelge 3.1. HVRI Bölgesinde Tespit Edilen Değişimler

Kişi Sayısı	Pozisyon	Değişim	Oranı (%)	Mutasyon
4	16052	A>G	%1	Transisyon
10	16068	C>T	%2	Transisyon
50	16070	C>T	%10	Transisyon
11	16,087	T>C	%2	Transisyon
36	16094	T>C	%7	Transisyon
16	16112	C>T	%3	Transisyon
112	16127	T>C	%21	Transisyon
41	16130	G>A	%8	Transisyon
28	16146	G>A	%5	Transisyon
19	16164	A>G	%4	Transisyon
502	16173	C>T	%95	Transisyon
12	16188	C>T	%2	Transisyon
413	16191	C>T	%78	Transisyon
26	16194	C>T	%5	Transisyon
13	16195	C>T	%2	Transisyon
423	16225	T>C	%80	Transisyon
47	16226	T>C	%9	Transisyon
10	16236	C>T	%2	Transisyon
20	16251	T>C	%4	Transisyon
15	1,258	C>T	%3	Transisyon
13	16263	C>T	%2	Transisyon
13	16272	T>C	%2	Transisyon
31	16280	C>T	%6	Transisyon
34	16294	C>T	%6	Transisyon
63	16296	C>T	%22	Transisyon
15	16298	C>T	%3	Transisyon
14	16300	C>T	%3	Transisyon
22	16306	T>C	%4	Transisyon
12	16311	A>G	%2	Transisyon
93	16313	T>C	%17	Transisyon
15	16320	A>T	%13	Transisyon
492	16322	T>C	%94	Transisyon
13	16329	C>T	%2	Transisyon
11	16357	C>T	%2	Transisyon
37	16364	T>C	%7	Transisyon

Çizelge 3.2. HVRII Bölgesinde Tespit Edilen Değişimler

Kişi Sayısı	Pozisyon	Değişim	Oranı (%)	Mutasyon
162	73	G>A	%30	Transisyon
12	143	G>A	%2	Transisyon
56	146	T>C	%10	Transisyon
453	150	T>C	%86	Transisyon
143	152	T>C	%27	Transisyon
18	153	A>G	%3	Transisyon
26	185	G>A	%5	Transisyon
29	189	A>G	%5	Transisyon
17	194	C>T	%3	Transisyon
415	195	C>T	%79	Transisyon
30	199	C>T	%6	Transisyon
14	200	A>G	%3	Transisyon
32	204	T>C	%6	Transisyon
30	207	G>A	%6	Transisyon
25	288	G>A	%5	Transisyon
15	248	Del	%3	Delesyon
405	263	G>A	%76	Transisyon
40	295	C>T	%8	Transisyon
18	285	C>T	%3	Transisyon
117	303	Del	%20	Delesyon
15	303	İns	%3	İnsersiyon
192	311	T>C	%36	Transisyon

Çizelge 3.3. HVRI ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyantlar

526 bireyin analizi sonucunda görülen HVRI ve HVRII bölgelerinde görülen varyantlar:

16,038 homA>G	16,043hom G>A	16,048homG>A	16,049homG>A	16,052homA>G
16,067homAG	16,068 homC>T	16,070 homC>T	16,076homT>C	16,080homC>T
16,082homA>G	16,083homC>T	16,086homC>T	16,087homT>C	16,093hetT>C
16,093homT>C	16,094hetT>C	16,094homT>C	16,094homT>C	16,103homT>C
16,105homC>T	16,115homC>T	16,112homC>T	16,125homT>C	16,127hom T>C
16,130 hetG>A	16,130 hom G>A	16,133homA>G	16,135homC>T	16,137homT>C
16,146homG>A	16,148homC>T	16,149homC>T	16,150homC>T	16,163homA>G
16,154homG>A	16,162homT>C	16,164 homA>G	16,165homA>G	16,168homC>T
16,169homC>T	16,170homC>T	16,171hetA>G	16,171homA>G	16,173 hetC>T
16,173 homC>T	16,174hetC>T	16,174homC>T	16,175homC>T	16,179homT>C
16,180homC>T	16,177 homC>T	16,184 hetC>T	16,186homC>T	16,188 homC>T
16,190 homC>T	16,191 hetC>T	16,191 homC>T	16,194hom C>T	16,195 homC>T
16,209homA>G	16,211hetT>C	16,211homT>C	16,213homC>T	16,215homG>A
16,216homC>A	16,216homC>T	16,219 homT>C	16,223 hom	16,220homC >T

			C>T	
16,220homC>T	16,224homC>T	16,223 homC>T	16,224 homT>C	16,225 homT>C
16,225 hetT>C	16,226homT>C	16,229homA>G	16,233homT>C	16,236homC>T
16,237homA>G	16,241homC>T	16,242homA>G	16,243homT>C	16,244homC>T
16,245homT>C	16,250homC>T	16,251homT>C	16,246homG>A	16,251homT>C
16,258homC>T	16,260homA>G	16,262homC>T	16,263homC>T	16,263 hetC>T
16,264homC>T	16,266homC>T	16,267homA>G	16,268homC>T	16,272homC>T
16,273homT>C	16,276homG>A	16,276homG>A	16,280hetC>T	16,280homC>T
16,286hetA>G	16,286homA>G	16,288homC>T	16,290homT>C	16,291homA>G
16,292homC>T	16,293homC>G	16,293homC>T	16,293homC>T	16,294hetC>T
16,294homC>T	16,294homC>T	16,295hetA>G	16,295homA>G	16,296 hetC>T
16,296 homC>T	16,297hetC>T	16,267homC>T	16,298homC>T	16,298hetC>T
16,299homT>C	16,300homT>C	16,301homA>G	16,301homA>G	16,302homA>G
16,303homT>C	16,302homA>G	16,305homT>C	16,306homT>C	16,307homT>C
16,311homA>G	16,313 hetT>C	16,313 homT>C	16,314homT>C	16,318homA>G
16,319homA>G	16,320homA>T	16,321hetG>A	16,321homG>A	16,322 homT>C
16,326homT>C	16,327hetT>C	16,327homT>C	16,322 homT>C	16,329homC>T
16,337homA>G	16,344homT>C	16,344homA>G	16,345homA>G	16,345homA>G
16,354homT>C	16,522homC>T	16,522homC>T	16,357homC>T	16,357hetC>T

16,356homC>T	16,358homT>C	16,358homT>C	16,364homT>C	16,365homT>C
16,370homT>C				

HVRI ve HVRII bölgelerinde saptadığımız varyantların popülasyondaki görülme sıklıkları gnomAD v3.1 veri bankası kullanılarak tespit edilmiştir. Her varyantın gnomAD verileri çizelge halinde verilmiştir. (Çizelge 3.4.- Çizelge 3.36). Popülasyon frekansları ile çalışma grubumuzdaki allel frekansları ki kare testi ve Fisher testi uygulanarak kıyaslanmıştır. Varyant bazında p değerleri çizelgelerde verilmektedir.

Çizelge 3.4. HVRI Bölgesinde 16052 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1.Doğu Asya	1482	0	0.00	<0.001
2.Güney Asya	1493	0	0.00	
3.Afrika/ Afrika Amerika	14347	0	0.00	
4.Latin / Karışık Amerika	5717	0	0.00	
5.Diğer Popülasyonlar	826	0	0.00	
6.Aşkenaz Yahudisi	1455	0	0.00	
7.Orta Doğu	20	0	0.00	
8.Amiş	392	0	0.00	
9.Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.00	
10.Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25847	1	0.00003869	
Toplam	56431	1	0.00001772	<0.001
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	4	0.001	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16052 A>G varyantının popülasyon frekansı 0,00001772’dir. Çalışma grubumuzda 16052 A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0,001’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16052 A>G varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16052 A>G varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Güney Asya, Afrika/ Afrika Amerika, Latin Karışı Amerika, Diğer Popülasyonlar, Orta Doğu, Amiş ve Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.5. HVRI Bölgesinde 16068 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	4	0.002699	<0.001
2. Güney Asya	1493	0	0.000	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14345	7	0.004880	
4. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
5. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
6. Orta Doğu	20	0	0.000	
7. Amiş	392	0	0.000	
8. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	5718	1	0.00003869	
Toplam	56429	12	0.0002127	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	10	0.002	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16068 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.0002127’dir. Çalışma grubumuzda 16068 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.0002’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16068 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16068 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Güney Asya, Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Amiş, Diğer Popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.6. HVRI Bölgesinde 16070 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1.Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2.Güney Asya	1493	0	0.00	
3.Afrika/ Afrika Amerika	14347	3	0.0002091	
4.Latin / Karışık Amerika	5717	0	0.00	
5.Diğer Popülasyonlar	826	1	0.001211	
6.Aşkenaz Yahudisi	1415	1	0.0007067	
7.Orta Doğu	20	0	0.000	
8.Amiş	392	0	0.000	
9.Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	6	0.001226	
10.Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	2584	21	0.0008124	
Toplam	56433	32	0.0005670	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	50	0.01	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16070 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.0005670’dır. Çalışma grubumuzda 16070 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.01’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16070 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16070 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Doğu Asya, Güney Asya, Orta Doğu, Amiş, Diğer Popülasyonlar ve Latin/Karışık Amerika popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.7. HVRI Bölgesinde 16094 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1481	1	0.0006752	<0.001
2. Güney Asya	1493	1	0.0006698	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	3	0.0002091	
4. Latin / Karışık Amerika	5717	4	0.0006998	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	1	0.0002044	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25847	9	0.0003482	
Toplam	56429	19	0,0003367	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	36	0.007	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16094 T>C varyantının popülasyon frekansı 0,0003367’dir. Çalışma grubumuzda 16094 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.007’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16094 T>C varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16094 T>C varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Amiş ve Diğer Popülasyonlar popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.8. HVRI Bölgesinde 16127 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P Değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	0	0.000	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	0	0.000	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	0	0.000	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25849	1	0.00003869	
Toplam	56434	1	0.00001772	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	112	0.21	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 160127 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.00001772’dir. Çalışma grubumuzda 16127 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.21’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16127 T>C varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16127 T>C varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Güney Asya, Afrika/ Afrika Amerika, Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Doğu Asya, Latin Karışık Amerika, Amiş, Diğer Popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.9. HVRI Bölgesinde 16146 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	0	0.000	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14346	6	0.0004182	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	0	0.000	
5. Diğer Popülasyonlar	826	1	0.001211	
6. Aşkenaz Yahudisi	1414	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	70	0.01431	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25846	96	0.003714	
Toplam	56429	173	0.003066	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	28	0.05	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16146 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.003066’dır. Çalışma grubumuzda 16146 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.05’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16146 G>A varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16146 G>A varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Güney Asya, Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Doğu Asya, Latin Karışık Amerika ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.10. HVRI Bölgesinde 16164 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	20	0.01350	<0.001
2. Güney Asya	1493	1	0.0006698	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	8	0.0005576	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	7	0.001224	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1414	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25843	15	0.0005804	
Toplam	56426	51	0.0009038	<0.001
Türkiye’de yaşayan bireyler	529	19	0.04	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16164 A>G varyantının popülasyon frekansı 0.0009038’dir. Çalışma grubumuzda 16164 A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0.04’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16164 A>G varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16164 A>G varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Avrupa (Fin popülasyonu), Amiş ve diğer popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.11. HVRI Bölgesinde 16173 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. DoğuAsya	1482	4	0.002699	<0.001
2. Güney Asya	1493	1	0.0006698	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	20	0.001394	
4. Latin / Karışık Amerika	5717	2	0.0003498	
5. Diğer Popülasyonlar	826	2	0.002421	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	2	0.001413	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25844	22	0.0008513	
Toplam	56428	53	0.0009393	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	502	0.95	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16173 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.0009393’dir. Çalışma grubumuzda 16173 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.95’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16173 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16173 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş, Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.12. HVRI Bölgesinde 16188 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Kuzey Asya	1482	1	0.0006748	<0.001
2. Güney Asya	1493	16	0.01072	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14345	11	0.0007668	
4. Latin / Karışık Amerika	5716	17	0.002974	
5. Diğer Popülasyonlar	826	2	0.002421	
6. Aşkenaz Yahudisi	1413	1	0.0007077	
7. Orta Doğu	392	0	0.000	
8. Amiş	20	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	4	0.0008178	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25833	69	0.002671	
Toplam	56411	121	0.002145	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	12	0.02	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16188 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.002145’dir. Çalışma grubumuzda 16188 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.02’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16188 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16188 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.13. HVRI Bölgesinde 16191 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	0	0.000	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	0	0.000	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	0	0.000	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25849	4	0.0001547	
Toplam	56434	4	0.00007088	<0.001
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	413	0.78	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16191 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.00007088’dir. Çalışma grubumuzda 16191 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.78’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16191 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16191 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Güney Asya, Afrika/ Afrika Amerika, Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Doğu Asya, Latin Karışık Amerika, Amiş, Diğer Popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.14. HVRI Bölgesinde 16195 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1481	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1494	1	0.0006698	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14346	3	0.0002091	
4. Latin / Karışık Amerika	5712	7	0.001225	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1413	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25839	16	0.0006192	
Toplam	56414	27	0.0004786	<0.001
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	13	0.02	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16195 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.0004786’dir. Çalışma grubumuzda 16195 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.02’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16195 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16195 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Doğu Asya, Amiş ve diğer popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.15. HVRI Bölgesinde 16225 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	1	0.0006698	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	22	0.001533	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	1	0.0001749	
5. Diğer Popülasyonlar	826	0	0.000	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	1	0.0002044	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25849	0	0.000	
Toplam	56434	28	0.0004786	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	423	0.78	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16225 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.0004786’dir. Çalışma grubumuzda 16225 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.78’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 16225 T>C varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 16225 T>C varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Aşkenaz Yahudisi, Orta Doğu, Doğu Asya, Amiş, Diğer Popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.16. HVRI Bölgesinde 162633 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	10	0.006748	<0.001
2. Güney Asya	1492	8	0.005362	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14343	75	0.005229	
4. Latin / Karışık Amerika	5717	5	0.0008746	
5. Diğer Popülasyonlar	825	1	0.001212	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	2	0.001413	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4890	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25839	259	0.01002	
Toplam	56415	360	0.006381	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	13	0.02	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 162633 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.006381’dir. Çalışma grubumuzda 162633 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.02’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 162633 T>C varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 162633 T>C varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu, Amiş ve Avrupa (Fin popülasyonu) popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.17. HVRI Bölgesinde 16296 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	14	0.009377	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	36	0.002509	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	19	0.003323	
5. Diğer Popülasyonlar	826	16	0.01937	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	25	0.01767	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	13	0.03316	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4889	141	0.02884	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25842	1414	0.05472	
Toplam	56424	1678	0.02974	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	63	0.22	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16296 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.02974’dır. Çalışma grubumuzda 16296 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.22’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Ek olarak 16296 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Doğu Asya ve Orta Doğu popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.18. HVRI Bölgesinde 16298 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	176	0.1188	<0.001
2. Güney Asya	1493	23	0.01541	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14343	131	0.009133	
4. Latin / Karışık Amerika	5713	702	0.1229	
5. Diğer Popülasyonlar	826	57	0.06901	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	49	0.03463	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	379	0.07747	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25839	1295	0.05012	
Toplam	56415	2812	0.04984	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	15	0.03	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRI Bölgesinde yer alan 16298 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.04984’dır. Çalışma grubumuzda 16298 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.03’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Ek olarak 16298 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.19. HVRİI Bölgesinde 73 G>A

1.	Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı
2.	Doğu Asya	1482	1478	0.9973
3.	Güney Asya	1492	1425	0.9551
4.	Afrika/ Afrika Amerika	14286	13449	0.9414
5.	Latin / Karışık Amerika	5700	5035	0.8833
6.	Diğer Popülasyonlar	824	641	0.7779
7.	Aşkenaz Yahudisi	1404	917	0.6531
8.	Orta Doğu	20	13	0.6500
9.	Amiş	385	229	0.5948
10.	Avrupa (Fin popülasyonu)	4846	2814	0.5807
11.	Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25725	14198	0.5519
	Toplam	56164	40199	0.7157
	Türkiye’de yaşayan bireyler	526	162	0.3

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 73 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.7157’dir. Çalışma grubumuzda 73 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.03’dir.

Çizelge 3.20. HVRİI Bölgesinde 143 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	15	0.01012	<0.001
2. Güney Asya	1493	44	0.02947	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14343	1250	0.08715	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	186	0.03253	
5. Diğer Popülasyonlar	826	30	0.03632	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	1	0.0007067	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	18	0.003680	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25845	182	0.007042	
Toplam	56425	1726	0.03059	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	12	0.02	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 143 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.03059’dır. Çalışma grubumuzda 143 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.02’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Ek olarak 143 G>A varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.21. HVRİI Bölgesinde 146 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı
1. Doğu Asya	1447	202	0.1396
2. Güney Asya	1462	224	0.1532
3. Afrika/ Afrika Amerika	14148	4774	0.3374
4. Latin / Karışık Amerika	5626	2664	0.4735
5. Diğer Popülasyonlar	811	194	0.2392
6. Aşkenaz Yahudisi	1383	204	0.1475
7. Orta Doğu	19	1	0.05263
8. Amiş	381	0	0.000
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4792	665	0.1388
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25271	2344	0.09275
Toplam	55340	11272	0.2037
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	56	0.1

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 146 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.2037’dir. Çalışma grubumuzda 146 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.01’dir.

Çizelge 3.22. HVRII Bölgesinde 150 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1474	340	0.2307	<0.001
2. Güney Asya	1491	156	0.07109	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14322	5011	0.3499	
4. Latin / Karışık Amerika	5702	417	0.07313	
5. Diğer Popülasyonlar	825	156	0.1891	
6. Aşkenaz Yahudisi	1413	43	0.03043	
7. Orta Doğu	20	6	0.3000	
8. Amiş	392	18	0.04592	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4880	785	0.1609	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25796	2482	0.09622	
Toplam	56315	9364	0.1663	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	453	0.86	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 150 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.1663’dir. Çalışma grubumuzda 150 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.86’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 150 T>C varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir

Çizelge 3.23. HVRİI Bölgesinde 152 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1468	358	0.2439	<0.001
2. Güney Asya	1477	466	0.3155	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14255	8888	0.6235	
4. Latin / Karışık Amerika	5657	1040	0.1838	
5. Diğer Popülasyonlar	820	268	0.3268	
6. Aşkenaz Yahudisi	1400	369	0.2636	
7. Orta Doğu	20	10	0.5000	
8. Amiş	381	148	0.3885	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4819	685	0.1421	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25496	5473	0.2147	
Toplam	55793	17705	0.3173	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	143	0.27	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 152 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.3173’dir. Çalışma grubumuzda 152 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.27’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.24. HVRII Bölgesinde 153 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1481	20	0.01784	<0.001
2. Güney Asya	1493	34	0.02277	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14343	154	0.01074	
4. Latin / Karışık Amerika	5706	2272	0.3982	
5. Diğer Popülasyonlar	826	89	0.1077	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	11	0.007774	
7. Orta Doğu	20	1	0.05000	
8. Amiş	392	25	0.06378	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	56	0.01145	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25844	461	0.01784	
Toplam	56411	3123	0.05536	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	18	0.03	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 153 A>G varyantının popülasyon frekansı 0.05536’dır. Çalışma grubumuzda 153 A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0.03’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.25. HVRII Bölgesinde 185 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	27	0.01822	<0.001
2. Güney Asya	1493	20	0.01340	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14345	803	0.05598	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	153	0.02676	
5. Diğer Popülasyonlar	826	34	0.04116	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	70	0.04947	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	187	0.03823	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25840	1553	0.05933	
Toplam	56422	2827	0.05010	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	26	0.05	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 185 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.05010’dır. Çalışma grubumuzda 185 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.05’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Ek olarak 185 G>A varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.26. HVRII Bölgesinde 189 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1476	35	0.02371	<0.001
2. Güney Asya	1493	20	0.01340	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14280	2987	0.2092	
4. Latin / Karışık Amerika	5689	178	0.03129	
5. Diğer Popülasyonlar	824	55	0.06675	
6. Aşkenaz Yahudisi	1399	21	0.01501	
7. Orta Doğu	20	3	0.1500	
8. Amiş	391	9	0.02302	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4865	222	0.04563	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25598	758	0.02961	
Toplam	56025	4336	0.07739	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	29	0.05	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 189 A>G varyantının popülasyon frekansı 0.07739’dır. Çalışma grubumuzda 189 A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0.05’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.27. HVRII Bölgesinde 194 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı
1. Doğu Asya	1481	37	0.02498
2. Güney Asya	1493	68	0.04555
3. Afrika/ Afrika Amerika	14338	56	0.003906
4. Latin / Karışık Amerika	5716	100	0.01749
5. Diğer Popülasyonlar	826	10	0.01211
6. Aşkenaz Yahudisi	1414	9	0.006365
7. Orta Doğu	20	1	0.05000
8. Amiş	392	0	0.000
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4889	38	0.007773
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25830	317	0.01227
Toplam	56399	636	0.01128
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	29	0.05

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 194 A>G varyantının popülasyon frekansı 0.01227’dir. Çalışma grubumuzda 194 A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0.05’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 194 A>G varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir.

Çizelge 3.28. HVRII Bölgesinde 195 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1475	88	0.05966	<0.001
2. Güney Asya	1486	227	0.1528	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14276	8723	0.6110	
4. Latin / Karışık Amerika	5680	486	0.08556	
5. Diğer Popülasyonlar	823	245	0.2977	
6. Aşkenaz Yahudisi	1407	303	0.2154	
7. Orta Doğu	20	4	0.2000	
8. Amiş	390	74	0.1897	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4851	783	0.1614	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25666	4745	0.1772	
Toplam	56074	1485	0.2761	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	415	0.79	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 195 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.2761’dir. Çalışma grubumuzda 195 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.79’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 195 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir.

Çizelge 3.29. HVRII Bölgesinde 199 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1478	208	0.1407	<0.001
2. Güney Asya	1492	81	0.05429	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14339	334	0.02329	
4. Latin / Karışık Amerika	5715	28	0.004899	
5. Diğer Popülasyonlar	826	31	0.03753	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	43	0.03039	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4888	81	0.03703	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25830	1074	0.04158	
Toplam	56395	1980	0.03511	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	30	0.06	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 199 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.03511’dir. Çalışma grubumuzda 199 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.06’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 199 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 199 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.30. HVRİI Bölgesinde 200 A>G

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1481	24	0.01621	<0.001
2. Güney Asya	1491	39	0.02616	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14326	1568	0.1095	
4. Latin / Karışık Amerika	5713	99	0.01733	
5. Diğer Popülasyonlar	825	20	0.02424	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	1	0.0007067	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4884	5	0.001024	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25830	274	0.01061	
Toplam	56377	2030	0.03601	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	14	0.03	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 200A>G varyantının popülasyon frekansı 0.03601’dir. Çalışma grubumuzda 200A>G varyantının popülasyon frekansı ise 0.03’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi Fisher testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Ek olarak 200 A>G varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.31. HVRII Bölgesinde 204 T>C

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1388	90	0.06484	<0.001
2. Güney Asya	1449	175	0.1208	
3. Afrika/ Afrika Amerika	13847	1082	0.07814	
4. Latin / Karışık Amerika	5777	206	0.03694	
5. Diğer Popülasyonlar	797	49	0.06148	
6. Aşkenaz Yahudisi	1365	59	0.04322	
7. Orta Doğu	18	1	0.05556	
8. Amiş	388	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4752	341	0.07176	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	24787	1590	0.06415	
Toplam	54368	3593	0.06609	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	32	0.06	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 204 T>C varyantının popülasyon frekansı 0.06609’dur. Çalışma grubumuzda 204 T>C varyantının popülasyon frekansı ise 0.06’dur. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.32. HVRİI Bölgesinde 207 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	81	0.05466	<0.001
2. Güney Asya	1490	79	0.05302	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14334	385	0.02686	
4. Latin / Karışık Amerika	5713	167	0.02923	
5. Diğer Popülasyonlar	826	30	0.03632	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	43	0.03039	
7. Orta Doğu	20	1	0.05000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4889	245	0.05011	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25842	1027	0.03974	
Toplam	56403	2058	0.03649	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	30	0.06	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 207 G>Avaryantının popülasyon frekansı 0.03649’dır. Çalışma grubumuzda 207 G>Avaryantının popülasyon frekansı ise 0.06’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 207 G>Avaryantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir.

Çizelge 3.33. HVRİI Bölgesinde 288 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	0	0.000	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14346	0	0.000	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	1	0.0001749	
5. Diğer Popülasyonlar	826	1	0.001211	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	0	0.000	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4892	0	0.000	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25849	3	0.0001161	
Toplam	56433	5	0.00008860	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	25	0.05	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 288 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.00008860’dır. Çalışma grubumuzda 288 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.05’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 288G>A varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 288 G>A varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Avrupa (Fin popülasyonu), Aşkenaz Yahudisi, Doğu Asya, Güney Asya, Afrika/Afrika Amerika, Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.34. HVRII Bölgesinde 263 G>A

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1481	1462	0.9872	<0.001
2. Güney Asya	1493	1485	0.9946	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14344	14279	0.9955	
4. Latin / Karışık Amerika	5715	5543	0.9699	
5. Diğer Popülasyonlar	826	805	0.9746	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	1415	1	
7. Orta Doğu	20	20	1	
8. Amiş	392	392	1	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4890	4867	0.9953	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25844	25627	0.9916	
Toplam	56420	55895	0.9907	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	405	0.76	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRII Bölgesinde yer alan 263 G>A varyantının popülasyon frekansı 0.9907’dir. Çalışma grubumuzda 263 G>A varyantının popülasyon frekansı ise 0.76’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır.

Çizelge 3.35. HVRİI Bölgesinde 295 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1492	27	0.01810	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14347	67	0.004670	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	143	0.02501	
5. Diğer Popülasyonlar	826	41	0.04964	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	107	0.07562	
7. Orta Doğu	20	3	0.1500	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	245	0.05009	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25845	2529	0.09785	
Toplam	56428	3162	0.05604	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	40	0.08	

Popülasyonlar arası görülme sıklığı (gnomAD browser)

HVRİI Bölgesinde yer alan 295 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.05604’dır. Çalışma grubumuzda 295 C>T popülasyon frekansı ise 0.08’dır. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 295 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 295 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Doğu Asya ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Çizelge 3.36. HVRII Bölgesinde 285 C>T

Popülasyon	Birey Sayısı	Homoplazmi	Görülme sıklığı	P değeri
1. Doğu Asya	1482	0	0.000	<0.001
2. Güney Asya	1493	12	0.008038	
3. Afrika/ Afrika Amerika	14346	0	0.000	
4. Latin / Karışık Amerika	5718	1	0.0001749	
5. Diğer Popülasyonlar	826	2	0.002421	
6. Aşkenaz Yahudisi	1415	10	0.007067	
7. Orta Doğu	20	0	0.000	
8. Amiş	392	0	0.000	
9. Avrupa (Fin popülasyonu)	4891	4	0.0008178	
10. Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	25849	55	0.002128	
Toplam	56432	84	0.001489	
Türkiye’de yaşayan bireyler	526	18	0.03	

Veriler gnomAD browser programından alınmıştır.

HVRII Bölgesinde yer alan 285 C>T varyantının popülasyon frekansı 0.001489’dir. Çalışma grubumuzda 285 C>T varyantının popülasyon frekansı ise 0.03’dir. Popülasyon sıklık verileri ile çalışma grubumuzdaki allel frekansı verisi ki kare testi ile test edildiğinde p değeri <0,001 olarak saptanmıştır. Bu da 285 C>T varyantının çalışma grubumuzda daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ek olarak 285 C>T varyantının homoplazmik popülasyon frekanslarına bakıldığında bu varyantın Afrika/Afrika Amerika, Doğu Asya, Orta Doğu ve Amiş popülasyonlarında görülmediği raporlanmıştır.

Afrika, Asya ve Avrasya popülasyonlarının mtDNA’nın kontrol bölgelerinin incelenmesi sonucunda en sık 73G, 195C, 146C, 152C, 263G, 247A, 16223T, 16230G, 16129T ,16278T, 16311C varyasyonlar görülmüştür (Mitomap, 2022).

4. TARTIŞMA

Adli bilimlerde oldukça önemli bir yere sahip olan nDNA eldesi yapılamadığı durumlarda mtDNA eldesi yapılarak kimliklendirmenin yapılması ve farklılıkların belirlenerek bireylerin birbirinden ayırt edilmesi büyük önem taşır (Tuppen ve ark., 2010).

MtDNA'da HVRI ve HVRII kodlama yapmayan bölgeleri sık mutasyona uğramaktadır. Anneden kalıtılması, anne soyundan akrabaların tespitinde degrade olmuş DNA örneklerinde mtDNA kurtarıcı bir rol almaktadır. Sık mutasyona uğraması; görülen varyasyonların belirlenmesinde toplumlar arası kıyaslamada farklılıkların ortaya çıkmasında ve analizinde önemlidir (Bendall ve ark., 1996).

HVRI ve HVRII bölgelerinde oluşan varyasyonlar birçok araştırmacının dikkatini çekmektedir. Türkiye'nin Güneydoğusunda yaşayan 224 gönüllü bireyden alınan MtDNA örneklerindeki kontrol bölgelerinin incelenmesi sonucu en yaygın varyasyonun 263. bölgede bulunan Adenin değişimi sonucu Guanin (263G) ve 315. bölgede Sitozin ilavesi (315.1C) olarak belirtilmiştir (Serin ve ark., 2016). Türkiye'de yaşayan 16 kişinin araştırıldığı başka bir çalışma sonucu 263G ve 315.1C olarak belirlenmiştir (Erdem ve ark., 2011). Irak popülasyonunda mtDNA'nın kontrol bölgesinin incelenmesi sonucu 203 kişide 16069T, 16126C, 16311C, 73G, 150T, 152C, 195C, 235G, 263G, 295T, 309.1C, 315.1C ve 489C varyasyonlar görülmüştür (Jabbar ve ark., 2021). Switserlan yaşayan 154 bireyin mtDNA verilerinin analizi sonucunda 137 mtDNA tipi görülmektedir. En sık rastlanan 263G, 309.1C ve 315.1C nükleotitlerde varyasyonlar görülmüştür (Dimo Simonin ve ark.,2000). Çin Maonon popülasyonunda 206 bireyin mtDNA'ların incelenmesi sonucunda 16129A, 150T, 16192T, 309.1C, 16223T, 16129A, 16192T, 16297C, 16223T, 73G, 263G, 16297C, 315.1C ve 489C. nükleotid polimorfizmleri, 73G en sık rastlanan polimorfizmidir. 206 kişide görüldüğü gibi varyasyon (%8,73) oluştururken, 263G (%8.56), 315.1C (%8.39) ve 309.1C (%5.25) %5'in üzerinde gözlemlenmektedir (Meng ve ark.,

2017). Malaezya popülasyonunda 248 bireyin incelenmesi sonucunda 157 varyant gözlenirken HVRI bölgesinde gözlenirken 73 varyant HVRII bölgesinde gözlenmektedir. HVR1 bölgesi için hesaplanan genetik çeşitlilik %99,24'dur. HVRII bölgesi için %95,14'dür. HVRI bölgesinde rastlanan değişimler (16182C, 16274, 16183C, 16189, 16217, 16140, ve 16335) gözlenmektedir. HVR2 (249del, 73, 315.1C, ve 263) gözlenmektedir (Nur Haslindawaty ve ark., 2010).

18. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRI bölgesinde görülen 16298 C>T varyantının Doğu Asya, Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Avrupa (Fin popülasyonu) ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan) ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 19. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 73 G>A varyantının tüm ülkelerde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 20. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 143 G>A varyantın Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar ve Latin/Karışık Amerika ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 21. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 146 T>C varyantın Doğu Asya, Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Avrupa (Fin popülasyonu), Güney Asya, Afrika/Afrika Amerika ve Aşkenaz Yahudisi ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 23. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 152 T>C varyantın Güney Asya, Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar, Amiş ve Orta Doğu ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 24. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 153 A>G varyantın Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Orta Doğu ve Amiş ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 25. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 185 G>A varyantın diğer popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan) ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 27. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 189 A>G varyantın Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar ve Orta Doğu ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda

görülme sıklığından daha fazladır. 29. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 199 C>T varyantın Orta Doğu ülkesinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 30. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 200 A>G varyantın Afrika/Afrika Amerika ülkesinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 31. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 204 T>C varyantın Doğu Asya, Afrika/Afrika Amerika, Güney Asya, Avrupa (Fin popülasyonu) ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan) ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 34. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 263 G>A varyantın tüm ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 35. Çizelgenin incelenmesi sonucunda HVRII bölgesinde görülen 295 C>T varyantın Avrupa (Fin popülasyonu olmayan) ülkelerinde görülme sıklığı Türkiye toplumunda görülme sıklığından daha fazladır. 1-17, 24, 26, 28, 32, 33, 36 ve 37 çizelgelerin incelenmesi sonucunda çizelgelerde belirtilen varyantların Türkiye toplumunda görülme sıklığı diğer ülkelerde görülme sıklığından daha fazladır.

Birçok ülkede yapılan bu çalışmalar sonucu pek çok farklı varyasyonlar görülmektedir. Belirlenen bu varyasyonlar sayesinde kimlik tespitindeki ayırt etme gücü adli bilimlerde kullanılmaya elverişli hale getirilmektedir. İlgili tez çalışmasında, yer alan bireylerin farklı bölgelerden alınan genetik yapı içeren kan örnekleriyle mtDNA eldesi aşamaları sağlanarak inceleme yapılmıştır. Kayıtlarda geriye dönük izlemler yapılarak oluşturulan çalışmamızda klasik dizi analizi ve Yeni Nesil Sekanslama yöntemi ile yapılan mitokondriyal DNA dizi analizi verileri kullanılarak, bu verilerde ki HVRI ve HVRII bölgelerinin analizlerinin yapılması ile Türk toplumuna özgü varyasyonların belirlenmesi mümkün olmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız 526 kişiden oluşmaktadır. Örneklem grubumuzda akraba olmaması gereken kriterimiz mevcuttur. Ülkemizde kapsamlı çalışmayı yaparak farklı varyantların keşfedilmesi ve ayırım gücünün arttığı tespit edilmiştir. Verilerin analizi sonuçlarında mevcut literatürü araştırmaları mevcuttur ve Türk toplumuna özgü polimorfizmler bulunmuştur.

Yaptığımız veri analizinde çalışma kapsamında Türk toplumunda görülen farklı varyasyonların belirlenmesi, diğer ülkeler ile karşılaştırma yapıldığı durumda popülasyonlar arası farkı ortaya koymaktadır. Türk toplumuna özgü varyasyonlarının araştırılması ve mtDNA'nın kodlama yapılmayan HVRI ve HVRII bölgelerinin analizleri ile olgu çözümüne destek sağlanması en temel hedeflerimizdendir.

Veri analizinin yapıldığı çalışmamızda 526 bireyden elde edilen mtDNA verilerini içermektedir. Türkiye'de toplumunda 526 bireyin incelenmesi sonucunda görülen varyasyonların 195'i HVRI bölgesinde, 105 varyasyonun HVRII bölgesinde tespit edilmiştir. Türk toplumunda en sık rastlanan polimorfizmler; 16173T, 16322T, 16255C, 150C, 195T, 263A, 73A, 152C, 303Del'dir. Türk toplumunda 300 farklı varyasyonun görülmesi ve Türk toplumuna özgü 54 polimorfizmin belirlenmiş olması diğer ülkeler ile kıyaslama yapılması durumunda popülasyonlar arası farkı ortaya koymaktadır.

Çizelge 3.37. Ülkeler Arası Varyantların Karşılaştırması ve Türk Toplumunda Daha Az Görülen Varyantların Belirtmesi

Bölge	Değişiklik	Ülkeler	Karşılaştırma
HVRI	16298 C>T	Doğu Asya, Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Avrupa (Fin popülasyonu) ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	73 G>A		Tüm Ülkelerde >Türkiye
HVRII	143 G>A	Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar ve Latin/Karışık Amerika	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	146 T>C	Doğu Asya, Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Avrupa (Fin popülasyonu), Güney Asya, Afrika/Afrika Amerika ve Aşkenaz Yahudisi	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	152 T>C	Güney Asya, Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar, Amiş ve Orta Doğu	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	153 A>G	Latin/Karışık Amerika, diğer popülasyonlar, Orta Doğu ve Amiş	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	185 G>A	Diğer popülasyonlar ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye

HVRII	189 A>G	Afrika/Afrika Amerika, diğer popülasyonlar ve Orta Doğu	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	199 C>T	Orta Doğu	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	200 A>G	Afrika/Afrika Amerika	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	204 T>C	Doğu Asya, Afrika/Afrika Amerika, Güney Asya, Avrupa (Fin popülasyonu) ve Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	263 G>A		Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye
HVRII	295 C>T	Avrupa (Fin popülasyonu olmayan)	Karşılaştırılan ülkeler >Türkiye

1-17, 24, 26, 28, 32, 33, 36 ve 37 çizelgelerin incelenmesi sonucunda çizelgelerde belirtilen varyantların Türkiye toplumunda görülme sıklığı diğer ülkelerde görülme sıklığından daha fazla fazladır.

526 bireyin incelenmesi sonucunda popülasyonlar arası genelleme yapılması için daha fazla dizileme yapılması gerekmektedir. Çalışma grubunun artması ile istatistiksel olarak anlamlılığın artması ön görülmektedir.

ÖZET

Mitokondriyal Genomun İleri Değişken HVRI ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyasyonların Türkiye Toplumunda Analizleri

İnsan Mitokondriyal DNA'sı (MtDNA) 16569 bp (baz çifti) uzunluğunda, sirküler yapıda ve çift zincirli bir moleküldür. Zincirler ağır zincir (Heavy chain; H) ve hafif zincir (Light-chain; L) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. MtDNA 13 protein, 2 ribozomal RNA (rRNA) ve 22 transfer RNA (tRNA) kodlayan 37 gen içermektedir.

MtDNA varyasyonları kimliklendirme açısından büyük önem arz eder. Adli bilimlerde biyolojik örneklerde bozunmuş veya eser miktarda bulunan genomik DNA'nın profil analizi için yeterli olmadığı durumlarda ve/veya anne taraf soy bağı tespitinin gerektiği durumlarda mitokondriyal DNA analizi kullanılmaktadır. MtDNA'nın kontrol bölgesi yüksek derece polimorfizm içeren ve kodlama yapmayan bölgelerdir. Adli bilimlerde bu bölge içerisinde yer alan ve polimorfizmlerin daha fazla gözlemlendiği HVRI (Hypervariable region) 16024-16365 baz çifti ve HVRII bölgesi 73-340 baz çifti arasında ki bölgeler tercih edilmektedir. Kodlama yapmayan genlerin polimorfizme uğrama oranı daha yüksektir ve kişilerin birbirinden ayırt edilmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada HVRI ve HVRII bölgelerinde Türkiye toplumundaki varyasyon analizi ve kimliklendirme için ayırım gücünün araştırılması amaçlanmıştır. MtDNA'nın tek ebeveynli kalıtılmaktadır. Maternal kalıtımın gözlenmesi sonucu bir sonraki anne tarafından olan akrabalar ile aynı soyun paylaşımı görülmektedir. Babadan kalıtımın öne sürüldüğü makaleler vardır. MtDNA'nın maternal kalıtım ile aktarıldığı bilgisi hâlâ geçerliliğini sürdürmektedir. Tüm bu yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, eser miktarda DNA içeren genetik örneklerin olası varyasyon tespitlerinin değerlendirme ve analiz ile uygulanabilirliği gösterildi. Toplumumuz için yapılan deney sonuçlarının adli laboratuvarlarda rutine olarak çalışılabilmesi için, farklı MtDNA verilerinin belirlenmesi gerekmektedir. MtDNA'nın kodlama yapılmayan HVRI ve HVRII bölgelerinin incelenmesi sonucunda ayırım gücünün artırılması hedeflenmektedir.

Veri analizinin yapıldığı çalışmamızda 526 bireyden elde edilen mtDNA verilerini içermektedir. Türkiye'de toplumunda 526 bireyin incelenmesi sonucunda görülen varyasyonların 195'i HVRI bölgesinde, 105 varyasyonun HVRII bölgesinde tespit edilmektedir. Türk toplumunda en sık rastlanan polimorfizmler; 16173T, 16322T, 16255C, 150C, 195T, 263A, 73A, 152C, 303Del'dir. Türk toplumunda 300 varyasyonun görülmesi ve Türk toplumuna özgü 54 polimorfizmin belirlenmiş olması kimliklendirme ve diğer ülkeler ile kıyaslama yapıldığı zaman ayırım gücünün yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: HVRI – HVRII Bölgesi, Mitokondriyal DNA, Polimorfizm

SUMMARY

Analysis of the Variations in the Advanced Variable HVRI and HVRII Regions of the Mitochondrial Genome in Turkish Population

Mitochondrial DNA of human beings (mtDNA) is a molecule of 16569 base pairs long, in a circular structure and double-chain. Chains are divided into heavy-chain (H) and light-chain (L). MtDNA contains 37 genes encoding with 13 proteins, 2 ribosomal RNAs and 22 transfer RNAs (tRNA).

MtDNA variations are crucial to identification. In forensic science, where the amount of genomic DNA that is decayed or found in the biological sample is insufficient for profile analysis, mitochondrial DNA analysis is used when the parent-side lineage detection is necessary. The control area of MtDNA is areas with high degree polymorphism and no coding. In forensic science, the HVRI (Hypervariable region) base pair (HVRI) is preferred to the base pair of 16024-16365, where polymorphisms are further observed, and HVRI region is preferred to the base pair of 73-340 base pairs. Non-coding genes have a higher rate of polymorphism, and differentiate individuals from each other. The work was aimed at studying the segregation power in HVRI-HVRII regions for variation analysis and identification in Turkish society. MtDNA is inherited from single parenting. Observation of material heredity results in the same exchanges of ancestry as those of the next mother. There are articles from the father suggesting heredity. The knowledge that MtDNA is passed on through material inheritance still holds true. In order for experimental results for our society to be routinely studied in forensic laboratories, different MtDNA data has to be determined. The study of the non-coding HVRI and HVRII regions of MtDNA aims to increase the separation power.

The study contains mtDNA data from 526 individuals. The study of 526 individuals in the Turkish society found that 195 variations are found in HVRI region, 105 in the HVRII region. The most common polymorphisms in Turkish society are 16173T, 16322T, 1625C, 150C, 195T, 263A, 73A, 152C, 303Del. In Turkish society, 300 variations were found to be high in the ability to identify and compare with other countries. It aims to identify variants in the HVRI and HVRII regions of mtDNA in Turkish society and analyze the power of distinguishing them in forensic science. Different variations in Turkish society have been shown to have a higher power of separation in the event of a comparison with other countries. Compared with other countries, 54 polymorphisms specific to the Turkish community were determined, indicating a surplus of separation power.

Keywords: HVRI-HVRII regions, Mitochondrial DNA Polymorphism.

KAYNAKLAR

- AL KHATİB I, SHUTT TE (2019). Advances towards therapeutic approaches for MtDNA disease. *Advances in experimental medicine and biology*,**1158**: 217–224.
- ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P (2008). *Molecular Biology of the Cell* 5th Ed. Garland Science,3-78.
- ANDERSON S, BANKIER AT, BARRELL BG, DE BRUIJN MH, COULSON AR, COULSON J, YOUNG G (1981). Sequence of the organization of the human mitochondrial genome. *Macmillan Journals*,**290**: 457-465.
- ANDREWS RM, KUBACKA I, CHINNERY PF, LIGHTOWLERS RN, TURNBULL DM, HOWELL N (1999). Analysis and revision of the Cambridge Reference Sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*,**23**: 147.
- ANKEL-SIMONS F, CUMMINS JM (1996). Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories on human evolution. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*,**93**: 13859–13863.
- BENDALL KE, MACAULAY VA, BAKER JR, SYKES BC (1996). Heteroplasmic point mutations in the human mtDNA control region. *American journal of human genetics*,**59**: 1276–1287.
- BRENDAN LEE MD, SCAGLIA F (2014). *Inborn Errors of Metabolism: From Neonatal Screening to Metabolic Pathways*. Oxford University Press. 181-182.
- BUTLER JM, LEVIN BC (1998). Forensic applications of mitochondrial DNA. *Trends in biotechnology*,**16**: 158–162.
- CLAYTON DA (1984). Transcription of the mammalian mitochondrial genome. *Annual Review of Biochemistry*,**53**: 573–594.
- COGLIATİ S, ENRİQUEZ JA, SCORRANO L (2016). Mitochondrial cristae: Where beauty meets functionality. *Trends in biochemical sciences*,**41**: 261–273.
- COOPER GM (1996) *The Cell: A Molecular Approach*. *The Cell New York* 48-60.
- DE KNİJFF P, KAYSER M, CAGLIÀ A, CORACH D, FRETWELL N, GEHRİG C, GRAZİOSİ G, HEİDORN F, HERRMANN S, HERZOG B, HİDDİNG M, HONDA K, JOBLİNG M, KRAWCZAK M, LEİM K, MEUSER S, MEYER E, OESTERREİCH W, PANDYA A, PARSON W, ROEWER L (1997). Chromosome Y Microsatellites: Population genetic and evolutionary aspects. *International Journal Of Legal Medicine*,**110**:134–149.
- DİMO SİMONİN N, GRANGE F, TARONİ F, BRANDT-CASADEVALL C, MANGİN P (2000). Forensic evaluation of mtDNA in a population from South West Switzerland. *International Journal of Legal Medicine*,**113**: 89-97.
- ELMAS İ, ERSOY G (2009). Adli olgulardan biyolojik örnek alınması ve moleküler genetik incelemelerde yasal boyut. *Klinik Gelişim Dergisi*,**22**: 218-220.

- ERSOY G, TOPRAK S (2009). Güncel durumu ile hukuki ve tıbbi açıdan otopsi süreci. *Klinik Gelişim Dergisi*,**22**: 151-152.
- FALKENBERG M, LARSSON NG, GUSTAFSSON CM (2007). DNA replication and transcription in mammalian mitochondria. *Annual Review of Biochemistry*,**76**: 679–699.
- FREY TG, MANNELLA CA (2000). The internal structure of mitochondria. Trends in biochemical sciences, 25(7), 320
- GİLES RE, BLANC H, CANN HM, WALLACE DC (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. Proceedings of the *National Academy of Sciences of the United States of America*,**77**: 6715–6719.
- GİNTHER C, ISSEL-TARVER L, KİNG MC (1992). Identifying individuals by sequencing mitochondrial DNA from teeth. *Nature Genetics*,**2**: 135–138.
- GnomAD Browser. Erişim adresi: [https://gnomad.broadinstitute.org/region/M-73-340?dataset=gnomad_r3] Erişim tarihi: 10 Ekim 2022
- GnomAD Browser. Erişim adresi: [https://gnomad.broadinstitute.org/region/M-16100-16450?dataset=gnomad_r3] Erişim tarihi: 10 Ekim 2022
- GYLLENSTEN U, WHARTON D, JOSEFSSON A, WİLSON AC (1991). Paternal inheritance of mitochondrial DNA in Mice. *Nature*,**352**: 255–257.
- HOLLAND MM., PARSONS TJ (1999). Mitochondrial DNA sequence analysis- Validation and use for forensic casework. *Forensic Science Review*,**11**: 21–50.
- KATO H, MAENO Y, OHİRA H, YAMADA Y, NAGAO M (2009). Molecular analysis of mitochondrial Hypervariable Region 1 in 394 Japanese individuals. *Int J Legal Medicine*,**1**: 443–445.
- KLUG WS, CUMMING MR, SPENCER CA (2011). *Genetik Kaynaklar*, Palme Yayıncılık. 232.
- KONİGSBERG LW, ALGEE-HEWİTT BF, STEADMAN DW (2009). Estimation and evidence in forensic Anthropology: Sex and Race. *American Journal of Physical Anthropology*,**139**: 77–90.
- KREBS JE, GOLDSTEİN ES, KİLPATRİCK ST (2017). *Lewin's Genes XII*. Jones & Bartlett Learning. 379-380.
- KURU M, ERGENE S (2005) Çözölümlü Genetik Problemleri. Palme yayıncılık ,226-271
- LATORRE PELLİCER A, LECHUGA-VİECO AV, JOHNSTON IG, HÄMÄLÄİNEN RH, PELLİCO J, JUSTO MÉNDEZ R, ENRÍQUEZ JA (2019). Regulation of mother-to-off spring transmission of mtDNA heteroplasmy. *Cell Metabolism*,**30**: 1120-1130.
- LECHUGA VİECO AV, LATORRE-PELLİCER A, CALVO E, TORROJA C, PELLİCO J, ACÍN- PÉREZ R, GARCÍA-GİL ML, SANTOS A, BAGWAN N, BONZON-KULİCHENKO E, MAGNİ R, BENİTO M, JUSTO-MÉNDEZ R, SİMON AK, SÁNCHEZ-CABO F, VÁZQUEZ J, RUÍZ-CABELLO J, ENRÍQUEZ JA (2022). Heteroplasmy of wild-type mitochondrial DNA variants in mice causes metabolic heart disease with Pulmonary Hypertension and Frailty. *Circulation*,**145**: 1084–1098
- LUO S, VALENCİA CA, ZHANG J, LEE NC, SLONE J, GUİ B, WANG X, Lİ Z, DELL S,

- BROWN J, CHEN SM, CHİEN YH, HWU WL, FAN PC, WONG LJ, ATWAL PS, HUANG T (2018). Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*,**115**: 13039–13044.
- LUTZ S, WEİSSER H, HEİZMANN J, POLLAK S (2000). Mitochondrial heteroplasmy among maternally related individuals. *International Journal of Legal Medicine*,**113**: 155–161.
- LUTZ S, WEİSSER HJ, HEİZMANN J, POLLAK S (1998). Location and frequency of polymorphic positions in the mtDNA control region of individuals from Germany. *International Journal of Legal Medicine*,**111**: 67–77.
- MAZZARELLO P (1999). A Unifying concept: The History of Cell Theory. *Nature Cell Biology*,**1**: E13–E15.
- MCKİNNY EA, OLİVEİRA MT (2013). Replicating animal mitochondrial DNA. *Genetics and Molecular Biology*,**36**: 308–315.
- MELTON T (2004). Mitochondrial DNA heteroplasmy. *Forensic Science Review*,**16**: 1–20.
- MENG JH, YAO J, XİNG JX, XUAN JF, WANG BJ, DİNG M (2017). Investigation of control egion sequences of mtDNA in a Chinese Maonan Population. *Mitochondrial DNA. Part A, DNA mapping, squencing, and analysis*,**28**: 350–354.
- MİRALLES FUSTÉ J, SHİ Y, WANROOIJ S, ZHU X, JEMT E, PERSSON Ö, SABOURİ N, GUSTAFSSON CM, FALKENBERG M (2014). In vivo occupancy of mitochondrial single-stranded DNA binding protein supports the strand Displacement Mode of DNA replication. *PLoS Genetics*,**10**: e1004832.
- Mitomap. Erişim adresi: [\[https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMAP/TopVariants\]](https://www.mitomap.org/foswiki/bin/view/MITOMAP/TopVariants) Erişim tarihi: 17 Temmuz 2022
- MONNAT RJ JR, LOEB LA (1985). Nucleotide sequence preservation of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*,**82**: 2895–2899.
- NUR HASLİNDAWATY AR, PANNEERCHELVAM S, EDİNUR HA, NORAZMİ MN, ZAFARİNA Z (2010). Sequence polymorphisms of mtDNA HV1, HV2, and HV3 regions in the Malay Population of peninsular malaysia. *International Journal of Legal Medicine*,**124**: 415–426.
- NUSSBAUM R, MCİNNES RR, WİLLARD HF (2016). Thompson & Thompson. *Genetics in Medicine e-Book. Elsevier Health Sciences*, 6-128.
- ÖZDEN A, EMİR F (2006). Genetik Polimorfizm ve Polimorfizm Çalışmalar. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 24-28.
- PAKENDORF B, STONEKİNG M (2005). Mitochondrial DNA and human evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*,**6**: 166.
- PARSON W, GUSMÃO L, HARES DR, IRWİN JA, MAYR WR, MORLİNG N, PARSONS TJ (2014). DNA commission of the international society for forensic genetics: revised and extended guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic Science International: Genetics*,**13**: 134-142.

- PARSONS TJ (2006). Mitochondrial DNA genome sequencing and SNP assay development for increased power of discrimination.
- PÍCARD M, MCMANUS MJ, CSORDÁS G, VÁRNAI P, DORN GW 2ND, WILLIAMS D, HAJNÓCZKY G, WALLACE DC (2015). Trans-mitochondrial coordination of cristae at regulated membrane Junctions. *Nature Communications*,**6**: 6259.
- PRINZ M, CARRACEDO A, MAYR WR, MORLING N, PARSONS TJ, SAJANTILA SCHEITHAUER R, SCHMITTER H, SCHNEIDER PM, International society for forensic A, Genetics (2007). DNA commission of the international society for forensic genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). Forensic science international. *Genetics*,**1**: 3–12.
- REID E (1998). Emery's Elements of Medical Genetics. *Journal of Medical Genetics*,**35**: 792.
- SABRI MI, SINGH KK (1998). Mitochondrial DNA mutations in aging, Disease, and cancer.
- SALAS A, LAREU MV, CARRACEDO A (2001). Heteroplasmy in mtDNA and the weight of evidence in forensic mtDNA analysis: A aase report. *International journal of legal medicine*,**114**: 186–190.
- SCALLY A (2016). The mutation rate in human evolution and demographic inference. *Current Opinion in Genetics & Development*,**41**:36-43.
- SERİN A, CANAN H, ALPER B, KORKUT GULMEN M., ZIMMERMANN B, PARSON W (2016). Mitochondrial DNA control region haplotype and haplogroup diversity in South Eastern Turkey. Forensic Science International. *Genetics*,**24**: 176–179.
- SINGH KK, KULAWIEC M (2009). Mitochondrial DNA polymorphism and risk of cancer. In cancer epidemiology, 293.
- ST JOHN JC, FACUCHO-OLIVEIRA J, JIANG Y, KELLY R, SALAH R (2010). Mitochondrial DNA transmission, replication and inheritance: a Journey From the Gamete through the Embryo and Into Offspring and Embryonic Stem Cells. Human Reproduction Update,**16**: 488–509.
- STEWART JE, FISHER CL, AAGAARD PJ, WILSON MR, ISENBERG AR, POLANSKEY D, POKORAK E, DIZINNO JA, BUDOWLE B (2001). Length variation in HV2 of the human mitochondrial DNA control region. *Journal of Forensic Sciences*,**46**: 862–870.
- STONEKING M (1994). Mitochondrial DNA and human evolution. Journal of bioenergetics and biomembranes,**26**: 251–259.
- SUTOVSKY P, MORENO RD, RAMALHO-SANTOS J, DOMINKO T, SIMERLY C, SCHATTEN G (2000). Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biology of Reproduction*,**63**: 582–590.
- TEMİZKAN G (2010). *1. Temel Genetik*. **3**: 212-236
- TULLY G, BÄR W, BRINKMANN B, CARRACEDO A, GILL P, MORLING N, SCHNEIDER P (2001). Considerations by the European DNA profiling (EDNAP) group on the working practices, nomenclature and interpretation of mitochondrial DNA profiles. *Forensic Science International*,**124**: 83-91.

- TUPPEN HA, BLAKELY EL, TURNBULL DM, TAYLOR RW (2010). Mitochondrial DNA mutations and human disease. *Biochimica et Biophysica Acta*,**1797**: 113–128.
- VAN OVEN M, KAYSER M (2009). Updated comprehensive phylogenetic Tree of global human mitochondrial DNA variation. *Human mutation*,**30**: E386-E394.
- VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW, LI PW, MURAL RJ, SUTTON GG, SMITH HO, YANDELL M, EVANS CA, HOLT RA, GOCAYNE JD, AMANATIDES P, BALLEW RM, HUSON DH, WORTMAN JR, ZHANG Q, KODIRA CD, ZHENG XH, CHEN L, SKUPSKI M, ZHU X (2001). The sequence of the human genome. *Science (New York, N.Y.)*,**291**: 1304–1351.
- WALLACE DC (1992). Diseases of the Mitochondrial DNA. *Annual Review of Biochemistry*,**61**: 1175–1180.
- WALLACE DC (2007). Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA Insights From Evolutionary *Medicine*. *Annual Review of Biochemistry*,**76**:781–821.
- WEI W, CHINNERY PF (2020). Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans: Implications for rare and common diseases. *Journal of Internal Medicine*,**287**: 636.
- WILSON MR, POLANSKEY D, BUTLER J, DIZINNO JA, REPLOGLE J, BUDOWLE B (1995). Extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial DNA from human hair Shafts. *BioTechniques*,**18**: 662–669.
- ZEYFEOĞLU Y, HANCI İH (2001). İnsanlarda kimlik tespiti. *Türk tabipleri birliği sürekli tıp eğitimi dergisi*,**10**:375.

6.EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı



İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARARI



Tarih: 08.04.2022

Sayın
Prof.Dr.N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN
Adli Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumluluğunuzda yürütülmesi planlanan "MİTOKONDRIYAL GENOMUN İLERİ DEĞİŞKEN HVRI ve HVRII BÖLGELERİNDE GÖRÜLEN VARYASYONLARIN TÜRKİYE TOPLUMUNDA ANALİZLERİ - Başvuru No: 2022000201(2022/201)" başlıklı araştırmanız incelenerek, etik açıdan uygun bulunmuştur.

Karar no: İ04-187-22



Prof.Dr.Hakan ERGÜN
(Başkan)



Doç.Dr.Başak Ceyda MEÇO
(Başkan Yardımcısı)



Doç.Dr.Beyza DOĞANAY ERDOĞAN
(Üye)

Ek-2. Yönetim Kurulu Kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



Sayı : E-23757613-050.01.04-506888
Konu : Yönetim Kurulu Kararı hk.

12.05.2022

ADLİ BİLİMLER ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Anabilim Dalınız lisansüstü öğrencisi Dilan BAŞTUĞ'un tez projesi hakkında alınan 10.05.2022 tarih ve 20/906 sayılı Yönetim Kurulu karar örneği ekte sunulmuştur.
Bilgilerinizi ve ilgiye duyurulmasını saygı ile rica ederim.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Enstitü Müdürü

Ek: 1 adet YKKÖ (1 Sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Doğrulama Kodu: 20EEB733-6953-433F-B30D-E0842DF1F921 Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/ankara-universitesi-ebys>
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dışkapı Yerleşkesi Şehit Ömer
Halisdemir Bulvarı 06110 Dışkapı - ANKARA
Telefon No: 0312 316 66 71-72 Belge Geçer No: 0312 316 66 70
e-posta: health@ankara.edu.tr KEP Adresi: ankunvrek@ankuni.hso1.kep.tr
KEP Adresi: ankunvrek@ankuni.hso1.kep.tr
Bilgi için: Cemile ÇETİN
Bilgisayar İşletmeni
Telefon No: (312) 316 66 71-4576
E-Posta: cmilcetin@ankara.edu.tr



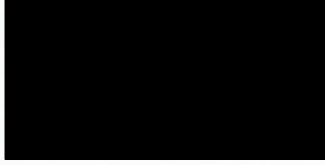
Ek-3. İntergen Genetik Tanı Merkezi



30.12.2021

Merkezimiz kapsamında gerçekleştirilmiş olan mitokondrial DNA analiz sonuçlarının; danışmanlığını Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.N.Lale ŞATIROĞLU TUFAN'ın yaptığı, Adli Genetik Tezli Yüksek Lisans Programı 18715430 no'lu öğrencisi Dilan Baştuğ'un "MİTOKONDRIYAL GENOMUN İLERİ DEĞİŞKEN HVRI ve HVRII BÖLGELERİNDE GÖRÜLEN VARYASYONLARIN TÜRKİYE TOPLUMUNDA ANALİZLERİ" başlıklı yüksek lisans tezi projesi kapsamına mitokondrial DNA HVR1 ve HVR2 bölgelerinin retrospektif analizi uygundur.

Saygılarımızla



Adres: Mustafa Kemal Mahallesi 2119. Sokak No:5 06510 Çankaya / ANKARA - TÜRKİYE
Telefon: 0312 428 48 14 Faks: 0312 428 26 93 WhatsApp: 0506 487 91 56
www.intergen.com.tr @email: info@intergen.com.tr

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ ANKARA ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÖNETİM KURULU KARAR ÖRNEĞİ**

Toplantı Sayısı: 20	Karar Sayısı: 906	Toplantı Tarihi:10.05.2022
----------------------------	--------------------------	-----------------------------------

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Disiplinlerarası Adli Bilimleri Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 25.04.2022 tarih ve 492313 sayılı yazısı görüşüldü.

Disiplinlerarası Adli Bilimleri Anabilim Dalı Adli Genetik tezli yüksek lisans programı öğrencisi Dilan BAŞTUĞ'un tez projesinin “*Mitokondrial Genomun İleri Değişken HVR1 ve HVRII Bölgelerinde Görülen Varyasyonların Türkiye Toplumunda Analizleri*” olarak kabulüne oybirliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR

Dilek BADEM Enstitü Sekreteri