

Adli uygulamalarda yeni nesil dizileme teknolojilerinin yeri ve önemi

The role and importance of next generation sequencing technologies in forensic applications

İD Tuğba Tezcan¹,
0000-0003-2216-4084

İD Mukaddes Asena Yıldırım²,
0000-0003-0974-2492

İD Selin Özkan-Kotiloğlu³
0000-0002-2262-5613

İD Dilek Kaya-Akyüzlü^{4*}
0000-0002-3305-0587

ÖZET

Günümüzde tüm dünyada adli kimliklendirmede otozomal STR (Short Tandem Repeat; Kısa Ardışık Tekrarlar) analizi altın standart olarak kabul edilmektedir ve birçok adli vaka için STR tiplemesi yeterli ayırım gücü sağlamaktadır. Özellikle can kaybının çok olduğu, vücut bütünlüğünün bozulduğu ve DNA örneğinin az ya da karışmış veya parçalanmış olduğu felaket kurbanlarının kimliklendirilmesinde X ve Y kromozomu STR belirteçleri (X-STR ve Y-STR) ve mitokondriyal DNA analizi gibi ilave belirteçlerden de yararlanılmaktadır. Vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, monozigotik ikizlerin ayrılması ve ölüm zamanının belirlenmesinde ise DNA metilasyon kalıpları ve miRNA analizleri gibi epigenetik değişiklikler değerlendirilmektedir. Tüm bu adli belirteçlerin yetersiz kaldığı vakalarda son yıllarda Yeni nesil dizileme (YND) teknolojilerinden de yararlanılmaktadır. YND tüm ekzom ya da tüm genomu hızlı bir şekilde dizileyen ve genom hakkında geniş çaplı bilgi edinmemizi sağlayan bir teknolojidir. Adli kimliklendirme ve vücut sıvılarının kimliklendirmenin yanı sıra adli entomolojik çalışmalar, kimerizm tespiti, soy ve fenotipik çıkarım araştırmaları da YND teknolojileri sayesinde hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilmektedir. Bu derleme YND teknolojilerinin adli kimliklendirme ve diğer adli uygulamalardaki yeri ve önemine odaklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yeni nesil dizileme, adli kimliklendirme, adli uygulamalar

ABSTRACT

The use of autosomal STR (short tandem repeat) analysis is now accepted as the gold standard in forensic identification worldwide. STR typing provides sufficient discrimination power for many forensic cases. Furthermore, additional markers, such as X and Y chromosome STR markers (X-STR and Y-STR) and mitochondrial DNA analysis, are employed in the identification of disaster victims, particularly in instances where there is a considerable loss of life, compromised body integrity, and a paucity of DNA samples, or when the samples are fragmented or mixed. The evaluation of epigenetic changes, such as DNA methylation patterns and miRNA analyses, is employed in the identification of body fluids, the separation of monozygotic twins and the determination of the time of death. In instances where the aforementioned forensic markers prove inadequate, next-generation sequencing (NGS) technologies have been employed in recent years. NGS is a technology that rapidly sequences the entire exome or genome, thereby enabling the acquisition of a comprehensive range of genomic data. In addition to forensic identification and body fluid identification, forensic entomological studies, chimerism detection, ancestry research and phenotypic inference studies can be carried out rapidly and reliably thanks to NGS technologies. The objective of this review is to examine the role and importance of YND technologies in the context of forensic identification and other related forensic applications.

Keywords: Next generation sequencing, forensic identification, forensic applications

Cite as: Tezcan T, Yıldırım MA, Özkan Kotiloğlu S, Kaya Akyüzlü D. Adli uygulamalarda yeni nesil dizileme teknolojilerinin yeri ve önemi J For Med 2024;38(3):267-284

Received: 06.03.2024 • **Accepted:** 08.11.2024

Corresponding Author: Prof. Dr., Dilek Kaya-Akyüzlü, Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara-Türkiye
E-mail: kayadilek79@gmail.com

¹Öğr. Gör., Kapatokya Üniversitesi, Tıbbi Laboratuvar Programı, Nevşehir, Türkiye;Doktora öğrencisi, Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye

²Doktora öğrencisi, Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye

³Doç. Dr., Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Kırşehir, Türkiye; Yüksek Lisans öğrencisi, Ankara

⁴Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye



Turkish Journal of Forensic Medicine is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

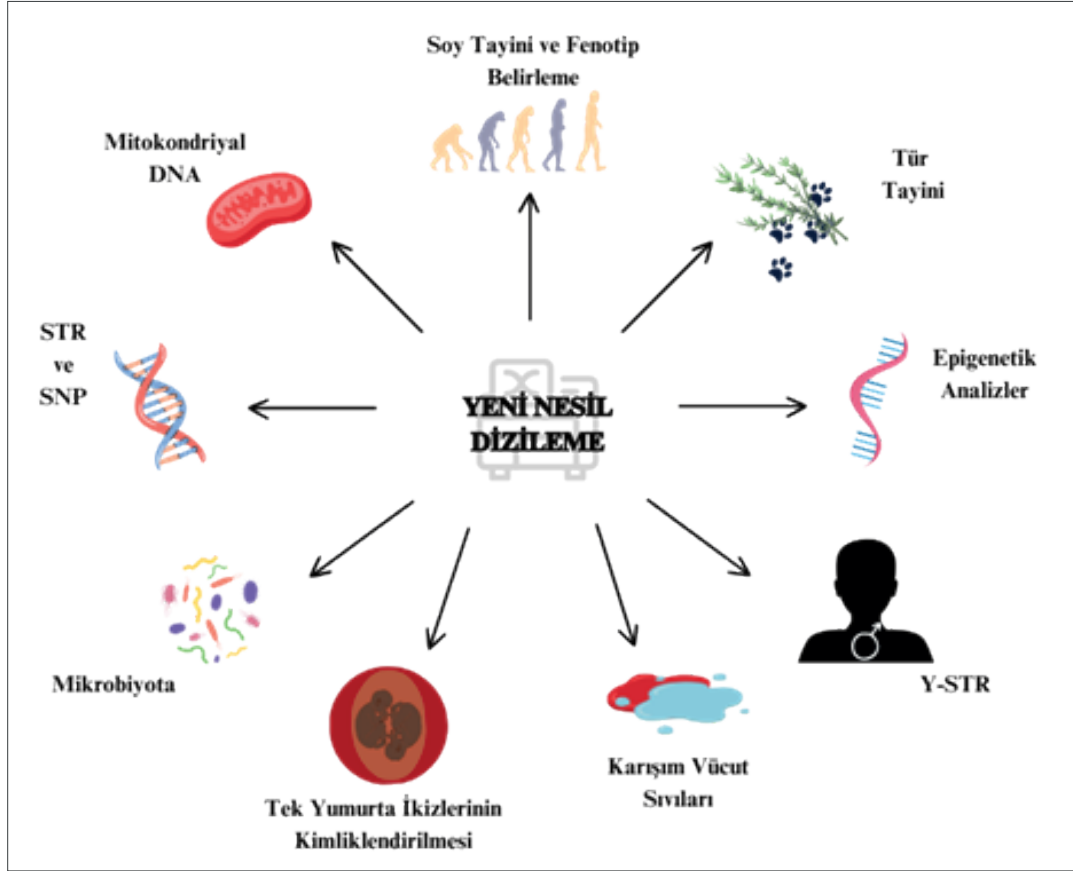
GİRİŞ

Adli kimliklendirme, DNA dizisindeki varyasyonların analiz edilmesiyle canlı ya da ölmüş bir bireyi tanımayı ve başka bireylerden ayırt etmeyi sağlamaktadır (1). Her çekirdekli hücrede bulunan DNA, insana ait tükürük, kan, semen, vajinal sekresyon ve ter gibi vücut sıvıları ile saç, diş ve kemik gibi biyolojik örneklerden elde edilebilmektedir (2). İnsan Genom Projesi, insan genomunun %99,9 oranında benzer olduğunu ortaya koymuştur. Kalan %0,1'lik kısımda ise genetik düzeyde farklılıklara neden olan varyasyonlar sayesinde DNA dizileri bireylere özgüdür (2,3). Genetik varyasyonlar tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler), insersiyon/delesyonlar (in/del), tandem tekrar polimorfizmleri (VNTR'ler ve STR'ler), inversiyonlar, kopya sayısı varyasyonları (CNV) ve translokasyonlar gibi çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir (4). Bireye özgü olan bu varyasyonlar adli kimliklendirme sürecinde araştırılabilir (5). Dolayısıyla adli biyolojik bulgulardan elde edilen DNA analiz edilerek, birçok adli olayın çözülmesinde güçlü bir kanıt olarak kullanılmaktadır (6). Günümüzde tüm dünyada adli kimliklendirmede otozomal STR (Short Tandem Repeat; Kısa Ardışık Tekrarlar) analizi altın standart olarak kabul edilmektedir ve birçok adli vaka için STR tiplemesi yeterli ayırım gücü sağlamaktadır (7). Otozomal STR'ler polimorfik olmaları, analizlerinin kolay ve ucuz olması, oluşan profilin yorumlanmasının basit olması ve mutasyon oranının düşük olması gibi nedenlerle kabul görmektedir. Bununla birlikte, yüksek düzeyde bozulmuş ve kontamine olmuş biyolojik örnekler adli DNA analizlerini zorlaştırabilmektedir. Adli DNA analizlerindeki bir diğer zorluk birden fazla bireyin DNA'sını içeren karışım örneklerinde DNA'ların kime ait olduğunun ayırt edilmesidir (7,8). Ayrıca, özellikle can kaybının çok olduğu, vücut bütünlüğünün bozulduğu ve DNA örneğinin az miktarda, karışmış ya da parçalanmış olduğu doğal afet, terör saldırıları, uçak kazaları gibi adli vakalarda kişilerin kimliklendirilmesinde sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu gibi zor adli kimliklendirme çalışmalarında X ve Y kromozomu STR belirteçleri (X-STR ve Y-STR), tek nükleotit polimorfizmleri (SNP'ler) ve mitokondriyal DNA dizilemesi gibi ek belirteçlerden de yararlanılmaktadır (8).

Son yıllarda çelişkili olguların aydınlatılmasında DNA profillemenin yanı sıra epigenetik araştırmalar da dikkat çekmektedir. Özellikle vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde, monozigotik ikizlerin ayrılmasında, biyolojik örneğin yaşının tahmin edilmesinde ve ölüm zamanının belirlenmesinde metilasyon durumları, miRNA seviyeleri gibi epigenetik değişimler incelenerek değerlendirilmektedir. Ayrıca, adli örneklerden mikrobiyomun belirlenmesi kişinin son faaliyetlerini, ölüm sonrası geçen zamanı ve coğrafi konumunu belirlemede yardımcı olabilmektedir (9,10). Adli araştırmaların önemli bileşenlerinden biri de çeşitli hayvan ve bitki türlerinin incelenmesidir. Çeşitli hayvan ya da bitki türleri olayla ilgili bilgi verebilecek bir bulgu niteliği taşıyabilmektedir (7).

Adli araştırmalarda olay yerinden elde edilen biyolojik örneklerden DNA profili elde edilmekte ancak DNA profili biyolojik materyalin aktarıldığı koşullar hakkında bilgi vermemektedir. Olay anında meydana gelen biyolojik reaksiyonların aktivite seviyelerinden yararlanılarak doku veya sıvının kaynağının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. YND-RNA vücut sıvısı tanımlama paneli cezai soruşturmalarda için aktivite seviyeleri bilgisi sağlamakla kalmayabilir. Aynı zamanda her bir bireysel mRNA hedefi içindeki kodlanan bölge varyasyon analizi ile bir DNA profilinin belirli bir vücut sıvısı veya dokusuyla ilişkilendirilmesine de izin verebilir. Günümüzde araştırmacılar insan bireysel kimliklendirme ve eş zamanlı adli doku tanımlamaya izin veren RNA analizinin, genomik DNA (gDNA) STR dizilimi ile birleştirilmesi üzerinde çalışmalar yapmaktadır (11).

Yukarıda bahsedilen adli uygulamalarda kullanılan analiz teknikleri çözümlenmesi bazı zor vakalarda yetersiz kalabilmektedir. Örneğin geleneksel kapiller elektroforez tabanlı STR analizleri, DNA fragmanının boyutunun tespitine dayanmakta ve aynı veya benzer uzunlukta fakat farklı dizilere sahip aleller bu teknikte ayırt edilememektedir (7). Böyle vakaların çözümlenmesinde altın standart olarak kabul edilen STR analizlerini destekleyecek yeni nesil dizileme (YND) teknolojilerinin adli amaçlı uygulamaları dünya çapında giderek artan bir hızla araştırılmaktadır (11). Adli kimliklendirme ve vücut sıvılarının kimliklendirmenin yanı sıra



Şekil 1. Yeni nesil dizileme ile adli analizler

adli entomolojik çalışmalar, kimerizm tespiti, kromozom inaktivasyonu, soy ve fenotipik çıkarım araştırmaları da YND teknolojileri sayesinde hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabilmektedir (7, 8,11) (Şekil 1). Bu nedenle, bu makalede, yeni nesil dizileme teknolojilerinin adli uygulamalarda sağladığı avantajlar son gelişmeler ışığında derlenmiştir.

YENİ NESİL DİZİLEME TEKNOLOJİLERİ

Yeni nesil dizileme (YND) teknolojileri ile belirli bir nükleik asit molekülünde bulunan nükleotitlerin sırası yüksek doğrulukta belirlenebilmektedir. Mikroorganizmalardan insanlara kadar birçok canlının genomu YND teknolojileri ile dizilenmiştir (12). YND teknolojileri düşük verimli ve yoğun emek gerektiren Sanger dizileme teknolojisinin aksine yüksek verimlilikte ve tek molekülü DNA dizileme sağlarken, elde edilen veri miktarını olağanüstü bir biçimde arttırmıştır. YND teknolojileri arasında ilk kullanılan Ion Torrent

ya da Illumina platformlarının oluşturduğu "ikinci nesil teknolojiler" olarak da adlandırılan yaklaşımlar kısa-okuma dizilemeyi içerir ve genelde DNA fragmentasyonu, DNA uç onarımı, adaptör bağlanması, yüzeye tutturma ve *in-situ* amplifikasyon basamaklarını içermektedir. Aynı anda pek çok örneğin paralel bir şekilde dizilemesi sağlanan bu kısa-okuma teknolojileri ile kısa DNA parçacıklarının dizilerinin eldesi sonrası uzun DNA örneklerinin tekrar birleştirilmesi gerekmektedir. Bu teknolojinin kütüphane hazırlanması, dizileme ve veri analizi olmak üzere üç ana iş akışı basamağı mevcuttur. "Üçüncü nesil dizileme" teknolojileri ile Oxford Nanopore ya da Pacific Bioscience gibi platformlar kullanılarak 10 kilobaz üzeri uzunlukta okumalar yapılabilmektedir. Bu sayede kısa-okuma teknolojilerinde karşılaşılan genom çapında tekrarlar ve yapısal varyant tespiti gibi sorunlar aşılabilmektedir. Üçüncü nesil dizileme en az sayıda kütüphane hazırlama basamağı içerir ve fragmentasyona ihtiyaç duyulmadan gerçek-

zamanlı olarak doğrudan DNA hedeflenmektedir. Fakat bu teknolojinin, ikinci nesil dizilemeye kıyasla doğruluk açısından sınırlılıkları mevcut olup geliştirilen analiz yazılımları ile bu sorun giderilmeye çalışılmaktadır (13). Üçüncü nesil YND teknolojilerinden biri olan nanopor dizileme (MinION, Oxford Nanopore Technologies), diğer teknolojiler gibi senteze bağlı dizileme olmayıp polimeraz enzimi katkısı olmadan DNA moleküllerinin gerçek zamanlı dizilendiği bir teknolojidir. Bu teknoloji elektrik dirençli membranlara gömülü küçük deliklerden yani nanopor arraylerden oluşmaktadır. Elektrik voltajının membrana uygulanması ile iyonların bu nanoporlardan geçişi başlar ve nanopora bağlanmış olan motor proteini sayesinde DNA molekülünün porlardan geçiş hızı düzenlenerek çift zincirin açılması ve bir zincirin pordan geçişi ile devam eder. Her nükleotit geçişi iyon akımını farklı bir şekilde değiştirdiğinden kıvrımlı bir akım profili elde edilir ve bu akım profili nükleotit dizisine tercüme edilir. Bu işleme çeşitli makine öğrenim algoritmaları ile gerçekleştirilen “base calling” yani baz çağırma adı verilmektedir. Her bir pordan 5-7 nükleotit verisi elde edilir ve bu akım eğrisinin bir nükleotit dizisine dönüştürülmesi tüm porlar düşünüldüğünde oldukça zorlayıcı olabilmektedir. Günümüzde farklı porlar kullanılarak bu yöntem geliştirilmeye devam edilmektedir (14). Kapiller elektroforez sistemleri ve ikinci nesil YND sistemlerinin büyük çoğunluğu ağır, ısı ve titreşim açısından ortam kararlılığı isteyen büyük cihazlar olmakla birlikte üçüncü nesil YND cihazları taşınabilen ve pek çok farklı çevrede çalışabilen cihazlar olduğundan hem daha ulaşılabilir hem de adli olaylarda alanda çalışmada kolaylık sağlama potansiyeline sahip cihazlardır (15). İkinci ya da üçüncü nesil dizileme kullanımının seçimi tamamen araştırmancının ya da klinik uygulamanın ihtiyaçlarına göre değişmektedir (13).

Günümüzde adli amaçlı DNA dizileme için kullanılan YND yöntemi daha çok ikinci nesil dizileme teknolojilerini içermekte olup bu teknoloji sentez yoluyla dizilemeye dayanmaktadır (16). İkinci nesil dizileme ile yüksek miktar ve doğrulukta veriler elde edilebilirken, kısa okuma dizileme sistemi olmasından dolayı uzun STR lokusları için

deney tasarımı ve okumaların hizalanmasını daha zorlu hale getirebilmektedir (14).

YENİ NESİL DİZİLEME TEKNOLOJİLERİNİN ADLI UYGULAMALARDA POTANSİYEL AVANTAJLARI

Adli laboratuvarlarda kimliklendirme amacıyla rutinde kullanılan kapiller elektroforez temelli STR analizlerinin bazı dezavantajları bulunmaktadır (8). Bu tekniğin dezavantajlarından biri tek bir iş akışı kullanarak tek bir reaksiyonda birden fazla genetik varyasyonun (tekrar polimorfizmleri, tek nükleotid polimorfizmleri, in/del) analiz edilememesidir (7). Bugün, standart PCR-kapiller elektroforez tekniği ile sadece STR bölgesindeki aleller tespit edilebilmektedir. Eş zamanlı olarak otozomal STR’ler, Y-STR’ler, X-STR’ler, in/del’ler, otozomal SNP’ler, Y kromozomu SNP’leri, soy bilgilendirici belirteçler, fenotipik belirteçler gibi kimliklendirmede kullanılan adli belirteçler tek bir deneyle analiz edilememektedir. YND teknolojisinin en büyük avantajlarından biri, bu adli belirteçlerin tek bir testle belirlenebiliyor olmasıdır. Bu analizlerin her biri PCR-kapiller elektroforez tekniği ile bir iş gününde gerçekleştirilebilirken; tüm genetik varyasyonlarının analizleri YND yöntemi ile tek bir iş akışında tek bir deneyle gerçekleştirilebilmektedir (8,17). YND, yeni STR alellerini ortaya çıkarabilme potansiyeline de sahiptir (17,18). Cusick vd. (2022) YND’nin klinik teşhis ve adli bilimlerde rutin hale gelmeye başladığını bildirmişlerdir (19). ForenSeq sistemi ticari olarak temin edilebilen bir YND iş akışıdır ve bu sistem adli açıdan ilişkili 230’dan fazla genetik belirtecin amplifikasyonuna ve dizilenmesine olanak sağlamaktadır. Kapiller elektroforez tekniği ile yapılan STR genotiplemede mevcut uygulamada yaklaşık 27-30 lokusla sınırlı olacak şekilde az sayıda lokus incelenebilmektedir. Bu nedenle de 27-30 lokustan daha fazla sayıda lokus incelemesi yapılması gereken fazla sayıda STR bölgesi için kapiller elektroforez tekniğinden elde edilecek bilgi sınırlıdır (19).

Yukarıda da bahsedildiği üzere, YND ile tek bir testle tüm genom veya tüm ekzom dizilenebilmektedir. Tüm genom dizileme ile yaklaşık 4.000.000 varyant tanımlanabilmektedir. Tüm ekzom dizileme ile ise

genomun kodlanan kısmında bulunan varyasyonlar belirlenebilmekte ve yaklaşık 20.000 varyant tanımlanabilmektedir (20). YND teknolojileri, tüm genomun dizilenmesi veya genomda kodlanan bölgelerin dizilenmesinin yanı sıra, hedefe yönelik dizileme (özellikle tıbbi analizlerde, panel dizileme), RNA dizileme çalışmaları, mikrobiyal genomun dizilenmesi ve epigenetik değişimlerin tespitine de olanak sağlamaktadır (12).

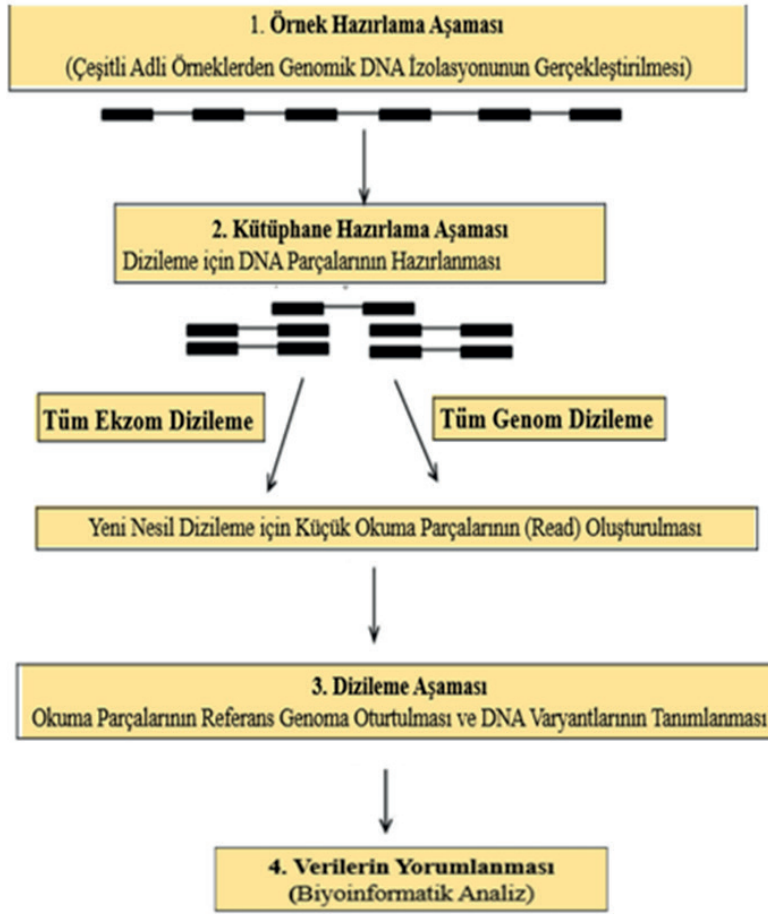
Birinci nesil dizileme tekniği olan Sanger dizileme tekniği araştırma laboratuvarlarında STR analizleri için kullanılmıştır. Ancak bu tekniğin genel olarak zahmetli olması ve heterozigot alelleri ayırmak için ek adımlara ihtiyaç duyması nedeniyle rutin adli araştırmalarda kullanımı uygun görülmemiştir (21). Diğer taraftan, YND teknolojilerinin hem otozomal hem de cinsiyet kromozomlarında çok sayıda STR lokusunun eşzamanlı tespitine ek olarak benzer uzunluğa veya dijital okuma sayısına sahip alelleri ayırt etme yeteneği de mevcuttur. Dizileme teknolojilerinde okuma terimi, dizileme için kullanılan DNA parçasının bir bölümü veya tamamını özetle kaç baz çiftinin dizildiğini ifade etmektedir. Teknolojik gelişmeler sayesinde YND tekniği ile STR dizilerinin okuma uzunluğu sürekli olarak artmaktadır (7). Bu, STR bölgelerindeki varyasyonların YND teknolojileriyle belirlenmesi ile mümkün hale gelmektedir (22).

Karışık profiller, karmaşık babalık vakaları, kimerizm tespiti ve parçalanmış DNA örneklerinin analizi YND teknolojisinin rutin STR analizlerine göre diğer bir üstünlüğüdür (5). mtDNA analizlerinin düşük verimliliği, parçalanmış DNA örneklerinden genomik bilginin kaybı ve mevcut belirteçlerin düşük verimli genotiplenmesi kapiller elektroforez temelli dizileme yönteminin diğer dezavantajları olarak bilinmektedir (7). Karmaşık babalık vakaları ile, monozigotik ikizlerden hangisinin baba olduğunun ayırt edilmesi gereken vakalar, babanın mevcut olmadığı ihtilaflı babalık davalarında baba olduğu varsayılan kişiden ve bir veya daha fazla yakın akrabasından alınan DNA'ların incelendiği vakalar veya kimerik çocuk profillerinin olduğu vakalar kastedilmektedir. Bu vakalarda, kapiller elektroforezle yapılan STR analizlerinde zorluklar ile karşılaşmaktadır (7). Bazı araştırmacılar birden fazla bireyin DNA'sını

içeren DNA karışımlarında DNA'ların ayırt edilmesi amacıyla YND teknolojisi kullanmaya başlamışlardır (8, 23). Ayrıca Van Neste vd. (2014) karışmış DNA örneklerinin ayırt edilmesinde bir STR alel referans veritabanı oluşturmak için Illumina'nın MiSeq sistemini kullanmışlardır. Bu çalışmanın sonuçları STR profil analizi için Illumina MiSeq yönteminin hazır olduğunu göstermiştir (24). YND teknolojisi ile az miktarda ve degrade olmuş örnekten de dizileme yapılarak bilgi alınabilmektedir (5). İnsan cesetlerinden alınan analizi zor numunelerde YND teknolojisi kullanılarak yapılan bir araştırmanın sonucunda, 62.5 pg DNA miktarına kadar inildiğinde bile YND teknolojisi ile %100'lük genotipleme başarı oranına sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yapay olarak bozulan örneklerde YND ile gerçekleştirilen otozomal STR profillerinin, kapiller elektroforez tekniğine göre önemli ölçüde daha düşük sayıda lokus ve alel kaybı ile sonuçlandığı belirlenmiştir (25). Yapılan bir başka çalışmada adli örneklerde 426 nükleer SNP ve mitokondriyal genom YND teknolojisi ile dizilenebilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda parçalanmış, az miktarda ve/veya karışmış örnekler gibi analiz yapmaya elverişli olmayan adli örneklerde mtDNA, STR ve SNP analizleri için YND teknolojilerinin umut verdiği vurgulanmıştır (26). Bir başka çalışmada ise Warshauer vd. (2013) adli YND verilerini analiz etmek için 23 otozomal ve 21 Y-STR olmak üzere toplam 44 STR'ye ait YND verilerini analiz edebilen yazılım olan STRait Razor'u (STR alel tanımlama aracı - Razor) geliştirmişlerdir (27). Hertz vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada adli tıpta ani ve açıklanamayan 15 ölüm vakası ile 29 kalp hastasında 34 gen YND teknolojisi (Illumina MiSeq) kullanılarak dizilenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 15 ani ve açıklanamayan ölüm vakasının 3'ünde ve 29 kalp hastasının ise 12'sinde patojenik varyantlar tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen bu çalışma, YND'nin hem ölüm öncesi klinik araştırmalarda hem de ölüm sonrası yapılacak adli tıp araştırmalarında güçlü bir araç olduğunu göstermiştir (28). YND teknikleri ile gerçekleştirilen adli araştırmalar Tablo 1'de özetlenmiştir. Çeşitli adli örneklerden elde edilen genomik DNA'nın YND işlemlerine hazırlanması ise Şekil 2'de özetlenmiştir.

Tablo 1. YND teknikleri ile gerçekleştirilen adli araştırmalar

Çalışma yöntemi	Çalışılan organizma	Çalışılan örnek sayısı	Çalışılan biyolojik örnek	Çalışmanın sonucu	Kaynak
YND 454 Sequencing (Roche, Branford, USA)	İnsan (15-84 yaş aralığında sağlıklı kadın bireyler)	240	Servikal swap örnekleri	YND ile vajinal floranın belirlenebileceğine dair görüş sağlamıştır.	(72)
YND (Illumina MiSeq™ platform)	İnsan (Kafkas)	5	Kan örneği	23 otozomal ve 21 Y kromozomu STR'si dahil toplam 44 STR'ye ait YND verilerini analiz edebilen yazılım olan STRait Razor'u geliştirmişlerdir.	(27)
Illumina İnsan Metilasyon Boncuk Çip teknolojisi	İnsan (Monozigotik ikizler-MZ)	22	Kan örneği	YND ile 27.578 CpG alanındaki DNA metilasyon durumunu incelenmiştir. MZ ikizler arasında ayırım yapmayı amaçlayan epigenetik çalışmalar için potansiyel metillenmiş 92 CpG bölgesini filtrelemişlerdir.	(58)
YND (Illumina miRNA Assay, Illumina sequencing)	Fare	10	Dondurulmuş veya parafine gömülü dokular (A549, H460, H520, H1264 ve RVH6849 tümör hücre hattı)	Hem dondurulmuş hem de parafine gömülü dokulardan YND ile yüksek doğruluk ve hassasiyette miRNA profillemeye yapılabileceği gösterilmiştir.	(65)
YND (Illumina Miseq)	İnsan (karışmış DNA örnekleri)	5	Genomik DNA kaynakları (K562, 9947A, NIST SRM 2391c DNA A, NIST SRM 2391c DNA B, 2800M)	STR profillerini analiz etmek için Illumina Miseq'in hazır olduğunu göstermiştir.	(24)
YND + (YND, Kapiller elektroforez ve pyrosekanslama tekniğinin birlikte kullanılması)	İnsan (sağlıklı erkek bireyler)	296	Kan örneği	Adli pedigrı araştırmalarında YND+ teknolojisinin devrim yaratacağı ön görülmüştür.	(43)
YND (Illumina Miseq)	İnsan	5	İnsan kontrol HL-60 DNA, İnsan kontrol DNA NA24129 mtDNA için K562 ve nükleer SNP'ler için 2800M Caucasian C163 ve US Hispanic H104 (Karışmış mtDNA çalışması) Telogen Hair Study (kadın gönüllüler)	Parçalanmış, az miktarda ve/veya karışmış örnekler gibi analiz yapmaya elverişli olmayan adli örneklerde mtDNA, STR ve SNP analizleri için YND teknolojilerinin umut verdiği vurgulanmıştır.	(26)
YND (Illumina Miseq FGx Sistem)	İnsan 2 erkek ve 2 kadından oluşan gönüllüler, Otopsi yapılan 2 ceset (PMI < 24) ve bozulmuş/iskeletleşmiş 9 ceset	15	Bukkal swap örnekleri, kan örnekleri ve doku örnekleri	Miseq FGx Sistemi ile oluşturulan datanın tekrarlanabilir, sağlam ve güvenilir olduğu vurgulanmıştır.	(25)



Şekil 2. Çeşitli adli örneklerden elde edilen genomik DNA materyalinden genom ve ekzom dizileme iş akışı (20).

YNDTEKNOLOJİLERİNİN ADLİ UYGULAMA ALANLARI

STR ve SNP analizleri

STR'ler, her lokusta 5-100 kez tekrarlanabilen 1-7 bazdan oluşan kısa DNA dizileridir (18). STR dizileri bireyler arasında uzunluk farklılıkları göstermektedir ve bu bölgeler yüksek oranda polimorfiktir (21). STR bölgelerinde mutasyon oranı azdır ve STR analizleri düşük miktarda DNA kalıbı ile yapılabilmektedir. Ayrıca STR analizleri hızlı ve kesin alel tespitini mümkün kılmaktadır. Bu nedenlerle STR'ler 1990'lardan beri en sık tercih edilen genetik belirteç olarak adli kimliklendirme amacıyla adli uygulamalarda kullanılmaktadır (6,7,21). Adli bilimlerde çoğu uygulama için standart STR profilleme yeterli ayırım gücü sağlamaktadır. Dünya çapında 60'tan fazla ülke suçların çözümlenmesinde STR teknolojisine dayalı büyük ölçekli adli DNA

veri tabanları oluşturmuş durumdadır ve bu veri tabanları hızla büyümeye devam etmektedir (29). DNA profili elde etmek amacıyla kullanılan STR'ler veritabanlarındaki profiller ile karşılaştırıldığından rastgele eşleşme olasılığını arttırmak için daha fazla STR belirteci kullanılması gerekmektedir. Bununla birlikte, PCR ve kapiller elektroforez kombinasyonunu içeren konvansiyonel analiz tekniklerinde belirteç sayısı sınırlı kalmaktadır. Bu sınırlılık STR belirteçlerinin YND teknolojisi ile belirlenmesiyle ortadan kalkmaktadır. Geleneksel DNA analizleri, STR alellerinin diziler arası varyasyonu hakkında da bilgi verememektedir (30). Aynı zamanda YND teknolojileri degrade olmuş ya da düşük miktardaki DNA örneklerinden DNA profillemesine olanak sağlamaktadır. YND teknolojisi ile benzer uzunluktaki aleller kolaylıkla ayırt edilebilmekte, dijital okuma sayımı ile karışık DNA

örnekleri kimliklendirilebilmekte ve karmaşık babalık vakalarının analizi gerçekleştirilebilmektedir (7, 16).

Kapiller elektroforez ile elde edilen ayırım gücü, rutin adli olaylar için yeterli olsa da, karışık örnekler ve karmaşık akrabalık analizlerinde ek otozomal STR'ler ya da başka genetik belirteçler eklenerek genişletilmiş STR paneli de yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle adli kimliklendirmede YND teknolojisinin kullanımı araştırmacıların büyük ve daha farklılaşmış popülasyonlarda bilgiye kolay ve hızlı bir şekilde erişimini sağlamıştır (31). YND teknolojileri aynı fragment uzunluğuna sahip fakat dizi farklılıkları bulunan izoalelleri de ortaya çıkarabilmekte ve bu durum ayırım gücünün artmasını sağlamaktadır (32).

Günümüzde ikinci nesil YND teknolojisi diğer bir adıyla büyük paralel dizileme ile kapiller elektroforez temelli panellere kıyasla daha fazla sayıda STR lokusu kullanılarak profillemeye yapılabilmektedir. Nükleotit dizisinin doğrudan belirlenebildiği bu teknoloji ile biyoinformatik analizler sonrası STR genotiplendirmesi gerçekleştirilmektedir. PowerPlex21 multipleks STR sistemi (Promega) gibi kapiller elektroforez bazlı sistemler ile 7 ila 27 STR bölgesi taranırken, YND teknolojisi ile ForenSeq DNA Signature Prep Kit (Verogen) kiti ile 27 otozomal STR, 7 X-STR, 24 Y-STR ve Amelogenin olmak üzere aynı anda 59 STR lokusu belirlenebilmektedir (15). Gettings vd. (2016) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 183 DNA örneğinde (68 Afrikan Amerikan, 70 beyaz ırk ve 45 İspanyol bireyde) 22 otozomal adli STR lokusu YND teknolojisi kullanılarak dizilenmiş ve daha önce adli tıp literatüründe bildirilmemiş olan tekrarlayan bölge dizileri belirlenmiştir (21).

SNP'ler, adli kimliklendirmede önemi olan mitokondriyal SNP, Y-SNP ile soy ve fenotipik özellikler hakkında bilgi veren genetik varyasyonlardır. SNP'ler genomda STR'lerden daha yüksek sıklıkta bulunurlar, daha kararlıdır ve çok düşük mutasyon oranlarına sahiptirler. Düşük mutasyon oranına sahip olmaları babalık ve soy tespitinde sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır. Olay yerinden az miktarda ve bozulmuş olarak elde edilen biyolojik örneklerden SNP lokusları STR lokuslarından daha iyi sonuç vermekteler. Bu nedenle de bozulmuş örneklerde SNP lokusları STR

lokuslarına alternatif olarak kullanılabilirlerdir. Bununla birlikte, bialelik özellikleri nedeniyle SNP analizleri yapılırken yeterli yüksek ayırımı sağlamak için daha çok sayıda lokusun incelenmesi gerekmektedir. Adli rutinde kullanılan 24 CODIS STR lokusunun sağladığı ayırım gücüyle aynı ayırım gücünü elde edebilmek için 50-80 SNP kullanılması gereklidir. Günümüzde SNP ile ilgili bilgilerimizi artırmak amacıyla birden fazla analiz ve tespit yöntemi mevcuttur. Ancak bu yöntemlerin hassasiyetleri, tekrarlanabilirlikleri, doğru sonuca ulaştırma oranları ile zaman ve maliyetleri göz önüne alınmalıdır (33).

Kapiller elektroforez kullanılarak SNP tiplendirmesi kantitatif olmamakla birlikte sınırlı multipleks olanağına sahiptir ve çok fazla emek gerektirir (34). YND teknolojisi ise kapiller elektroforezin sahip olduğu sınırlılıkları, akrabalık analizlerinde yüksek ayırım ve çözünürlük için multipleks doğası gereği yüksek verimli veri eldesi sağlayarak gidermektedir. YND teknolojisi ile 5000'den yaklaşık 95000'e kadar sayıda SNP eş zamanlı olarak analiz edilmekte ve bu da genişletilmiş akrabalık ilişkileri için büyük bir güç sağlamaktadır (17). Yakın bir zamanda geliştirilen bir ticari kit olan ForenSeq Kintelligence kit (Qiagen/Verogen) ile aynı anda 10,230 SNP çoğaltılabilmekte ve bu veri akrabalık, biyolojik soy, biyolojik cinsiyet ve fenotip belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu şekilde hedeflenmiş SNP paneli ile yaklaşık 5. derece akrabalık tayini yapılabilirken, tüm genom dizileme kullanılarak belirlenen SNP'ler ile daha fazla bilgi edinilebilmektedir (35). İnsan kalıntıları kullanılarak yapılan bir çalışmadan STR/kapiller elektroforez ve SNP/YND yöntemleri karşılaştırılmış ve insan kemik kalıntılarının analizinde SNP/YND yönteminin daha üstün olduğu gösterilmiştir. Aynı anda çok sayıda SNP analizinin yüksek miktarda degrade olmuş DNA'dan yapılabildiği bu yöntem, kayıp kişi vakaları gibi durumlarda kullanılabilir veri sağladığından geçmiş ya da şimdiki kayıp kişi senaryolarında kimliklendirme için tercih edilmelidir (36). Bunlara ek olarak, üçüncü nesil YND teknolojilerinden biri olan Oxford Nanopore dizileme teknolojisi ile SNP belirteçleri kullanılarak ten, saç ve göz rengi tahminleri yüksek doğruluk ve güvenilirlik ile gerçekleştirilebilmektedir (37). Nanopor dizileme ile 2021 yılında yapılan iki çalışmada 94 SNP bölgesini

hedefleyen ForenSeq DNA Signature kiti ile %99'un üzerinde bir doğruluk elde edildiği ve adli SNP genotiplendirmesi için bu teknolojinin oldukça avantajlı olduğu vurgulanmıştır (14,38,39).

Y kromozom analizleri

Erkeklerde atasal soylar aynı Y-STR haplotiplerine sahip olduğundan baba, oğul, kardeş, amca ve atasal kuzenler Y-STR analizleri ile ayırt edilememektedir (40). Adli tıpta erkek soyunun karakterizasyonu ve babanın biyo-coğrafik atalarını belirlemede önemli olan Y-SNP'lerin keşfi YND teknolojisi sayesinde artış göstermiştir (41). Ayrıca, SNP'ler bozulmuş örneklerde STR lokuslarından daha iyi sonuç vermektedirler. n milyondan fazla Y kromozomu nükleotidi 13 kuşaktan beri aynı atayı paylaşan iki erkek birey arasında YND teknolojisi kullanılarak karşılaştırılmış ve aynı atasal soydan gelen bu iki erkek birey arasında dört genetik farklılık tespit edilmiştir. Bu farklılıkların YND ile elde edilen Y kromozomu diziliminin aynı ebeveyninden gelen karışık erkek örnekleri arasında ayırım yapma sorununu çözebileceği rapor edilmiştir (42).

Büyük ölçekli suç araştırmalarında Y-STR profilleme ile adli pedigrî araştırmalarına ihtiyaç bulunmaktadır. Çünkü yanlış eşleştirilen birkaç lokusa sahip 2 Y-STR haplotipi olduğunda, YSTR'lerin yüksek mutasyon oranından dolayı onların aynı erkek soyundan olup olmadığını belirlemek zordur. Qian vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada araştırmacılar YND tekniği ile kapiller elektroforez ve pirodizileme tekniklerini beraber kullanmışlardır ve bu iki tekniğin YND'ye eklendiğini ifade etmek için "YND+" terimi ile tanımlamışlardır. Bu çalışmada Y kromozom belirteçleri "YND+" ile dizilenmiştir. Çalışmanın sonucunda adli pedigrî araştırmalarında YND+ teknolojisinin devrim yaratacağı ön görülmüştür (43).

Kimerizm tespiti

İnsan vücudunun her hücresinde aynı DNA profili bulunmaktadır. Fakat bazen aynı bedende farklı DNA profiline sahip hücreler bulunabilmektedir. Bu durum kimerizm olarak adlandırılmaktadır. Kimerizm genetik olarak stabil bir karışımdır (19). Çoğukimerik bireyin bazı lokuslarında ikialel taşıması gerekirken üç ya da dört alel taşıdığı rapor edilmiştir. Bu nedenle de aynı bedende farklı DNA profiline sahip olan kimerik bireylerin adli rutin otozomal STR

analizleri ile kimliklendirilmesi oldukça sorundur. Böylece, aynı bedende farklı DNA profiline sahip bir birey suçlu olduğu halde serbest bırakılabilir. Ayrıca kemik iliği nakli sonrasında bir hasta kimerik bir bireye dönüşebilir. Yapay kimerizm olarak adlandırılan böyle durumlarda suç ile herhangi bir bağlantısı olmadığı halde birey suçlu olarak yargılanabilir. Kimerizm tespiti polimorfik genetik belirteçler ve onların ürünlerindeki farklılıkların belirlenmesi ile gerçekleştirilmektedir. Ancak bu yöntemlerle kimerik bireylerin ayırt edilmesinde zorluklar yaşanmaktadır. YND yöntemi, geleneksel kapiller elektroforeze göre adli ve klinik örneklerde kimerizm testi için daha hassas, güvenilir, daha fazla bilgi verici aynı anda daha büyük numune gruplarının çalıştırılmasına izin veren, tekrarlanabilir ve analiz süresi ile maliyeti azalmış bir alternatif olarak düşünülmektedir (19, 44).

Mitokondriyal DNA analizleri

İnsan hücrelerinde çekirdek içerisinde bulunan genomik DNA dışında, mitokondriler içerisinde ekstra kromozomal genetik materyal de bulunmaktadır (45). Bu genetik materyal mitokondriyal DNA (mtDNA) olarak adlandırılmaktadır. mtDNA küçük boyutlu olması, dokudan dokuya sayısının değişmesi, daha hızlı evrim geçirmesi, çoklu kopya sayısı, anneden miras olması, yüksek mutasyon oranı ve rekombinasyon azlığı gibi özellikleri nedeniyle düşük miktarda DNA içeren veya anne soyunun araştırılması gereken vakalarda yararlı bir adli biyoloji aracıdır (2, 5, 7, 45, 46). Örnek miktarının incelemeye izin vermeyecek derecede az olduğu ve/veya nükleer DNA örneğinin aşırı derecede bozulduğu biyolojik örneklerden mtDNA elde etme ve dolayısıyla soy bağı hakkında bilgi sahibi olma olasılığı daha yüksektir (45,46). Ayrıca, mtDNA analizleri, antik DNA araştırmaları, kayıp şahısların tespiti, afetlerde vücut bütünlüğü bozulmuş faili meçhul bireylerin kimliklendirilmesi, kriminal olaylara karışmış bireylerin kimliklendirilmesinde veya tek yumurta ikizlerinin ayırt edilmesinde de kullanılmaktadır (2, 45, 46).

Adli mtDNA analizleri, giderek daha fazla kullanımı ile birçok ülkedeki adli araştırmacılar ve kolluk kuvvetleri tarafından tercih edilen bir yöntem haline gelmektedir. Otto-von-Guericke Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü'nde (Almanya) gerçekleştirilen bir

çalışmada, araştırmacılar cilt hücrelerinin aşınması ya da dokunmayla oluşan izlerin adli mtDNA analizi ile tiplendirilmesini amaçlamışlardır. Bu çalışmada beş boğma aleti soruşturması, 10 ateşli silah yaralanması vakaları ve bir de intihar vakasında araştırma yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda boğma aleti olarak kullanıldığı belirlenen kabloların üzerinde hem mağdurun hem de şüphelinin mtDNA'ları belirlenerek iki cinayet vakası çözülmüştür. On ateşli silah yaralanması vakalarının sekizinde yine mtDNA analizleri ile silahlar ve kullanıcıları güvenilir bir şekilde eşleştirilmiştir. Ayrıca silah kullanıcılarının mtDNA'sının ateşlemeden sonra bile silah kartuşlarında tespit edilebileceği rapor edilmiştir. Son olarak intihar vakasında ise intihar notundaki silme izlerinde yapılan mtDNA analizi ile intihar kanıtı sağlanabilmiştir (47). Savunma avukatları müvekkillerinin temize çıkarılmasına yardımcı olabilecek bir analiz olması nedeniyle mtDNA analizini giderek daha fazla talep etmektedirler (2).

Bir hücre, doku veya bireyde bir arada bulunabilen farklı mitokondriyal genotipler, heteroplazmi olarak tanımlanmaktadır (48). İnsan mtDNA heteroplazmisi yaygındır ve adli mtDNA analizinde heteroplazminin tespiti önemlidir (7). mtDNA heteroplazmisi, adli mitokondriyal analizlerin performansını etkileyen faktörlerden biridir (2). Heteroplazmi mitokondriyal genom düzeyinde de saptanmıştır (7). Mitokondriyal heteroplazmiyi tespit etmek için YND teknikleri kullanımının yüksek doğruluk ve hassasiyet, yüksek verim, düşük maliyet ve basit operasyon gibi avantajları bulunmaktadır (7, 48).

Dizi analizleri ile mtDNA'daki çok değişken bölge 1 (Hypervariable Region 1, HVI) ve çok değişken bölge 2 (Hypervariable Region 2, HVII) olarak isimlendirilen, iki dizinin identifikasyon için uygun oldukları tespit edilmiştir (5). Günümüzde de adli mtDNA analizleri ile genellikle çok değişken bölgeler içindeki polimorfizmler analiz edilmektedir. Ancak mtDNA'nın genetik bir haplotip belirteci olarak kullanılabilmesi ve kimliklendirmenin ayırt edici gücünün artırılması amacıyla ek polimorfik lokusların belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu nedenle, YND teknolojilerinin mitokondriyal dizi analizine büyük ölçüde yardımcı olma potansiyeli bulunmaktadır (7). Bulguların çoğunlukla

bozulmuş olmasından dolayı, kayıp şahısların kimliklendirilmesinde mtDNA kullanılmaktadır. Sanger dizileme ile karşılaştırıldığında yeni nesil dizileme teknolojilerinin başarısı artmaktadır ve bu başarılı sonuçlar kayıp şahısların kimliklendirilmesi için YND teknolojilerinin adli rutinde kullanılma olasılığını artıracaktır. MtDNA analizinde, DNA fragmanlarının kapiller elektroforez ile ayrıldığı Sanger sekanslama yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır (49, 50). Yöntem etkili olsa da emek, zaman ve maliyet açısından verimsizdir. Ayrıca geleneksel yöntem çok değişken bölge ve kontrol bölgesi ile sınırlıdır. Çok değişken bölgelerde bireyler arasındaki çeşitliliğe rağmen, ortak haplotiplerle karşılaşıldığında, bu yöntem yine de farklı maternal soylar arasında ayırım yapmakta başarısız olabilmektedir (51, 52). Mitokondriyal genomun sekanslanmasına imkan sağlayan YND teknolojisi ile bu sınırlılık aşılabilir (53).

Adli örneklerde gerçekleştirilen mtDNA analizlerinde heteroplazmi ve kontaminasyon riskinin çok yüksek olması gibi sorunlara rağmen insan kimliklendirme çalışmalarında mtDNA dizi analizi karşılaştırmalarının güvenilir bir araç olduğu kabul görmüştür. Mevcut sorunların yapılacak daha fazla çalışmayla çözülebileceği ön görülmektedir. Ayrıca mtDNA'nın rutinde adli amaçlı kullanılabilmesi için belirli sayıda örnek ile bir referans veri tabanı oluşturulmasının gerektiği düşünülmektedir (45).

Monozigotik ikizlerin ayırt edilmesi

Monozigotik (MZ) ikiz çalışmaları adli bilimlerin alanında sıcak bir konu olmaya devam etmektedir. Her iki bireyde DNA dizisi tamamen aynı olduğundan, geleneksel genotipleme yaklaşımları olan STR, SNP, cinsiyet kromozomu STR analizleri ile birbirlerinden ayırt edilememektedirler. İnsan mtDNA'sının yüksek mutasyon oranı, nadir SNP'lere sahip MZ ikizler arasında ayırım yapmak için umut verici bir potansiyele sahiptir. YND teknolojisi ile MZ ikizlerinin mtDNA genomlarındaki küçük farklılıkları karakterize etmek mümkündür (2). Weber-Lehmann vd. (2014) MZ ikizlerde nadir mutasyonların YND ile tanımlanabildiğini belirtmişlerdir. Böylece adli bir olayla (babalık davaları ve diğer adli vakalar) ilişkili MZ ikizlerin hızlı ve güvenilir bir şekilde ayırt edilmesi YND teknoloji

sayesinde mümkün hale gelmiştir (54). Yapılan başka bir çalışmada MZ ikiz baba adaylarından hangisinin baba olduğunu belirleyebilmek için Illumina HiSeq 2000 sistemi kullanılmıştır. Biyoinformatik analizler, 5 adet SNP'in baba ve çocuğunda olduğunu, fakat babanın ikizinde olmadığını göstermiş ve babalık tayini yapılabilmektedir (8).

Epigenetik

DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın genin ifadesinde ortaya çıkan kalıtsal değişiklikler epigenetik olarak adlandırılmaktadır. Son yıllarda çelişkili olguların aydınlatılmasında DNA profil analizinin yanı sıra epigenetik profil araştırmaları da dikkat çekmektedir. Adli olguların çözümünde YND teknolojisi kullanılarak epigenetik belirteçler belirlenmeye başlanmıştır. Bu analizlerden elde edilen sonuçların tahmin kesinliği düşüktür ancak analizlerin geliştirilebileceği ön görülmektedir. Bu nedenle, adli bilimler alanında yeni epigenetik göstergelerin belirlenebilmesi için kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (55).

DNA örnekleri üzerindeki epigenetik belirteçler (DNA metilasyon analizleri, mikroRNAlar) kişilerin yaşam stilleri ve fenotipik özellikleri (kişinin yaşı, ağırlığı, deri rengi, yüz tipi ve vücut şekli gibi) hakkında bilgi vermektedir (18). Bu nedenle de epigenetik analizler vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde ve diğer adli uygulamalarda olayların çözümü için destekleyici bilgiler verebilme potansiyelleri ile önem taşımaktadır.

DNA metilasyonu

En sık çalışılan epigenetik mekanizma olan DNA metilasyonu, adli açıdan potansiyel olarak birçok ipucu sağlayabilecek bir analizdir (18). DNA metilasyon profillemesi biyolojik sıvı ve doku örneklerinin belirlenmesinde, MZ ikizlerin ayırt edilmesinde, DNA kimlik belirlemede, ve yaş tayini gibi adli uygulamalarda yeni analiz alternatifleri sunmaktadır. Birçok çalışmada DNA metilasyon analizlerinin düşük miktarda örnek varlığında bile tekrarlanabilir ve güvenilir sonuçların elde edilmesini sağladığı gösterilmiştir (55).

Adli kimliklendirme yapılırken yaş tahmin analizleri oldukça önemli bir konudur. Yapılan

bir çalışmada kişinin metilasyon profilinin zamanla değiştiği için metilasyon analizlerinin yaş tahmininde kullanılabileceği belirtilmiştir (56). DNA metilasyonu dokuya özgüdür. Doku veya vücut sıvılarına ait DNA'ların genom boyunca metilasyon bölgeleri dizilerek yaş tahmini yapılabilmektedir (57). Yapılan bir çalışmada kan örneğinden DNA metilasyon modellerini kullanarak yaşın hassas ve doğru tahminini gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla seçilen 16 CpG bölgesinin metilasyon durumlarını ölçmek için Illumina MiSeq YND sistemi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların tahmin kesinliği düşük olarak rapor edilmiştir ancak analizlerin geliştirilebileceği vurgulanmıştır (8).

Li vd. (2013) 22 MZ ikizden 27.578 CpG alanındaki DNA metilasyon durumunu incelemek için Illumina İnsan Metilasyon Boncuk Çip teknolojisini kullanmıştır ve MZ ikizler arasında ayırım yapmayı amaçlayan epigenetik çalışmalar için potansiyel hedef olan önemli ölçüde metillenmiş 92 CpG bölgesini filtrelemişlerdir (58). Yapılan çalışmalar YND teknolojisine dayalı epigenetik yaklaşımların MZ ikizlerinin tanımlanmasında adli tıpta oldukça uygulanabilir olmasının muhtemel olduğunu göstermektedir. Adli bilimlerde kullanılmaya başlanan epigenetik belirteçler MZ ikizleri ayırt etmek, doku tipini tahmin etmek ve bir DNA donörünün yaşını doğru bir şekilde belirlemek için adli araştırmalarda kullanılabilir (8).

Mikro RNA analizleri

MikroRNA (miRNA)'lar, yaklaşık 20-24 nt uzunluğunda olan kısa kodlanmayan RNA'lardır. Bu küçük kodlanmayan RNA'lar, DNA kodunu değiştirmeksizin gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir ve birçok hücrel işleyişte düzenleyici olarak görev alırlar (59, 60). MiRNA'lar dokuya özgü sentezlenirler ve her dokuda farklı gen ifadesine sahiptirler (7). Dokuya özgü sentezlenmeleri nedeniyle doku türünün belirlenmesi ve vücut parçalarının kimliklendirilebilmesine olanak sağlarlar. Ayrıca miRNA'lar küçük boyutta olmaları nedeniyle degradasyona daha dirençlidir. miRNA'lar bu özellikleri sayesinde bozulmuş numuneler veya karışmış biyolojik sıvıların ayırt edilmesinde değerli biyobelirteçlerdir (8). Adli bir olayda şüpheli-mağdur ve olay yeri arasındaki bağlantının tespitinde ve

olayların meydana geliş sırasının belirlenmesinde, olay yerinden elde edilen vücut sıvısının doğru tanımlanması ve kimliklendirilmesi oldukça önemlidir. Güncel çalışmalar en çok miRNA ile vücut sıvısı tanımlamasına odaklanmıştır. MiRNA'lar adli araştırmalarda geleneksel yöntemlerin yanı sıra oldukça destekleyici ve bilgi sağlayıcı belirteçler olabilirler. Özellikle geleneksel yöntemlerle elde edilen sonuçların yetersiz olduğu durumlarda, gelecekte miRNA biyobelirteçlerinin kullanılmasıyla doğru sonuçlar elde edilebilir (61). MiRNA'lar adli biyobelirteçler olarak henüz rutin adli analizlerde kullanılmamaktadır. Gelecekte yapılacak kapsamlı çalışmalar ile miRNA'ların adli biyobelirteç olma potansiyelleri bulunmaktadır (62).

YND son yıllarda miRNA profillemeye için ilgi çeken bir metot olmuştur. YND teknolojisini kullanarak, milyonlarca miRNA dizisi analiz edilebilir. MiRNA profillemeye ile araştırılan örnekteki farklı miRNA ifadelerinin belirlenmesi ve işlevi bilinmeyen bir çok miRNA'nın keşfedilmesi mümkündür. YND ile miRNA profillemeye vücut sıvısı ve dokularının tanımlanması, ölüm zamanının belirlenmesi (PMI, Post Mortem Interval), biyolojik lekelerde yaş tayini, normal ve patolojik gen ekspresyonları arasındaki farkın ortaya çıkarılması da dahil olmak üzere adli analizler için de güçlü bir araç olma potansiyeline sahiptir (8,63,64). Hanson vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, adli araştırmalarda biyolojik sıvısı ve dokuların tanımlanabilmeleri için YND teknolojisi ile multipleks miRNA biyobelirteç paneli oluşturulması amaçlanmıştır. YND temelli bu panel tükürük, kan, semen, vajinal sekresyonlar, menstrual kan, deri vb. örneklere spesifik çok sayıda gen bölgelerini içermektedir. Çalışmanın sonucunda YND'nin vücut sıvılarının tanımlanmasında hassas bir teknik olduğu ve gelecekte bir DNA profilinin belirli bir vücut sıvısı veya dokusuyla ilişkilendirilmesine temel oluşturabileceği rapor edilmiştir (11). Özellikle cinsel saldırı vakalarında bilgi veren vajinal sekresyonun tanımlanması ve menstrual kan/venöz kan ayırımında miRNA'ların kullanım potansiyellerinin araştırılması, vücut sıvısı kimliklendirilmesi alanında yapılan çalışmalardandır (61). İç organ dokusunun mağdurdan faile, suç aletine ya da olay yerine aktarılabilme olasılığı bulunmaktadır. Bu nedenle miRNA'lar ile organ dokusunun tanımlanması özellikle şiddet içerikli

suçların araştırılmasında önemli rol oynayabilir (61). Tam vd.'nin (2014) çalışmasında hem dondurulmuş hem de parafine gömülü dokulardan YND ile yüksek doğruluk ve hassasiyette miRNA profillemeye yapılabileceği gösterilmiştir (65). Noren-Hooten vd. (2010) hem genç (yaklaşık 30 yaşında) hem de yaşlı (yaklaşık 64 yaşında) olan çalışma grubunda 800 miRNA'nın profilini ortaya çıkarmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda yaşla birlikte miRNA'ların çoğunluğunun ekspresyonlarının azaldığı rapor edilmiş ve miRNA ekspresyon değişikliklerinin donör yaşının bir indikatörü olma potansiyeline sahip olabilecekleri ve adli kimliklendirmede destekleyici bilgiler verebilecekleri gösterilmiştir (66).

MiRNA analizlerinde bazı zorluklar bulunmaktadır. miRNA ekspresyonu sıcaklık, dehidrasyon, radyasyon ve diğer faktörlerden etkilenmektedir (62). Her adli analizde olduğu gibi bozunmuş ve/veya karışık numuneler miRNA analizinde de en zorlu konudur. Organ hasarları sonucunda miRNA'larda düzensizlikler meydana gelebilir. DNA hasarı, transkripsiyonel seviyede miRNA ifadesini değiştirebilir. Bugüne kadar DNA hasarının miRNA gen ifadeleri üzerine etkisi hakkında yeterince bilgi elde edilememiştir (61). YND ile miRNA'ların analizlerinde bir başka zorluk YND teknolojisinin geleneksel yöntemlere göre daha maliyetli olmasıdır. Maliyet sorununa paralel olarak RNA profillemeye konusundaki uzmanlık DNA profillemeye göre yetersizdir. Günümüzde miRNA ekspresyonlarının belirlenmesinde yaygın olarak Real-Time PCR (RT-qPCR) kullanılmaktadır ancak uygun koşullar sağlandığında bu yöntemin yerini YND teknolojileri alabilecektir. Birçok miRNA'nın işlevi henüz keşfedilmemiştir ve bu konuda YND teknolojisi faydalı olabilir. Sonuç olarak, adli miRNA analizi henüz başlangıç aşamasındadır. miRNA tabanlı yöntemlerin adli rutinde uygulanabilmesi için çalışmayı engelleyen potansiyel zorlukların ortadan kaldırılması ve daha fazla doğru standardizasyon ve validasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Mikrobiyota analizleri

Mikrobiyota terimi, insan vücudunda farklı ekosistemlerde bulunan mikroorganizmaların tamamını ifade etmektedir. Bu mikroorganizmaların genomu ise "mikrobiyom" olarak adlandırılmaktadır (67). Adli örneklerden mikrobiyomun belirlenmesi

kişinin son faaliyetlerini, ölüm sonrası geçen zamanı ve coğrafi konumunu belirlemede yardımcı olabilir (9,10). İnsan mikrobiyom projesi (2012) ile bir bireyin vücudunun belirli bölgelerindeki mikrobiyal çeşitliliğin bireyler arasında benzer olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sayede elde edilen bir örneğin kaynağını belirlemek mümkün olabilir (9).

İnsanlar bireysel olarak benzersiz cilt mikrobiyotasına ev sahipliği yapmaktadır ve mikrobiyom izleri deriden yüzeylere aktarılabilmektedir. Ancak parmak izinden farklı olarak hem konakçıda hem de yüzeylerde kalan mikrobiyal izler zamanla değişmektedir. Bu nedenle de mikrobiyom izleri potansiyel adli değere sahip olsa da adli kimliklendirme amaçlı kullanılmasında halen bir çok zorluk bulunmaktadır (68). Kimliklendirme amacıyla insan mikrobiyomunda özellikle deri mikrobiyotası dikkat çekmektedir. 2020 yılında yapılan bir çalışmada insan kimlik tespitinde *Corynebacterium*, *Propionibacterium* ve *Rothia* cinslerine ait 22 türün cilt mikrobiyotasına göre %92 doğrulukla kişinin kimliklendirilmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir (69). Yapılan diğer çalışmalar ise insan derisi mikrobiyomundaki günlük değişimin, mikrobiyomdan bireyleri tanımlamada doğruluğu azaltabileceğini göstermiştir (68, 70). Dolayısıyla vücut yüzey mikrobiyomunun bireysel karakterizasyonu için gen seviyesinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (70).

Mikrobiyota analizleri, YND ile yapılabilecek adli uygulamalardan bir diğeridir. YND, adli veya epidemiyolojik araştırmalar için mikrobiyal patojenlerin tiplendirilmesinde tüm genomu hızlı, hassas ve oldukça güvenilir bir şekilde dizileyebilmektedir. YND ile herhangi bir örnekteki farklı bakteriyel takson ve suşları belirleyerek mevcut mikrobiyal popülasyonu belirlemek olasıdır (71). Benschop vd. (2012) tarafından adli örneklerde mikropların vajinal kökeni gösterip göstermediğini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, 240 klinik servikal swap örneği kullanılarak YND tekniği ile vajinal mikrobiyal flora analizi yapılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar 338,184 dizi okuması sonucunda 1,619 farklı dizi tespit etmişlerdir ve adli araştırmalarda insan vajinal mikrobiyal floranın YND tekniği ile belirlenebileceği konusunda fikir sağlamışlardır (72). YND teknolojisi ile elde

edilecek yüksek kaliteli bir adli mikrobiyal veri tabanının biyolojik terör olaylarının hızlı ve doğru bir şekilde tespit edilmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir (7).

Hayvan ve bitki türlerinin tayini

Adli bir olayda hayvana ait biyolojik materyal (kan, salya, kıl gibi) saldırgan/mağdur üzerinde tespit edilebilmekte veya saldırgan/mağdura ait deliller hayvana ait biyolojik materyalde saptanabilmektedir (73). Nükleer DNA ve mtDNA üzerindeki moleküler belirteçler ve moleküler teknolojiler kullanılarak hayvanların kimliklendirilmesi yapılabilmektedir (74). 2004 yılında ABD'nin Missouri eyaletinde gerçekleşen bir cinayet vakasının çözümünde evde bulunan kediler üzerinde gerçekleştirilen mtDNA analizinden yararlanılmıştır (75).

Kaçak hayvan avlama vakaları ve nesli tükenmekte olan türlerin ticaretini araştıran polis soruşturmalarında hayvan ve bitki analizleri önemli bilgiler sağlamaktadır. Gıda endüstrisinde satışa sunulan etlerin hangi hayvan türüne ait olduklarının belirlenmesi yine hayvan DNA analizleri ile mümkündür (76). Ayrıca arkeolojik kazılarda bulunan insan kalıntılarının, insan olmayan kalıntılardan ayırt edilebilmesi için de hayvan analizlerinden yararlanılmaktadır (77).

Tür belirlemeye yönelik çoğu DNA tipleme yöntemi şu anda tek tür için türe özgü primerlerin kullanıldığı PCR amplifikasyonuna dayanmaktadır. Ancak primer bir tür bilgisinin olmadığı durumlarda tür tayini yapmak zordur (78, 79). Adli bilimciler bu durumla sıklıkla karşı karşıya kalmaktadır. YND teknolojisinin gelişimi ile gerçekleştirilen birçok çalışmada türlerin DNA dizileri belirlenmiştir (7). YND teknolojisinin adli bilimlerde kullanımı ile hayvan ve bitki türlerinin tayini çok daha kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilir. Cheng vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, YND yöntemiyle bitkiler ve hayvanlar uygun maliyetli ve başarılı bir şekilde tanımlanmıştır (80).

Soy çalışmaları ve fenotipik çıkarımlar

Arkeolojik kazılardan elde edilen ileri derecede bozulmuş ve analizi zor örneklerde, YND teknolojisi ile biyolojik örneğe ait DNA dizilenerek soy ve fenotipik çıkarımlar yapılabilmesi mümkündür

(7). İnsan genomuna ait bilgiler etnik köken gibi kişisel özellikler, fiziksel ve fizyolojik özellikler ve yaş hakkında fikir verebilir (2,7). STR'ler ve SNP'ler, adli kimliklendirme ve soy tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin 2004 Madrid tren bombalamalarında, şüphelilerin kaynak popülasyonu, popülasyonun atalarıyla ilgili 34 otozomal SNP kullanılarak çıkarılmıştır (81). Diğer çalışmalar SNP'lerin %90 doğrulukla iris ve saç renkleriyle yakından ilişkili olduğunu bildirmiştir (7).

Bir bireyin fiziksel görünüşünü tahmin etmekte kullanılan ve belirli fiziksel özelliklerle ilişkili SNP'ler fenotipik bilgilendirici SNP (phenotype informative) olarak isimlendirilir. Bir bireyin dış görünüşünün SNP'leri kullanarak belirlenmesi ise adli DNA fenotipleme olarak tanımlanmaktadır (82). SNP'lerin STR'lere göre boyutları daha kısa, mutasyon oranları daha düşük ve analizlerinin yorumlanması daha kolaydır. Mutasyon oranlarının düşük olması sayesinde SNP'ler nesiller boyunca sabit olarak kalıtılır. Bu özellikleri sebebiyle atasal ilişkiler ve fenotip tahmin çalışmalarında uygun belirteçler haline gelmişlerdir (83). Tüm genom analizi çalışmalarıyla (GWAS) birlikte SNP'ler kullanarak geniş popülasyonlarda belirli fenotipik özellikler tespit edilebilir hale gelmiştir. Fakat GWAS'ta çoklu analiz (multiple testing) ve popülasyon yapısı (population stratification) nedeniyle yanlış tahmin ihtimali bulunmaktadır (84,85). GWAS dışında, belirli fenotipik özellikleri belirlemeye yönelik kitler de geliştirilmiştir. Göz renginin (mavi/kahverengi) belirlenmesi için 6 SNP'i hedefleyen Iris Plex çoklu genotipleme assayi bunlardan biridir (86). Iris Plex'in geliştirilmesiyle hem göz rengi hem de saç rengi tahmininde kullanılan HIrisPlex assayi üretilmiştir (87). Bu iki assayin ve YND teknolojisinin birleştirilmesi ile saç, göz ve ten rengi tespitinde kullanılan HIrisPlex- S sistemi de geliştirilmiştir (88).

Fenotipik özelliklerin birçoğu çoklu genler tarafından kontrol edilir. Bu nedenle, çok sayıda SNP'in eş zamanlı olarak analiz edilmesi gerekmektedir. SNP'lerin çoğunlukla bialelik olması nedeniyle ayırım gücü multialelik olan STR'lerden daha azdır. 50 SNP ancak 13 STR kadar bilgi verici olabilir; tek STR'nin ayırım gücü 4-5 SNP'e eşdeğerdir (89,90). Fenotipik özelliklerin hem genotip hem de çevresel faktörlerden etkilenmesi nedeniyle adli

DNA fenotiplemenin sınırlılıkları bulunmaktadır. Örneğin erkeklerde kellik ya da açık tenli birisinin bronzlaşması kişinin bugünkü görünüşünün genotip yoluyla belirlenmesinde engel teşkil edebilmektedir (91).

Illumina ve Verogen tarafından MiSeq FGx sistemiyle birlikte çalışacak adli amaçlı kitler tasarlanmıştır. Bunlardan ForenSeq DNA Signature Pret kit, içinde 22 fenotipik SNP'i de içeren 231 belirteçi eş zamanlı olarak analiz etme imkanı sunmaktadır. Akrabalık çalışmalarına yönelik geliştirilen ForenSeq Kintelligence kit de, yine 22 fenotipik SNP ile birlikte 165 belirteci eş zamanlı olarak analiz edebilmektedir. YND teknolojileri artmış hassasiyet, yüksek verim ve çoklu belirteçleri eş zamanlı olarak analiz etme gibi avantajlara sahiptir (92). Fenotipik çalışmalar genellikle geleneksel STR analizi sonrası yapılmaktadır. Bu nedenle, fenotipik çalışmalarda kullanmak için az miktarda örnek kalmaktadır. YND teknolojilerinin önemli avantajlarından biri, çok sayıda belirteci az miktardaki biyolojik örnekten eş zamanlı analiz edebilmesidir (93).

YND teknolojisi ile sadece STR profillemeye için tekrar sayılarının analizi yapılmamakta aynı zamanda SNP'lerin analizi ile fenotip ve atasoy da belirlenebilmektedir (16). Yakın zamanda geliştirilen kitler ve paneller ile çok sayıda SNP, YND teknolojisi ile analiz edilebilmekte ve edinilen bu bilgi adli araştırmacı soy (FIGG: forensic investigative genetic genealogy) analizlerinin genetik bileşenini oluşturarak bu alanda bilgi patlamasına katkıda bulunmaktadır. SNP'leri kullanan FIGG ile akrabalık gibi biyolojik ilişkiler yaklaşık 9 jenerasyona kadar çözülebilmekte ve bu yoğun bir SNP verisinin kullanımıyla mümkün olmaktadır (94).

YENİ NESİL DİZİLEME TEKNOLOJİSİNİN DEZAVANTAJLARI

Mevcut adli analizleri destekleyebilecek üstünlüklere sahip olan YND teknolojilerinin laboratuvar uygulamalarında bazı zorluklar yaşanmaktadır. Validasyonu sağlanmış güçlü kitlerin olmaması, ekipman maliyetleri, validasyon ve optimizasyon çalışmaları, kütüphanelerin hazırlanması, hata oranı, veri işleme ve analiz süreçleri, analistlerin eğitimi

ve ayrıca STR lokuslarının yeniden isimlendirilmesi gibi zorluklar YND yönteminin adli araştırmalarda kullanılmasını sınırlandırabilmektedir. Bu yöntemle çalışmanın kolaylaşması için yöntemin maliyetinin giderek düşürülmesi ve otomasyonun YND yöntemine uyarlanması gerekmektedir. Hem araştırmacıların hem de ticari firmaların YND yöntemi ile ilgili yapacakları Ar-Ge çalışmaları YND yönteminin adli bilim laboratuvarlarında daha sıklıkla kullanılmasına olanak sağlayacaktır (8, 95).

SONUÇ

DNA profileme, adli kimliklendirme araştırmalarında en fazla kullanılan en güvenilir yöntemlerden biridir (96). Bu amaçla tüm dünyada kullanılan altın standart otozomal STR analizleridir. Bazı zor vakalarda X-STR ve Y-STR analizleri ya da mtDNA analizlerinin yapılması da gerekebilmektedir. Adli biyoloji laboratuvarlarında adli vakaların çözüme ulaştırılması için vücut sıvıları da kimliklendirilebilmektedir. Bu amaçla son yıllarda epigenetik değişikliklerin analizi gündeme oturmuştur. Tüm bu analizlerin yetersiz kalabildiği adli vakalar da olabilmektedir. Bu tür vakaların aydınlatılmasında YND teknolojilerinin kullanılabilmesi uzman adli bilimciler tarafından kabul görmüştür. Bu nedenle de, son yıllarda hızla gelişmiş ve birçok adli araştırmacı için ceza araştırmalarında fail ya da mağdurun DNA profilinin çıkarılması ve kayıp kişilerin ya da toplu afet kurbanlarının kimliklendirilme işlemlerinde önemli bir analitik araç haline gelmiştir (8,11).

Yeni nesil dizileme ile kişilere ait tüm genom dizimleri ortaya çıkarılıp kayıt altına alınarak oluşturulan genom bankaları adli kimliklendirme amacıyla kullanılabilir. Toplu can kayıplarının yaşandığı ve kimliklendirme çalışmalarının çok hızlı yapılması gerektiği afetlerde YND teknolojileri ile hızlı sonuç elde edilebilir. Kimliklendirme için adli bir veri tabanı oluşturmamızı sağlayacak bu teknik, gelecekte moleküler bir görgü tanığı olarak hizmet verebilir. Tek bir testle tüm genom veya tüm ekzonları dizileyerek araştırmacılara genetik varyasyonların tüm aralığını inceleme olanağı sağlayan bu teknoloji, adli bir olayın çözümlenmesinde güçlü bir araç olarak kullanılabilir.

YND teknolojisi daha hızlı ve kolay uygulanabilen özellikleriyle klasik Sanger'den daha yüksek verim kapasitesine sahiptir (12,46). Yeni nesil dizileme teknolojisinin en büyük avantajlarından biri, hem otozomal hem de cinsiyet kromozomları üzerindeki birden fazla STR lokusunun eşzamanlı tespitini, mitokondriyal genom polimorfizmlerinin analizini ve adli araştırmalar için önemli bilgiler sağlayan soy, fiziksel ve psikolojik özelliklerle ilgili SNP'lerin tek bir testle tanımlanmasını mümkün hale getiriyor olmasıdır (7). Ayrıca, insan genomunda sık ve nadir görülen varyasyonların değerlendirilmesi de YND teknolojileri ile mümkün hale gelmektedir (22). Sonuç olarak, YND teknolojilerinin belirtilen üstünlükleri ile rutin analiz yapılan adli laboratuvarlarda kapiller elektroforez temelli STR analizlerini destekleyebilecek güçlü bir teknoloji olduğu düşünülmektedir (8).

Competing interests: No competing interests are declared by the authors.

Funding: No funding was received from any source for the completion of this work

KAYNAKLAR

1. Görmez Ö, Yılmaz H. Kimliklendirmede dental değerlendirmenin önemi. Med J SDU. 2014;21(1):29-34.
2. Sultana GNN, Sultan MZ. Mitochondrial DNA and methods for forensic identification. J Forensic Sci Crimin Inves. 2018;9(1):555755. <https://doi.org/10.19080/JFSCI.2018.09.555755>.
3. Al-Koofee DAF, Mubarak SMH. Genetic polymorphisms (Chap. 1). In: Çalışkan M, Erol O, Öz GC, editors. The Recent Topics in Genetic Polymorphisms. Intechopen. BoD-Books on Demand; 2020. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88063>
4. Banday MZ, Nissar S, Aga SS, editors. Genetic Polymorphism and Disease. CRC Press; 2022.
5. Subaşıoğlu A. Afetlerde kimliklendirme ve genetik yaklaşımlar. İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Derg. 2023;8(2):717-720.
6. Tekcan E, Tural Ş. Adli DNA analizlerinde güncel moleküler genetik gelişmeler. Van Med J. 2023;30(2):217-222. <https://doi.org/10.5505/vtd.2023.30633>
7. Yang Y, Xie B, Yan J. Application of next-generation sequencing technology in forensic science. Genomics Proteomics Bioinformatics. 2014;12(5):190-197. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2014.09.001>
8. Filoglu G, Sah I, Dogan M, Nalcaoglu SB, Bulbul ITO, Unsal T. Application of next generation sequencing in forensic science Yeni nesil dizilemenin adli bilimlerde kullanımı. Med. 2017;6(1):157-162. <https://doi.org/10.5455/medscience.2016.05.8518>

9. Clarke TH, Gomez A, Singh H, Nelson KE, Brinkac LM. Integrating the microbiome as a resource in the forensics toolkit. *Forensic Sci Int Genet.* 2017;30:141–147. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.06.008>
10. Wong L-P, Ong RT-H, Poh W-T, Liu X, Chen P, Li R, KK-Y Lam, Pillai NE, Sim K-S, Xu H, Sim N-L, Teo S-M, Foo J-N, LW-L Tan, Lim Y, Koo S-H, LS-H Gan, Cheng C-Y, Wee S, EP-H Yap, Ng PC, Lim W-Y, Soong R, Wenk MR, Aung T, Wong T-Y, Khor C-C, Little P, Chia K-S, Teo Y-Y. Deep whole-genome sequencing of 100 southeast Asian Malays. *Am J Hum Genet.* 2013;92(1):52–66. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.12.005>
11. Hanson E, Ingold S, Haas C, Ballantyne J. Targeted multiplexed next generation RNA sequencing assay for tissue source determination of forensic samples. *Forensic Sci Int Genet Supp Ser.* 2015;5:e441–e443. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2015.09.175>
12. Darcac N, Türkyılmaz O. Yeni nesil dizileme teknolojisine genel bakış. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Derg.* 2018;5(1):41–49.
13. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: an overview. *Hum Immunol.* 2021;82(11):801–811. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>
14. Tytgat O, Van Nieuwerburgh F. Applications of nanopore sequencing for forensic analysis (Chap. 6). In: Dash HR, Elkins KM, Al-Snan NR, editors. *Next Generation Sequencing (NGS) Technology in DNA Analysis.* Academic Press; 2024. p. 85–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99144-5.00027-5>
15. Yang TT, Zhang JR, Xie ZH, Ren ZL, Yan JW, Ni M. Nanopore sequencing of forensic short tandem repeats using QNome of Qitan Technology. *Electrophoresis.* 2024. <https://doi.org/10.1002/elps.202300270>
16. Buijns B, Tiggelaar R, Gardeniers H. Massively parallel sequencing techniques for forensics: a review. *Electrophoresis.* 2018;39(21):2642–2654. <https://doi.org/10.1002/elps.201800082>
17. Børsting C, Morling N. Next generation sequencing and its applications in forensic genetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;18:78–89. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.02.002>
18. Hunter P. Uncharted waters: next-generation sequencing and machine learning software allow forensic science to expand into phenotype prediction from DNA samples. *EMBO Rep.* 2018;19(3). <https://doi.org/10.15252/embr.201845810>
19. Cutick MF, Clark L, Tu T, Goforth J, Zhang X, LaRue B, Gutierrez R, Jindra PT. Performance characteristics of chimerism testing by next generation sequencing. *Hum Immunol.* 2022;83(1):61–69. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.10.004>
20. Topaloğlu T, Şener EF, Canatan H. Nöropsikiyatrik hatalıklarda yeni nesil sekans teknolojisinin kullanımı ve güncel yaklaşımlar. *Saglik Bilim Derg.* 2016;25(2):92–99.
21. Gettings KB, Kiesler KM, Faith SA, Montano E, Baker CH, Young BA, Guerrieri RA, Vallone PM. Sequence variation of 22 autosomal STR loci detected by next generation sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 2016;21:15–21. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.11.005>
22. Çağlayan AO. Yeni nesil dizileme teknolojisinin tıpta kullanımı: örnek hastalık grubu olarak nöregelişimsel hastalıklar. *Türkiye Klinikleri J Med Genet-Special Topics.* 2016;1(1):155–160.
23. Bredemeyer S, Roewer L, Willuweit S. Next generation sequencing of Y-STRs in father-son pairs and comparison with traditional capillary electrophoresis. *Forensic Sci Res.* 2022;7(3):484–489. <https://doi.org/10.1080/20961790.2021.1898078>
24. Van Neste C, Vandewoestyne M, Van Crieckinge W, Deforce D, Van Nieuwerburgh F. My-Forensic-Loci-queries (MyFLq) framework for analysis of forensic STR data generated by massive parallel sequencing. *Forensic Sci Int Genet.* 2014;9:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.10.012>
25. Sensat A, Caliebe A, Scheurer E, Schulz I. Validation and beyond: next generation sequencing of forensic casework samples including challenging tissue samples from altered human corpses using the MiSeq FGx system. *J Forensic Sci.* 2022;67(4):1382–1398. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.15028>
26. Shih SY, Bose N, Gonçalves ABR, Erlich HA, Calloway CD. Applications of probe capture enrichment next generation sequencing for whole mitochondrial genome and 426 nuclear SNPs for forensically challenging samples. *Genes.* 2018;9(1):49. <https://doi.org/10.3390/genes9010049>
27. Warshauer DH, Lin D, Hari K, Jain R, Davis C, Larue B, King JL, Budowle B. STRait Razor: a length-based forensic STR allele-calling tool for use with second generation sequencing data. *Forensic Sci Int Genet.* 2013;7(4):409–417. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.04.005>
28. Hertz CL, Christiansen SL, Ferrero-Miliani L, Fordyce SL, Dahl M, Holst AG, Ottesen GL, Frank-Hansen R, Bundgaard H, Morling N. Next-generation sequencing of 34 genes in sudden unexplained death victims in forensics and in patients with channelopathic cardiac diseases. *Int J Legal Med.* 2015;129(4):793–800. <https://doi.org/10.1007/s00414-014-1105-y>
29. Proceedings of the 4th National Symposium on Forensic DNA Inspection Technology. International Symposium on New Advances in Forensic Genetics; China 2012. p. 9-12.
30. Dash HR, Ranga A. Sequence analysis and secondary structure prediction of autosomal STR alleles using next generation sequencing (NGS) data. *Human Gene.* 2024;40:201274. <https://doi.org/10.1016/j.humgen.2024.201274>
31. Hall CL, Kesharwani RK, Phillips NR, Planz JV, Sedlazeck FJ, Zascavage RR. Accurate profiling of forensic autosomal STRs using the Oxford Nanopore Technologies MinION device. *Forensic Sci Int Genet.* 2022;56:102629. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102629>
32. Poethe S-S, Holtel J, Biermann J-P, Riemer T, Grabmüller M, Madea B, Thiele R, Jäger R. Cost-Effective Next Generation Sequencing-Based STR Typing with Improved Analysis of Minor, Degraded and Inhibitor-Containing DNA Samples. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3382. <https://doi.org/10.3390/ijms24043382>
33. Bülbül Ö, Argaç D, Shahzad MS, Filoğlu G, Altunçul H. Kimliklendirme ve nesep tayini için otozomal SNP lokuslarının belirlenmesi. *Türkiye Klinikleri J Foren Sci Leg Med.* 2013;10(1):7–13.
34. Fondevila M, Børsting C, Phillips C, De La Puente M, Carracedo A, Morling N, Lareu MV. Forensic SNP genotyping with SNaPshot: technical considerations for the development and optimization of multiplexed SNP assays. *Forensic Sci Rev.* 2017;29(1):57–76.
35. Gorden EM, Greytak EM, Sturk-Andreaggi K, Cady J, McMahon TP, Armentrout S, Marshall C. Extended kinship analysis of historical remains using SNP capture. *Forensic Sci Int Genet.* 2022;57:102636. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102636>
36. Kokotas S, Budowle B, Papatheodorou A, Bolanaki E, Kondili A, Metheniti A, Vouropoulou M, Koukouvinos G, Palaigeorgiou E, Makras P. Comparison of next generation sequencing (NGS) - (SNPs) and capillary electrophoresis (CE) - (STRs) in the genetic analysis of human remains. *Forensic Sci Int Genet.* 2024;103131. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2024.103131>

37. Sapan V, Simsek SZ, Filoğlu G, Bulbul O. Forensic DNA phenotyping using Oxford Nanopore Sequencing system. *Electrophoresis* 2024. <https://doi.org/10.1002/elps.202300252>
38. Ren Z-L, Zhang J-R, Zhang X-M, Liu X, Lin Y-F, Bai H, Wang M-C, Cheng F, Liu J-D, Li P, Kong L, Bo X-C, Wang S-Q, Ni M, Yan J-W. Forensic nanopore sequencing of STRs and SNPs using Verogen's ForenSeq DNA signature prep kit and MinION. *Int J Legal Med*. 2021;135(5):1685–1693. <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02604-0>
39. Tytgat O, Škevin S, Deforce D, Van Nieuwerburgh F. Nanopore sequencing of a forensic combined STR and SNP multiplex. *Forensic Sci Int Genet*. 2022;56:102621. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2021.102621>
40. Bülbül Ö, Filoğlu G. Biyocoğrafik soy tahmini ve adli bilimlerde kullanımı. *Bull Leg Med*. 2019;24(2):131–140. <https://doi.org/10.17986/blm.2019250174>
41. Larmuseau MH, Van Geystelen A, Kayser M, van Oven M, Decorte R. Towards a consensus Y-chromosomal phylogeny and Y-SNP set in forensics in the next-generation sequencing era. *Forensic Sci Int Genet*. 2015;15:39–42. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.11.012>
42. Xue Y, Wang Q, Long Q, Ng BL, Swerdlow H, Burton J, Skuce C, Taylor R, Abdellah Z, Zhao Y, Asan; MacArthur DG, Quail MA, Carter NP, Yang H, Tyler-Smith C. Human Y chromosome base-substitution mutation rate measured by direct sequencing in a deep-rooting pedigree. *Curr Biol*. 2009;19(17):1453–1457. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.07.032>
43. Qian X, Hou J, Wang Z, Ye Y, Lang M, Gao T, Liu J, Hou Y. Next generation sequencing plus (NGS+) with Y-chromosomal markers for forensic pedigree searches. *Sci Rep*. 2017;7(1):11324. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11955-x>
44. Abatay Sel F, Savran Oğuz F. Moleküler kimerizm metotları: geçmiş ve günümüz. *AKD Tıp Derg*. 2022;8(1):82–90. <https://doi.org/10.53394/akd.1037771>
45. Serin A, Canan H, Alper B. Adli amaçlı kimliklendirmede mitokondriyal DNA. *Türkiye Klinikleri J Foren Sci Leg Med*. 2013;10(2):51–58.
46. Syndercombe Court D. Mitochondrial DNA in forensic use. *Emerg Top Life Sci*. 2021;5(3):415–426. <https://doi.org/10.1042/ETLS20210204>
47. Szibor R, Michael M, Plate I, Krause D. Efficiency of forensic mtDNA analysis: case examples demonstrating the identification of traces. *Forensic Sci Int*. 2000;113(1-3):71–78. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(00\)00266-8](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(00)00266-8)
48. del Mar González M, Ramos A, Aluja MP, Santos C. Sensitivity of mitochondrial DNA heteroplasmy detection using Next Generation Sequencing. *Mitochondrion*. 2020;50:88–93. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2019.10.006>
49. Mikkelsen M, Rockenbauer E, Wächter A, Fendt L, Zimmermann B, Parson W, Nielsen SA, Gilbert T, Willerslev E, Morling N. Application of full mitochondrial genome sequencing using 454 GS FLX pyrosequencing. *Forensic Sci Int Suppl Ser*. 2009;2(1):518–519. <https://doi.org/10.1016/j.fsigs.2009.09.028>
50. Stewart JE, Fisher CL, Aagaard PJ, Wilson MR, Isenberg AR, Polansky D, Pokorak E, DiZinno JA, Budowle B. Length variation in HV2 of the human mitochondrial DNA control region. *J Forensic Sci*. 2001;46(4):862–870. <https://doi.org/10.1520/JFS15059J>
51. Coble MD, Just RS, O'Callaghan JE, Letmanyi IH, Peterson CT, Irwin JA, Parsons TJ. Single nucleotide polymorphisms over the entire mtDNA genome that increase the power of forensic testing in Caucasians. *Int J Legal Med*. 2004;118(3):137–146. <https://doi.org/10.1007/s00414-004-0427-6>
52. Parsons TJ, Coble MD. Increasing the forensic discrimination of mitochondrial DNA testing through analysis of the entire mitochondrial DNA genome. *Croat Med J*. 2001;42(3):304–309.
53. Forsythe B, Melia L, Harbison S. Methods for the analysis of mitochondrial DNA. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Forensic Sci*. 2021;3(1):e1388. <https://doi.org/10.1002/wfs2.1388>
54. Weber-Lehmann J, Schilling E, Gradl G, Richter DC, Wiehler J, Rolf B. Finding the needle in the haystack: differentiating “identical” twins in paternity testing and forensics by ultra-deep next generation sequencing. *Forensic Sci Int Genet*. 2014;9:42–46. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.10.015>
55. Çeppioglu SK, Yurdun T. Adli bilimlerde epigenetik: yeri ve geleceği. *Türkiye Klinikleri Forensic Med-Special Topics*. 2015;1(3):38–47.
56. Yanar K, Aksungur S. Adli bilimlerde DNA metilasyonları kullanılarak bireysel yaş tahmini. *ABSAD*. 2024;6(1):42–57.
57. Forat S, Huettel B, Reinhardt R, Fimmers R, Haidl G, Denschlag D, Olek K. Correction: methylation markers for the identification of body fluids and tissues from forensic trace evidence. *PLoS One*. 2016;11(5):e0156472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156472>
58. Li C, Zhao S, Zhang N, Zhang S, Hou Y. Differences of DNA methylation profiles between monozygotic twins' blood samples. *Mol Biol Rep*. 2013;40:5275–5280. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2627-y>
59. Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009;7(4):147–154. [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(08\)60044-3](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(08)60044-3)
60. Courts C, Madea B. Specific micro-RNA signatures for the detection of saliva and blood in forensic body-fluid identification. *J Forensic Sci*. 2011;56(6):1464–1470. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.01894.x>
61. Holumen N. Usage areas of microRNA (miRNA) in forensic genetics. *NOFOR*. 2022;1(1):7–14. <https://doi.org/10.5455/NOFOR.2022.06.02>
62. Silva SS, Lopes C, Teixeira A, De Sousa MC, Medeiros R. Forensic miRNA. Potential biomarker for body fluids? *Forensic Sci Int Genet*. 2015;14:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.09.002>
63. Glynn CL. Potential applications of microRNA profiling to forensic investigations. *RNA*. 2020;26(1):1–9. <https://doi.org/10.1261/rna.072173.119>
64. Wang Z, Luo H, Pan X, Liao M, Hou Y. A model for data analysis of microRNA expression in forensic body fluid identification. *Forensic Sci Int Genet*. 2012;6(3):419–423. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2011.08.008>
65. Tam S, De Borja R, Tsao M-S, McPherson JD. Robust global microRNA expression profiling using next-generation sequencing technologies. *Lab Invest*. 2014;94(3):350–358. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2013.157>
66. Noren Hooten N, Abdelmohsen K, Gorospe M, Ejiogu N, Zonderman AB, Evans MK. microRNA expression patterns reveal differential expression of target genes with age. *PLoS One*. 2010;5(5):e10724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010724>
67. Aslan FG, Altındış M. İnsan mikrobiyom projesi, mikrobiyotanın geleceği ve kişiye özel tıp uygulamaları. *J Biotechnol and Strategic Health Res*. 2017;1(Special Issue):1–6.
68. Wilkins D, Leung MH, Lee PK. Microbiota fingerprints lose individually identifying features over time. *Microbiome*. 2017;5(1):1. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0209-7>

69. Neckovic A, van Oorschot RA, Szkuta B, Durdle A. Investigation of direct and indirect transfer of microbiomes between individuals. *Forensic Sci Int Genet.* 2020;45:102212. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102212>
70. Zhang J, Liu W, Simayijiang H, Hu P, Yan J. Application of microbiome in forensics. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2023;21(1):97–107. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.07.007>
71. Kuiper I. Microbial forensics: next-generation sequencing as catalyst: the use of new sequencing technologies to analyze whole microbial communities could become a powerful tool for forensic and criminal investigations. *EMBO reports.* 2016;17(8):1085–7. <https://doi.org/10.15252/embr.201642794>
72. Benschop CC, Quaaq FC, Boon ME, Sijen T, Kuiper I. Vaginal microbial flora analysis by next generation sequencing and microarrays; can microbes indicate vaginal origin in a forensic context? *Int J Legal Med.* 2012;126(2):303–310. <https://doi.org/10.1007/s00414-011-0660-8>
73. Cardinali I, Tancredi D, Lancioni H. The revolution of animal genomics in forensic sciences. *Int J Mol Sci.* 2023;24(10):8821. <https://doi.org/10.3390/ijms24108821>
74. Mitra I, Roy S, Haque I. Application of molecular markers in wildlife DNA forensic investigations. *J Forensic Med.* 2018;4(3):156–160. https://doi.org/10.4103/jfsm.jfsm_23_18
75. Lyons LA, Grahn RA, Kun TJ, Netzel LR, Wictum EE, Halverson JL. Acceptance of domestic cat mitochondrial DNA in a criminal proceeding. *Forensic Sci Int Genet.* 2014;13:61–67. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2014.07.007>
76. Ali M, Hashim U, Kashif M, Mustafa S, Che Man Y, Abd Hamid S. Development of swine-specific DNA markers for biosensor-based halal authentication. *Genet Mol Res.* 2012;11(2):1762–1772. <https://doi.org/10.4238/2012.June.29.9>
77. Malmström H, Storå J, Dalén L, Holmlund G, Götherström A. Extensive human DNA contamination in extracts from ancient dog bones and teeth. *MBE.* 2005;22(10):2040–2047. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi195>
78. Hajibabaei M, Shokralla S, Zhou X, Singer GA, Baird DJ. Environmental barcoding: a next-generation sequencing approach for biomonitoring applications using river benthos. *PLoS One.* 2011;6(4):e17497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017497>
79. Hancock-Hanser BL, Frey A, Leslie MS, Dutton PH, Archer FI, Morin PA. Targeted multiplex next-generation sequencing: advances in techniques of mitochondrial and nuclear DNA sequencing for population genomics. *Mol Ecol Resour.* 2013;13(2):254–268. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12059>
80. Cheng X, Chen X, Su X, Zhao H, Han M, Bo C, Xu J, Bai H, Ning K. DNA extraction protocol for biological ingredient analysis of Liuwei Dihuang Wan. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2014;12(3):137–143. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2014.03.002>
81. Phillips C, Prieto L, Fondevila M, Salas A, Gómez-Tato A, Álvarez-Dios J, Alonso A, Blanco-Verea A, Brión M, Montesino M, Carracedo Á, Lareu MV. Ancestry analysis in the 11-M Madrid bomb attack investigation. *PLoS One.* 2009;4(8):e6583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006583>
82. Koops B-J, Schellekens M. Forensic DNA phenotyping: regulatory issues. *Colum Sci & Tech L Rev.* 2008;9:158–202.
83. Budowle B, Van Daal A. Forensically relevant SNP classes. *Biotechniques.* 2008;44(5):603–610. <https://doi.org/10.2144/000112806>
84. Haidar M, Abbas FA, Alsaleh H, Haddrill PR. Population genetics and forensic utility of 23 autosomal PowerPlex Fusion 6C STR loci in the Kuwaiti population. *Sci Rep.* 2021;11(1):1865. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81425-y>
85. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2006;38(8):904–909. <https://doi.org/10.1038/ng1847>
86. Walsh S, Liu F, Ballantyne KN, van Oven M, Lao O, Kayser M. IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. *Forensic Sci Int Genet.* 2011;5(3):170–180. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2010.02.004>
87. Walsh S, Liu F, Wollstein A, Kovatsi L, Ralf A, Kosiniak-Kamysz A, Branicki W, Kayser M. The HirisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. *Forensic Sci Int Genet.* 2013;7(1):98–115. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2012.07.005>
88. Breslin K, Wills B, Ralf A, Garcia MV, Kukla-Bartoszek M, Pospiech E, Freire-Aradas A, Xavier C, Ingold S, de La Puente M, van der Gaag KJ, Herrick N, Haas C, Parson W, Phillips C, Sijen T, Branicki W, Walsh S, Kayser M. HirisPlex-S system for eye, hair, and skin color prediction from DNA. Massively parallel sequencing solutions for two common forensically used platforms. *Forensic Sci Int Genet.* 2019;43:102152. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.102152>
89. Gill P. An assessment of the utility of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for forensic purposes. *Int J Legal Med.* 2001;114(4):204–210. <https://doi.org/10.1007/s004149900117>
90. Pakstis AJ, Speed WC, Fang R, Hyland FC, Furtado MR, Kidd JR, Kidd KK. SNPs for a universal individual identification panel. *Hum Genet.* 2010;127:315–324. <https://doi.org/10.1007/s00439-009-0771-1>
91. Redler S, Brockschmidt F, Tazi-Ahmini R, Drichel D, Birch M, Dobson K, Giehl KA, Herms S, Refke M, Kluck N, Kruse R, Lutz G, Wolff H, M Böhm, Becker T, MM Nöthen, Messenger AG, Betz RC. Investigation of the male pattern baldness major genetic susceptibility loci AR/EDA2R and 20p11 in female pattern hair loss. *Br J Dermatol.* 2012;166(6):1314–1318. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.10877.x>
92. Haidar M, Mousawi F, Al-Matrouk AK. Forensic DNA phenotyping using next-generation sequencing (Chap. 15). In: Dash HR, Elkins KM, Rashid Al-Snan N, editors. *Next Generation Sequencing (NGS) Technology in DNA Analysis.* Elsevier; 2024. p. 289–310. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99144-5.00014-7>
93. Carratto TMT, de Oliveira MLG, Mendes-Junior CT. Forensic DNA phenotyping in the next-generation sequencing era. *Next Generation Sequencing (NGS) Technology in DNA Analysis: Elsevier; 2024.* p. 311–36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99144-5.00033-0>
94. Budowle B, Arnette A, Sajantila A. A cost-benefit analysis for use of large SNP panels and high throughput typing for forensic investigative genetic genealogy. *Int J Legal Med.* 2023;137(5):1595–1614. <https://doi.org/10.1007/s00414-023-03029-7>
95. Vidaki A, Kayser M. Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. *Forensic Sci Int Genet.* 2018;37:180–195. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.08.008>
96. Akıncioğlu NU, Aslan İ, Doğan Y. Afet kurbanlarının kimliklendirilmesinde kullanılan yöntemler ve ülkemizdeki durum. *Güvenlik Bilimleri Derg.* 2021;10(1):217–238. <https://doi.org/10.28956/gbd.942166>