DERLEME

ADLİ TIP DERGİSİ
TURKISH JOURNAL OF FORENSIC MEDICINE

**Geliş:** 01.07. 2025
**Kabul:** 19.12.2025

# Vücut Sıvılarının Kimliklendirilmesinde Kullanılan DNA Metilasyon Analiz Yöntemlerine Güncel Yaklaşımlar

## Current Approaches to DNA Methylation Analysis Methods Used in the Identification of Body Fluids

**İrem Ekici[1] , Ayşen Tezel[2]**

[1] Ankara Üniversitesi, Adli Bilimler Enstitüsü, Ankara, Türkiye
[2] Jandarma ve Sahil Güvenlik Akademisi, Adli Bilimler Bölüm Başkanlığı, Ankara, Türkiye

## Öz

Suç olaylarının aydınlatılmasında olay yerinde toplanan bulguların çoğu vücut sıvılarıdır. Bu bulgular, mağdur ve şüphelinin belirlenmesiyle, beraat veya tutukluluk kararına çok önemli katkıda bulunurlar. Vücut sıvısının tespiti, bir olayın çözümlenmesindeki ilk adımdır. İlk inceleme olay yerinde alternatif ışık kaynağı ve kimyasal testlerle gerçekleştirilirken, laboratuvarda da mikroskop ve kaset testleriyle vücut sıvıları kimliklendirilmektedir. Günümüzde, DNA metilasyon (DNAm) tespiti ve RNA tabanlı profilleme yöntemleri, son zamanlarda geleneksel vücut sıvısı tanımlama yöntemlerinin yerini almaya başlamıştır. Periferik kan, menstrual kan, meni, tükürük ve vajinal sekresyon olmak üzere beş temel vücut sıvısına özgü DNAm belirteçleri, bu biyolojik materyallerin kaynağının doğru şekilde tespit edilmesini sağlamaktadır. Klasik yöntemlerin aksine, DNAm analizleri az miktarda veya bozunmuş örneklerden güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu nedenle, biyolojik sıvıların tespiti, cinsel saldırı veya şiddet gibi ceza davalarının aydınlatılmasında umut vermekle birlikte henüz erken bir araç olduğunu ortaya koymaktadır. Günümüzde, DNA metilasyon tespiti veya RNA tabanlı profilleme yöntemleri geleneksel vücut sıvısı tanımlama yöntemleriyle birlikte kullanılmaya başlamıştır. Ancak adli incelemelerde kimliklendirme için epigenetik belirteçlerin seçimi konusunda hassas davranmak ve çok sayıda doğrulama çalışmaları yapmak gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** DNA metilasyonu, Biyolojik kalıntılar, Vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, Adli biyoloji, Epigenetik,

## Abstract

Most of the evidence collected at the crime scene for solving criminal incidents consists of body fluids. These findings are crucial for identifying the victim and suspect and contribute significantly to the decision of acquittal or pretrial detention. Body fluid identification is the first step in solving a crime. While the initial investigation is carried out at the scene using alternative light sources and chemical tests, in the laboratory, body fluids are identified using microscopes and cassettes. Recently, DNA methylation (DNAm) detection and RNA-based profiling methods have begun to replace traditional methods for identifying body fluids. DNA markers specific to five primary body fluids—peripheral blood, menstrual blood, semen, saliva, and vaginal secretions—allow for accurate identification of the source of these biological materials. Unlike traditional methods, DNAm analyses yield reliable results from small amounts or degraded samples. Therefore, while the identification of biological fluids offers promise in solving criminal cases such as sexual assault or violence, it remains an early-stage tool. Currently, DNA methylation detection and RNA-based profiling methods are being used alongside traditional methods for identifying body fluids. However, it is necessary to be meticulous about the selection of epigenetic markers for identification in forensic examinations and to conduct numerous validation studies.

**Keywords:** DNA methylation, Body fluid identification, Forensic biology, Epigenetics

**Nasıl Atıf Yapmalı:** Ekici İ, Tezel A. Vücut Sıvılarının Kimliklendirilmesinde Kullanılan DNA Metilasyon Analiz Yöntemlerine Güncel Yaklaşımlar. Adli Tıp Dergisi 2025;39(3):(409-425) https://doi.org/10.61970/adlitip.1730999

**Sorumlu Yazar:** Ayşen Tezel, Jandarma ve Sahil Güvenlik Akademisi, Adli Bilimler Bölüm Başkanlığı, Beytepe,Ankara
**E-posta:** aysentezel@gmail.com

## GİRİŞ

Adli biyoloji, olay yerinden elde edilen biyolojik bulguların bilimsel teknikler aracılığıyla analiz edilerek delil niteliği kazanmasında kritik rol oynayan önemli bir disiplindir. Dr. Edmond Locard'ın (1877-1966) ortaya koyduğu değişim prensibi doğrultusunda, suçun ve suçlunun bulunduğu her temasın mutlaka bir iz bıraktığı kabul edilmekte olup, bu izler genellikle biyolojik kalıntılar şeklinde karşımıza çıkmaktadır (1). Olay yerinde bulunan herhangi bir vücut sıvısı kalıntısının biyolojik kökeninin tespiti; olayın zaman, yer ve fail açısından yeniden yapılandırılmasına ve adli olgunun çözümlenmesine olanak sağladığından büyük önem taşımaktadır (2).

Periferik kan, menstrual kan, meni, tükürük, vajinal sekresyon ve ter gibi biyolojik bulguların; günümüzde yeni nesil DNA ve RNA tabanlı kimliklendirme yöntemleriyle incelenmesiyle vücut sıvısının ve dokularının orijini belirlenebilmektedir (3,4). Her olayın örgüsü ve niteliği birbirinden farklı olduğundan, elde edilen biyolojik bulgular da çeşitli özellikler gösterebilir. Vücut sıvıları makroskobik olarak birbirine benzemekle birlikte karışım halinde tespit edildiklerinde analiz süreci zorlaşabilir (5). Ayrıca lekenin çıplak gözle görülememesi, oldukça az miktarda bulunması ve biyolojik materyalin degrade olması analizi güçleştiren diğer faktörler arasında yer almaktadır. Bu bağlamda, olay yerinde alternatif ışık kaynakları ile kimyasal ve enzimatik testlerin kullanılması; bulgunun konumu, miktarı, bozunma seviyesi ve vücut sıvısı türünün ön tarama yoluyla belirlenmesi açısından oldukça önemlidir (6).

Ön tarama testleri genellikle yüksek özgüllüğe sahip gibi görünse de çevresel faktörlerin ya da ortamda bulunan diğer reaktif maddelerin etkisiyle zaman zaman yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Örneğin luminol olay yerindeki kan izlerinin gözle görülür hale getirilmesi amacıyla kullanılır. Ancak luminolün farklı kimyasallarla da reaksiyona girebiliyor olması kana özgü bir reaktif olmadığını göstermektedir (7). Benzer şekilde, antijen-antikor ilişkisinden yararlanılan kaset testleri de çeşitli çevresel koşullardan etkilenerek yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar verebilir. Dolayısıyla, olay yerinde uygulanan ön tarama testleri önemli ip uçları sağlıyor olsa da bu bulguların laboratuvar ortamında doğrulayıcı testler ile desteklenmesi bilimsel güvenilirlik açısından gereklidir (2). Adli olguların aydınlatılmasında kritik öneme sahip olan bu doğrulayıcı testler, epigenetik çalışmaların temelini oluşturan DNA ve RNA tabanlı analiz yöntemleri ile mümkündür (8,9).

Bu çalışmada, adli kimliklendirmede kullanılabilecek DNA metilasyon (DNAm) tabanlı vücut sıvısı tanımlama yöntemleri incelendi, ek olarak DNAm veri tabanlarının kapsam ve işleyişi hakkında bilgi verildi. Ayrıca, RNA tabanlı analiz yöntemleriyle karşılaştırmalı bir değerlendirme yapılarak literatürde hangi yöntemin daha güvenilir ve uygulanabilir olduğuna dair bulgulara yer verildi. Son olarak, DNA degradasyonu ve miktar yetersizliği gibi mevcut metodolojik zorluklar ve kısıtlamalar tartışılarak bu analiz yöntemlerinin gelecekteki kullanım alanlarından, adli biyolojik delillerin değerlendirilmesi ve anlamlandırılması bağlamında adli bilimler ile hukuk arasındaki kesişim alanına sunduğu katkıdan ve geliştirilme potansiyelinden söz edildi.

## MATERYAL VE METOD

DNA metilasyonuna dayalı adli kimliklendirme çalışmalarını içeren bu derleme, kapsamlı bir literatür taramasına dayanan narratif derleme niteliğindedir. Literatür taraması PubMed, Scopus, Web of Science (WoS) ve Google Scholar olmak üzere uluslararası veri tabanları kullanılarak yürütüldü, Türkçe ve İngilizce kaynaklar değerlendirildi. Literatür, konuya ilişkin mevcut bilgi birikimini ortaya koymak ve adli biyoloji bağlamında

vücut sıvısı kimliklendirme yöntemlerini değerlendirmek amacıyla incelendi.

Tarama sürecinde, adli biyolojide vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde DNA metilasyon analizi yönteminin kullanımını konu alan çalışmalar; 'DNA methylation' and 'DNA methylation markers', 'body fluid identification', 'forensic epigenetics' or 'forensic biology' ile bunların Türkçe karşılıkları olan 'DNA metilasyon belirteçleri', 'vücut sıvılarının kimliklendirilmesi've 'adli epigenetik' gibi anahtar kelimeler kullanılarak seçildi. Çalışmaların başlık, özet ve tam metinleri incelenerek uygunluk değerlendirmesi yapıldı. Çalışmada öncelikli olarak 2020–2025 yılları arasında yayımlanmış hakemli bilimsel araştırmalar tarandı ve analiz edildi. Belirtilen tarih aralığı dışında kalan yayınlar ise, konunun kuramsal altyapısını desteklemek ve kavramsal çerçeveyi açıklamak amacıyla anlatımsal bölümlerde kaynak olarak kullanıldı. Dışlama kriterleri doğrultusunda; yayımlanmamış tezler, konferans bildirileri, özet metinler ve tam metnine erişilemeyen çalışmalar analiz dışı bırakıldı.

İlk tarama sonucunda toplam 110 çalışma belirlendi. Başlık, özet ve tam metin incelemesi sonucunda dışlama kriterlerine uyan ve duplike olan çalışmalar analiz dışı bırakıldı ve nihai olarak 57 çalışma derlemeye dahil edildi. Dahil edilen çalışmalar ile DNA metilasyon analiziyle vücut sıvısı kimliklendirme yöntemleri üzerine derleme bilgi sunuldu. Çalışma, sistematik derlemelere özgü bias değerlendirmesi, bağımsız değerlendirici analizi veya PRISMA akış şeması içermemektedir.

## Vücut Sıvılarının Kimliklendirilmesi

Adli biyolojinin en kritik adımlarından biri, olay yerinde tespit edilen biyolojik materyalin kökeninin doğru tanımlanmasıdır. Vücut sıvılarının kaynağının belirlenmesi hem bireyin olayla ilişkisini değerlendirmede hem de delillerin bağlamını çözümlemede temel rol oynar. Adli olgularda en çok karşılaşılan periferik kan, menstrual kan, meni, tükürük ve vajinal sekresyon sıvıları, adli olgunun aydınlatılması sürecinde özel öneme sahiptir. Geleneksel test yöntemleri sınırlı özgüllüğe sahipken, günümüzde epigenetik alanındaki ilerlemeler sayesinde özellikle DNAm temelli analizler, biyolojik sıvıların kaynağını daha yüksek doğrulukla belirleyebilmektedir (10). Bu bağlamda, adli kimliklendirmede DNAm profilinin analizi, söz konusu beş vücut sıvısının kökeninin tespit edilmesinde potansiyel bir araç olarak öne çıkmaktadır.

Suç olaylarının aydınlatılmasında laboratuvarda geleneksel olarak kullanılan yöntemler, klasik yöntemler olarak ifade edilir:

## Klasik Yöntemler

Vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde kullanılan klasik yöntemler, adli biyoloji alanında temel referans araçlar olarak bilinir. Bu yöntemler, ön tarama testleri ve doğrulama testleri olmak üzere iki ana grup altında toplanır: ön tarama testleri, olay yeri incelemesinde sıvıların varlığını hızlı ve pratik şekilde tespit ederek analize yön verirken; doğrulama testleri, laboratuvar ortamında daha yüksek özgüllükte çalışarak sıvının kaynağını kesin bir şekilde belirlemeyi hedefler (6,11). Farklı vücut sıvılarına özgü klasik yöntemlerin çalışma prensipleri, özgüllük sorunları ve doğrulayıcı testleri Tablo 1'de karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Klasik yöntemler hızlı, ucuz ve pratik olmaları nedeniyle vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde yaygın olarak tercih edilse de; farklı vücut sıvıları arasındaki biyokimyasal benzerlikler, dış etkenlere bağlı bozulmalar ve sınırlı özgüllük gibi faktörlerden dolayı bu testler çoğu zaman kesin tanı için yetersiz kalmaktadır. Bu durum, özellikle birden fazla kaynağın bulunduğu karışım örneklerde ciddi belirsizliklere yol açabilmektedir. Son yıllarda, epigenetik düzeyde daha hassas ve özgül analiz yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalarda dikkate değer bir artış gözlemlenmektedir. Bu bağlamda, vücut sıvılarına

özgü belirteçler sunarak biyolojik sıvının kimliğini ortaya koyabilecek; düşük miktarda ya da bozunmuş örneklerde dahi işe yarayabilecek nitelikte olan DNAm dayalı analiz yöntemlerine olan ihtiyaç önemli derecede artmaktadır.

**Tablo 1.** Adli biyolojide kullanılan klasik vücut sıvısı kimliklendirme yöntemlerinin karşılaştırılması.

| Vücut Sıvısı | Test Tipi ve Prensibi | Özgüllük Sorunları | Doğrulama Testleri | Avantajlar & Dezavantajlar |
|---|---|---|---|---|
| Periferik Kan | Ön Tarama: Kastle-Meyer, Benzidin (Hemoglobinin peroksidaz benzeri aktivitesi). Kemilüminesans: Luminol. | Hızlı sonuç verir, ancak bazı bitkiler veya kimyasallar nedeniyle yanlış pozitif riski taşır (12,13). | Takayama ve Teichmann (Hemoglobinin kristal yapısını hedefler) (11). | Avantaj: Hızlı ve olay yerinde pratik uygulama. Dezavantaj: Yanlış pozitif riski ve kesin tanı için yetersizlik (7). |
| Menstrual Kan | Fibrin bozunma ürünü olan<br>D-dimer seviyesinin immünolojik yöntemlerle tayini (5,13). | Hemoglobin testleri pozitif çıksa dahi periferik kandan ayrılması zordur.<br>D-dimer seviyesi periferik kandan ayrıştırmaya odaklanır. | Klasik doğrulama testi yoktur. | Dezavantaj: Klasik kan testleri ile ayrımı çok zor, özgüllük kısıtlıdır (13). |
| Meni | Ön Tarama: Seminal Asit Fosfataz (SAP) enzim aktivitesine dayanır (11). | Özgüllüğü sınırlıdır çünkü düşük düzeyde olsa bile Vajinal Asit Fosfataz (VAP) ile benzerlik gösterir (11). | Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve Semenogelin immünolojik testleri, Spermatozoanın mikroskobik identifikasyonu (13,14). | Dezavantaj: Azospermi (doğuştan veya vazektomi sonrası) vakalarında mikroskobik tayin mümkün olmaz (6,13). |
| Tükürük | Amilaz (AMY1) aktivitesini saptamaya yönelik kimyasal veya immünolojik testler. | Amilazın (AMY2) meni, vajinal sekresyon ve pankreatik salgılarda da bulunması, yanlış pozitif/negatif ihtimalini artırır (11). | Klasik doğrulama testi yoktur. | Dezavantaj: Sınırlı özgüllük, karışım örneklerde ciddi belirsizlik (11). |
| Vajinal Sekresyon | Epitel hücre morfolojisi ve bakteriyel flora değerlendirmesi. Östrojen reseptörleri, vajinal peptidaz enzimi ve PAS (Periodic Acid Schiff) reaktifi saptaması (5,11). | Değişken özgüllük, genellikle morfolojik veya flora temellidir. | Klasik doğrulama testi yoktur. | Avantaj: Morfoloji ve flora gözlemlenerek ön değerlendirme yapılabilir.<br>Dezavantaj: Menstrual döngü ve hormonal duruma göre tayin zorlaşmaktadır. |

## Vücut Sıvılarının Adli Kimliklendirmedeki Rolü

Adli delillerin değerlendirilmesinde biyolojik materyalin yalnızca kime ait olduğu değil, aynı zamanda hangi vücut sıvısından kaynaklandığı da kritik öneme sahiptir. Olay yerinde bulunan bir vücut sıvısının türü; olayın niteliği, zamanlaması ve faile dair ipuçları açısından belirleyici olabilir. Adli olaylarda sık karşılaşılan periferik kan, menstrual kan, meni, tükürük ve vajinal sekresyon sıvıları hem fiziksel hem moleküler özellikleri bakımından farklılık gösterir. Ancak bazı olaylarda bu sıvılar karışım halinde bulunabildiğinden makroskobik olarak birbirinden ayırt etmek oldukça güç olabilir. Özellikle cinsel saldırı vakaları, şiddet suçları ve olay yerinde birden fazla bireyin biyolojik materyalinin bulunduğu durumlarda sıvı türünün belirlenmesi kimliklendirmenin yanı sıra, olayın yeniden

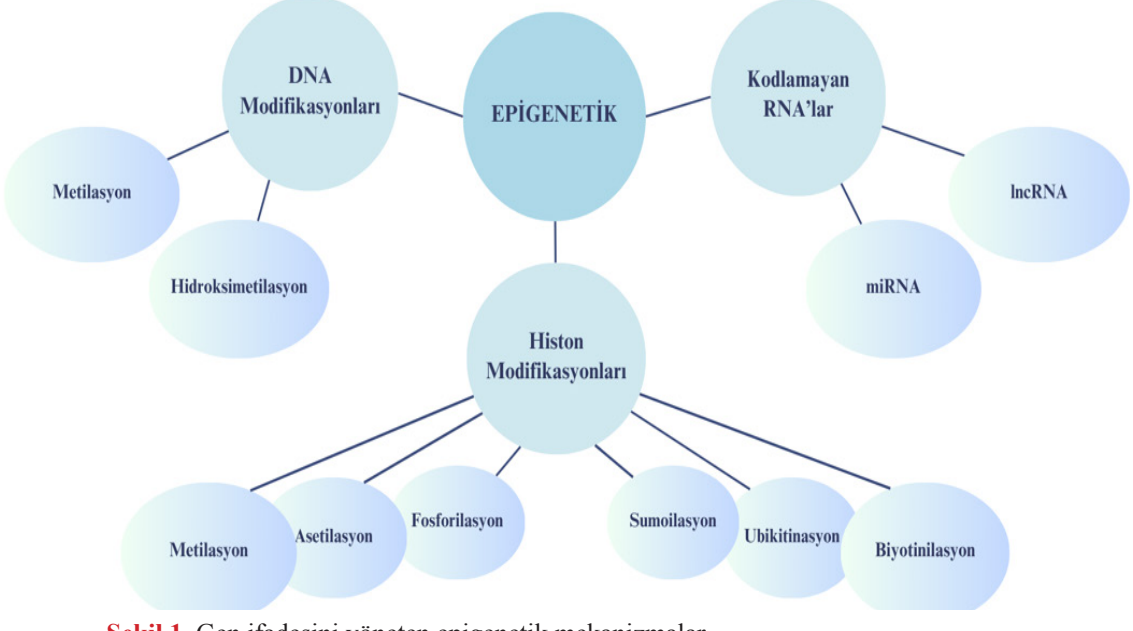
kurgulanması açısından da kilit bir aşama olarak kabul edilmektedir (15).

## Epigenetik

Epigenetik; beslenme alışkanlıkları, fiziksel aktivite, stres seviyesi, alkol, sigara ve yasa dışı maddelerin kullanımı gibi çevresel faktörlerin etkisiyle, genomik materyal olan DNA dizisinde herhangi bir değişiklik meydana gelmeden, gen ifadesinin 'kalıtılabilir' biçimde düzenlenmesini sağlayan moleküler mekanizmalar bütünüdür (8,10). Bu mekanizmalar, yer ve zaman parametrelerine bağlı olarak genlerin susturulmasını veya aktif hale getirilmesini sağlar ve gen ifadesinin kontrol edilmesini mümkün kılar (15).

Epigenetik düzenlemeler, Şekil 1'de görüldüğü gibi DNA metilasyonu ve hidroksimetilasyonu, histon proteinlerinin post-translasyonel modifikasyonları ve gen kodlamayan RNA moleküllerinin düzenleyici rolleri olmak üzere üç ana mekanizma ile sınıflandırılmaktadır. Bu mekanizmalar, genom dizisinde herhangi bir değişiklik meydana getirmeksizin gen ekspresyonunun kontrolünü sağlar.

Epigenetik düzenleme yolları arasında DNA metilasyonu, en kapsamlı biçimde araştırılan mekanizmadır (9). İkinci önemli mekanizma olan histon modifikasyonları, DNA'nın etrafını sardığı histon proteinlerinin N-terminal kuyruklarında meydana gelen asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ubikitinasyon gibi kimyasal değişiklikleri kapsar (16). Bu post-translasyonel modifikasyonlar, histon kuyruklarına eklenen kimyasal gruplar aracılığıyla kromatin yapısının yoğunluğunu doğrudan etkileyerek genlerin transkripsiyonel olarak aktif ya da pasif durumda olmasını belirler (17). Histon asetilasyonu genellikle transkripsiyonel aktivasyonla, histon metilasyonu ise hem aktivasyon hem de baskılanmayla ilişkilendirilmektedir (18,19). Bunların yanı sıra, mikro RNA (miRNA) ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA) gibi gen kodlamayan RNA molekülleri ise, mRNA degradasyonu ya da translasyonel baskılama yoluyla protein sentezinin dolaylı olarak düzenlenmesinde görev alır (8). Sonuç olarak, bu üç temel epigenetik mekanizma birbirleriyle etkileşimli bir biçimde çalışarak hücresel kimliğin korunmasını ve dokuya/sıvıya özgü gen ekspresyon motiflerinin oluşumunu sağlamaktadır.




**Şekil 1.** Gen ifadesini yöneten epigenetik mekanizmalar
[Kaynak (8) temel alınarak yazarlar tarafından yeniden çizildi].

Epigenetik, organizmanın yaşamı boyunca sabit kalan X kromozomunun inaktivasyonu, tekrar dizilerinin susturulması ve genomik imprintlenme gibi *kararlı* epigenetik işaretlerin yanı sıra; beslenme alışkanlıkları, stres seviyesi, toksin maruziyeti ve yaşam tarzı gibi çevresel uyaranlar nedeniyle gen ifadesinde geri dönüşümlü değişikliklere yol açabilen *dinamik* epigenetik işaretleri de kapsamaktadır (16,20). Bununla birlikte, ebeveynin maruz kaldığı bir durum neticesinde, hücresel ve transkripsiyonel hafıza gibi jenerasyonlar arası hafıza mekanizmaları aracılığıyla, atanın yaşadığı bu maruziyetin yavruda da epigenetik düzenlemeler şeklinde karşılık bulabildiği bilinmektedir (21).

Epigenetik mekanizmaların bireysel farklılıkları yansıtabilmesi ve çevresel etkilere duyarlı olması; bireyin kronolojik yaşının, yaşam tarzının veya vücut sıvısının kaynağının belirlenmesi gibi çeşitli adli soruların yanıtlanmasını mümkün kılmaktadır (10). Adli olguların aydınlatılmasında klasik DNA analizlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, biyolojik örneklerden daha ayrıntılı ve bağlamsal bilgiler elde edilmesini sağlayan adli epigenetik, bilimsel yöntemler ışığında suç olaylarının aydınlatılmasına katkıda bulunan ve hızla gelişmeye devam eden bir alt disiplin olarak öne çıkmaktadır. Son yıllarda yaş tahmininden atasal soy belirlemeye, monozigotik ikizlerin ayrımından doku ve vücut sıvısı kimliklendirmeye kadar pek çok alanda gerçekleştirilen çalışmalar, epigenetik analizlerin adli bağlamda kullanılabilirliğini destekleyen önemli bulgulardır (15).

Genetik yapının sabitliğine karşın; epigenetik modifikasyonların zamana ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermesi, suçun işlenmesinde bireyin sorumluluğu ile çevresel etkiler arasındaki sınırın sorgulanmasına neden olmaktadır. Bu bağlamda, epigenetik analizlerin hangi durumlarda, kimler tarafından ve hangi amaçlarla kullanılabileceği, elde edilen verilerin nasıl yorumlanacağı gibi sorular; ceza hukuku, delil değerlendirmesi ve yargılama süreçleri açısından da son derece önemlidir.

## DNA Metilasyonu

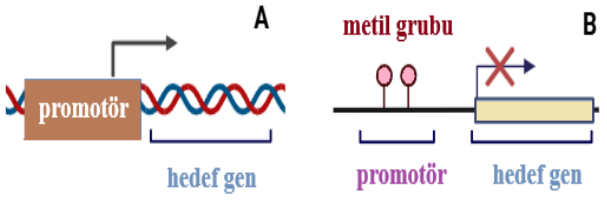
Epigenetik düzenlemelerin en iyi karakterize edilmiş ve en yaygın incelenen mekanizmalarından biri olan DNA metilasyonu, genellikle sitozin (C) bazının 5. karbon atomuna bir metil grubunun (-CH3) DNA metiltransferaz enzimi ile (DNMT) kovalent olarak bağlanmasıyla meydana gelir (22). Bağlanma sonucunda oluşan 5-metilsitozin (5-methylcytosine, 5mC) yapısı, çoğunlukla sitozin-fosfat-guanin (Cytosine-phosphate-Guanine, CpG) dinükleotid bölgelerinde yoğunlaşır (23). Bu biyokimyasal mekanizma, gen dizisinde herhangi bir değişikliğe yol açmaksızın genlerin aktif ya da sessiz hale gelmesini sağlayarak hücresel farklılaşma, genomik stabilitenin korunması, imprintlenme ve X kromozomu inaktivasyonu (Barr-body) gibi birçok biyolojik sürecin temel düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır (24).

Şekil 2'de DNA ipliği üzerindeki gen bölgelerinin ön kısmında yer alan ve transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını kolaylaştırarak gen ifadesini başlatan promotör bölgesi ile metilasyonun hedef genin transkripsiyonunu durdurduğu, böylece translasyonu engelleyerek gen ifadesini baskıladığı görülmektedir.

Gen ifadesinin metilasyon tarafından düzenlenmesi, tüm hücre türlerine dönüşebilme potansiyeli taşıyan pluripotent zigot hücresinden farklı dokuların ve organların oluşumuna neden olmaktadır (25-27). Embriyonun erken gelişim sürecinde, kromatin ipliklerin yeniden şekillenerek yoğun kromozom yapısından transkripsiyonel duruma geçişi, DNA ve histon modifikasyonlarının doğru şekilde gerçekleşmesi açısından önem taşımaktadır (28).

DNA'nın CpG dinükleotidleri; genellikle gen promotör bölgelerine yakın yerlerde, CpG adaları olarak adlandırılan

yoğunlaşmış kümeler halinde yer alır. CpG adalarında meydana gelen metilasyon, transkripsiyon faktörlerinin hedef genin promotör bölgesine bağlanmasını engeller ve genin susturulmasına (gene silencing) yol açar (20).

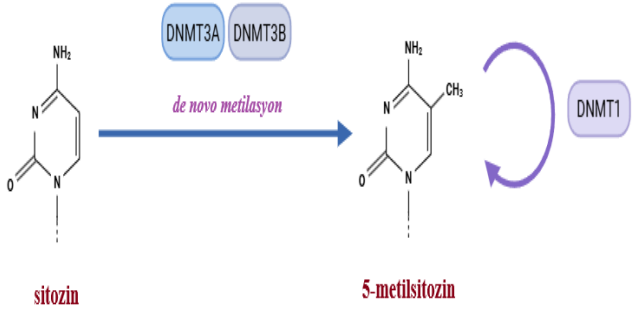



**Şekil 2.** Hedef genin aktif transkripsiyonu (A), ve metilasyon sonucu hedef genin ekspresyonunun engellenmesi (B)
[Kaynak (15) verileri temel alınarak yazarlar tarafından yeniden çizildi].

Genom çapında yapılan epigenetik haritalama çalışmalarında genetik materyal olan DNA ipliği üzerindeki metilasyon desenlerinin belirli bölgelerde tekrar ettiği gözlenmiştir. Epigenetik saat olarak tanımlanan bu bölgeler, belirteç olarak kronolojik ve biyolojik yaş tahmininde kullanılmaktadır (22,29).

DNA metilasyonu, başta DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri olmak üzere çeşitli moleküler bileşenlerin etkileşimiyle gerçekleşen bir epigenetik modifikasyondur (17). İnsan genomunda toplam beş metiltransferaz enzimi kodlanmaktadır: DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ve DNMT3L (30).

Şekil 3'te görüldüğü gibi, DNMT3A ve DNMT3B enzimleri *de novo* metilasyondan sorumludur. Bu enzimler, sitozin bazına metil grubu ekleyerek 5mC yapısını oluşturur ve böylece yeni DNAm motiflerinin meydana gelmesini sağlar (31). *De novo* metilasyon, özellikle embriyonik gelişim sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Temel olarak erken gelişim döneminde sentezlenen DNMT3L ise, katalitik aktiviteye sahip olmamakla birlikte, DNMT3A ve DNMT3B'nin etkinliğini artırarak metiltransferaz aktivitenin düzenlenmesine katkıda bulunur. Diğer yandan DNMT1 enzimi, hücre döngüsünün S fazında gerçekleşen DNA replikasyonu sırasında, mevcut metilasyon desenini koruyarak bu desenin yeni sentezlenen DNA ipliğine aktarılmasını sağlar (32). TRDMT1 (tRNA aspartic acid methyltransferase 1) olarak da bilinen DNMT2 enzimi ise, özellikle aspartik asit transfer RNA'sında yer alan belirli nükleotidlerin metilasyonunu gerçekleştirerek tRNA'nın yapısal bütünlüğünü korur. Ayrıca RNA virüsleri olmak üzere çeşitli patojenlere karşı geliştirilen immün yanıtın düzenlenmesinde de kritik rol oynar (33).




**Şekil 3.** DNA metilasyon mekanizması. Sitozin bazına metil grubunun eklenmesi
[(15,17) kaynaklarından yararlanılarak şekil yeniden tasarlandı].

Farklı metillenmiş bölgeler (Differentially Methylated Regions, DMRs), birden fazla CpG adasındaki DNAm profillerinin incelendiği, belirli genlerin zaman ve hücre tipine bağlı olarak aktif ya da pasif hale gelmesini sağlayan hipermetilasyon ve hipometilasyon motiflerinin gözlemlendiği, biyolojik durumlara ve çevresel faktörlere göre değişiklik gösteren DNA bölgeleridir (34). Hipermetilasyon, metilasyon kazanımı ile gen ifadesini baskılarken; hipometilasyon, metilasyon kaybıyla genlerin aşırı ifade edilmesine yol açar ve normalden fazla protein üretimine neden olur. Bu iki mekanizmanın analiz edilmesiyle, DMR bölgelerindeki metilasyon desenlerinin farklılıkları incelenerek bireyin biyolojik yaşı ve diğer özellikleri hakkında tahminler yapılabilmektedir (35).

Son yıllarda DNAm ile SNP bölgeleri arasındaki ilişkinin aydınlatılmasına yönelik araştırmalar kayda

değer bir ivme kazanmıştır. SNP'ler, insan genomunda en sık gözlenen genetik varyasyon türü olup hem protein kodlayan bölgelerde (ekzonlar) hem de kodlamayan düzenleyici elementlerde (promotör, intron, enhanser gibi bölgeler) bulunabilmektedir (36). Özellikle gen promotör bölgelerinde yer alan kodlayıcı SNP'lerin (coding SNPs, cSNPs), transkripsiyon faktörlerinin (TF) bağlanma bölgeleriyle çakışarak hem transkripsiyonel aktiviteyi hem de lokal DNAm desenlerini etkileyebildiği gösterilmiştir (37). Bu bulgular, belirli SNP alt kümelerinin polimorfik etkilerinin yanı sıra, epigenetik mekanizmalar aracılığıyla gen ifadesini düzenleyebildiğini de ortaya koymaktadır.

Promotör bölgelerinde yer alan bazı SNP'ler, CpG dinükleotidlerinin varlığı ve yokluğu üzerinde doğrudan etkili olarak bu bölgelerin metilasyon potansiyelini değiştirebildiğinden dolayı, CpG'ye bağlı SNP belirteçleri (CpG-linked SNP markers) olarak adlandırılmaktadır (38). Bu tür varyantların analizi yalnızca genetik profilin değil, aynı zamanda epigenetik imzanın da değerlendirilmesini mümkün kıldığından, özellikle adli biyoloji bağlamında karışım örneklerin çözümlenmesinde ve doku/vücut sıvısının özgül tanımlanmasında güçlü bir analitik araç olarak öne çıkmaktadır.

DNA metilasyonunun moleküler düzeydeki mekanizmaları, gen ekspresyonunun düzenlenmesinden hücresel farklılaşma ve genomik stabilitenin korunmasına kadar geniş bir biyolojik işlev yelpazesi üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Bu epigenetik işaretler, yalnızca normal fizyolojik süreçlerin ve hastalık mekanizmalarının anlaşılması açısından değil, aynı zamanda bireye özgü çevresel maruziyetler, yaşlanma süreci ve yaşam tarzı gibi faktörlerin izlenmesi açısından da önemli bilgiler sunmaktadır. Bu nedenle DNA metilasyon profili verileri, adli biyoloji disiplininde doku/vücut sıvısı örneğinin kökeninin belirlenmesi ve yaş tahmini gibi kritik konularda tamamlayıcı ve destekleyici bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu bağlamda, DNAm analizleri klasik genetik incelemelerin ötesine geçerek adli soruşturmalarda çok boyutlu bilgi sağlayan yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır.

## DNA Metilasyon Belirteçleri

Vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde klasik yöntemlerin sınırlılıkları, moleküler düzeyde daha özgül ve güvenilir belirteçlerin araştırılmasına zemin hazırlamıştır. Bu bağlamda, DNAm profili son yıllarda adli biyolojide ön plana çıkan, oldukça hassas ve sıvıya özgü analiz olanağı sunan bir araç olarak dikkat çekmektedir. Epigenetik düzenlemelerden biri olan DNAm, farklı hücre ve doku tiplerinde belirli örüntüler sergilediğinden, aynı bireye ait biyolojik örnekler arasında dahi ayırt edici sinyaller taşıyabilmektedir (15). Bu özellik sayesinde; beş temel vücut sıvısının yalnızca DNA analiz yoluyla ayırt edilmesi mümkün hale gelmiştir. Ayrıca, DNAm analizleri, çevresel faktörlere maruz kalarak bozulmuş olan biyolojik örneklerde de yüksek doğrulukla sonuç verebildiğinden, adli olguların aydınlatılmasında önemli bir potansiyel taşımaktadır.

Li ve arkadaşları tarafından adli olaylarda hem biyolojik örneğin kaynağını hem de örneğin ait olduğu bireyi aynı anda belirleyebilen entegre bir sistem geliştirildi (39). Araştırmada 83 örnek için vücut sıvılarına özgü beş CpG metilasyon belirteci (periferik kan için PB-1/cg04011671, menstrual kan için MB-2/cg18069290, meni için SE-1/cg05261336, tükürük için SA-2/cg09107912, vajinal sekresyon için VG-1/cg15988970) ile iki kontrol bölgesinden oluşan 7-plex CpG amplifikasyon sistemini 20-plex STR analiz sistemiyle birleştirerek kapiller elektroforez temelli eş zamanlı bir tespit yöntemi oluşturuldu. Geliştirilen bu sistem beş temel vücut sıvısını hem tekil hem de karışık örneklerde başarıyla ayırt edildi. Aynı zamanda biyolojik sıvının kökeninin belirlenmesi ile bireyin tanımlanmasında da yüksek doğrulukla sonuç elde edildi. Bu yöntemle yalnızca 0.1 ng DNA içeren örneklerde dahi meni ve vajinal sekresyon tespit edilebildi. Araştırmacılar ayrıca oda sıcaklığında beş ay boyunca

bekletilen örneklerde de başarılı sonuçlar tespit ettiklerini bildirdiler. Bu özgün yaklaşım, tek bir analizde biyolojik sıvının tayini ile birlikte bireysel kimliklendirmeye katkı sağlamaktadır.

Konrad ve arkadaşları tarafından toplam 415 örnek üzerinden CpG belirteçlerinin metilasyon kalıpları kullanılarak bu sıvıların ayrıştırılması hedeflendi (40). Periferik kan, nazal mukoza/kan, menstrual kan, meni, tükürük ve vajinal sekresyon için seçilen CpG belirteçleri (NB-21, B-7, MB-4, SA-4, V-2, N-SE-27), bu biyolojik sıvıları ayırt etmede yüksek doğrulukla sonuç verdi. Bu çalışma DNAm analizinin, adli olaylarda vücut sıvılarının tanımlanması için pratik ve güvenilir bir yöntem olduğunu bildirdiler.

Başka bir çalışmada Silva ve arkadaşları tarafından madde bağımlılığı ve çeşitli hastalıklar gibi klinik fenotiplere sahip bireylerde, doku ve vücut sıvılarının tanımlanmasında kullanılan belirli CpG bölgelerindeki metilasyon desenlerinin, bu hastalıklar veya bağımlılık durumları nedeniyle etkilenip etkilenmediği araştırıldı (41). Gelecek çalışmalar için farklı tıbbi durumları olan bireylerde daha fazla CpG bölgesinin incelenmesi ve bu metilasyon belirteçleri üzerindeki potansiyel etkilerin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Yuen ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada DNAm ile yaş ve vücut sıvıları arasındaki ilişkiyi nanopore adaptif örnekleme yöntemini kullanarak belirlemeyi amaçladılar (42). 32 CpG bölgesinin çoğunda pozitif korelasyon tespit edildi. Nanopore adaptif örnekleme yöntemiyle, spesifik metilasyon belirteçlerini tanımlamada yüksek doğruluk tespit edildi. Elde edilen sonuçlar, bu yenilikçi yaklaşımın özel DNA hazırlığı ya da ek biyokimyasal işlemler gerektirmeksizin, tek bir örnek üzerinden birden fazla metilasyon belirtecinin profillenmesine olanak tanıdığını gösterdi. Çalışma, nanopore teknolojisinin adli epigenetik alanındaki potansiyelini vurgulamakta ve gelecekteki araştırmalar için yeni metilasyon belirteçlerinin keşfedilmesi açısından önemli fırsatlar sunmaktadır.

Kim ve arkadaşları tarafından vücut sıvılarına özgü DNAm belirteçlerinin tanımlanması amacıyla SNaPshot ve MPS (Massively Parallel Sequencing) yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışma gerçekleştirildi (43). Elde edilen veriler; MPS yönteminin vajinal sekresyon, SNaPshot yönteminin ise menstrual kan kimliklendirilmesinde daha iyi çalıştığı bildirildi. Bu çalışma, vücut sıvılarının tanımlanmasında her iki metodun da avantajlarını ve sınırlamalarını ortaya koymakta, hangi yöntemlerin hangi durumlarda daha etkili olduğuna dair bilgiler sunmaktadır.

Son yıllarda yürütülen çalışmalar, DNAm belirteçlerinin vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde yüksek doğruluk oranıyla kullanılabildiğini ve klasik yöntemlerle elde edilemeyen bilgilerin epigenetik düzeyde elde edilmesinin mümkün hale geldiğini ortaya koymuştur. Özellikle düşük miktardaki ya da bozulmuş örneklerde dahi ayırt edici metilasyon profillerinin tespit edilebilmesi, adli biyoloji açısından bu yöntemin önemini vurgular niteliktedir. Giderek artan belirteç sayısı, gelişen analiz teknikleri ve çoklu (multiplex) panel uygulamaları sayesinde, DNA metilasyonu yalnızca vücut sıvılarının tanımlanmasında değil, aynı zamanda olay yeri biyolojisinin karmaşık örüntülerinin çözümlenmesinde de önemli bir moleküler araç haline gelmektedir. Bu doğrultuda, DNA metilasyonuna dayalı analizlerin sahada rutin kullanıma girmesi, adli süreçlerde daha net ve bilimsel temellere dayalı yorumların yapılmasına olanak sağlayacaktır.

## Adli Epigenetik Profillemede Kullanılan Metotlar

Gelişen moleküler biyoloji teknikleri, hedef DNA bölgelerinin diziye dayalı analizinden, metillenmiş bazlara özgü primerlerle gerçekleştirilen kantitatif değerlendirmelere kadar geniş bir yelpazede analiz imkanı

sunmaktadır. Bu bölümde, adli örneklerde yaygın olarak kullanılan başlıca DNA metilasyon analiz yöntemleri ile bu yöntemlerin temel çalışma prensipleri kısaca ifade edilmiştir.

### Metilasyona Duyarlı Restriksiyon Enzimleri (MSREs)

Metilasyona duyarlı restriksiyon enzimleri (Methylation Sensitive Restriction Enzymes, MSREs), DNA üzerindeki metillenmemiş CpG bölgelerini tanıyarak bu spesifik bölgelerde hassas bir şekilde kesim yapabilme özelliğine sahiptir (44). Bu sayede, öncesinde bisülfit dönüşümüne gerek kalmaksızın DNA metilasyon profili elde edilebilmekte, bu da adli biyoloji uygulamaları açısından hızlı ve etkili bir analiz yöntemi sunmaktadır (15). MSRE sisteminin PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile birlikte kullanımı, özellikle adli örneklerde sıklıkla karşılaşılan sınırlı miktarda ya da bozunmuş durumdaki DNA materyalinin etkin bir şekilde analiz edilmesini mümkün kılmakta ve DNA kaybı riskini en aza indirmektedir (45). Adli uygulamalarda farklı vücut sıvılarına özgü metilasyon desenlerinin bu yöntemle belirlenmesi mümkündür. Özellikle sınırlı sayıdaki hedef bölgenin analiz edildiği durumlarda MSRE ile fragman analizi pratik ve düşük maliyetli bir seçenek sunmaktadır.

### Metilasyona Duyarlı Tek Nükleotid Primer Uzantısı (Ms-SNuPE)

Bu teknik, DNA'nın sodyum bisülfit ile muamele edilerek metillenmemiş sitozinlerin urasile dönüştürülmesinin ardından, belirli nükleotid pozisyonlarına özgü primerlerin kullanıldığı tek nükleotid uzatma reaksiyonuna dayanır (46). Uzatılacak olan nükleotid, ilgili pozisyondaki metilasyon durumunu doğrudan yansıttığı için yöntem yüksek düzeyde özgüllük sunar. Ms-SnuPe tekniği, belirli CpG bölgelerindeki metilasyon durumunu tek baz çözünürlüğünde değerlendirebilmekte; bu yönüyle yaş tahmini ve doku/vücut sıvısı kimliklendirme gibi adli biyoloji uygulamalarında kullanılabilmektedir. Ayrıca, yalnızca metilasyonun varlığını/yokluğunu değil, aynı zamanda oranını da tespit edebilmesi sayesinde, sınırlı miktarda DNA içeren örneklerde yapılan hassas karşılaştırmalarda önemli bir avantaj sunmaktadır (47).

### Bisülfit Sanger Dizileme

Bisülfit genom dizilemesi, tek baz çifti çözünürlüğünde 5mC'yi tanımlamak için hem nitel hem nicel olarak etkili bir yaklaşım sağladığından DNAm tespitinde altın standart teknoloji olarak kabul edilir. Bu yöntem ilk kez Frommer ve arkadaşları tarafından tanıtılmıştır ve sitozin ile 5mC aminasyon reaksiyonlarının sodyum bisülfit işleminden sonra farklı ilerlediği bulgusuna dayanmaktadır (48). Bu reaksiyonda, tek zincirli DNA'daki sitozinler urasil kalıntılarına dönüşerek sonraki PZR amplifikasyonu ve dizilemesinde timin olarak tanınır. Ancak 5mC'ler bu dönüşüme karşı bağışıktır ve sitozin olarak korunduklarından 5mC'lerin metillenmemiş sitozinlerden ayırt edilmesi sağlanır. Bisülfit işleminden sonra spesifik metilasyon primerleri kullanılarak ilgi lokuslarındaki metilasyon durumunun belirlenmesi için ek bir PZR işlemi gerekebilir (49). Ancak bisülfit Sanger dizileme; yoğun laboratuvar çalışması, zaman gereksinimi ve nispeten düşük verimliliği nedeniyle genellikle hedefli bölge analizleri için tercih edilmektedir. Yüksek maliyet ve iş gücü sebebiyle geniş kapsamlı genomik metilasyon analizlerinde daha yüksek kapasiteli yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılmaktadır. Yine de küçük ölçekli çalışmalarda, spesifik metilasyon bölgelerinin validasyonu veya yüksek hassasiyet gerektiren uygulamalarda bisülfit Sanger dizileme yöntemi hala önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Sonuç olarak, bisülfit genom dizilemesi hem araştırma hem de klinik uygulamalarda DNA metilasyonunun güvenilir ve detaylı bir şekilde incelenmesine olanak tanıyan vazgeçilmez bir tekniktir.

Son yıllarda, bisülfit temelli analizi prensip edinen çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Metilasyon Spesifik

PCR(MSP), Kombine Bisülfit Kısıtlama Analizi (COBRA) ve Metilasyona Duyarlı Tek Nükleotid Primer Uzantısı (Ms-SNuPE) gibi teknikler, farklı uygulamalara hizmet eden güçlü araçlar haline gelmiştir. Metillenmiş sitozini kendi kesme tanıma bölgelerinde özel olarak tanıyabilen kısıtlama enzimlerinin duyarlılığına dayalı diğer DNA metilasyon yaklaşımlarıyla karşılaştırıldığında, bisülfit bazlı DNA metilasyon analizi çok daha yüksek tespit hassasiyeti, niceliksel doğruluk ve geniş örnekleme kapasitesi sunar. Özellikle tükürük, meni ve vajinal sekresyon gibi vücut sıvılarına özgü metilasyon profilleri sayesinde adli biyolojide sıvı kaynağının belirlenmesi gibi uygulamalar da mümkün hale gelmiştir.

### Bisülfit Pirosekanslama

Bisülfit pirosekanslama; yüksek doğruluk, duyarlılık ve hassas kantitatif ölçüm kapasitesi sayesinde adli epigenetik analizlerde en çok tercih edilen yöntemlerden biridir. Bu teknikte bisülfitleme işleminin ardından hedef DNA bölgelerine özgü primerlerle PZR gerçekleştirilir ve nükleotidlerin sentezi sırasında açığa çıkan inorganik pirofosfat miktarı, gerçek zamanlı senteze dayalı ışık sinyalleri aracılığıyla ölçülerek metilasyon düzeyleri nicel olarak belirlenir (15). Aynı anda birden fazla CpG bölgesinin metilasyon oranının hassas biçimde saptanabilmesi, kan, meni ve tükürük gibi vücut sıvılarına özgü metilasyon desenlerinin ayrıştırılmasında etkili sonuçlar verir. Ayrıca, 50-100 baz çifti uzunluğundaki kısa genomik bölgelerde çok sayıda CpG lokusunu analiz edebilme kapasitesi sayesinde, sınırlı miktarda ya da bozunmuş durumdaki eski DNA örneklerinden de güvenilir sonuçlar elde edilebilir. Yöntemin yüksek verimliliği, kantitatif yapısı ve mevcut laboratuvar altyapısıyla uyumluluğu, adli laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılmasını mümkün kılmaktadır.

### Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS / Massive Parallelle Sequencing, MPS)

Yeni Nesil Dizileme, milyonlarca kısa DNA dizisinin eş zamanlı olarak sekanslandığı yüksek kapasiteli bir yöntemdir. NGS teknolojileri, 2000'li yıllardan itibaren genetik araştırmalarda kullanılmaya başlamış, günümüze kadar hız, maliyet ve veri işleme kapasitesi açısından önemli gelişmeler kaydetmiştir. Geleneksel kapiller elektroforez tabanlı yöntemler tek seferde sınırlı sayıda belirteci analiz ederken, NGS ile STR, SNP, mtDNA ve epigenetik belirteçler tek bir iş akışında ve kısa sürede analiz edilebilmektedir (50).

NGS tabanlı metilasyon analizlerinde, genellikle ilk adım DNA'nın sodyum bisülfit ile muamele edilmesidir. Dönüşüme uğramış DNA, dizileme kütüphanelerine hazırlanarak MPS platformlarında sekanslanır. Günümüzde adli analizlerde kullanılan MPS platformlarının iki ana sağlayıcısı bulunur ve bu platformlar farklı dizileme kimyalarını kullanır (51). Illumina sistemi sentezle dizileme (sequencing-by-synthesis) kimyasını temel alırken, Thermo Fisher Scientific sistemi ise yarı iletken tabanlı Ion Torrent dizileme kimyasıyla çalışmaktadır (52).

Adli bilimlerde NGS/MPS teknolojilerinin sunduğu avantajlardan biri karma örneklerin çözümlenmesinde gösterdikleri başarıdır. Düşük miktarda DNA içeren, bozunmuş veya birden fazla biyolojik sıvı içeren örneklerde dahi anlamlı veriler elde etmek mümkündür. Ayrıca metilasyon analizinin yanı sıra, aynı veri üzerinden STR ve SNP gibi diğer genetik belirteçlerin de analiz edilebilmesi, kimliklendirme süreçlerinde çok boyutlu bir yaklaşım sağlamaktadır. NGS teknolojisi, vücut sıvılarının kimliklendirilmesindeki katkılarının yanı sıra, insanda yaş ve DNA metilasyon seviyesi arasındaki korelasyonun incelenmesi ve monozigot ikizlerin birbirinden ayırt edilebilmesi gibi konularda da önemli katkılar sağlamaktadır (50). NGS tabanlı metilasyon

analizleri yüksek maliyet, ileri teknik altyapı ve uzman personel gerektirse de, teknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte bu engellerin aşılması beklenmektedir. Metilasyon profillemesinin bireye özgü biyolojik izlerin tespitindeki potansiyeli ve NGS'nin çoklu belirteç analizindeki üstünlüğü bu yöntemi adli moleküler biyolojide devrimsel bir konuma taşımaktadır.

### Kütle Spektrometrisi (MS)

Kütle spektrometrisi (Mass Spectrometry, MS) temelli metilasyon analizleri, özellikle MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight) teknolojisi ile bisülfit işleminden geçmiş DNA'nın moleküler ağırlık farklılıklarının gözlemlenmesine olanak sağlar (15). Bu teknikle her bir CpG bölgesindeki metillenme durumu, oluşan fragmanların kütle farklılıkları üzerinden tespit edilebilir. MS temelli analizler vücut sıvılarının ayırt edilmesinde yüksek hassasiyet ve özgüllük sunduğu için oldukça değerlidir. Ancak laboratuvar maliyetleri ve cihaz ihtiyacı nedeniyle daha çok araştırma odaklı çalışmalarda tercih edilmektedir.

### Adli Biyolojide DNA Metilasyonu ve Vücut Sıvısı Kimliklendirmenin Hukuki Boyutu

Adli biyoloji alanında DNA metilasyonu; biyolojik örneklerden yaş, boy, vücut kütle indeksi (BMI), doku türü, sigara kullanım düzeyi ve çevresel maruziyet gibi detaylı biyolojik parametrelerin belirlenmesine olanak tanıyarak genetik analizlerin ötesinde bir veri derinliği sağlamaktadır (53). Bu bağlamda, DNAm analizlerinde genellikle bisülfit dönüşümüne dayalı yöntemler temel alınmakta; ardından gelen dizi analizleri ya da PZR tabanlı metotlarla metilasyon profilleri nicel ve bölgeye özgü biçimde değerlendirilerek yorumlanmaktadır. Adli uygulamalarda DNAm analizleri; yaş tahmini, monozigotik ikizlerin ayırt edilmesi, vücut sıvılarının kimliklendirilmesi, atasal soy ve parental orijin belirleme gibi birçok özel alanda önemli katkılar sunmaktadır (15,21).

2014 yılına ait bir dava dosyasında, failin tespitinde vücut sıvısı kimliklendirmesinin belirleyici rolü açık bir biçimde görülmüştür (54). Kurban, aracında çok sayıda ateşli silah yarasıyla ölü bulunmuş, olay yerindeki bulgular şüphelinin olayla temas ettiğini göstermiştir. Şüphelinin ceketinde yapılan ilk analizlerde barut kalıntısı ve kan izleri tespit edilmiş, bu kan örneklerinden elde edilen DNA profili kurbanla eşleşmiştir. Ancak savunma, kan miktarının azlığı nedeniyle doğrudan temasın gerçekleşmediğini, lekenin transfer yoluyla bulaştığını öne sürmüştür. Bunun üzerine gerçekleştirilen RNA tiplemesi, yalnızca kanın varlığını değil, aynı zamanda deri hücresi ve beyin dokusu varlığını da ortaya koymuştur. Bu doku tiplemesi, kurbanın DNA profiliyle tam uyum göstermiş ve failin doğrudan temasla olaya karıştığını güçlü biçimde kanıtlamıştır. Beyin dokusunun belirlenmesi, savunmanın ikincil transfer iddiasını çürütmüş; böylece mahkeme, biyolojik delillerin nitel analizine dayalı olarak failin suçlu olduğuna hükmetmiştir. Bu vaka, moleküler düzeyde vücut sıvısı ve doku tanımlamasının, olayın bağlamını ve fail-mağdur etkileşimini ortaya koyma gücüyle adli yargılamalarda ne denli kritik bir rol oynadığını somut biçimde göstermektedir.

DNA metilasyon analizleri, adli biyolojide vücut sıvısı ve doku türünün belirlenmesine katkı sağlayan ileri moleküler yöntemler arasında yer almakla birlikte, ceza muhakemesi hukuku açısından doğrudan bireysel kimliklendirme sağlayan delillerden farklı bir konumda değerlendirilmektedir. Bu analizler, bireyin genetik kimliğini ortaya koymaktan ziyade olayla ilişkili biyolojik materyalin niteliğini belirlemeye yönelik olduğundan, ceza yargılamasında destekleyici ve tamamlayıcı bilimsel delil niteliği taşımaktadır.

Ceza muhakemesi hukukunda bilimsel bir yöntemin delil olarak kabul edilebilmesi; yöntemin hukuka uygun şekilde elde edilmesi, analitik güvenilirliğinin ve tekrarlanabilirliğinin sağlanması, ayrıca denetlenebilir

olması koşullarına bağlıdır. Bu bağlamda DNA metilasyon analizleri, Türk Ceza Muhakemesi Kanunu kapsamında bilirkişi incelemesi (CMK m. 63) çerçevesinde değerlendirilmekte olup, elde edilen bulguların diğer adli delillerle birlikte yorumlanması gerekmektedir.

DNA metilasyon temelli analizlerin mahkemelerde kullanılabilirliğini belirleyen temel unsurlardan biri standardizasyon gerekliliğidir. Kullanılan CpG bölgelerinin dokuya özgüllüğü, düşük miktar ve bozulmuş DNA örneklerinde yöntemin duyarlılığı, hata oranlarının belirlenmiş olması ve analiz protokollerinin açıkça tanımlanması analitik geçerlilik açısından kritik öneme sahiptir. Ayrıca yöntemin aynı ve farklı laboratuvarlarda benzer sonuçlar üretmesi, yani tekrarlanabilir ve yeniden üretilebilir olması, adli kabul edilebilirlik açısından zorunludur. Bu kapsamda ISO/IEC 17025 gibi kalite standartlarına uyum ve laboratuvarlar arası validasyon çalışmaları büyük önem taşımaktadır.

Uluslararası hukuk ve karşılaştırmalı hukuk perspektifinden bakıldığında, genetik ve epigenetik veriler özel hayatın gizliliği kapsamında değerlendirilmektedir. Avrupa İnsan Hakları Mahkemesi içtihadı ve Avrupa Konseyi düzenlemeleri, bu tür verilerin yalnızca belirli, meşru ve orantılı amaçlarla kullanılmasını öngörmektedir. Türkiye'de ise DNA metilasyon analizlerine özgü açık bir mevzuat bulunmamakla birlikte, bu veriler kişisel ve genetik veri niteliği taşıdığından, Kişisel Verilerin Korunması Kanunu ve ilgili ikincil mevzuat çerçevesinde korunmaktadır.

Bilimsel delillerin mahkemelerde değerlendirilmesinde kullanılan kriterler açısından, DNA metilasyon analizleri özellikle Daubert ve Frye standartları bağlamında tartışılmaktadır. Frye standardı, yöntemin ilgili bilim camiasında genel kabul görmesini esas alırken; Daubert standardı yöntemin test edilebilirliği, hata oranı, hakemli yayınlarda yer alması ve standartlarının bulunması gibi daha kapsamlı kriterler getirmektedir. DNA metilasyon analizleri test edilebilir ve bilimsel literatürde geniş biçimde tartışılmış olmakla birlikte, henüz evrensel olarak kabul edilmiş standart panellerin bulunmaması nedeniyle, bu yöntemlerin mahkemelerde tek başına hükme esas alınmasından ziyade, diğer adli bulgularla birlikte değerlendirilmesi daha uygun görülmektedir.

Bu çerçevede DNA metilasyon analizleri, mevcut bilimsel ve hukuki koşullar altında, ceza muhakemesinde kesin delil niteliği taşımaktan ziyade, olayın aydınlatılmasına katkı sağlayan yardımcı ve tamamlayıcı bilimsel kanıtlar olarak değerlendirilmelidir.

## Türkiye'de Yargıtay Perspektifi

Türk yargı pratiğinde bilimsel ve teknik nitelik taşıyan adli incelemeler, ceza muhakemesinde bilirkişi delili kapsamında değerlendirilmekte olup, Yargıtay'ın yerleşik içtihadında bilirkişi raporlarının tek başına hükme esas alınamayacağı, diğer delillerle birlikte değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Bu yaklaşım, özellikle yeni veya gelişmekte olan bilimsel yöntemler açısından daha da belirgin hale gelmektedir.

DNA analizleri bakımından Yargıtay, klasik STR temelli DNA profillemesini yüksek güvenilirliğe sahip bir yöntem olarak kabul etmekle birlikte, yeni moleküler tekniklerin uygulanmasında yöntemin bilimsel geçerliliği, standardizasyon düzeyi ve bilirkişi raporunun denetlenebilirliği üzerinde durmaktadır. Bu çerçevede DNA metilasyon analizleri, bireysel kimliklendirme sağlamaktan ziyade vücut sıvısı veya doku türünün belirlenmesine yönelik olduğundan, Yargıtay içtihadı doğrultusunda yardımcı ve destekleyici delil niteliğinde değerlendirilmelidir.

Yargıtay kararlarında sıklıkla vurgulanan bir diğer husus, bilirkişi raporlarının açık, gerekçeli ve bilimsel temellere dayalı olması gerekliliğidir. DNA metilasyon

analizlerine dayalı raporların da kullanılan yöntemi, analiz sürecini, sınırlılıkları ve hata olasılıklarını açıkça ortaya koyması, adil yargılanma hakkının bir gereği olarak kabul edilmektedir.

### Avrupa İnsan Hakları Mahkemesi (AİHM) Perspektifi

Avrupa İnsan Hakları Mahkemesi, genetik ve biyometrik verilerin kullanımı konusunda verdiği kararlarda, bu tür verilerin özel hayatın korunması hakkı (AİHS m. 8) kapsamında değerlendirilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymuştur. AİHM içtihadına göre, genetik veya genetik benzeri biyolojik verilerin toplanması, saklanması ve kullanılması ancak kanunla öngörülmüş, meşru bir amaca dayanan ve orantılı müdahaleler kapsamında mümkün olabilir.

Bu yaklaşım, epigenetik veriler açısından da geçerlidir. DNA metilasyon verileri, bireyin genetik kimliğini doğrudan ortaya koymasa bile, biyolojik özellikler hakkında bilgi içermesi nedeniyle hassas kişisel veri niteliği taşımaktadır. AİHM, bilimsel delillerin ceza yargılamasında kullanılmasında, yöntemin güvenilirliği kadar, bireyin temel hak ve özgürlüklerine müdahalenin ölçülülüğünü de değerlendirmektedir.

AİHM içtihadı ayrıca, mahkemelerin bilimsel delilleri eleştirel bir değerlendirmeye tabi tutması gerektiğini vurgular. Bu bağlamda, yeni veya gelişmekte olan bilimsel yöntemlerin, mutlak doğrular olarak değil; sınırlılıklarıyla birlikte, diğer delillerle desteklenerek değerlendirilmesi gerektiği kabul edilmektedir.

### DNA Metilasyon Veritabanları ve Adli Uygulamalardaki Yeri

DNA metilasyon analizlerinden elde edilen verilerin güvenilirliği, kullanılan yöntemin duyarlılığı kadar referans alınan biyolojik verilerin niteliğine de bağlıdır. Bu nedenle, özellikle farklı vücut sıvılarına özgü metilasyon desenlerinin doğru biçimde tanımlanabilmesi için kapsamlı, güncel ve güvenilir DNA metilasyon veritabanlarından yararlanmak büyük önem taşımaktadır.

Adli biyoloji uygulamalarında en sık başvurulan veritabanlarından biri UCSC (University of California Santa Cruz) Genome Browser ile entegre çalışan MethBase veritabanıdır. Bu platform, insan genomundaki CpG bölgelerine ait detaylı metilasyon profilleri sunar (55). Vücut sıvılarına özgü belirteçlerin analizinde sıkça kullanılan MethBase, farklı dokular arasında görülen epigenetik farklılıkların karşılaştırılmasını da mümkün kılmaktadır.

Önemli referans kaynaklardan biri de ENCODE (Encyclopedia of DNA-Elements) Projesi'dir. ENCODE, insan genomunun işlevsel elementleri tanımlamayı amaçlayan kapsamlı bir proje olmakla birlikte, çok sayıda hücre ve doku tipine ait DNA metilasyon verilerini de içermektedir (56). Bu yönüyle, kan, meni, tükürük ve vajinal sekresyon gibi biyolojik sıvıların metilasyon profillerini karşılaştırmalı olarak değerlendirme açısından önemli bir kaynak sunmaktadır.

NGSmethDB, hem hedefe yönelik hem de tüm genom bisülfit dizileme verilerini içeren kapsamlı bir DNA metilasyon veritabanıdır (57). Geniş örnek yelpazesi sayesinde, CpG bölgelerindeki metilasyon düzeylerinin farklı bireyler ve doku türleri arasında karşılaştırılmasına olanak tanır. İçerdiği bisülfit dizileme verileri ile, çeşitli vücut sıvılarına özgü epigenetik belirteçlerin analizine katkı sağlamakta ve biyolojik sıvıların kaynağının doğru şekilde tanımlanmasına destek olmaktadır.

Bu veritabanlarına ek olarak; Ensembl, Human Epigenome Project (HEP), Blueprint Epigenome, NIH Roadmap Epigenomics Consortium, MethPipe ve MethHC gibi pek çok kapsamlı DNA metilasyon veritabanı bulunmaktadır (58). Adli bilimlerde hem deneysel tasarım aşamasında hem de sonuçların biyolojik bağlamda değerlendirilmesinde bu tür veritabanları vazgeçilmez

araçlardır. Bu kaynaklardan elde edilen bilgiler, adli örneklerde kullanılan belirteçlerin klinik ve biyolojik güvenilirliğini artırarak vücut sıvılarının doğru ve güvenilir bir şekilde kimliklendirilmesini mümkün kılmaktadır.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, olay yerinden elde edilen biyolojik sıvıların tanımlanmasında klasik yöntemlerden DNA metilasyon analizlerine kadar uzanan geniş bir perspektifle vücut sıvılarının analizleri değerlendirildi.

Kimyasal ve enzimatik analizlere dayalı geleneksel biyolojik yöntemler kolay erişilebilir ve hızlı olsalar da bu tekniklerin bozunmuş materyallerde ve karışım örneklerde yetersiz kaldığı, yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlar verme potansiyelinin olduğu literatürde kabul görmüştür. Bu durum araştırmacıları daha hassas, özgül ve moleküler düzeyde çözüm sunan yöntemler geliştirmeye teşvik etmiştir. Bu bağlamda DNA metilasyonu, hem dokuya özgü epigenetik işaretlerin varlığı hem de bozunmaya karşı yüksek stabilitesi sayesinde vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde potansiyel bir araç olarak öne çıkmıştır. Çalışmada ele alınan güncel DNAm belirteçleri, her sıvı için farklı CpG bölgelerine ait özgül metilasyon profilleri sayesinde yüksek doğruluk oranıyla başarılı veriler sunmuştur. Geliştirilen yöntemler doğrultusunda hem biyolojik sıvının kaynağı hem de sıvının ait olduğu bireyin kimliklendirilmesi tek bir analiz ile mümkün hale gelmiştir. Bununla birlikte, bir başka epigenetik analiz metodu olan RNA tabanlı yaklaşımlar da özellikle hücre tipine özgü transkriptlerin tespitiyle vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde umut verici sonuçlar sunmaktadır. Ancak, RNA molekülünün düşük stabilitesi, adli olay yerlerindeki eski ya da çevresel etkilere maruz kalmış örneklerde başarı oranını düşürmektedir. DNA metilasyonu ise daha yüksek stabiliteye sahip olduğundan, adli uygulamalarda RNA'ya göre daha pratik ve güvenilir bir çözüm sunmaktadır. DNA ve RNA verilerinin entegrasyonu; sıvı kaynağının, olay zamanının, olayda bulunan kişilerin kimliğinin belirlenmesi gibi konularda çift yönlü bilgi sağlayabileceği için gelecekte hibrit yaklaşımların önem kazanacağı öngörülmektedir.

DNAm profili analizi, son yıllarda olay yerinden elde edilen biyolojik materyallerin incelenmesinde umut verici sonuçlar ortaya koysa da bu yöntemin kişisel mahremiyet üzerindeki etik ve hukuksal yönleri yoğun bir tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Güçlü bir tanımlama aracı olarak DNAm analizinin kullanılması, bireylerin genetik ve epigenetik bilgilerine dair hassas verilerin açığa çıkmasına yol açabileceğinden, bu durum hem bilimsel hem de toplumsal boyutta kişisel verilerin korunması ve özel hayatın gizliliği açısından önemli soruları gündeme getirmektedir. Dolayısıyla, DNAm profili analizinin adli uygulamalarda kullanımı, mahremiyet haklarıyla bilimsel ilerlemeyi dengelemeyi gerektiren hassas bir alan olarak değerlendirilmektedir. Gelecekte mahkeme salonlarında DNAm analizinin davaların çözümüne katkı sağlayabilmesi için, bu alanda daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, DNAm belirteçleri; vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde gösterdiği yüksek doğruluk oranı, çevresel faktörlere karşı dayanıklılığı ve moleküler düzeydeki özgüllüğü sayesinde klasik yöntemlerin ötesine geçerek adli biyolojide yeni bir dönemin kapılarını aralamaktadır. Güncel araştırmalarla desteklenen bu yöntemlerin, gelecekte daha büyük veri setleri, yapay zeka destekli analiz platformları ve standardize edilmiş panellerle birlikte adli sahada yaygın olarak kullanılacağı öngörülmektedir. Bu gelişmeler doğrultusunda, DNA metilasyonunun yalnızca bilimsel araştırmalarda değil, hukuki süreçlerde de daha belirgin ve etkin bir rol üstlenmesi kaçınılmaz görünmektedir.

**Bildirimler**

***Çıkar çatışması***

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

***Finansal destek***

Yazarlar, bu çalışma için herhangi bir finansal destek almadıklarını bildirmişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Mummery D. Every contact leaves a trace. British Journal of General Practice 2021;512. doi: https://doi.org/10.3399/bjgp21X717569

2. Serin A, Canan H, Ulubay A, Alper B. Vücut sıvılarının tanımlanmasında çeşitli doku spesifik mRNA belirteçlerinin etkinliğinin araştırılması. Türkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine 2017;14(2):48–55. doi: https://doi.org/10.5336/forensic.2017-57328

3. Tezcan T, Yıldırım MA, Özkan-Kotiloğlu S, Kaya-Akyüzlü D. Adli uygulamalarda yeni nesil dizileme teknolojilerinin yeri ve önemi. Journal of Forensic Medicine 2024;:267–284. doi: https://doi.org/10.61970/adlitip.2024

4. Yukseloglu E. RNA-Approached technology applications in forensic genetics. Novel Forensic Research 2022;1(1):10–13. doi: https://doi.org/10.5455/NOFOR.2022.06.01

5. Kaya-Akyüzlü D, Arat Ö. Vücut sıvılarının kimliklendirilmesinde miRNA çalışmalarının potansiyel önemi: Güncel bir bakış. Adli Tıp Dergisi 2024;38(1):80–92. doi: https://doi.org/10.61970/adlitip.2024.1438178

6. Serin A. Vücut sıvılarının tanımlanmasına dayalı yaklaşımlar. Abacı Kalfoğlu E, editör. Adli Genetik: Doğrular ve Yanlışlar. Ankara: Türkiye Klinikleri 2018:20–28.

7. Gulekci Y, Cavus Yonar F. False positives in luminal testing. Black Sea Journal of Engineering and Science 2024;7(1):129–138. doi: https://doi.org/10.34248/bsengineering.1391613

8. Vidaki A, Daniel B, Court DS. Forensic DNA methylation profiling - Potential opportunities and challenges. Forensic Science International Genetics 2013;7(5):499–507. doi: https://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.05.004

9. Kader F, Ghai M. DNA methylation and application in forensic sciences. Forensic Science International 2015;249:255–265. doi: https://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.01.037

10. Ghai M. Forensic applications of epigenetic (DNA methylation) markers through NGS. In: Dash HR, Elkins KM, Al-Snan NR (eds.), Next Generation Sequencing (NGS) Technology in DNA Analysis. London: Academic Press; 2023. s. 337–356. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99144-5.00013-5

11. Virkler K, Lednev IK. Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Forensic Science International 2009;188:1–17. doi: https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2009.02.013

12. Lalonde W, Millman JS. Case study: Loss of Kastle-Meyer test specificity on jeans. Science and Justice 2019;59(3):359–361. doi: https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.12.002

13. Karadayı B, Karadayı Ş, Sezgin N. Biyolojik delillerin tespitinde kullanılan tarama ve doğrulama testleri ve bu konudaki son gelişmeler. Türkiye Klinikleri Journal of Forensic Medicine and Forensic Sciences 2018;15(2):80–92. doi: https://doi.org/10.5336/forensic.2018-60269

14. Stroud A, Gamblin A, Birchall P, Harbison SA, Opperman S. A comprehensive study into false positive rates for 'other' biological samples using common presumptive testing methods. Science and Justice 2023;63(3):414–420. doi: https://doi.org/10.1016/j.scijus.2023.04.006

15. Vidaki A, Kayser M. Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. Forensic Science International Genetics 2018;37:180–195. doi: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2018.08.008

16. Kayman Kürekçi G, Bunsuz M, Önal G, Dinçer P. Kazanılmış epigenetik değişikliklerin kalıtımı ve hastalıklara yatkınlıktaki rolü. İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi 2017;80(1):45–53. doi: https://doi.org/10.18017/iuitfd.315525

17. Acharjee S, Chauhan S, Pal R, Tomar RS. Mechanisms of DNA methylation and histone modifications. In: Progress in Molecular Biology and Translational Science. Amsterdam: Elsevier; 2023. p. 51–92. doi: https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2023.01.001

18. İzmirli M, Tufan T, Alptekin D. DNA Metilasyonu. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2012;21(4):274-282.

19. Gerra MC, Dallabona C, Cecchi R. Epigenetic analyses in forensic medicine: future and challenges. International Journal of Legal Medicine 2024;138:701-719. doi: https://doi.org/10.1007/s00414-024-03165-8

20. Calvanese V, Fraga MF. Epigenetics of embryonic stem cells. In: Lopez-Larrea C, Lopez-Vazquez A, Suarez AB (eds.), Stem Cell Transplantation. Dordrecht: Springer; 2012. s. 231–253.

21. Aksungur S. DNA Metilasyonu ve Adli Bilimlerde Uygulamaları. [Ankara]: Adli Bilimler; 2019.

22. Akçay ET, Mercan L, Kuran M. Kalıtımın epigenetik boyutunda DNA metilasyon desenleri. Hayvansal Üretim 2015;56(2):38–42.

23. Wei C, Kesner B, Yin H, Lee JT. Imprinted X chromosome inactivation at the gamete-to-embryo transition. Molecular Cell. 2024;84(8):1442–1459. doi: https://doi.org/10.1016/j.molcel.2024.02.013

24. Chadwick BP, Willard HF. Chromatin of the Barr body: Histone and non-histone proteins associated with or excluded from the inactive X chromosome. Human Molecular Genetics 2003;12(17):2167–2178. doi: https://doi.org/10.1093/hmg/ddg229

25. Wilkinson AL, Zorzan I, Rugg-Gunn PJ. Epigenetic regulation of early human embryo development. Cell Stem Cell 2023;30(12):1569–1584. doi: https://doi.org/10.1016/j.stem.2023.09.010

26. Atlasi Y, Stunnenberg HG. The interplay of epigenetic marks during stem cell differentiation and development. Nature Reviews Genetics 2017;18(11):643–658. doi: https://doi.org/10.1038/nrg.2017.57

27. Gopinathan G, Diekwisch TGH. Epigenetics and early development. Journal of Developmental Biology 2022;10(2). doi: https://doi.org/10.3390/jdb10020026

28. de Macedo MP, Glanzner WG, Gutierrez K, Bordignon V. Chromatin role in early programming of embryos. Animal Frontiers 2021;11(6):57–63. doi: https://doi.org/10.1093/af/vfab054

29. Filoglu G, Sımsek SZ, Ersoy G, Can K, Bulbul O. Epigenetic-based age prediction in blood samples: Model development. Journal of Forensic Science 2024;69(3):869–879. doi: https://doi.org/10.1111/1556-4029.15478

30. Sergeeva A, Davydova K, Perenkov A, Vedunova M. Mechanisms

of human DNA methylation, alteration of methylation patterns in physiological processes and oncology. Gene 2023;875. doi: https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147487

31. Moore LD, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function. Neuropsychopharmacology 2013;38:23–38. doi: https://doi.org/10.1038/npp.2012.112

32. Kim M, Costello J. DNA methylation: An epigenetic mark of cellular memory. Experimental Molecular Medicine 2017;49(10). doi: https://doi.org/10.1038/emm.2017.10

33. Zheng Q, Wang H, Yan A, Yin F, Qiao X. DNA methylation in alcohol use disorder. International Journal of Molecular Science 2023;24(130). doi: https://doi.org/10.3390/ijms241210130

34. Lee HY, Lee SD, Shin KJ. Forensic DNA methylation profiling from evidence material for investigative leads. BMB Reports 2016;49(7):359–369. doi: http://dx.doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.7.070

35. Castagnola MJ, Medina-Paz F, Zapico SC. Uncovering forensic evidence: A path to age estimation through DNA methylation. International Journal of Molecular Sciences 2024;25(9). doi: https://doi.org/10.3390/ijms25094917

36. Chauhan W, Fatma R, Wahab A, Afzal M. Cataloging the potential SNPs (single nucleotide polymorphisms) associated with quantitative traits, viz. BMI (body mass index), IQ (intelligence quotient) and BP (blood pressure): an updated review. Egyptian Journal of Medical Human Genetics 2022;23(57). doi: https://doi.org/10.1186/s43042-022-00266-0

37. Gómez-Martín C, Aparicio-Puerta E, Medina JM, Barturen G, Oliver JL, Hackenberg M. geno5mC: A database to explore the association between genetic variation (SNPs) and CpG methylation in the human genome. Journal of Molecular Biology 2021;433(11). doi: https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.11.008

38. Li Z, Liu N, Yuan F, Guan Z, Liu J, Liu F, Ren J, Yan J, Zhang G. Development of a novel panel for blood identification based on blood-specific CpG-linked SNP markers. International Journal of Legal Medicine 2024;138(3):1205–1219. doi: https://doi.org/10.1007/s00414-023-03105-y

39. Li Z, Liu S, Yuan F, Yu M, Zhi S, Zhao X, Zhang G. Development of a codetection system based on STRs and biofluid-specific CpG markers. Biotechnology and Applied Biochemistry 2025;1–12. doi: https://doi.org/10.1002/bab.2754

40. Konrad H, Jürgens L, Hartung B, Poetsch M. More than just blood, saliva, or sperm-setup of a workflow for body fluid identification by DNA methylation analysis. International Journal of Legal Medicine 2023;137(6):1683–1692. doi: https://doi.org/10.1007/s00414-023-03069-z

41. Silva DSBS, Ecker H, Walcott J, Weeden R, Medina A, Gorson JM. Analysis of DNA methylation markers for tissue identification in individuals with different clinical phenotypes. Electrophoresis 2023;44(13–14):1037–1046. doi: https://doi.org/10.1002/elps.202200176

42. Yuen ZWS, Shanmuganandam S, Stanley M, Jiang S, Hein N, Daniel R, McNevin D, Jack C, Eyras E. Profiling age and body fluid DNA methylation markers using nanopore adaptive sampling. Forensic Science International Genetics 2024;71. doi: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2024.103048

43. Kim BM, Park SU, Lee HY. Comparative analysis of SNaPshot and massively parallel sequencing for body fluid–specific DNA methylation markers. Electrophoresis 2024;45:1805–1819. doi: https://doi.org/10.1002/elps.202400037

44. Rothe J, Becker JM, Charchinezhadamouei M, Mähr S, Lembeck F, Dannemann N, Nagy M. Expanding the scope of methylation-sensitive restriction enzyme (MSRE) PCR for forensic identification of body fluids through the novel use of methylation-dependent restriction enzymes (MDRE) and the combination of autosomal and Y-chromosomal markers. International Journal of Legal Medicine 2024;138(2):375–393. doi: https://doi.org/10.1007/s00414-023-03097-9

45. Hsu CT, Tsai LC, Liu KL, Lin YC, Huang NE, Lee JCI, Linacre A, Hsieh HM. Identification of menstrual blood and vaginal fluid using a 4-plex MSRE-PCR system applicable to alleged sexual assault cases. International Journal of Legal Medicine 2025. doi: https://doi.org/10.1007/s00414-025-03471-9

46. Halabian R, Arshad V, Ahmadi A, Saeedi P, Azimzadeh Jamalkandi S, Alivand MR. Laboratory methods to decipher epigenetic signatures: A comparative review. Cellular Molecular Biology Letters 2021;26(1):46. doi: https://doi.org/10.1186/s11658-021-00290-9

47. Khodadadi E, Fahmideh L, Khodadadi E, Dao S, Yousefi M, Taghizadeh S, Asgharzadeh M, Yousefi B, Kafil HS. Current advances in DNA methylation analysis methods. Biomed Research International 2021. doi: https://doi.org/10.1155/2021/8827516

48. Frommer M, McDonald LE, Millar DS, Collis CM, Watt F, Grigg GW, Molloy PL, Paul CL. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. The Proceedings of the National Academy of Sciences 1992;89:1827-1831. doi: https://doi.org/10.1073/pnas.89.5.1827

49. Li Y, Tollefsbol TO. DNA methylation detection: Bisulfite genomic sequencing analysis. Methods in Molecular Biology 2011;791:11-21. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_2

50. Filoglu G, Sah I, Dogan M, Bulut Nalcaoglu S, Tavaci I, Bulbul O, Unsal T. Application of next generation sequencing in forensic science. Medicine Science International Medical Journal 2017;6(1):157-162. doi: https://doi.org/10.5455/medscience.2016.05.8518

51. Tekcan E, Tural Ş. Adli DNA analizlerinde güncel moleküler genetik gelişmeler. Van Tıp Dergisi 2023;30(2):217–222. doi: https://doi.org/10.5505/vtd.2023.30633

52. Richards R, Patel J, Stevenson K, Harbison SA. Evaluation of massively parallel sequencing for forensic DNA methylation profiling. Electrophoresis 2018;39(21):2798–2805. doi: https://doi.org/10.1002/elps.201800086

53. Llobet MO, Johansson Å, Gyllensten U, Allen M, Enroth S. Forensic prediction of sex, age, height, body mass index, hip-to-waist ratio, smoking status and lipid lowering drugs using epigenetic markers and plasma proteins. Forensic Science International Genetics 2023;65. doi: https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2023.102871

54. Dunkle M. The importance of body fluid identification in a court of law. https://www.illuminatenrhc.com/post/the-importance-of-body-fluid-identification-in-a-court-of-law-by-megan-dunkle (Erişim Tarihi: 31.10.2025)

55. Song Q, Decato B, Hong EE, Zhou M, Fang F, Qu J, Garvin T, Kessler M, Zhou J, Smith AD. A reference methylome database and analysis pipeline to facilitate integrative and comparative epigenomics. PLoS One 2013;8(12). doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081148

56. Jou J, Gabdank I, Luo Y, Lin K, Sud P, Myers Z, Hilton JA, Kagda MS, Lam B, O'Neill E, Adenekan P, Graham K, Baymuradov UK, Miyasato SR, Strattan JS, Jolanki O, Lee JW, Litton C, Tanaka FY, Hitz BC, Cherry JM. The ENCODE portal as an epigenomics resource. Current Protocols in Bioinformatics 2019;68(1). doi: https://doi.org/10.1002/cpbi.89

57. Lebrón R, Gómez-Martín C, Carpena P, Bernaola-Galván P, Barturen G, Hackenberg M, Oliver JL. NGSmethDB 2017: Enhanced methylomes and differential methylation. Nucleic Acids Research 2017;45:97–103. doi: https://doi.org/10.1093/nar/gkw996

58. Pan Y, Liu G, Zhou F, Su B, Li Y. DNA methylation profiles in cancer diagnosis and therapeutics. Clinical and Experimental Medicine 2018;18:1-14. doi: https://doi.org/10.1007/s10238-017-0467-0