



T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SPİNAL MUSKÜLER ATROFİDE (SMA) BAZI GENLERİN, TEK
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİNİN (SNP) *IN SILICO* OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KORKULMUŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Muhsin KONUK

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba KAMAN

İSTANBUL-2022

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SPİNAL MUSKÜLER ATROFİDE (SMA) BAZI GENLERİN, TEK
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİNİN (SNP) *IN SILICO* OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim KORKULMUŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Muhsin KONUK

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba KAMAN

İSTANBUL-2022

T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Anabilim Dalı : FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Program :MOLEKÜLER BİYOLOJİ

Öğrenci No :204301002

Öğrenci Adı Soyadı : Halil İbrahim KORKULMUŞ

Spinal Musküler Atrofide Bazı Genlerin, Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin (SNP) *in silico* Olarak Araştırılması adlı çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarihinde yapılan sınavda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : İmza
(.....Üniversitesi)

Danışman : İmza
(..... Üniversitesi)

Eş Danışman : İmza
(..... Üniversitesi)

Üye : İmza
(..... Üniversitesi)

Üye : İmza
(..... Üniversitesi)

ONAY

Bu tez, yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ÖZET

SPİNAL MUSKÜLER ATROFİDE (SMA) BAZI GENLERİN, TEK NÜKLEOTİD POLİMORFİZMLERİNİN (SNP) *IN SILICO* OLARAK ARAŞTIRILMASI

Spinal Musküler Atrofi (SMA) hastalığının, hayatta kalma motor nöronlarından olan SMN (Survival Motor Nöron) proteininin eksilmesi ile karakterize nöromusküler bir bozukluk olduğu bilinmektedir. Motor nörondaki dejenerasyon, kaslarda zayıflama ve ilerleyen evrede felç ile kendini gösteren, oldukça hızlı bir biçimde bebeklik ve erken çocukluk döneminde ölümle sonuçlanabilen, Otozomal resesif geçiş gösteren pediatrik nörolojik bozukluk olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada SMA hastalığı ile ilişkilendirilen SMN gen ailesi üzerinden dolayı olarak spinal musküler atrofide etki eden genlerden olan *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde bulunan yanlış anlamlı (missense) SNP'lerin protein yapısı ve stabilizasyonu üzerindeki etkilerinin *in silico* yöntem kullanılarak belirlenmesini amaçlanmıştır. *POP7* ve *GEMIN6* genine ait toplam SNP ve missense SNP bilgilerine NCBI dbSNP veri tabanından ulaşılmıştır. Zararlı olduğu düşünülen tek nükleotid polimorfizmlerin tespiti için SIFT, PolyPhen-2, PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2 yazılım araçlarından yararlanılırken, protein stabilizasyonunda ki değişimlerin tespiti için I-Mutant ve MUpro yazılım araçları kullanılmıştır. Yabanıl ve mutant tip proteinlerin üç boyutlu olan modellemelerinin yapılabilmesi için Project HOPE yazılım aracından faydalanılmıştır. GeneMANIA ile belirlediğimiz genlerden gen-gen etkileşimlerine bakılmıştır. STRING yazılımı ile protein-protein etkileşimleri hakkında veri sağlanmıştır. ConSurf çevrim içi yazılım aracı bir amino asidin makro moleküllerindeki evrimsel korunma derecesini tahmin etmede kullanılan *in silico* bir araç olarak veri sağlamıştır. Missense SNP'lerden zarar verici etkiye sahip olanların belirlenebilmesi için SIFT, PolyPhen-2 (Hum-Var ve Hum-Div), PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2 olmak üzere tarama yapılan 7 programdan 8 sonuç (PolyPhen-2 Hum-Var ve PolyPhen-2 Hum-Div) elde edilmiş olup bu sonuçlardan 7 ve üzeri ortak zarar verici olanlar stabilizasyon ve modelleme aşamasına dahil edilmiştir. Sonuç olarak *POP7* geni için toplam 1671 SNP'nin 147 tanesinin missense SNP olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Fonksiyonel analizler için taranmış olan programlar sonucu ortak zarar verici olan 10 adet missense SNP çevrim içi yazılım araçları ile belirlenmiştir. *GEMIN6* için 4522 SNP içerisinde 217 tanesinin missense SNP olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Fonksiyonel analizler için taranmış olan programlardan ortak zarar verici olan 35 adet missense SNP çevrim içi yazılım araçları ile belirlenmiştir.

Bu çalışma *in silico* araştırmalar sonucu SMA hastalığında *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde yer alan tek nükleotid polimorfizmlerinin protein yapısındaki zararlı etkisi üzerine veri sağlamaktadır. Araştırma ilerde yapılabilecek genotipleme çalışmalarında ve bunun yanı sıra SNP seçiminde ve deney tasarımlarında kullanılabilmekle birlikte aynı zamanda ileride yapılacak SMA hastalığıyla ilgili çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP), *POP7*, *GEMIN6*, *in silico*, Spinal Muscular Atrofi

ABSTRACT

***IN SILICO* INVESTIGATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPs) OF SOME GENES IN SPINAL MUSCULAR ATROPHY**

It is known that Spinal Muscular Atrophy (SMA) is a neuromuscular disorder characterized by the depletion of the SMN (Survival Motor Neuron) protein, which we call survival motor neuron. Studies have shown that it is an autosomal recessive pediatric neurologic disorder that manifests itself with motor neuron degeneration, weakening of the muscles and paralysis in the progressive stage, which can result in death in infancy and early childhood.

In this study, it was aimed to determine the effects of the missense SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) found in the POP7 and GEMIN6 genes associated with SMA disease, on the protein structure and stabilization by using *in Silico* method. SIFT, PolyPhen-2, PHD-SNP, MetaSNP, PROVEAN, SNPs & GO and SNAP2 software tools were used to determine single nucleotide polymorphisms that were considered harmful, while I-Mutant and MuPRO software tools were used to determine changes in protein stabilization, as well as Project HOPE software tools to perform three-dimensional modeling of wild and Mutant type proteins. Links Dec GeneMANIA and disease-related genes have been identified. Data on Protein-Protein interactions were provided with String software. The CONSURF online software tool has provided us with data as an *in silico* tool used to estimate the degree of evolutionary conservation of an amino acid in its macromolecules. When we looked at the result analysis, it was found that 147 of the 1671 SNPs for the POP7 gene were missense SNPs with information obtained from the NCBI dbSNP database. At the same time, it was determined that 10 SNPs in the POP7 gene were harmful from the programs looked at, while 6 of the 7 programs were found to be common pests for the POP7 gene. In addition, 217 of the 4522 SNPs for GEMIN6 were shown to be missense SNP by the information taken from the NCBI dbSNP database, and 35 common pests for the GEMIN6 gene were detected by online programs and SNP determination was determined by *Silico* methods. The *in silico* analyses performed in this study provide data on Single nucleotide polymorphisms in the POP7 and GEMIN6 genes associated with Spinal Muscular Atrophy disease, which may have a detrimental effect on protein structure, and Single nucleotide polymorphisms. It is believed that this research will be used in genotyping studies that can be carried out in the future, as well as in SNP selection and experiment design, as well as contribute to future studies on SMA disease.

Keywords: Single Nucleotide Polymorphism (SNP), POP7, GEMIN6, *In silico*, Spinal Muscular Atrophy

BEYAN FORMU

Bu alışmadaki bütn bilgi ve belgeleri akademik kurallar erevesinde elde ettiğimi, grsel, işitsel ve yazılı tm bilgi ve sonuları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, tarafımdan retilindiğini ve şkdar niversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Tarih

Öğrencinin Adı ve SOYADI

İmzası

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
BEYAN FORMU.....	iii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Amacı.....	2
1.2 Çalışmanın Önemi.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Polimorfizm.....	3
2.2 Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) Hakkında Tanımlamalar.....	4
2.3 Spinal Musküler Atrofi (SMA).....	5
2.4 POP7.....	6
2.5 GEMIN6.....	7
2.6 Biyoinformatik Araçlar.....	7
3. MATERIAL METOD.....	8
3.1 Araştırma Şekli.....	8
3.2 Veri Eldesi Araçları.....	8
3.2.1 NCBI.....	9
3.2.2 NCBI dbSNP.....	9
3.2.3 UniProt.....	9
3.3 Missense SNP'lerin Fonksiyonel Analizi	9
3.3.1 SIFT.....	10
3.3.2 PolyPhen-2.....	10
3.3.3 PHD-SNP.....	10
3.3.4 Meta-SNP.....	10
3.3.5 PROVEAN.....	10
3.3.6 SNPs&GO.....	11
3.3.7 SNAP2.....	11
3.4 Missense SNP'lerin Protein Stabilizasyonu Üzerine Etkilerinin Analizi.....	11
3.4.1 I-Mutant.....	11
3.4.2 MUprom.....	11
3.5 Project HOPE.....	11
3.6 Gen-Gen Etkileşimlerinin Tayini.....	12
3.7 Protein-Protein Etkileşimlerinin Tayini.....	12
3.8 Evrimsel Korunum Analizi.....	12

4. BULGULAR.....	13
4.1 POP7.....	13
4.1.1. POP7 için veri eldesi.....	13
4.1.2. POP7 geninde missense SNP'lerin fonksiyonel analizi.....	13
4.1.2.1. POP7 için SIFT sonuçları.....	13
4.1.2.2. POP7 için PolyPhen-2 sonuçları.....	13
4.1.2.3. POP7 için PHD-SNP sonuçları.....	13
4.1.2.4. POP7 için Meta-SNP sonuçları.....	13
4.1.2.5. POP7 için PROVEAN sonuçları.....	14
4.1.2.6. POP7 için SNPs&GO sonuçları.....	14
4.1.2.7. POP7 için SNAP2 sonuçları.....	14
4.1.3. POP7 için tüm veri tabanlarında zararlı olduğu tespit edilen missense SNP'ler....	14
4.1.4. POP7 geni için I-Mutant ve MUpro programının sonuçları.....	16
4.1.5. POP7 için Project HOPE sonuçları.....	16
4.1.6. POP7 için gen-gen etkileşimleri.....	20
4.1.7. POP7 için protein-protein etkileşimi sonuçları.....	21
4.1.8. POP7 için evrimsel korunum analiz sonuçları.....	22
4.2. GEMIN6.....	23
4.2.1. GEMIN6 için veri eldesi.....	23
4.2.2. GEMIN6 geninde missense SNP'lerin fonksiyonel analizi	23
4.2.2.1. GEMIN6 için SIFT sonuçları.....	23
4.2.2.2. GEMIN6 için PolyPhen-2 sonuçları.....	23
4.2.2.3. GEMIN6 için PHD-SNP sonuçları.....	23
4.2.2.4. GEMIN6 için Meta-SNP sonuçları.....	23
4.2.2.5. GEMIN6 için PROVEAN sonuçları.....	24
4.2.2.6. GEMIN6 için SNAP2 sonuçları.....	24
4.2.3. GEMIN6 için tüm veri tabanlarında zararlı olduğu tespit edilen missenseSNP'ler.	24
4.2.4. GEMIN6 geni için I-Mutant ve MUpro programının sonuçları.....	26
4.2.5. GEMIN6 geni için 3 boyutlu modellemelerde Project HOPE	27
4.2.6. GEMIN6 için gen-gen etkileşimleri.....	36
4.2.7. GEMIN6 için protein-protein etkileşimi sonuçları.....	37
4.2.8. GEMIN6 için evrimsel filogenetik analiz sonuçları.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. REFERANSLAR.....	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>POP7</i> geni 3 boyutlu görüntüsü (GENECARD).....	6
Şekil 2. <i>GEMIN6</i> geni 3 boyutlu görüntüsü (GENECARD).....	7
Şekil 3. Çalışma Akış Diyagramı.....	8
Şekil 4. ConSurf Korunma Ölçeği Diyagramı.....	12
Şekil 5. <i>POP7</i> için Gen-Gen Etkileşim Ağı.....	20
Şekil 6. <i>POP7</i> için String Sonuçları.....	21
Şekil 7. <i>POP7</i> için ConSurf Sonuçları.....	22
Şekil 8. <i>GEMIN6</i> için Gen-Gen Etkileşim Ağı.....	36
Şekil 9. <i>GEMIN6</i> için String Sonuçları.....	37
Şekil 10. <i>GEMIN6</i> için ConSurf Sonuçları.....	38

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>POP7</i> Geninde Bulunan Ortak Zarar Verici missense SNP Gösterimi.....	15
Tablo 2. <i>POP7</i> Geni için I-Mutant ve MUpro Sonuçları.....	16
Tablo 3. <i>POP7</i> Geninin Project HOPE Yazılımı ile Modellenmesi.....	17
Tablo 4. <i>POP7</i> için Protein-Protein Etkileşimindeki Genlerin Sıralaması.....	21
Tablo 5. <i>GEMIN6</i> Geninde Bulunan Ortak Zarar Verici missense SNP Gösterimi.....	25
Tablo 6. <i>GEMIN6</i> Geni için I-Mutant ve MUpro Sonuçları.....	26
Tablo 7. <i>GEMIN6</i> Geninin Project HOPE Yazılımı ile Modellenmesi.....	28
Tablo 8. <i>GEMIN6</i> için Protein-Protein Etkileşimindeki Genlerin Sıralaması.....	37

1. GİRİŞ

Spinal Musküler Atrofi (SMA) hastalığının, hayatta kalma motor nöron dediğimiz SMN (Survival Motor Nöron) proteininin eksilmesi ile karakterize nöromusküler bir bozukluk olduğu bilinmektedir. Motor nörondaki dejenerasyon, kaslarda zayıflama ve ilerleyen evrede felç ile kendini gösteren, oldukça hızlı bir biçimde bebeklik ve erken çocukluk döneminde ölümle sonuçlanabilen, otozomal resesif geçiş gösteren pediatrik nörolojik bozukluktur (Pearn ve Wilson, 1973; Pearn, 1978; Lefebvre ve ark., 1997). SMA hastalığı; Tip-1, Tip-2, Tip-3, Tip-4 olmak üzere dört evreye ayrılıp incelenmektedir (Snyder ve ark., 2010a).

SMN temel hücresel proteinlerdendir. 38 kDa SMN proteini sitoplazmada olduğu gibi birçok hücre tipinin çekirdeğinde eksprese edilmektedir. Bunun yanı sıra RNA metabolizmasının birçok yönüne katılmaktadır (Burghes ve ark., 1994). Protein, Gemin proteinleri ile SMN kompleksinin bir parçası olmakla birlikte snRNP küçük nükleer ribonükleoprotein biyogeneğinde ve mRNA öncesi eklemede önemli görevler üstlenmektedir (Yong ve ark., 2002; Buhler ve ark., 1999; Carissimi ve ark., 2006). RNase P, adıyla adlandırılan ve ribonükleaz p protein diye isimlendirilen ana işlevi öncü tRNA'ların ucundan 5' lideri ayırmak olan hemen her yerde bulunan bir endoribonükleazdır (Altman ve Kirsebom, 1999). Ökaryotik RNase P'de RNA'nın güçlü bir şekilde öne çıktığını ve bileşen de katalizden sorumlu olduğunu gösterir. Gerçekten de son bulgular ökaryotik RNase P, RNA'nın tek başına substratını spesifik olarak bağlayabildiğini (Marquez ve ark., 2006) ve çok düşük verimlilikle de olsa katalizlenebildiğini göstermektedir (Kikovska ve ark., 2007). *POP7* geni Ribonükleaz P protein alt birimi p20 diye adlandırılan ve insanlarda *POP7* geni tarafından kodlanan bir enzimdir. SMA hastalığında SMN gen ailesi üzerinden dolaylı yoldan etki etmektedir. *GEMIN6*; Gem ile ilişkili protein 6, SMA hastalığını tetikleyen SMN gen kompleksi spliceosome'un yapı taşları olan snRNP'ler de katalizör görevi üstlenmektedir. Hem sitoplazmada hem de çekirdeğe lokalize olan ve küçük nükleer ribonükleoproteinlerin (snRNP'ler) sitoplazmik düzeneğinde rol oynayan büyük bir makromoleküler kompleksin parçasıdır.

1.1. Çalışmanın Amacı

Bu araştırmada SMA hastalığında *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde bulunan yanlış anlamlı (missense) SNP'lerin protein yapısı ve stabilizasyonu üzerindeki zararlı olduğu düşünülen etkilerini, üç boyutlu modelleme sonuçlarını, ayrıca gen-gen etkileşimlerini, protein-protein etkileşimlerini ve evrimsel korunum analizlerini *in silico* yöntem kullanılarak analiz etmek amaçlanmıştır. *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde bulunan missense SNP'ler NCBI dbSNP veri tabanından faydalanılarak elde edilecektir. Zarar verici SNP'lerin biyoinformatik yöntemler ile analizi çevrimiçi yazılım araçlarından (SIFT, PolyPhen-2, PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2) kullanılarak gerçekleştirilecektir. Tüm bu yazılım araçlarından elde edilen sonuçlar değerlendirilip zararlı SNP'ler belirlenerek, ortak zarar verici olanların stabilizasyon (I-Mutant ve MuPro) ve modelleme (Project HOPE) analizlerinin yapılması, ayrıca gen-gen etkileşimleri (GeneMANIA), protein-protein etkileşimleri (STRING) ve evrimsel korunum (ConSurf) bilgilerine ulaşmak için biyoinformatik yazılım araçlarından faydalanılması amaçlanmıştır.

1.2. Çalışmanın Önemi

Bu çalışmada *in silico* yöntemlerden faydalanılmış ve Spinal Musküler Atrofi (SMA) hastalığı ile ilgili gen ailesi içinde yer alan Survival Motor Nöron (SMN) gen ailesi üzerine etki eden ve bu sayede SMA hastalığını tetikleyen genlerden olan *POP7* ve *GEMIN6* üzerine çalışmalar yapılmış ve missense SNP'ler üzerinde araştırmada bulunulmuştur. *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde bulunan zarar verici SNP'lerin bilinmesi ileride yapılabilecek *in vitro* ve *in vivo* araştırmalara ışık tutabileceği öngörülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Polimorfizm

Bireylerin ve popülasyonların arasındaki genetik farklılığın nedenlerine polimorfizm demekteyiz. Genomdaki nükleotid değişiklikleri popülasyonda %1'in altında olmasına mutasyon %1'in üstünde olma durumuna ise polimorfizm demekteyiz. DNA polimorfizminde ortalama 500 nükleotidde bir ortaya çıktığı görülmekte ve bu değişiklikler genlerin protein kodlayan ve protein kodlamayan bölgelerinde görülmektedir. Popülasyonlar arasındaki DNA dizisindeki farklılık, bireyler ve gruplar arasında ki farklılığı oluşturmakta bu duruma da 'Genetik Polimorfizm' demekteyiz. Bu polimorfizmler virüsler, radyasyon gibi dış etkiler ile olabilirken zaman içerisinde kediliğinden de olabilmektedir. DNA dizisinde ki bozulma hastalıkla ilişkilendirilirse genelde genetik mutasyon diye adlandırılmaktadır. Dış etken bağımlı DNA dizi değişiklikleri genellikle mutasyon olarak adlandırılmaktadır. Polimorfizmler mutasyonlar aracılığı ile ortaya çıkmaktadır. Mutasyon bir nükleotidden diğer bir nükleotid tipine ekleme, silme veya nükleotidlerin yeniden düzenlenmesinden kaynaklanabilmektedir. Polimorfizmler kalıtsal olabileceği gibi ebeveynden çocuğa geçebilmektedir. Polimorfizmler kendi içerisinde dörde ayrılmaktadır (Aksoy ve Soydemir , 2017).

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism): Sınırlayıcı enzim parça uzunluğu polimorfizmi, bu polimorfizm çeşidinde restriksiyon (kısıltma) görevli belli endonükleaz enzimlerinin (EcoRI, PstI, BglII gibi) DNA parçalarını oluşturması ile belirlenen genetik birçok çeşitlilik sağlamaktadır. Homolog DNA dizilerindeki bu farklılık, DNA'nın restriksiyon enzimleriyle parçalanması ve ardından işaretlenerek analizinin yapılması ile tespit edilir.

VNTR (Minisatellitler; Variable Numbers of Tandem Repeats): Değişken sayıda tandem tekrarlar, VNTR insan genomundaki farklı sayıda birbiri ardına tekrarlayan bölgelere verilen addır. Bunların daha kısa tekrar gruplarından oluşan alt gruplarına ise STR adı verilmektedir. Genellikle 2-6 bç (baz çifti) uzunluktaki çekirdek ünitenin 10-50 kez ardı ardına tekrarından oluşan ve sıklıkla toplam olarak 100-400 baz çifti uzunluğundaki DNA tekrar üniteleridir. İlk kez 1991 yılında Edwards ve arkadaşları tarafından tanımlandıktan kısa süre sonra geniş kullanım alanı bulmuş ve birbiri ardına çok sayıda yeni STR lokusu tanımlanmıştır (Edwards ve ark., 1991).

STR (Short Tandem Repeats): Kısa tandem tekrarlar tekrar eden birimlerden (2-6 bp) oluşan genomik DNA dizileridir. Ökaryotik genomlarda, STR'ler kodlama yapmayan bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır ve ortak baskın kalıtım, yüksek polimorfizm seviyeleri, yüksek güvenilirlik ve iyi tekrarlanabilirlik özellikleri ile adli analizlerde kullanılabilir. STR, babalık testi, adli tıp alanında kişisel tanımlama ve kanserli dokuların analizinde kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2018).

SNP (Tek Nükleotid Polimorfizm): DNA sekanslarında tek bir nükleotidin (A,T,G,S) farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bazı SNP'ler genin aktivitesini değişime uğratabilmektedir. Hastalıklara yatkınlık ve ilaç cevabında majör etkiye sahiptir. Sessiz SNP (nonsense SNP) denilen grup gen fonksiyonlarını etkilemezler ve SNP'lerin büyük bir kısmı bu grupta yer alır. Bazı SNP'ler ise protein fonksiyonunu etkilemektedir. Direkt etki gösterenler genellikle aminoasit dizisini değiştirirler. İndirekt etki eden grup ise regülatör dizinin fonksiyonunu değiştirmektedir.

2.2. Tek Nükleotid Polimorfizm (SNP) Hakkında Tanımlamalar

Bireylerin ve popülasyonların arasındaki genetik farklılığın nedenlerine polimorfizm demekteyiz. Genomdaki nükleotid değişiklikleri popülasyonda %1'in altında olmasına mutasyon %1'in üstünde olma durumuna ise polimorfizm demekteyiz. Tek nükleotid polimorfizmi ise DNA üzerinde her 2000 ila 2500 bazda bir gözlemlenmesi olayıdır. Polimorfizm birçok farkı seviyede incelenebilirken daha çok gen/alel seviyesinde incelenmektedir. Her gende 2 olası kopya mevcuttur ve bunları alel olarak isimlendiririz. Kromozomların üzerinde bu aleller farklı değer alabilmektedir. Pürin bazının diğer bir pürin bazına dönüşümü bir çeşit kimyasal mutajen olarak nitelendirilen baz analogları tarafından yapılan mutasyon çeşidine transisyon demekteyiz. Pürin yerine başka bir pürin geçişinde olduğu gibi pirimidin yerine de başka bir pirimidinin geçmesi ile de oluşabilmektedir. Transversiyon olayında ise pürin bazlarının herhangi birinin pirimidin bazına dönüşümünü ifade etmektedir. Tek nükleotid polimorfizminde DNA sekanslarında tek bir nükleotidin (A,T,G,S) farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bazı SNP'ler genin aktivitesini değişime uğratabilmektedir. Hastalıklara yatkınlık ve ilaç cevabında majör etkiye sahiptir. Sessiz SNP (nonsense SNP) denilen grup gen fonksiyonlarını etkilemezler ve SNP'lerin büyük bir kısmı bu grupta yer alır. Bazı SNP'ler ise protein fonksiyonunu etkilemektedir. Direkt etki gösterenler genellikle amino asit dizisini değiştirirler. İndirekt etki eden grup ise regülatör dizinin fonksiyonunu

değiştirmektedir. Çeşitli hastalıklara özgü SNP profilleri oluşturulabilmekte olup bu profillerden faydalanılarak hastalıklara yatkınlık taraması yapılabilmektedir. SNP tayini için birçok çevrimiçi veri tabanları mevcuttur. SNP'lere baktığımız da amino asit dizisindeki değişimlere neden olduklarından ötürü önem arz etmektedirler. Tek nükleotid polimorfizmleri insan popülasyonlarında kodlanmış proteinlerin fonksiyonel çeşitliliğinde önemli rol üstlenmekte ve birçok hastalıkla bağlantılı olduğu muhtemeldir. SNP'ler proteinde çözünürlük indeksini değiştirerek protein fonksiyonunu ve transkripsiyon gibi faktörlerde etkili olup gen düzenlenmesini etkileyebildiği bildirilmiştir (Brijesh ve Mistry, 2014).

2.3. Spinal Musküler Atrofi (SMA)

Spinal Musküler Atrofi (SMA) omurilikte bulunan alfa motor nöronlarda dejenerasyonu ile kendini gösteren ve ilerleyici boyutlara varan proksimal kaslarda zayıflık ile karakterize bunun sonucu felç ile sonuçlanabilmekte olan ciddi bir nöromusküler hastalık grubundandır. 1890'lı yıllarda Werdnig ve Hoffmann tarafından tanımlandığı bilinmektedir (Werdnig, 1891; Hoffmann 1893). 1995 yılına gelindiğinde genetik bilimiyle beraber SMA hastalığında görev üstenen SMN geninin tanımlanmasıyla ve 5q11.2-q13.3 bölgesine lokalize olduğu tespit edilmiştir (Lefebvre ve ark., 1995). Spinal Musküler Atrofi hastalığı, kistik fibrozisten sonra en sık rastlanılan ölümcül otozomal resesif hastalık grubundadır. İnsidansına baktığımızda 6000 ila 10000 de 1, taşıyıcılık sıklığı ise 40 ya da 60 da 1'dir (Ogino ve ark., 2002; Snyder ve ark., 2010b). Spinal Muscular Atrofi başlangıç yaşı bakımından ve eldeki veriler ışığında dört fenotipte sınıflandırılmaktadır (Munstat ve Davies, 1992).

Tip-1 SMA'lı bireyler incelendiğinde; kaslarda ciddi zayıflık, buna bağlı olarak hareketlerde zayıflık, yemek yeme sorunları, kişinin bilinçli eylemlerini sağlayamama, aynı zamanda kişinin nefesini kontrol edememesi sonucu nefes alamamaya bağlı olarak nefessizlikten ölümler genellikle birkaç yıl içinde kendini göstermektedir. SMA Tip-1 için bu grup SMA tanısı konulan grubun yaklaşık %50'sini oluşturmakta ve Tip-1 de yer alan hastalar hastalığı en ağır geçiren grupta yer almaktadırlar. Bu grup en yaygın görülen gruptur. SMA Tip-1 tanılı bebeklerin hastalıkla ilgili belirtileri genellikle 6 aylıktan önce kendini göstermektedir. Bu grup en şiddetli ağrıların olduğu grup olması dolayısıyla tanı konulan bebekler desteksiz oturamamakla birlikte herhangi bir müdahale olmaması durumunda ilk iki yıl içerisinde ölümle sonuçlanabilmektedir. Bu hastalar incelendiğinde derin hipotoni ve baş kontrolsüzlüğü görülmekte. En şiddetli formlarında kısıtlanmış

intrauterin hareketler, hastalığın doğumdan önce oluştuğunu düşündürmekte. Tip-1 SMA'lı bireylerin bazıları doğuştan kemik kırıklarına ve ince kaburgalara sahip olabilmektedir (MacLeod ve ark., 1999; Dubowitz, 1999; Felderhoff ve ark., 2002).

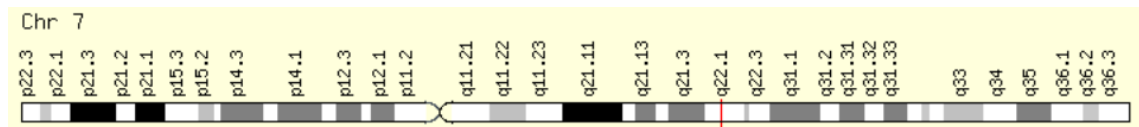
Tip-2 SMA incelendiğinde çoğunlukla 18 ayını tamamlamamış bebeklik döneminde hastalık kendini göstermekte. Tip-2 SMA hastaları genellikle oturabilmekte iken yürümede zorluk çekerler nefes alma sıkıntıları oldukça yüksek olmakla birlikte ölümler daha erken kendini göstermektedir. Genellikle 7 ila 18 aylık süreç de başlangıç göstermektedir. Kifoskolyoz durumu oldukça yaygındır ve zayıf yutkunma durumu kendini gösterebilir fakat çok yaygın değildir (Messina ve ark., 2008).

Tip-3 SMA hastalığının en hafif etkilendiği şeklidir. Semptomlar 18 aydan önce genellikle kendini göstermemektedir. Tip-3 SMA'lı çocuklar ilk zamanlar kendi başlarına ayakta durabilir ve yürüyebilirken ilerleyen zamanlarda kaslardaki zayıflama bu yetilerini onlardan almaktadır. Bu hastalığa Kugelberg-Welander hastalığı da denilmektedir. Bu grup klinik açıdan daha heterojen hastaları barındırmaktadır. Bebeklik dönemlerinde genellikle proksimal kas zayıflığı kendini göstermektedir. Bazı hastalar tekerlekli sandalyeye muhtaç olabilirken diğer bir grup hafif kas zayıflığı içerisinde hayatlarına devam edebilmektedir. Bazı hastalarda sıklıkla kas zayıflığına bağlı olarak skolyoz, obezite ve osteoporoz gibi durumlar kendini gösterebilmektedir (Zerres ve ark., 1997).

Tip-4 SMA daha çok ergin çağda kendini göstermektedir, diğer tiplere göre daha nadir rastlanılan durumdur, kaslardaki zayıflama çok fazla olmadığı için yaşamı olumsuz etkilemez.

2.4. POP7

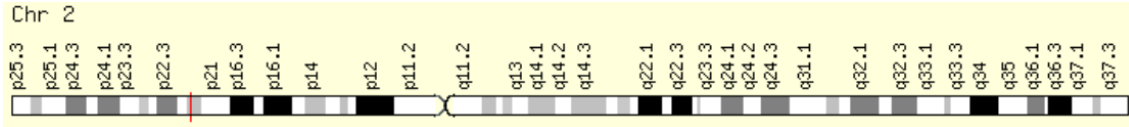
Şekil 1. POP7 geni 3 boyutlu görüntüsü (GENECARD)



Bu gen Ribonükleaz P RNA bağlanma aktivitesini etkinleştirmektedir. Bunun yanı sıra Ribonükleaz P aktivitesine katkıda bulunmaktadır. Taşıyıcı RNA 5'-liderinin çıkarılmasında yer almaktadır. POP7 geni nükleolde konumlanmıştır. Ribonükleaz P protein alt birimi p20, insanlarda POP7 geni tarafından kodlanan bir enzimdir(GENECARD).

2.5. *GEMIN6*

Şekil 2. *GEMIN6* geni 3 boyutlu görüntüsü (GENECARD)



GEMIN6 sitoplazmada ve çekirdekte lokalize olmuş, küçük nükleer ribonükleoproteinlerin (snRNP) sitoplazmik düzeneğinde rol alan büyük bir makromoleküler kompleksin parçasıdır. *GEMIN6*; Gem ile ilişkili protein 6, SMA hastalığını tetikleyen SMN gen kompleksi spliceosome'un yapı taşları olan snRNP'ler de katalizör görevi üstlenmektedir. Hem sitoplazmada hem de çekirdeğe lokalize olan ve küçük nükleer ribonükleoproteinlerin (snRNP'ler) sitoplazmik düzeneğinde rol oynayan büyük bir makromoleküler kompleksin parçasıdır (GENECARD).

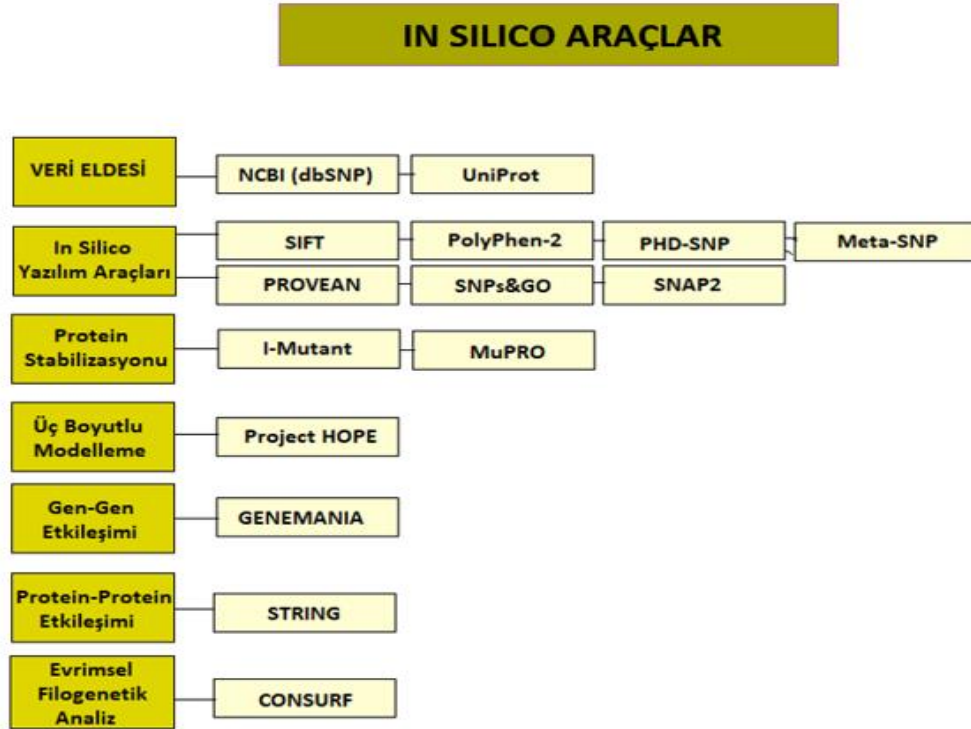
2.6. Biyoinformatik Araçlar

Biyoinformatik genel olarak biyolojik çalışmalar sonucunda açığa çıkan bilgilerin saklanabilmesi için veri tabanlarının oluşturulması esasına dayanmaktadır. Bir bilgisayar programı olan veri tabanı ile bilgilerin toplanıp değerlendirilebilmesi oldukça pratik hale gelmektedir. Çevrim içi yazılım araçları ve bu araçların barındırdığı veri tabanları içerisinde depolanan bilgi yığını içerisinde gerekli verinin oldukça kolay bir şekilde ulaşılmasını sağlamaktadır. Tek nükleotid polimorfizminde araştırmalar sadece *in vitro* ve *in vivo* ortamda değil bunların yanı sıra *in silico* dediğimiz çevrimiçi yazılım araçları ve veri tabanlarından faydalanılarak işlem yapılmaktadır. *In silico* ortamda yapılan araştırmalar araştırmacıya ciddi ölçüde zaman kazandırmaktadır. İnsan genomuna bakıldığında oldukça büyük sayıda genetik polimorfizm içeriği görülmekte olup bu durum hastalığa yatkınlık, kişiselleştirilmiş ilaç gibi tespitler için araştırmalar gerekmektedir (Cargill ve Altshuler, 1999). Bu sebeple *in silico* yöntemler belirli algoritmalar kullanarak zararlı SNP'leri nötr olanlardan ayırmak için uygun biyoinformatik araçlardan faydalanılmaktadır (Rozario ve Sharkar, 2021). Biyoinformatik bilim dalında veri eldesi ve yorumlaması için hesaplama ve analiz araçlarından faydalanılır. Biyoinformatik, modern biyoloji biliminde verilerin depo edilmesi istenildiğinde veri tabanından alınması ve işlenmesi yorum ve analizi için gereklidir.

3. MATERYAL METOT

3.1. Araştırma Şekli

Bu tez çalışmasında Spinal Musküler Atrofi hastalığında etki gösteren *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde yer alan SNP'lerin *in silico* çalışmaları için kamuya açık ve çevrimiçi yazılım araçları kullanılmıştır. Bu yazılım araçlarında; missense SNP'lerin *in silico* analizleri, zararlı olduğu tahmin edilen missense SNP'lerin protein stabilizasyonuna etkileri, zararlı olduğu tahmin edilen varyasyonların üç boyutlu modelleri ayrıca gen-gen etkileşimleri, protein-protein etkileşimleri, amino asit değişimlerinin yer aldığı pozisyonların evrimsel korunma derecelerinin tahmini için biyoinformatik araçlardan yararlanılmıştır (Şekil 3).



Şekil 3. Çalışma Akış Diyagramı

3.2. Veri Eldesi Araçları

Veri eldesi için NCBI ve UniProt veri tabanlarından faydalanılmıştır. NCBI dbSNP veri tabanından genlerdeki toplam SNP sayıları, missense SNP sayıları, SNP ID bilgileri, pozisyonu, nükleotid ve amino asit değişimi bilgileri elde edilmiştir. Proteinlerin FASTA formatlı amino asit dizileri ise UniProt veri tabanından temin edilmiştir.

3.2.1. NCBI

Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI), 4 Kasım 1988 yılında Ulusal Tıp Kütüphanesinin (NLM) bir bölümü olarak hizmete açılmıştır. Bu platform biyoloji, moleküler biyoloji, genetik, biyokimya gibi alanlarda bilgilerin işlenmesinde ve depolanmasında otomatik sistemler oluşturmaktadır. NCBI veri tabanı, bilgisayar tabanlı verilerin analizinde ve moleküllerin yapısının tayininde ve bilgilerin toplanarak koordine edilmesinde kullanılabilmektedir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.2.2. NCBI dbSNP

Yaygın olarak dbSNP olarak bilinen NCBI kısa genetik varyasyon veri tabanı (dbSNP), insanlar için nükleotid dizilerindeki kısa varyasyonları kataloglar. Tek nükleotid polimorfizm veri tabanı (dbSNP), Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI)'ın bir uzantısıdır. Birçok organizma için kamu laboratuvarları ve özel kurumlar tarafından oluşturulan verileri içeren bir veri tabanıdır. dbSNP, tek nükleotid polimorfizm'lerini (SNP) içermektedir. Bunun yanında kısa tandem tekrarları (STR) gibi farklı DNA polimorfizm çeşitlerini, küçük eklemeler ve silmeler ve mikro uydular gibi farklı varyasyon çeşitlerini de içermektedir (Bhagwat, 2010).

3.2.3. UniProt

UniProt kapsamlı, yüksek kaliteli ve serbestçe erişilebilir bir protein dizisi ve işlevsel bilgi kaynağı sağlamaktır. Genlerin FASTA formatındaki protein dizilerine ve erişim numaralarına UniProt 'tan ulaşılmıştır. Tek bir veri tabanı içerisinde güncel ve geniş protein bilgilerini içermektedir. UniProt veri tabanında 3 alanda arama yapılabilmektedir. Dizi benzerliği araması için "BLAST", çoklu dizi hizalaması için "ALIGN" ve UniProt aracılığı ile alınan verilen harici veri tabanlarına dönüştürmek için "Retrieve/ID Mapping" kullanılabilmektedir (Pundir ve ark., 2016).

3.3. Missense SNP'lerin Fonksiyonel Analizi

POP7 ve *GEMIN6* genlerinde yer alan SNP'lerin protein yapısı ve fonksiyonu üzerine olası zararlı etki eden missense SNP'leri belirlemek için SIFT, PolyPhen-2 (Hum-Var ve Hum-Div), PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO ve SNAP2 yazılım araçları kullanılmıştır

3.3.1. SIFT

SIFT (Sort Intolerant from Tolerant), amino asit dizisindeki yer değişimlerinin neden olduğu protein fonksiyonundaki ‘tolere edilebilir’ ve ‘tolere edilemez’ değişiklikleri öngören bir algoritma programıdır (Henikoff, 2003). Tahmin puanı 0 ile 0,05 arasında değişiyorsa bir ikamenin "zararlı" olduğu ve tahmin puanı 0,05'e eşit veya daha büyükse "tolere edilebilir" olduğu tahmin edilmektedir (Sim ve ark., 2012).

3.3.2. PolyPhen-2

PolyPhen-2 yazılım aracı aminoasidin insan proteininin yapısı ve işlevi üzerindeki tahmini bir etkiye sahip olup olmadığını gösteren bir çevrim içi yazılım programı olup nadir görülen varyantlarda büyük veri kümelerini yorumlayabilen programdır. Bu sayede oldukça fazla olan veri yığını içerisinde analiz yapar ve “Muhtemelen zararlı”, “Olası zararlı” ya da ‘Tolere edilebilir’ şeklinde yorumlamalar yapan veri küme programıdır (Adzhubei ve ark., 2012).

3.3.3. PHD-SNP

PHD-SNP; protein sekans bilgisinden yola çıkarak, bir yanlış anlamlı SNP'den türetilen yeni bir fenotipin insanlarda genetik bir hastalık ile ilişkili olup olmayacağını tahmin edebilen destek vektör makinelerine (SVM'ler) dayalı bir yöntem olup sunucusu, dizilerin evrimsel bilgilerinin yardımıyla çalışmaktadır (Capriotti ve ark., 2006).

3.3.4. Meta-SNP

Hastalığa neden olan varyantların bulunmasında öncülük eden çevrimiçi bir yazılımdır. Hastalık ile ilişkili tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) tanımlanmasında etkilidir. Birden fazla çalışmanın sonuçlarını birleştiren, örneklem büyüklüğünü artırmak için kullanılan bir yöntemdir (Evangelou & Ioannidis, 2013).

3.3.5. PROVEAN

PROVEAN (Protein Varyasyon Etkisi analizörü), hizalama skoru yaklaşımına dayalı olarak amino asit ikamesinin olası etkisini tahmin eden bir algoritmadır. Bu yazılım aracı, önceden belirlenen bir eşik sistemine dayalı olarak zararlı ya da zararsız olarak tahminlerde bulunur. Bu yazılım aracında varsayılan eşik değeri -2,50 olup bu eşğin altındaki puanlara sahip olan değişimler zararlı olarak sınıflandırılmaktadır. Bu eşik

değerindeki hastalığa neden olan insan protein varyantlarının işlevsel etkiler atadığı bilinmektedir (Choi ve ark., 2012).

3.3.6. SNPs&GO

SNPs & GO, bir protein dizisinden başlayarak, bir varyasyonun hastalıkla ilgili olup olmadığını, karşılık gelen proteinin fonksiyonel açıklamasını kullanarak tahmin edebilen bir yöntemdir. SNPs & GO, protein dizisinden, evrimsel bilgilerden ve Gen Ontoloji terimlerinde kodlandığı gibi işlevden türetilen benzersiz çerçeve bilgisini toplar ve diğer mevcut tahmin yöntemlerinden daha iyi performans gösterir (Calabrese ve ark., 2009).

3.3.7. SNAP2

Bu yazılım aracı, protein işlevindeki nsSNP'lerden kaynaklanan değişiklikleri tahmin etmek için protein mutant veri tabanından (PMD) gelen açıklamaları kullanan bir biyoinformatik araçtır (Capriotti ve ark., 2013). SNAP, mutasyonların protein fonksiyonu üzerindeki etkisini tahmin eder.

3.4. Missense SNP'lerin Protein Stabilizasyonu Üzerine Etkilerinin Analizi

3.4.1. I-Mutant

I-Mutant, mutasyona uğrayan proteinler üzerinde veri akışı sağlayan çevrimiçi bir yazılım aracıdır. Mutasyona uğrayan protein dizisinin ya da yapısının stabilitesindeki değişimleri tahmin etmeye yarayan ve bu amaçla geliştirilen web tabanlı bir yazılım aracıdır. I-Mutant, belirli bir mutasyonun protein stabilitesini artırıp artırmadığını ($\Delta\Delta G > 0$) veya azaltıp azaltmadığını ($\Delta\Delta G < 0$) tahmin eder (Capriotti ve ark., 2005).

3.4.2. MUpro

MUpro, yapı veya dizi bilgisine bağlı olarak tek bölge mutasyonları için kararlılık değişikliğini tahmin etmek için kullanılan çevrimiçi bir sunucudur. MUpro, $\Delta\Delta G$ 'yi hesaplamak için bir tahmin edici olarak bir destek vektör makinesini benimser proteinin stabilite değişiminin yönünü değerlendirir (Cheng ve ark., 2006).

3.5. Project HOPE

Project HOPE; üç boyutlu protein yapısı üzerindeki hesaplamaları analiz edip veri bilgisi olarak raporlayan bir *in silico* yazılımıdır. Her amino asit kendine has yük, boyut, hidrofobiklik gibi özelliklere sahiptir. Orijinal yabancı tip rezidü ve mutasyona uğramış

rezidü birbirinden farklılık göstermektedir. Project HOPE yazılımı bu iki rezidü arasındaki değişimleri biyoinformatik araçlar kullanarak analiz eden ve protein modellerini sunan çevrimiçi yazılım araçlarındandır. UniProt veritabanındaki dizi açıklamalarını ve Reprof yazılımındaki tahminleri de kapsayan bir seri kaynaktan yapısal bilgileri toplamaktadır (Venselaar ve ark., 2010).

3.6. Gen- Gen Etkileşimlerinin Tayini

Gen-gen etkileşimlerinin analizi için GeneMANIA yazılım aracı kullanılmıştır. GeneMANIA, genlerin işlevi hakkında varsayımlar oluşturmak, gen dizilimleri oluşturmak, gen dizilimlerini çözümlmek ve fonksiyonel analizler için genleri tanımlamak için kullanılan bir yazılım aracıdır. Bu yazılım aracı bir gen taratıldığında başka genler ile olası etkileşimini bulmaktadır (Franz ve ark., 2018).

3.7. Protein-Protein Etkileşimlerinin Tayini

STRING yazılım aracı kullanılarak protein-protein etkileşimleri tayin edilmiştir. STRING veri tabanı, birden fazla organizma için bilinen veya olası protein-protein etkileşiminde yer alan verileri bir araya getirmektedir (Szklarczyk ve ark., 2017).

3.8. Evrimsel Korunum Analizi

ConSurf bir amino asidin makro moleküllerindeki (protein veya nükleik asit) evrimsel korunma derecesini tahmin etmek için ampirik bir Bayes yöntemi kullanan *in silico* bir araçtır. ConSurf sunucusu, homolog diziler arasındaki filogenetik ilişkilere dayalı olarak bir protein/DNA/RNA molekülündeki amino/nükleik asit pozisyonlarının evrimsel korunumunu tahmin etmek için kullanılan bir biyoinformatik araçtır. Bu araç genlerin birbirleriyle olan bağlantılarını göstermekte ve filogenetik bir hiyerarşi içerisinde korunum etkileşimlerinde kullanılan çevrimiçi yazılım araçlarındandır. Koruma dereceleri 0 ile 9 arasında değişmektedir, burada 1-4 puan değişken, 5-6 puan orta ve 7-9 puan korunmuştur (Ashkenazy ve ark., 2016).



Şekil 4. ConSurf Korunma Ölçeği Diyagramı

4. BULGULAR

4.1. *POP7*

4.1.1. *POP7* için veri eldesi

POP7 geni için UniProtKB kodu; O75817 olup UniProtKB Swiss Prot kodu; POP7_HUMAN'dır. Aralık 2021 de *POP7* geni için toplam 1671 SNP'nin 147 tanesinin missense SNP olduğuna NCBI dbSNP veri tabanından alınan bilgiler ile ulaşılmıştır.

4.1.2. *POP7* geninde missense SNP'lerin fonksiyonel analizi

4.1.2.1. *POP7* için SIFT sonuçları

POP7 genindeki 147 missense SNP SIFT yazılım aracı ile analiz edilmiştir. SIFT çevrim içi yazılımından elde edilen veriler ışığında 147 varyant içerisinde 7 tanesinin 'Zararlı', 9 tanesinin 'Zararsız(Tolere edilebilir)' olduğu verisine ulaşılmıştır. Bakılan 7 programdan ortak zarar verici SNP'ler filtrelendiğinde SIFT'de ortak zarar verici etkiye sahip SNP bilgisi yer almadığından *POP7* geni için fonksiyonel analizler tablosunda SIFT bilgisi "Ulaşılamadı" ibaresi eklenmiştir.

4.1.2.2. *POP7* için PolyPhen-2 sonuçları

PolyPhen-2 yazılım aracı HumDiv ve HumVar olarak iki sonuç vermektedir. Bu 147 SNP içerisinde PolyPhen-2 HumDiv verilerine göre 80 tane "Muhtemelen Zararlı", PolyPhen-2 HumVar verilerine göre ise 147 SNP'nin 64 tanesinin "Muhtemelen Zararlı" olduğu verisine ulaşılmıştır. Geri kalan missense SNP'lerin "Zararsız" olabileceği verisine ulaşılmıştır.

4.1.2.3. *POP7* için PHD-SNP sonuçları

PHD-SNP yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *POP7* geni için 147 missense SNP içerisinde 17 tanesinin "Hastalık" (Disease) ile ilişkili olduğu verisine ulaşılırken 130 varyantta ise "Nötr" (Neutral) verisine ulaşılmıştır.

4.1.2.4. *POP7* için Meta-SNP sonuçları

META-SNP yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *POP7* geni için 147 missense SNP içerisinde 30 tanesinin "Hastalık" (Disease) sonucuna ulaşılmıştır. 117 varyantın ise "Nötr" (Neutral) verisine ulaşılmıştır.

4.1.2.5. *POP7* için PROVEAN sonuçları

PROVEAN çevrim içi yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *POP7* geni için 147 missense SNP içerisinde 60 tanesinin ‘Zararlı (Deleterious)’ olduğu verisine, 87 varyantın ise ‘Nötr’ (Neutral) olduğu verisine ulaşılmıştır.

4.1.2.6. *POP7* için SNPs&GO sonuçları

SNPs&GO yazılım aracından elde edilen sonuçlara göre toplamda 147 missense SNP içerisinde 14 tanesinin sonucu ‘Hastalık’ ile ilişkilendirilmiş geri kalan 133’ünün ise ‘Nötr’ olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

4.1.2.7. *POP7* için SNAP2 sonuçları

SNAP2 yazılım aracında 147 SNP için amino asit değişimlerinin olası etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçların 101 tanesi ‘Etkili’ sonuç verirken geri kalan missense SNP içerisinde 46 tanesinin ‘Nötr’ sonucuna ulaşılmıştır.

4.1.3. *POP7* için tüm veri tabanlarında zararlı olduğu tespit edilen missense SNP’ler

POP7 genine ait 147 missense SNP’nin sebep olduğu amino asit değişiminin her biri; SIFT, PolyPhen-2 (PolyPhen-2 Hum-Var ve PolyPhen-2 Hum-Div), PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO ve SNAP2 çevrimiçi yazılım araçlarında taranmıştır. 147 missense SNP içinden yapılan *in silico* araştırmalara göre 7 programdan 8 sonuç elde edilmiş olup bu sonuçlardan 7 ve üzeri zararlı olanlar filtrelendiğinde *POP7* için 10 tane yüksek riskli SNP olduğu sonucuna varılmıştır. (rs558545173, rs755458828, rs758799064, rs781035351, rs781744076, rs897944213, rs1206660487, rs1288906320, rs1806532401, rs1806536802) (Tablo 1).

Tablo 1. POP7 Geninde Bulunan Ortak Zarar Verici missense SNP Gösterimi

SNP ID	Nükleotid Değişimi	Aminoasit Değişimi	SIFT	PolyPhen-2 HumDIV	PSIC SD	PolyPhen-2 HumVAR	Score	ProveanScore	PROVEAN	SNPs&GO	RI	Probability	PHD-SNP	RI	SNAP2	Score	Expected	Meta-SNP	RI
<u>rs558545173</u>	T/A,C	C52R	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	0.999	Muhtemel Zararlı	0.975	9.467	Zararlı	Hastalık	2	0.613	Hastalık	5	Etkili	74	85%	Hastalık	3
<u>rs755458828</u>	C/T	R125C	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	1.000	7.811	Zararlı	Hastalık	4	0.710	Hastalık	2	Etkili	80	91%	Hastalık	6
<u>rs758799064</u>	G/A,C	G73R	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	0.998	5.167	Zararlı	Hastalık	2	0.620	Hastalık	5	Etkili	90	95%	Hastalık	4
<u>rs781035351</u>	A/G	Y38C	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	1.000	7.900	Zararlı	Hastalık	5	0.729	Hastalık	1	Etkili	75	85%	Hastalık	5
<u>rs781744076</u>	A/G,T	H131L	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	0.978	Muhtemel Zararlı	0.774	10.467	Zararlı	Hastalık	5	0.771	Hastalık	5	Etkili	50	75%	Hastalık	4
<u>rs897944213</u>	C/T	H72Y	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	0.986	Muhtemel Zararlı	0.747	6.000	Zararlı	Hastalık	2	0.595	Hastalık	7	Etkili	66	80%	Hastalık	1
<u>rs120666048</u>	C/A	A77D	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	0.989	4.800	Zararlı	Hastalık	2	0.621	Hastalık	5	Etkili	82	91%	Hastalık	5
<u>rs128890632</u>	G/A	C52Y	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	0.987	8.733	Zararlı	Hastalık	1	0.550	Hastalık	6	Etkili	71	85%	Hastalık	2
<u>rs180653240</u>	A/G	H72R	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	0.989	8.000	Zararlı	Hastalık	4	0.717	Hastalık	3	Etkili	86	91%	Hastalık	4
<u>rs180653680</u>	C/T	H131Y	Ulaşılamadı	Muhtemel Zararlı	1.000	Muhtemel Zararlı	0.972	5.733	Zararlı	Hastalık	4	0.687	Hastalık	4	Etkili	56	75%	Hastalık	3

4.1.4. POP7 için I-Mutant ve MUpro programının sonuçları

POP7 geni için zararlı olduğu çevrim içi yazılım araçları ile tahmin edilen 10 SNP'nin sebep olduğu amino asit değişimlerinin protein stabilizasyonu üzerine etkisi için I-Mutant yazılımı kullanılmıştır. Sonuç olarak POP7 için 10 SNP'den 2 tanesinin protein stabilizasyonunu arttırdığı ve 8 tanesinin de azalttığı gösterilmiştir (Tablo 2).

MUpro yazılım aracı ile yapılan analizde ise Tablo 2'de de gösterildiği üzere 10 SNP'nin hepsi için protein stabilizasyonunu "Azaltıcı" etkide bulunabileceği tahmin edilmiştir.

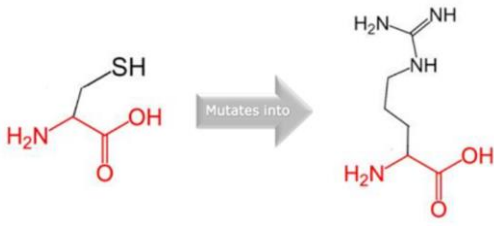
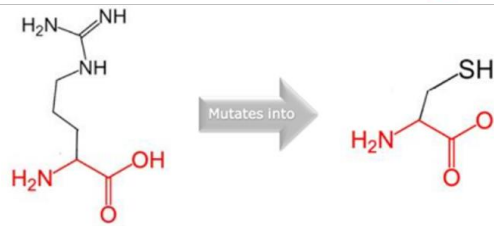
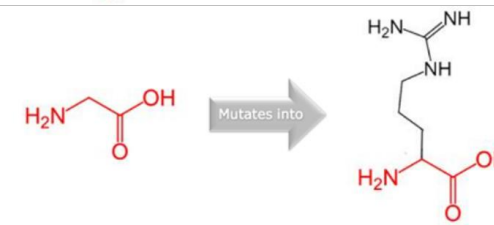
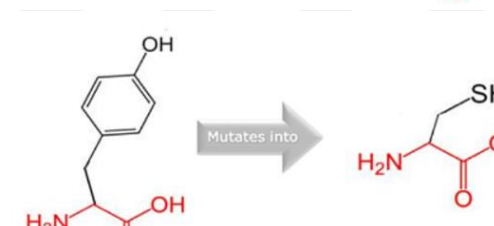
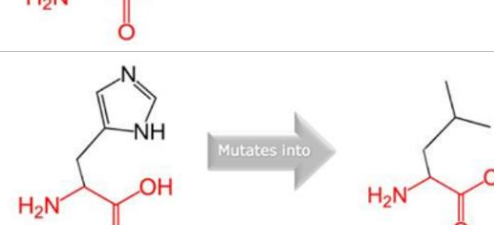
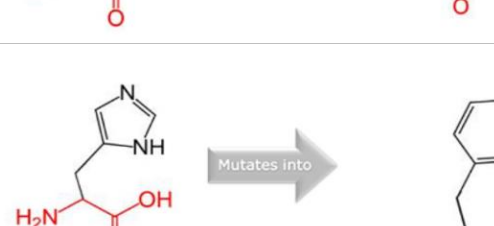
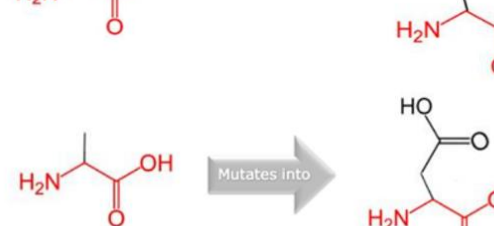
Tablo 2. POP7 Geni için I-Mutant ve MuPRO Sonuçları

SNP ID	I-MUTANT	RI	MuPRO	Delta-Delta G
rs558545173	AZALTICI	0	AZALTICI	-1.252
rs755458828	AZALTICI	5	AZALTICI	-0.875
rs758799064	AZALTICI	8	AZALTICI	-0.176
rs781035351	AZALTICI	2	AZALTICI	-1.131
rs781744076	ARTTIRICI	4	AZALTICI	-0.004
rs897944213	AZALTICI	2	AZALTICI	-0.878
rs1206660487	AZALTICI	5	AZALTICI	-0.301
rs1288906320	ARTTIRICI	0	AZALTICI	-1.199
rs1806532401	AZALTICI	8	AZALTICI	-1.127
rs1806536802	AZALTICI	3	AZALTICI	-0.606

4.1.5. POP7 için Project HOPE sonuçları

Her amino asidin kendine has yükü, büyüklüğü, hidrofobisitesi gibi değerleri bulunmaktadır. Project HOPE orijinal yabanıl tip ile mutant tip arasında ki değişimleri göstermekte ve amino asit değişimi sonucu amino asit yapısındaki değişimleri modellemeli şekilde göstermektedir. Bu çalışmada POP7 geninin kodladığı proteinin modelleri elde edilmiştir. SNP'lerin sebep olduğu amino asit değişimlerinin bulunduğu bölgelerin yakından görünümü model üzerinde gösterilmiştir (Tablo 3). Ayrıca, 10 adet aminoasit değişimi için 3 boyutlu modeller elde edilmiştir (Tablo 3). SNP'lerin sebep olduğu amino asit değişimlerinin bulunduğu bölgelerin yakından görünümü model üzerinde gösterilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. POP7 Geninin Project HOPE Yazılımı ile Modellenmesi

SNP ID	MODEL	Aminoasit Değişimleri
rs558545173		52. pozisyonda sistein aminoasidi arjinin aminoasidine dönüşmüştür.
rs755458828		125. pozisyonda arjinin aminoasidi sistein aminoasidine dönüşmüştür.
rs758799064		73. pozisyonda glisin aminoasidi arjinin aminoasidine dönüşmüştür.
rs781035351		38. konumda tirozin aminoasidi sistein aminoasidine dönüşmüştür.
rs781744076		131. pozisyonda histidin aminoasidi lösin aminoasidine dönüşmüştür.
rs897944213		72. pozisyonda histidin aminoasidi tirozin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1206660487		77. pozisyonda alanin aminoasidi aspartat aminoasidine dönüşmüştür

rs1288906320		52. pozisyonda sistein aminoasidi tirozin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1806532401		72. pozisyonda histidin aminoasidi arjinin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1806536802		131. pozisyona baktığımızda histidin aminoasidi tirozin aminoasidine dönüşmüştür.

■ Yabanıl rezidü ■ Mutant rezidü

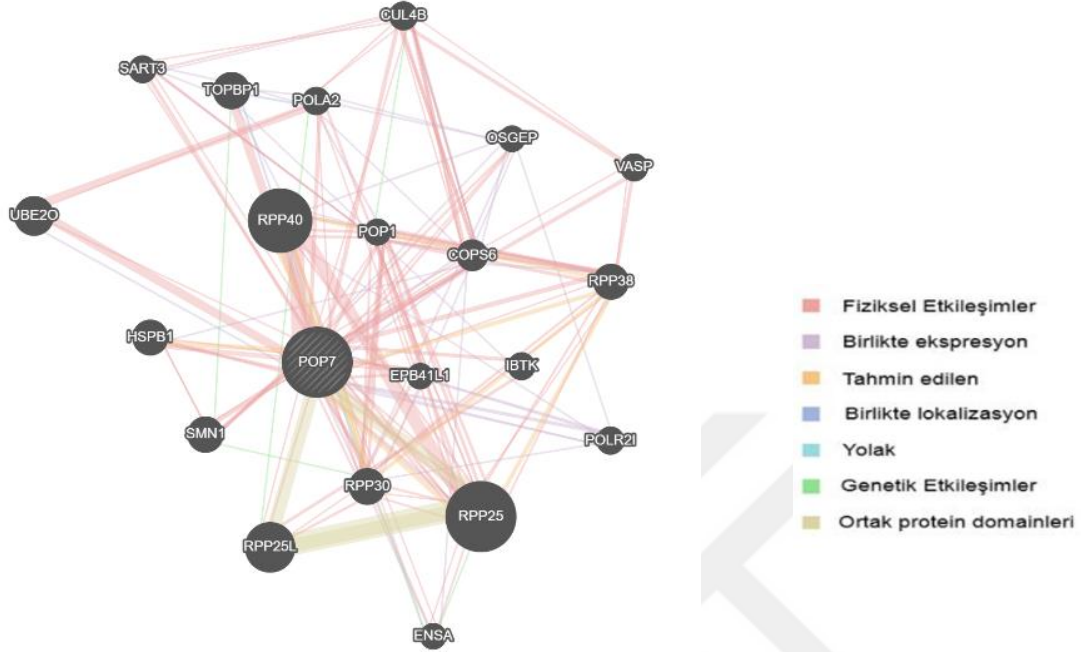
POP7 geni için Project HOPE ile üç boyutlu yapı analizi incelendiğinde:

- ✓ C52R: 52. pozisyonda sistein amino asidinin arjinin amino asidine dönüşümü söz konusudur ve buna bağlı olarak, yabanıl tip rezidünün yükü nötr, mutant rezidünün yükü pozitifdir. Yabanıl rezidünün mutant rezidüden daha hidrofobik olduğu ve mutant rezidünün, yabanıl rezidüden daha büyük olduğu verisine ulaşılmıştır.
- ✓ R125C: 125. pozisyonda arjinin amino asidinin sistein amino asidine dönüştüğü verisine ulaşılmıştır. Mutant rezidünün yabanıl rezidüden küçük olduğu, yabanıl rezidü yükünün pozitif, mutant rezidü yükünün nötr olduğu ve mutant rezidünün yabanıl rezidüden daha hidrofobik olduğu verilerine ulaşılmıştır.
- ✓ G73R: 73. pozisyonda glisin amino asidinin arjinin amino asidine dönüştüğü, mutant rezidünün yabanıl rezidüden daha büyük olduğu, yabanıl rezidü yükünün nötr, mutant rezidü yükünün pozitif olduğu ve yabanıl rezidünün mutant rezidüden daha hidrofobik olduğu verisine ulaşılmıştır.
- ✓ Y38C: 38. konumda tirozin amino asidi sistein amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabanıl rezidüden daha küçük olup mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.

- ✓ H131L: 131. pozisyona baktığımızda histidin amino asidi lösin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha küçük olup mutant rezidü yabancı rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ H72Y: 72. pozisyona baktığımızda histidin amino asidi tirozin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha büyük olup mutant rezidü yabancı rezidüden daha hidrofobiktir
- ✓ A77D: 77. pozisyona baktığımızda alanin amino asidi aspartat amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha büyüktür. Yabancı rezidü yükü nötr, Mutant rezidü yükü negatiftir. Yabancı rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ C52Y: 52. pozisyona baktığımızda sistein amino asidi tirozin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha büyüktür. Yabancı rezidü mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ H72R: 72. pozisyonda histidin amino asidi arjinin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha büyüktür. Yabancı rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü pozitiftir.
- ✓ H131Y: 131. pozisyona baktığımızda histidin amino asidi tirozin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü yabancı rezidüden daha büyük olup mutant rezidü yabancı rezidüden daha hidrofobiktir.

4.1.6. POP7 için gen-gen etkileşimleri

Şekil 5. POP7 için Gen-Gen Etkileşim Ağı

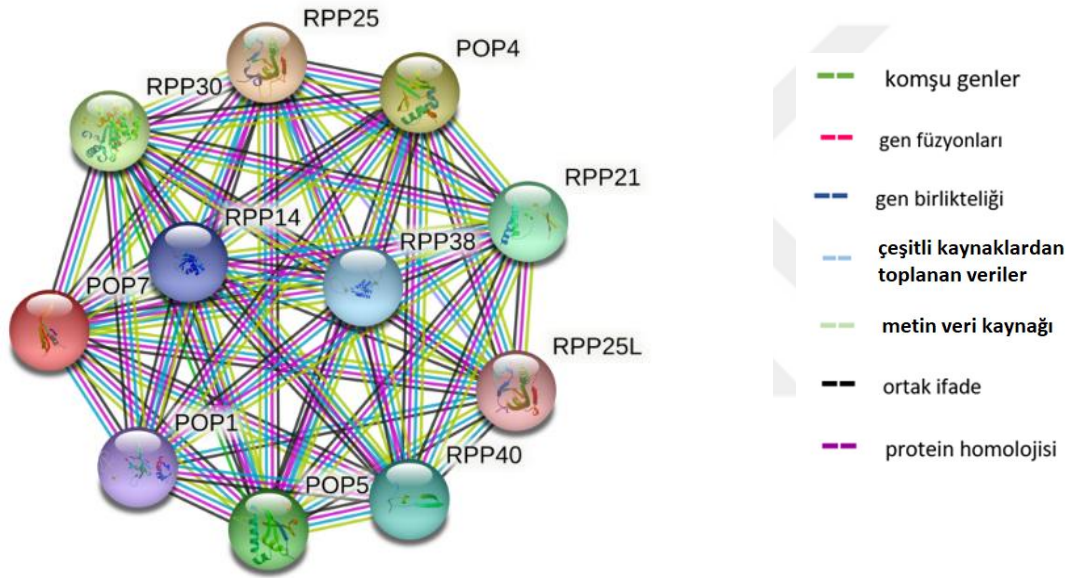


POP7 geninin diğer genler ile olan etkileşimini incelemek için GeneMANIA yazılım aracı kullanılmıştır. Bu yazılım aracı ile POP7 geninin diğer genler ile en fazla fiziksel etkileşim halinde olduğu görülmüştür. Bu oran %77,64'tür. POP7 geninin fiziksel etkileşim halinde olduğu genlerin SART3, CUL4B, TOPBP1, POLA2, OSGEP, VASP, UBE20, RPP40, POP1, COPS6, RPP38, HSPB1, EPB41L1, IBTK, SMN1, RPP30, RPP25, RPP25L ve ENSA olduğu gösterilmiştir. POP7 geninin ortak eksprese edildiği genler ile ilişkisi %8,01'dir. Bu genler POLR2I, SART3, CUL4B, TOPBP1, POLA2, OSGEP, UBE20, RPP40, POP1, COPS6, RPP38, HSPB1, IBTK, RPP30, RPP25L ve ENSA'dır. POP7 geninin diğer genler ile tahmin edilen etkileşim oranı %5,37'dir ve bu genler RPP40, RPP38, HSPB1, RPP30 ve RPP25 genleridir. POP7 geninin diğer genler ile ortak lokalizasyon oranı 3,63'tür. Bu genler CUL4B, TOPBP1, POLA2, COPS6 ve RPP30'dur. POP7 geninin diğer genler ile olan genetik etkileşim oranı 2,87'dir ve bu genler CUL4B, TOPBP1, POLA2, POP1, SMN1, RPP30, RPP25, RPP25L ve ENSA genleridir. POP7 geninin diğer genler ile ortak yolak üzerinde bulunma oranı 1,88'dir. POP7 geninin diğer genler ile paylaşılan protein domain oranı %0,60'tır ve bu genler RPP25 ve RPP25L'dir.

4.1.7. POP7 için protein-protein etkileşimi sonuçları

Protein-protein etkileşimleri için STRING veri tabanından faydalanılmıştır. Şekil6 POP7 için elde edilen protein-protein etkileşimlerini göstermektedir. POP7 geni için hangi genler ile etkileşimde bulunduğu ve protein-protein etkileşimleri detaylı şekilde tablolandırılmıştır. Buna göre POP7 geni için sırasıyla en çok etkileşimde bulunan proteinden en aza doğru; RPP25, POP4, RPP30, POP5, RPP21, RPP40, RPP38, RPP14, POP1 ve RPP25L proteinlerinin birbirleri ile etkileşim içerisinde olduğu gösterilmiştir(Tablo 4).

Şekil 6. POP7 için String Sonuçları



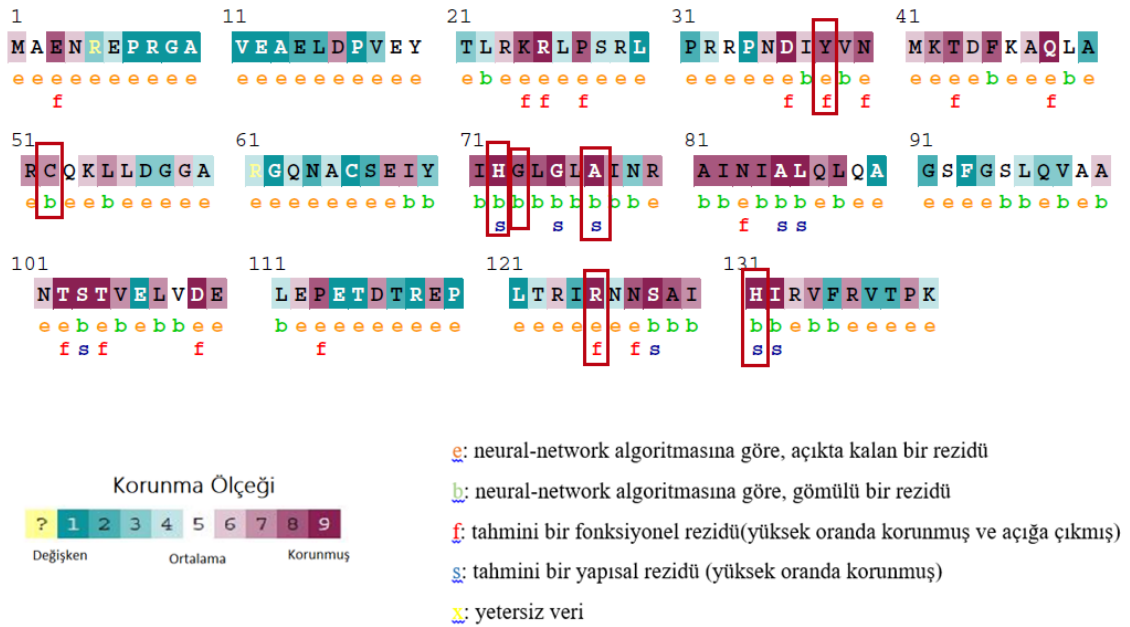
Tablo 4. POP7 için Protein-Protein Etkileşimindeki Genlerin Sıralaması

	EXPERIMENTS	DATABASES	TEXTMINING	HOMOLOGY	SCORE
POP7					
RPP25	*	*	*	*	0.999
POP4	*	*	*	*	0.999
RPP30	*	*	*	*	0.998
POP5	*	*	*	*	0.997
RPP21	*	*	*	*	0.997
RPP40	*	*	*	*	0.995
RPP38	*	*	*	*	0.995
RPP14	*	*	*	*	0.991
POP1	*	*	*	*	0.983
RPP25L	*	*	*	*	0.965

4.1.8. POP7 için evrimsel korunum analiz sonuçları

ConSurf sunucusu tarafından korunmuş rezidülerin tahmininde Ampirik Bayes çıkarımı kullanarak bir protein dizisi içindeki amino asidin evrimsel korunumu hesaplamaktadır. ConSurf sonuçları renk şeması ve koruma puanı ile birlikte vermektedir. Skorun 9 olması en çok korunan amino asit olduğunu 1 olması ise değişken amino asit olduğunu ifade etmektedir. POP7 için ConSurf yazılım aracından elde edilen sonuçlar Şekil 7’de verilmiştir.

Şekil 7. POP7 için ConSurf Sonuçları



Şekil 7 incelendiğinde;

- ✓ 38. ve 125. amino asit dönüşümünde neural-network algoritmasına göre, açıkta kalan bir rezidü, tahmini bir fonksiyonel rezidü olduğu ve buna ek koruma ölçeğinde 9 en çok korunan bilgilerine ulaşılmıştır.
- ✓ 52. ve 73. amino asit dönüşümünde neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü olduğu ve koruma ölçeğinde 7. numarada yer almaktadır.
- ✓ 72, 77. ve 131. amino asit dönüşümünde neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü, tahmini bir yapısal rezidü (yüksek oranda korunmuş) ve koruma ölçeğinde 9. sırada en çok korunanlar arasındadır.

4.2.GEMIN6

4.2.1. GEMIN6 için veri eldesi

Bu çalışmada analiz edilen *GEMIN6* geni için UniProtKB kodu; Q8WXD5 UniProtKB Swiss Prot kodu, GEMI6_HUMAN'dır. NCBI dbSNP veri tabanından Şubat 2022'de *GEMIN6* geninde toplam 4522 SNP olduğu, bunlardan 217 tanesinin missense SNP olduğu bilgisine ulaşılmıştır.

4.2.2. GEMIN6 geninde missense SNP'lerin fonksiyonel analizi

4.2.2.1. GEMIN6 için SIFT sonuçları

GEMIN6 için SIFT yazılım aracı ile yapılan analiz sonucunda 217 varyant içerisinde 74 tanesinin 'Zararlı', 143 tanesinin 'Zararsız(Tolere edilebilir)' olduğu verisine ulaşılmıştır.

4.2.2.2. GEMIN6 için PolyPhen-2 sonuçları

PolyPhen-2 yazılım aracı HumDiv ve HumVar olarak iki sonuç vermektedir. *GEMIN6* için 217 SNP içerisinde PolyPhen-2 HumDiv verilerine göre 127 tane "Muhtemelen Zararlı", PolyPhen-2 HumVar verilerine göre ise 217 SNP'nin 116 tanesinin "Muhtemelen Zararlı" olduğu tespit edilmiş olup diğer varyantlar için "Zararsız" verisine ulaşılmıştır.

4.2.2.3. GEMIN6 için PHD-SNP sonuçları

PHD-SNP yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *GEMIN6* geni için 217 missense SNP içerisinde 58 tanesinin "Hastalık" (Disease) olduğu ve bu 217 varyant içerisinde geri kalan 159 tanesinin de "Nötr" (Neutral) olduğu verisine ulaşılmıştır.

4.2.2.4. GEMIN6 için META-SNP sonuçları

META-SNP yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *GEMIN6* geni için 217 missense SNP içerisinde 52 tanesinin "Hastalık" (Disease), geri kalan 165 varyantın ise "Nötr" (Neutral) olduğu verisine ulaşılmıştır.

4.2.2.5. *GEMIN6* için PROVEAN sonuçları

PROVEAN çevrim içi yazılım aracındaki sonuçlar incelendiğinde *GEMIN6* geni için 217 missense SNP içerisinde 79 tanesinin “Zararlı” (Deleterious) olduğu, 138 varyantın ise “Nötr” (Neutral) olduğu verisine ulaşılmıştır.

4.2.2.6. *GEMIN6* için SNAP2 sonuçları

SNAP2 yazılım aracında 217 missense SNP için amino asit değişimlerinin olası etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçların 145 tanesi ‘Etkili’ sonuç verirken geri kalan 72 tanesinin ‘Nötr’ sonucuna ulaşılmıştır.

4.2.3. *GEMIN6* için tüm veri tabanlarında zararlı olduğu tespit edilen missense SNP’ler

GEMIN6 genine ait 217 amino asit değişiminin her biri; SIFT, PolyPhen-2, PHD-SNP, META-SNP, PROVEAN, SNAP2 çevrimiçi yazılım araçlarında taranmıştır. Her bir veri tabanında ‘Zararlı/Hastalık’ olduğu verisine ulaşılan toplamda ortak zarar verici 35 missense SNP verisine ulaşılmıştır. (rs138354097(R154C), rs138354097(R154S), rs150620456(R154P), rs150620456(R154H), rs202244208, rs530479807, rs556436296, rs747916454, rs749531806, rs754248655, rs756153830, rs757128366(P39A), rs757128366(P39S), rs757607089, rs768636330, rs769480214, rs772095779, rs778573363(P39R), rs778573363(P39L), rs905978224, rs913913851, rs1028539287, rs1049924099, rs1173900794, rs1215958194, rs1241966099, rs1319889731, rs1330974173, rs1335357664, rs1355479738, rs1669014139, rs1669016728, rs1669085745, rs1669098404, rs1669099201) sırasıyla gösterilmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. *GEMIN6* Geninde Bulunan Ortak Zarar Verici missense SNP Gösterimi

	SNP ID	İükleotid değişim	AA değişimi	SIFT Sonucu	SIFT Skoru	METASNP	score	Poly Phen 2HUMDIV	PSIC SD	POLY PHEN HUMVAR	Score	PROVEAN	Prediction	PHD-SNP	RI	SNAP2	Score	Expected Accuracy
rs138354097	C/A,T	R154S	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-5.217	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	66	80%
rs138354097	C/A,T	R154C	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-7.111	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	61	80%
rs150620456	G/A,C	R154H	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-4.436	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	50	75%
rs150620456	G/A,C	R154P	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-6.131	ZARARLI	HAST ALIK	5	ETKİLİ	79	85%
rs202244208	G/C	W109C	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-6.938	ZARARLI	HAST ALIK	0	ETKİLİ	49	71%
rs530479807	G/A,C	R21P	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	0.771	Muhtemel Zararlđ	0.455	-2.831	ZARARLI	HAST ALIK	4	ETKİLİ	75	85%
rs556436296	T/C	I135T	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	0.988	Muhtemel Zararlđ	0.783	-4.110	ZARARLI	HAST ALIK	7	ETKİLİ	68	80%
rs747916454	T/G	N148K	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-5.489	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	77	85%
rs749531806	C/A	N113K	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-4.761	ZARARLI	HAST ALIK	0	ETKİLİ	43	71%
rs754248655	T/G	V132G	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-3.377	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	57	75%
rs756153830	G/A	G32E	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	5		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-6.926	ZARARLI	HAST ALIK	5	ETKİLİ	83	91%
rs757128366	C/G,T	P39A	ZARARLI	0.040	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	0.999	Muhtemel Zararlđ	0.998	-7.126	ZARARLI	HAST ALIK	6	ETKİLİ	49	71%
rs757128366	C/G,T	P39S	ZARARLI	0.030	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-7.059	ZARARLI	HAST ALIK	7	ETKİLİ	55	75%
rs757607089	T/A	L133Q	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-4.161	ZARARLI	HAST ALIK	4	ETKİLİ	67	80%
rs768636330	G/A	C144Y	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-9.696	ZARARLI	HAST ALIK	4	ETKİLİ	69	80%
rs769480214	A/T	I150F	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-3.450	ZARARLI	HAST ALIK	2	ETKİLİ	39	66%
rs772095779	G/A	G121E	ZARARLI	0.020	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	0.978	Muhtemel Zararlđ	0.885	-3.182	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	58	75%
rs778573363	C/G,T	P39R	ZARARLI	0.030	HAST ALIK	5		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-8.025	ZARARLI	HAST ALIK	8	ETKİLİ	77	85%
rs778573363	C/G,T	P39L	ZARARLI	0.020	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-8.857	ZARARLI	HAST ALIK	8	ETKİLİ	70	85%
rs905978224	A/G	Y139C	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-7.975	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	79	85%
rs913913851	T/C	L127P	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	0.998	Muhtemel Zararlđ	0.964	-4.108	ZARARLI	HAST ALIK	6	ETKİLİ	84	91%
rs1028539287	T/C,A	V65G	ZARARLI	0.020	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	0.994	Muhtemel Zararlđ	0.936	-5.933	ZARARLI	HAST ALIK	2	ETKİLİ	76	85%
rs1049924099	C/G	C144W	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-9.731	ZARARLI	HAST ALIK	4	ETKİLİ	72	85%
rs1173900794	T/C	Y139H	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-4.512	ZARARLI	HAST ALIK	2	ETKİLİ	84	91%
rs1215958194	T/C	I150T	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.998	-4.138	ZARARLI	HAST ALIK	4	ETKİLİ	50	75%
rs1241966099	T/A	I115N	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	0.999	Muhtemel Zararlđ	0.972	-5.144	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	55	75%
rs1319889731	G/C	G32R	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-6.926	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	87	91%
rs1330974173	C/G	P138R	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	1.000	-8.242	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	81	91%
rs1335357664	T/A	I117N	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	0.912	Muhtemel Zararlđ	0.757	-4.918	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	58	75%
rs1355479738	G/A,C	C128Y	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-3.306	ZARARLI	HAST ALIK	5	ETKİLİ	63	80%
rs1669014139	T/G	Y15D	ZARARLI	0.040	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	0.995	Muhtemel Zararlđ	0.900	-6.451	ZARARLI	HAST ALIK	6	ETKİLİ	82	91%
rs1669016728	C/T	S41F	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	4		Muhtemel Zararlđ	0.928	Muhtemel Zararlđ	0.859	-5.028	ZARARLI	HAST ALIK	7	ETKİLİ	63	80%
rs1669085745	T/A	V45D	ZARARLI	0.000	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	0.999	Muhtemel Zararlđ	0.981	-6.367	ZARARLI	HAST ALIK	5	ETKİLİ	69	80%
rs1669098404	T/C	I151T	ZARARLI	0.040	HAST ALIK	2		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.998	-3.607	ZARARLI	HAST ALIK	1	ETKİLİ	59	75%
rs1669099201	G/C	Q156H	ZARARLI	0.010	HAST ALIK	3		Muhtemel Zararlđ	1.000	Muhtemel Zararlđ	0.999	-3.969	ZARARLI	HAST ALIK	3	ETKİLİ	44	71%

4.2.4. *GEMIN6* için I-Mutant ve MUpro programının sonuçları

GEMIN6 geni için zararlı olduğu biyoinformatik araçlar ile tahmin edilen 35 SNP'nin sebep olduğu amino asit değişimlerinin protein stabilizasyonu üzerine etkisi I-Mutant yazılımı kullanılarak elde edilmiştir. Sonuç olarak *GEMIN6* için 35 SNP'den 2 tanesinin protein stabilizasyonunu 'arttırdığı' ve 33 tanesinin de 'azalttığı' gösterilmiştir (Tablo 6).

MUpro yazılım aracı ile yapılan analizde ise Tablo 6'da gösterildiği üzere 35 SNP'nin bir tanesinin 'arttırıcı' diğer 34 varyantın ise 'azaltıcı' etkide bulunabileceği tahmin edilmiştir.

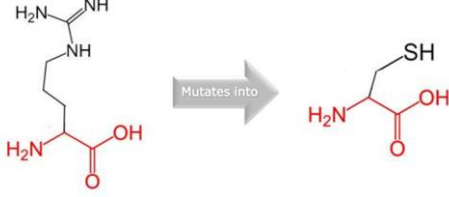
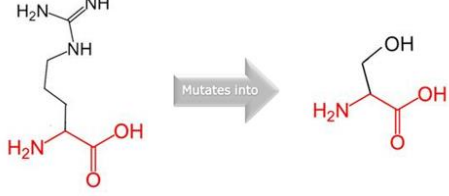
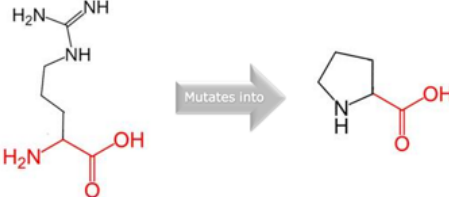
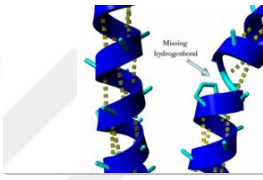
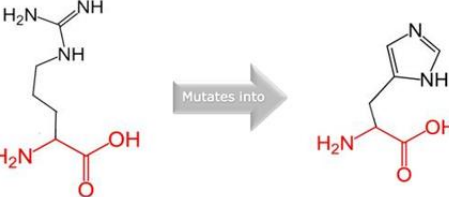
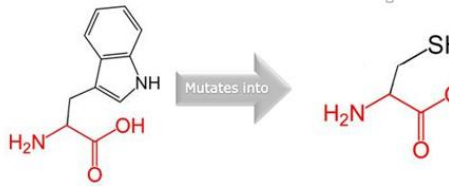
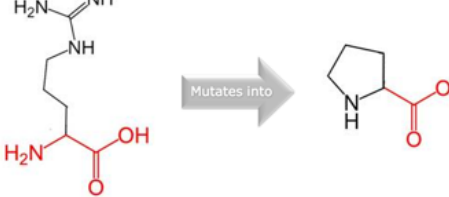
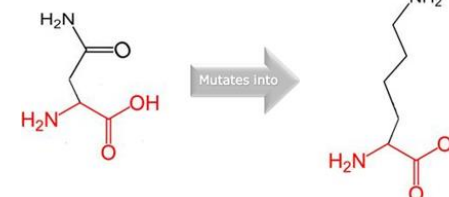
Tablo 6. *GEMIN6* Geni için I-Mutant ve MuPRO Sonuçları

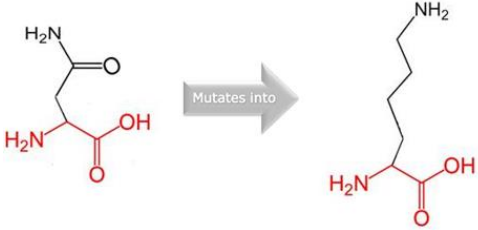
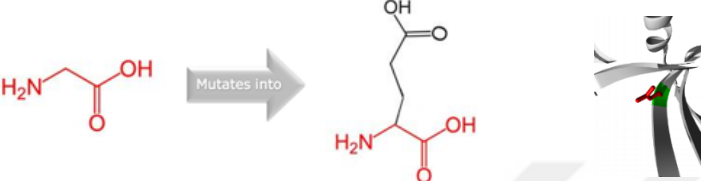
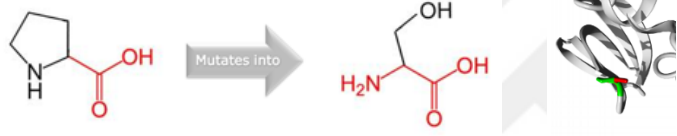
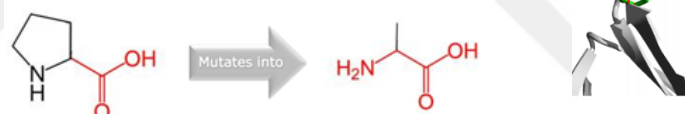
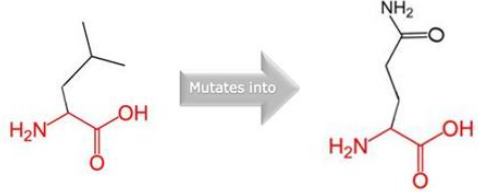
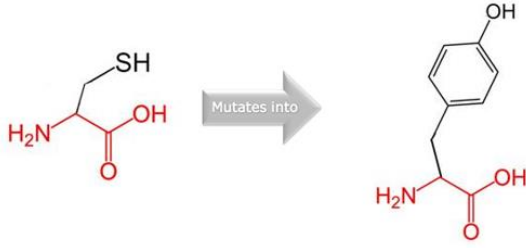
SNP ID	I-MUTANT	RI	MuPRO Stabilite	Delta-DeltaG
rs138354097	AZALTICI	3	AZALTICI	-1.205
rs138354097	AZALTICI	5	AZALTICI	-1.100
rs150620456	AZALTICI	8	AZALTICI	-1.223
rs150620456	AZALTICI	3	AZALTICI	-1.400
rs202244208	AZALTICI	6	AZALTICI	-0.807
rs530479807	AZALTICI	5	AZALTICI	-0.744
rs556436296	AZALTICI	8	AZALTICI	-2.100
rs747916454	AZALTICI	6	AZALTICI	-1.507
rs749531806	AZALTICI	2	AZALTICI	-1.652
rs754248655	AZALTICI	10	AZALTICI	-2.752
rs756153830	ARTTIRICI	2	AZALTICI	-0.919
rs757128366	AZALTICI	9	AZALTICI	-0.556
rs757128366	AZALTICI	9	AZALTICI	-0.721
rs757607089	AZALTICI	8	AZALTICI	-1.293
rs768636330	AZALTICI	5	AZALTICI	-1.139
rs769480214	AZALTICI	9	AZALTICI	-1.571
rs772095779	AZALTICI	3	AZALTICI	-0.204
rs778573363	AZALTICI	8	AZALTICI	-0.507
rs778573363	AZALTICI	8	ARTTIRICI	0.124
rs905978224	AZALTICI	4	AZALTICI	-0.709
rs913913851	AZALTICI	6	AZALTICI	-1.426
rs1028539287	AZALTICI	9	AZALTICI	-2.524
rs1049924099	AZALTICI	7	AZALTICI	-1.288
rs1173900794	AZALTICI	7	AZALTICI	-1.019
rs1215958194	AZALTICI	9	AZALTICI	-2.679
rs1241966099	AZALTICI	6	AZALTICI	-1.565
rs1319889731	AZALTICI	8	AZALTICI	-0.946
rs1330974173	AZALTICI	9	AZALTICI	-0.763
rs1335357664	AZALTICI	7	AZALTICI	-1.021
rs1355479738	AZALTICI	3	AZALTICI	-1.074
rs1669014139	AZALTICI	2	AZALTICI	-1.028
rs1669016728	ARTTIRICI	0	AZALTICI	-0.124
rs1669085745	AZALTICI	9	AZALTICI	-1.609
rs1669098404	AZALTICI	9	AZALTICI	-1.738
rs1669099201	AZALTICI	7	AZALTICI	-1.000

4.2.5. *GEMIN6* geni için 3 boyutlu modellemede Project HOPE

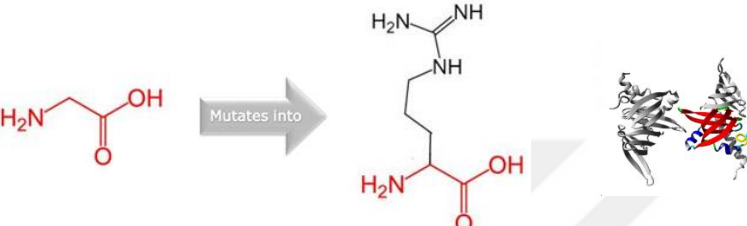
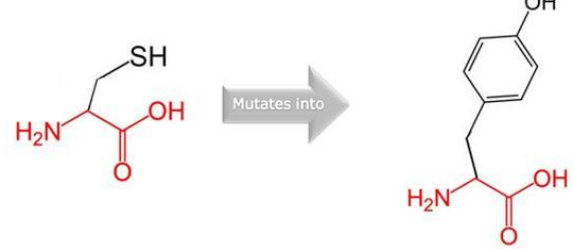
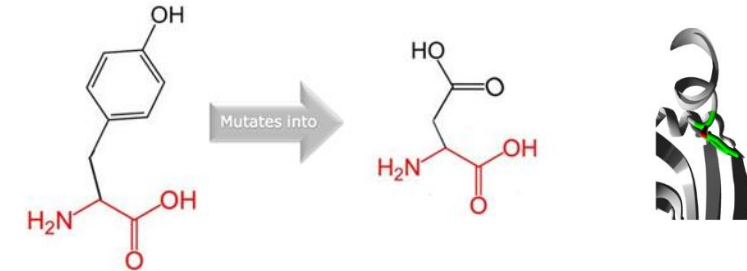
Bu çalışmada *GEMIN6* geninin kodladığı proteinin modelleri elde edilmiş ve tablo haline getirilmiştir (Tablo 7). Ayrıca *GEMIN6* geninin kodladığı proteinde yer alan SNP'lerin sebep olduğu amino asit değişimlerinden bazıları için 3 boyutlu modeller elde edilmiştir. Bu SNP'lerden rs150620456 polimorfizminde 154. konumda ki arjinin aminoasidinin prolin aminoasidine mutasyonu söz konusudur. Burada yabanıl tip rezidünün Reprof yazılımından faydalanılarak bir alfa sarmalında yer alacağı tahmin edilmektedir. Prolin aminoasidi, sarmalın ilk 3 konumundan birinde bulunmadığı için alfa sarmalını bozar. Bu durumda eldeki amino asit dönüşümü sarmal bozulur ve bu proteinin yapısı üzerinde ciddi etkiler yapabilir (Venselaar ve ark., 2010). *GEMIN6* geninde bulunan 35 missense SNP'nin 24 tanesinde 3 boyutlu yapı analizi Project HOPE tarafından üretilenmemiştir. Bunlar sırasıyla; rs138354097(R154C), rs138354097(R154S), rs150620456(R154P), rs150620456(R154H), rs202244208, rs556436296, rs747916454, rs749531806, rs754248655, rs757607089, rs768636330, rs769480214, rs772095779, rs905978224, rs913913851, rs1049924099, rs1173900794, rs1215958194, rs1241966099, rs1330974173, rs1335357664, rs1355479738, rs1669098404, rs1669099201 polimorfizmleridir. Bu polimorfizmler için yapısal bilgi elde edilememiştir. Hope yazılımı amino asit dönüşüm analizlerinde, UniProt veri tabanından gelen açıklamaları ve Reprof yazılım bilgilerini kullanmıştır. *GEMIN6* geninin kodladığı proteinler için Project HOPE yazılımının 3 boyutlu tahminde bulunduğu bilgiler gösterilmiştir (Tablo 7). 35 missense SNP içinden 11 tanesinin 3 boyutlu yapısı tabloda detaylandırılmıştır.

Tablo 7. *GEMIN6* Geninin ProjectHOPE Yazılımı ile Modellenmesi

SNP ID	MODEL	Aminoasit Değişimleri
rs138354097		154. aminoasit dönüşümü için arjinin aminoasidi sistein aminoasidine dönüşmüştür.
rs138354097		154. aminoasit dönüşümünde arjinin aminoasidi serin aminoasidine dönüşmüştür.
rs150620456	 	154. aminoasit dönüşümünde arjinin aminoasidi prolin aminoasidine dönüşmüştür.
rs150620456		154. aminoasit dönüşümünde arjinin aminoasidi histidin aminoasidine dönüşmüştür.
rs202244208		109. aminoasit dönüşümünde triptofan aminoasidi sistein aminoasidine dönüşmüştür.
rs530479807	 	21. aminoasit dönüşümünde arjinin aminoasidi prolin aminoasidine dönüşmüştür.
rs556436296		135. aminoasit dönüşümünde izolösin aminoasidi treonin aminoasidine dönüşmüştür.
rs747916454		148. aminoasit dönüşümünde asparajin aminoasidi lizin aminoasidine dönüşmüştür.

rs749531806		113. aminoasit dönüşümünde asparajin aminoasidi lizin aminoasidine dönüşmüştür.
rs754248655		132. aminoasit dönüşümünde valin aminoasidi glisin aminoasidine dönüşmüştür.
rs756153830		32. dönüşüm glisin aminoasidi glutamat aminoasidine dönüşmüştür.
rs757128366		39. aminoasit dönüşümünde prolin aminoasidi serin aminoasidine dönüşmüştür.
rs757128366		39. pozisyonadaki prolin aminoasidi alanin aminoasidine dönüşmüştür.
rs757607089		133. konumdaki lösin aminoasidi glutamin aminoasidine dönüşmüştür.
rs768636330		144. pozisyonunda sistein aminoasidi tirozin aminoasidine dönüşmüştür.
rs769480214		150. aminoasit dönüşümünde izolösin aminoasidi fenilalanin aminoasidine dönüşmüştür.

rs772095779		121. pozisyonadaki aminoasit dönüşümünde glisin aminoasidi glutamat aminoasidine dönüşmüştür.
rs778573363		39. pozisyonunda prolin aminoasidinin lösin aminoasidine dönüşümü söz konusudur
rs778573363		39. konumdaki dönüşüm prolin aminoasidinin arjinin aminoasidine dönüşümüdür.
Rs905978224		139. konumdaki tirozin aminoasidi sistein aminoasidine dönüşmüştür.
rs913913851		127. konumda lösin aminoasidi prolin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1028539287		65. konumda valin aminoasidi glisin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1049924099		144. aminoasit dönüşümü sistein aminoasidinden triptofan aminoasidinedir
rs1173900794		139. konumdaki tirozin aminoasidi histidin aminoasidine dönüşmüştür.

rs1215958194		150. pozisyonadaki dönüşümde izolösin aminoasidi treonin aminoasidine dönüşmüştür
rs1241966099		115. konumdaki dönüşümünde izolösin aminoasidi asparajin aminoasidine dönüşmüştür
rs1319889731		32. konumdaki dönüşümünde glisin aminoasidi arjinin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1330974173		138. konumdaki dönüşümde glisin aminoasidi arjinin aminoasidine dönüşmüştür
rs1335357664		117. konumdaki dönüşümde izolösin aminoasidi asparajin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1355479738		128. pozisyonadaki dönüşümde sistein aminoasidi tirozin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1669014139		15. pozisyonadaki dönüşümde tirozin aminoasidi aspartat aminoasidine dönüşmüştür

rs1669016728		41. pozisyonadaki dönüşümde serin aminoasidi fenilalanin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1669085745		45. pozisyonadaki dönüşümde valin aminoasidinin aspartat aminoasidine dönüşmüştür.
rs1669098404		151. konumdaki aminoasit dönüşümünde izolösin aminoasidi treonin aminoasidine dönüşmüştür.
rs1669099201		156. konumdaki dönüşümde glutamin aminoasidi histidin aminoasidine dönüşmüştür.

Yabanıl rezidü Mutant rezidü

GEMIN6 için Project HOPE sonuçları incelendiğinde:

- ✓ R154C: 154. amino asit dönüşümü için arjinin amino asidi sistein amino asidine dönüşmüş olup bu dönüşüm sonucu: Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü pozitif, mutant rezidü yükü nötr'dür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ R154S: 154. amino asit dönüşümünde arjinin amino asidi serin amino asidine dönüşmüş olup bu dönüşüm sonucu: Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü pozitif, mutant rezidü yükü nötr'dür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ R154P: 154. amino asit dönüşümünde arjinin amino asidi prolin amino asidine dönüşmüş olup bu dönüşüm sonucu: Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü pozitif, mutant rezidü yükü nötr'dür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.

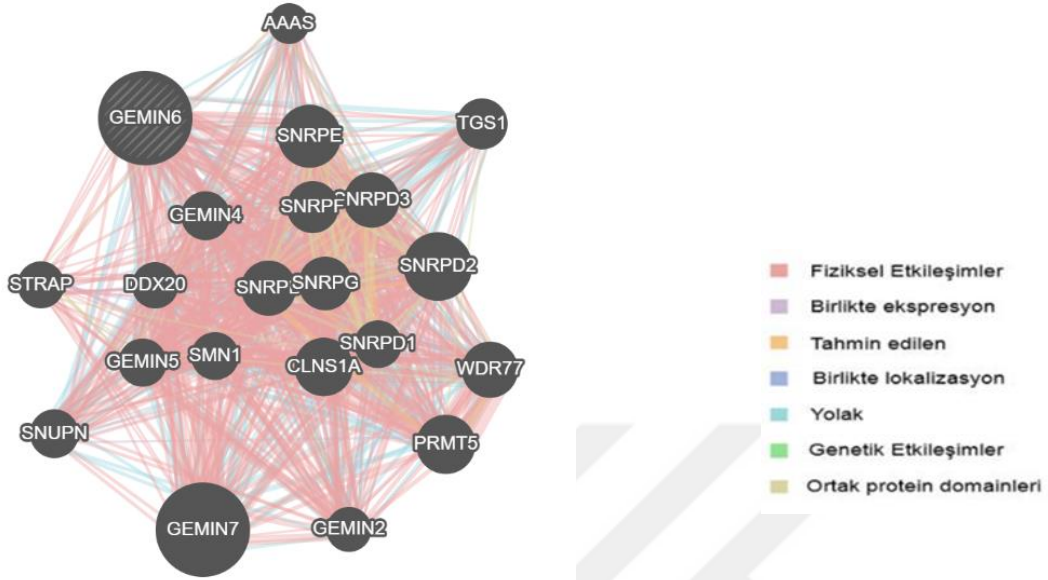
- ✓ R154H: 154. amino asit dönüşümünde arjinin amino asidi histidin amino asidine dönüşmüş olup bunun sonucu: Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü pozitif, mutant rezidü yükü nötr'dür.
- ✓ W109C: 109. amino asit dönüşümünde triptofan amino asidi sistein amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür.
- ✓ R21P: 21. pozisyondaki amino asit dönüşümü arjinin amino asidi prolin amino asidine dönüşmüş olup bunun sonucu: Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü pozitif, mutant rezidü yükü nötr'dür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ I135T: 135. pozisyondaki amino asit dönüşümünde izölösün amino asidi treonin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ N148K: 148. pozisyondaki amino asit dönüşümünde asparajin amino asidi lizin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü pozitifdir.
- ✓ N113K: 113. pozisyondaki amino asit dönüşümünde asparajin amino asidi lizin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü pozitifdir.
- ✓ V132G: 132. pozisyondaki amino asit dönüşümünde valin amino asidi glisin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, vahşi tip rezidüden daha küçüktür. Yabanıl tip rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ G32E: 32. dönüşümde glisin amino asidi glutamat amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü negatiftir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ P39S: 39. pozisyondaki amino asit dönüşümünde prolin amino asidi serin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ P39A: 39. pozisyondaki bir diğer dönüşüm ise prolin amino asidinin alanin amino asidine dönüşmesi ile sonuçlanmıştır. Mutant rezidünün, yabanıl rezidüden daha küçüktür.
- ✓ L133Q: 133. konumdaki lösün amino asidi glutamin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü mutant rezidüden daha hidrofobiktir.

- ✓ C144Y: 144. pozisyondaki dönüşümde sistein amino asidi tirozin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyük, yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ I150F: 150. amino asit dönüşümüne baktığımızda izolösin amino asidi fenilalanin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür.
- ✓ G121E: 121. pozisyondaki amino asit dönüşümünde glisin amino asidi glutamat amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü negatiftir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ P39L: 39. pozisyondaki bir diğer dönüşüm ise prolin amino asidinin lösin amino asidine dönüşümüdür. Buna bağlı olarak mutant rezidünün, yabanıl rezidüden daha büyük olduğu verisine ulaşılmıştır.
- ✓ P39R: 39. konumdaki bir diğer dönüşüm prolin amino asidinin arjinin amino asidine dönüşümüdür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü pozitiftir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ Y139C: 139. konumdaki tirozin amino asidi sistein amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ L127P: 127. dizideki mutasyon lösin amino asidinden prolin amino asidine dönüşüm söz konusudur. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür.
- ✓ V65G: 65. amino asit dönüşümü sonucu valin amino asidi glisin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ C144W: 144. amino asit dizisindeki dönüşümde sistein amino asidinden triptofan amino asidine dönüşüm görülmektedir. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür.
- ✓ Y139H: 139. konumdaki tirozin amino asidi histidin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ I150T: 150. pozisyondaki dönüşümde izolösin amino asidi treonin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü mutant rezidüden daha hidrofobiktir.

- ✓ I115N: 115. konumdaki amino asit dönüşümünde izolösin amino asidi asparajin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ G32R: 32. konumdaki amino asit dönüşümünde glisin amino asidi arjinin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ P138R: 138. konumdaki amino asit dönüşümü incelendiğinde prolin amino asidi arjinin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü pozitifdir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ I117N: 117. konumdaki dönüşüm incelendiğinde izolösin amino asidi asparajin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Yabanıl tip rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ C128Y: 128. pozisyonundaki dönüşüm sistein amino asidin tirozin amino asidine dönüşümü ile sonuçlanmış; Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyük, yabanıl rezidü mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ Y15D: 15. pozisyonundaki dönüşüm tirozin amino asidi aspartat amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü yükü nötr, mutant rezidü yükü negatiftir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ S41F: 41. pozisyonundaki dönüşüm incelendiğinde serin amino asidi fenilalanin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ V45D: 45. pozisyonundaki dönüşüm incelendiğinde valin amino asidinin aspartat amino asidine dönüşümü söz konusudur. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyük, yabanıl rezidü yükü nötr mutant rezidü yükü negatiftir. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ I151T: 151. konumdaki amino asit dönüşümünde izolösin amino asidi treonin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha küçüktür. Yabanıl rezidü, mutant rezidüden daha hidrofobiktir.
- ✓ Q156H: 156. konumdaki dönüşümde glutamin amino asidi histidin amino asidine dönüşmüştür. Mutant rezidü, yabanıl rezidüden daha büyüktür.

4.2.6. *GEMIN6* için gen-gen etkileşimleri

Şekil 8. *GEMIN6* için Gen-Gen Etkileşim Ağı



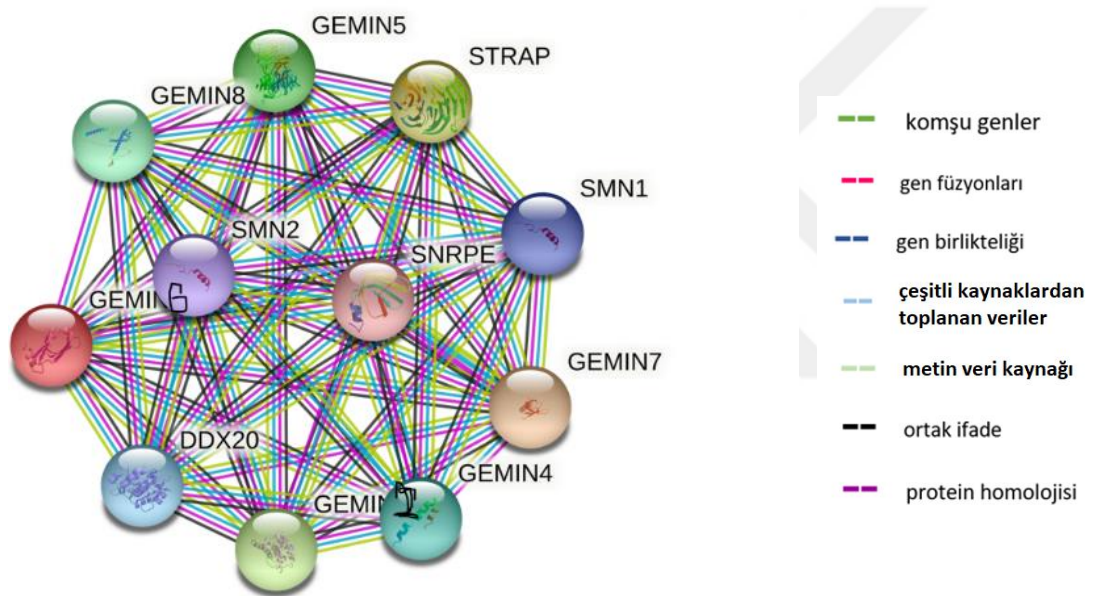
GEMIN6 geninin diğer genler ile olan etkileşimini incelemek için GeneMANIA yazılım aracı kullanılmıştır. Bu yazılım aracı ile *GEMIN6* geninin diğer genler ile en fazla fiziksel etkileşim halinde olduğu görülmüştür. Bu oran %77,64'tür ve *GEMIN6* geninin fiziksel etkileşim halinde olduğu genlerin AAAS, SNRPE, TGS1, GEMIN4, SNRPF, SNRPD3, STRAP, DDX20, SNRPB, SNRPG, SNRPD2, GEMIN5, SMN1, CLNS1A, SNRPD1, SNUPN, GEMIN7, GEMIN2, PRMT5 ve WDR77 olduğu gösterilmiştir. *GEMIN6* geninin ortak eksprese edildiği genler ile ilişkisi %8,01'dir ve bu genler AAAS, SNRPE, TGS1, GEMIN4, SNRPF, SNRPD3, STRAP, DDX20, SNRPB, SNRPG, SNRPD2, GEMIN5, CLNS1A, SNRPD1, SNUPN, GEMIN7, GEMIN2, PRMT5 ve WDR77'dir. *GEMIN6* geninin diğer genler ile tahmin edilen etkileşim oranı %5,37'dir ve bu genler SNRPE, SNRPF, SNRPD3, SNRPB, SNRPD2, SNRPD1, PRMT5 ve WDR77 genleridir. *GEMIN6* geninin diğer genler ile ortak lokalizasyon oranı 3,63'tür ve bu genler AAAS, SNRPE, GEMIN4, SNRPF, SNRPD3, STRAP, SNRPB, SNRPG, SNRPD2, CLNS1A, SNRPD1, GEMIN2, PRMT5 ve WDR77'dur. *GEMIN6* geninin diğer genler ile olan genetik etkileşim oranı 2,87'dir ve bu genler GEMIN4, SNRPD3, DDX20, SNRPB, SNRPG, SMN1, CLNS1A, SNRPD1, GEMIN7, GEMIN2 ve PRMT5 genleridir. *GEMIN6* geninin diğer genler ile ortak yolak üzerinde bulunma oranı 1,88'dir ve bu genler AAAS, SNRPE, TGS1, GEMIN4, SNRPF, SNRPD3, DDX20, SNRPB, SNRPG, SNRPD2, GEMIN5, SMN1, CLNS1A, SNRPD1, SNUPN, GEMIN7,

GEMIN2, PRMT5 ve WDR77'dir. *GEMIN6* geninin diğer genler ile paylaşılan protein domain oranı %0,60'tır ve bu genler AAAS, SNRPE, TGS1, SNRPF, SNRPD3, STRAP, SNRPB, SNRPG, SNRPD2, GEMIN5, SNRPD1, PRMT5 ve WDR77'dir.

4.2.7. *GEMIN6* için protein-protein etkileşimi sonuçları

GEMIN6 geni için protein-protein etkileşimleri gösterilmiştir (Şekil 9). STRING veri tabanından aldığımız bilgilere göre protein-protein etkileşiminde; *GEMIN6* geni için sırasıyla çoktan aza doğru; GEMIN7, STRAP, GEMIN2, GEMIN5, GEMIN8, GEMIN4, DDX20, SMN1, SMN2, SNRPE etkileşimleri olduğu gösterilmiştir (Tablo 8).

Şekil 9. *GEMIN6* için String Sonuçları



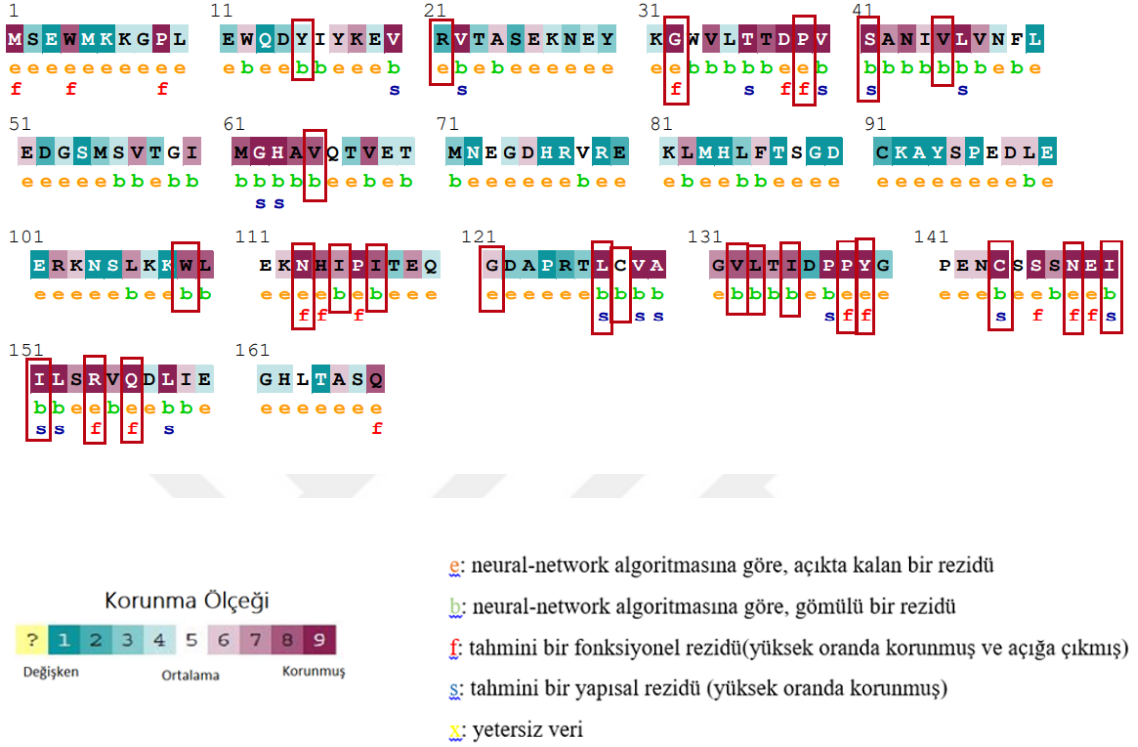
Tablo 8. *GEMIN6* için Protein-Protein Etkileşimindeki Genlerin Sıralaması

	EXPERIMENTS, DATABASES, TEXTMINING, HOMOMOLOGY, SCORE				
GEMIN6					
GEMIN7	*	*	*	*	0.999
STRAP	*	*	*	*	0.999
GEMIN2	*	*	*	*	0.998
GEMIN5	*	*	*	*	0.997
GEMIN8		*	*	*	0.997
GEMIN4	*	*	*	*	0.996
DDX20	*	*	*	*	0.996
SMN1	*	*	*	*	0.993
SMN2	*	*	*	*	0.988
SNRPE	*	*	*	*	0.987

4.2.8. GEMIN6 için evrimsel filogenetik analiz sonuçları

Şekil 10'da GEMIN6 için ConSurf yazılım aracından elde edilen sonuçlar gösterilmiştir.

Şekil 10. GEMIN6 için ConSurf Sonuçları



Şekil 10 incelendiğinde;

- ✓ 15. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü ve koruma ölçeği 4. sırada yer almaktadır.
- ✓ 21. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, açıkta kalan bir rezidü ve koruma ölçeğinde 1. sırada en çok değişken sırasında bulunmaktadır.
- ✓ 32, 39, 113, 138, 139, 148, 154. ve 156. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, açıkta kalan bir rezidü ve tahmini bir fonksiyonel rezidü ve koruma ölçeğinde 9. en çok korunanlar arasındadır.
- ✓ 41, 127, 144, 150. ve 151. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü, tahmini bir yapısal rezidü (yüksek oranda korunmuş) ve koruma ölçeğinde 9. en çok korunanlar arasındadır.
- ✓ 45, 109. ve 117. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü koruma ölçeğinde 8. numarada yer almaktadır.

- ✓ 65. ve 115. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü koruma ölçeğinde 7. numarada yer almaktadır.
- ✓ 121. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, açıkta kalan bir rezidü ve koruma ölçeğinde, 7. sırada bulunmaktadır.
- ✓ 128. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, açıkta kalan bir rezidü ve koruma ölçeğinde 5. sırada bulunmaktadır.
- ✓ 132, 133. ve 135. dönüşüm neural-network algoritmasına göre, gömülü bir rezidü koruma ölçeğinde 8. numarada yer almaktadır.



5. TARTIŞMA

SMA nadir görülen hastalık gruplarından. Bu hastalık merkezi sinir sistemini ve iskelet kas sistemini etkilemesiyle bilinen kalıtsal olarak ilerleyen nöron hastalık gruplarından. Kişi bilinçli eylemlerini yapamamaktadır. Genellikle bebeklik ölümlerinin görüldüğü hastalık grubundan sayılmaktadır. SMA omurilikte motor sinir hücrelerini etkilemektedir. Genel olarak yürüme, yemek yeme, nefes alma gibi temel kabiliyetlerin ortadan kalkması sonucu ölümle sonuçlanabilmektedir.

In silico araçlar, amino asit değişimleri hakkında verilere ulaşmada, protein yapısı ve işlevi üzerindeki etkileri belirlemede ve tek nükleotid polimorfizminin neden olduğu hastalıkların mekanizmasını anlamada kritik öneme sahiptir.

POP7 ve *GEMIN6* genlerindeki SNP'lerin, NCBI dbSNP veri tabanından missense SNP verilerine ulaşılmıştır. *POP7* için NCBI dbSNP verisi; 1671 SNP'nin 147 tanesinin missense SNP olduğu verisine ulaşılmıştır. SIFT, PolyPhen-2, PHD-SNP, MetaSNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2 yazılım araçları kullanılarak missense SNP'lerin olası zararlı etkileri bilgisine ulaşılmıştır. *POP7* için SIFT programı hariç diğer (PolyPhen-2 (Hum-Div, Hum-Var), PHD-SNP, MetaSNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2) 6 program içinden 7 sonuç alınan ortak 'Zararlı/Hastalık' sonucu 10 SNP bilgisine ulaşılmıştır. Bu SNP'lerin rs numaraları; rs558545173, rs755458828, rs758799064, rs781035351, rs781744076, rs897944213, rs1206660487, rs1288906320, rs1806532401, rs1806536802 şeklinde sıralanmıştır. *GEMIN6* geninde ise NCBI dbSNP verilerinden 4522 SNP içerisinde 217 tanesinin missense SNP olduğu verisine ulaşılmıştır. Bu missense SNP'ler çevrim içi yazılım programları tarafından tarandığında ortak 'Zararlı/Hastalık' sonucu bulunan 35 SNP bulunmuştur. Bu SNP'lerin rs numaraları; rs138354097_(R154C), rs138354097_(R154S), rs150620456_(R154P), rs150620456_(R154H), rs202244208, rs530479807, rs556436296, rs747916454, rs749531806, rs754248655, rs756153830, rs757128366_(P39A), rs757128366_(P39S), rs757607089, rs768636330, rs769480214, rs772095779, rs778573363_(P39R), rs778573363_(P39L), rs905978224, rs913913851, rs1028539287, rs1049924099, rs1173900794, rs1215958194, rs1241966099, rs1319889731, rs1330974173, rs1335357664, rs1355479738, rs1669014139, rs1669016728, rs1669085745, rs1669098404, rs1669099201 olarak kaydedilmiştir. *POP7* için bulunan 10 SNP ve

GEMIN6 için bulunan 35 SNP literatürde taranmış olup bu SNP'ler üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bulunan ortak 'Zararlı/Hastalık' verici SNP'ler I-Mutant ve MUpro yazılım araçları kullanılarak protein stabilizasyonu üzerine olan etkileri incelenmiştir. Protein stabilizesinde herhangi bir amino asit değişimi sonucu meydana gelen azalmada, protein katlanmalarında problem ile kendini gösterir. Düzgün olmayan katlanmalar, protein yoğunluğuna etki edebilir (Yue ve ark., 2005). Protein stabilizesindeki düzenli katlanmanın görülmesi, amino asitler arasındaki etkileşimlerin bir sonucu olduğu bilinmektedir (Anfinsen,1973). Proteinlerin katlanma sorunu, proteinlerde işlev kaybı ile sonuçlanır. Referans numarası rs781744076, rs1288906320 olan *POP7* için ortak zararlı missense SNP'lerin protein stabilizasyonunu arttırdığı bilgisine I-Mutant yazılım aracı kullanılarak ulaşılmıştır. Diğer 8 ortak zararlı SNP'lerin ise protein stabilizasyonunda 'azaltıcı' etki verdiği sonucuna ulaşılmıştır. *POP7* geni için MUpro sonucu ortak 'Zararlı/Hastalık' sonucu veren 10 missense SNP içinden hepsinin de 'azaltıcı' etkide bulunduğu gösterilmiştir. *GEMIN6* geninde ortak 'Zararlı/Hastalık' sonucu veren 35 missense SNP'den 2 tanesinin (rs756153830, rs1669016728) protein stabilizasyonunu arttırdığı ve 33 tanesinin de azalttığı sonucuna ulaşıldı. Bu bilgilere I-Mutant yazılımı ile varılmıştır. *GEMIN6* için MUpro yazılımında ise rs778573363 referans numaralı missense SNP'nin arttırıcı etkide olduğu ve diğer 34 missense SNP'nin 'azaltıcı' etki gösterdiği verisine ulaşılmıştır. Stabiltedeki artış ya da azalış nedeni ile proteindeki katlanmalar etkilenebilir. Bunun sonucu hastalık mekanizmaları tetiklenebilmektedir.

POP7 ve *GEMIN6* genleri için Project HOPE yazılım aracı kullanılarak, proteinin ve amino asit değişimlerinin üç boyutlu modelleme sonucuna ulaşılmış ve protein yapısı üzerine olan olası etkileri incelenmiştir. Ayrıca bu yazılım aracı ile varyasyonların yabanıl ve mutant tipler arasındaki boyut, yük ve hidrofobiklik farklılıkları belirlenmiştir.

Büyüklik açısından; amino asitler arasında önemli bir çeşitlilik olup bir amino asidin moleküler ağırlığı, büyüklüğü ile kabaca orantılıdır. Daha küçük rezidüler, tercihen daha büyük rezidülerle birlikte yerleşirler. Protein yapısının hangi bölgelerinin hangi bölgelere uyduğunu saptamada amino asitlerin boyutlarının önemli bir rolü olup çoğunlukla, boyut ve şekil özellikleri daha büyük protein alanları ile ilişkilidir (Biro, 2006).

POP7 için: rs558545173, rs758799064, rs897944213, rs1206660487, rs1288906320, rs1806532401, rs1806536802 polimorfizmlerinin sebep olduğu amino asit dönüşümlerinde mutant rezidü yabanıl tip rezidüden daha büyüktür. Mutant

rezidünün daha büyük olup muhtemelen protein çekirdeğine sığmayacağı verisine ulaşılmıştır (Venselaar ve ark., 2010).

rs755458828, rs781035351 ve rs781744076 polimorfizmlerinin sebep olduğu amino asit dönüşümleri için mutant rezidünün yabancı tip rezidüden daha küçük olması sebebiyle aminoasit değişimi proteinin çekirdeğinde boş bir alana neden olacaktır. Bu durum proteinler arası işlevi etkileyeceği öngörülmektedir.

GEMIN6 için rs138354097, rs150620456, rs202244208, rs530479807, rs556436296, rs754248655, rs757128366, rs757128366, rs905978224, rs913913851, rs1028539287, rs1173900794, rs1215958194, rs1669014139 ve rs1669098404 polimorfizmlerinin sebep olduğu amino asit dönüşümleri için Project HOPE yazılımından alınan veri bilgisine göre mutant rezidünün yabancı tip rezidüden daha küçük olması sebebiyle aminoasit değişimi proteinin çekirdeğinde boş bir alana neden olacaktır. Bu durumun proteinler arası işlevi etkileyeceği öngörülmektedir. rs747916454, rs749531806, rs756153830, rs757607089, rs768636330, rs769480214, rs772095779, rs778573363, rs778573363, rs1049924099, rs1241966099, rs1319889731, rs1330974173, rs1335357664, rs1355479738, rs1669016728, rs1669085745 ve rs1669099201 polimorfizmlerinin sebep olduğu amino asit dönüşümlerinde mutant rezidü yabancı tip rezidüden daha büyüktür. Mutant rezidü daha büyük olup muhtemelen protein çekirdeğine sığmayacağı verisine ulaşılmıştır (Venselaar ve ark., 2010).

Yük bakımından proteinlerdeki tuz köprüleri, elektrostatik çekimi oluşturmak için bir birine yeterince yakın olan zıt yüklü rezidüler arasındaki bağlardır. Protein yapısına ve proteinlerin diğer biyomoleküllerle etkileşiminin özgüllüğüne katkıda bulunurlar (Bosshard ve ark., 2004).

POP7 geni için: rs558545173, rs758799064, rs1806532401 polimorfizmlerinin sebep olduğu amino asit dönüşümlerinde yabancı rezidü yükünün nötr, mutant rezidü yükünün pozitif olması sonucu bu pozisyonlarda bir yük oluşturur. Bunun sonucu mutant rezidü ile komşu rezidüler arasında itmeye neden olabilir.

rs755458828 polimorfizminin sebep olduğu amino asit dönüşümünde bu alandaki yabancı tip rezidü yükü pozitif iken mutant rezidü nötr olmaktadır. Project HOPE yazılımından alınan verilere göre yabancı tip rezidü yükü bu amino asit değişimi tarafından kaybedilmektedir.

rs1206660487 polimorfizminin sebep olduğu amino asit dönüşümünde mutant rezidü, yabancı rezidüden protein katlama sorunlarına yol açabilecek bir yük getirir.

GEMIN6 geni için rs747916454, rs749531806, rs778573363 ve rs1330974173 polimorfizminin sebep olduğu amino asit dönüşümleri sonucu yabancı rezidü yükünün nötr, mutant rezidü yükünün pozitif olması sonucu Project HOPE yazılımından elde edilen veriler sonucu amin asit değişimi bu pozisyonlarda bir yük oluşturur, bunun sonucu mutant rezidü ile komşu rezidüler arasında itmeye neden olabilir.

rs138354097, rs150620456 ve rs530479807 polimorfizminin sebep olduğu amino asit dönüşümlerinde yabancı tip rezidü yükü pozitif iken mutant rezidü nötr olmaktadır. Project HOPE yazılımından alınan verilere göre yabancı tip rezidü yükü bu amino asit dönüşümü tarafından kaybedilmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

Proteinler sentezden sonra tipik olarak en termodinamik uygunlukta üç boyutlu konformasyona katlanır. Bu katlanma işlemi proteinlerdeki hidrofobik etki tarafından yönlendirilmektedir (Brüning, 2015) .

POP7 proteini için HOPE hidrofobiklik açısından rs558545173, rs758799064, rs1206660487 ve rs1288906320 pozisyonlarındaki mutant rezidülerin, yabancı tip rezidüleri göre daha az hidrofobik olduğunu göstermiştir. Bu durum protein varyasyonlarının çekirdeklerinde hidrofobik etkileşimlerin kaybına neden olabileceği öngörülmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

GEMIN6 için rs138354097, rs138354097, rs150620456, rs530479807, rs905978224 ve rs1669016728 pozisyonlarındaki mutant rezidülerin yabancı tip rezidüleri göre daha fazla hidrofobik olduğu tespit edilmiştir. Bu durum proteinin çekirdeğindeki hidrojen bağlarının kaybına neden olabilir ve sonuç olarak doğru katlamayı bozabileceği öngörülmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

POP7 ve *GEMIN6* genlerinin GeneMANIA yazılım aracı ile gen-gen etkileşimlerine bakılmıştır. Genlerin işlevi hakkında varsayımlar oluşturmak, gen dizilimleri oluşturmak, gen dizilimlerini çözümlmek ve fonksiyonel analizler için genleri tanımlamak için kullanılan bir yazılım aracıdır. Bu yazılım aracı bir gen taratıldığında başka genler ile olası etkileşimini bulmaktadır (Franz ve ark., 2018). Yazılım aracı kullanılarak *POP7* ve *GEMIN6* için 20 farklı gen ile olan etkileşimleri gösterilmiştir.

Protein-Protein etkileşimlerinin bilgisine ise STRING yazılım aracı ile ulaşılmıştır. STRING veri tabanı, birden fazla organizma için bilinen veya olası protein-protein etkileşiminde yer alan verileri bir araya getirmektedir (Szklarczyk ve ark., 2017). Bu yazılım aracı ile genlerin etki ettiği proteinler diğer proteinler ile olası etkileri ve bulundukları yollar incelenmiştir.

Evrimsel korunum analizinde ConSurf yazılım aracı kullanılmıştır. ConSurf çevrim içi yazılım aracında evrim oranı, protein ve protein homologları arasındaki evrimsel ilişkiye dayalı ve amino asitler arasındaki benzerlik dikkate alınarak evrimsel filogenetik bilgisi tahmin edilmektedir (Mayrose ve ark., 2004). ConSurf yazılımının diğer yöntemlere kıyasla bir diğer avantajı deneysel bir Bayes yöntemi kullanılarak evrimsel sınıflandırmada oldukça yüksek bir verimlilikte çalışmasıdır (Pupko ve ark., 2002). Bayes teoremi bir rassal değişken için olasılık dağılımı içinde koşullu olasılıklar ile marjinal olasılıklar arasındaki ilişkiyi gösterir. Evrimsel korunmayı ‘En güçlüünün hayatta kalması’ şeklinde yorumlayabiliriz. Genel olarak, protein işlevi, birbirine yakın konumda bulunan evrimsel olarak korunmuş aminoasit kümeleri aracılığıyla yönlendirilir. Bu kümeler enzimatik aktivitede, ligand bağlanmasında, protein-protein etkileşimlerinde veya protein mimarisinin katlanmasında ve stabilizasyonunda yer alabilir (Madabushi ve ark., 2002). Tipik olarak, bu kümelerin tespiti, bir proteinin özelliklerini karakterize eder ve bu durum araştırma için önemlidir. ConSurf, bu tür kümelerin saptanmasına yardımcı olmak için protein veri tabanlarından yararlanır. ConSurf yazılım aracı ile *POP7* ve *GEMIN6* proteinlerindeki dönüşümlerin evrimsel korunma derecelerini analiz ettiğimizde *POP7* için 38, 72, 77, 125 ve 131. amino asit dönüşümünde en çok korunan bilgilere ulaşılmıştır. *GEMIN6* için ise 32, 39, 41, 50, 113, 127, 138, 139, 144, 148, 151, 154. ve 156. amino asit dönüşümlerinin en çok korunanlar arasında olduğu verisine ConSurf çevrim içi yazılımı ile ulaşılmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, SMA hastalığına etki eden genlerden olan *POP7* ve *GEMIN6* genlerindeki yüksek riskli SNP'lerin tahmin edilmesinde SIFT, PolyPhen-2 (Hum-Div, Hum-Var), PHD-SNP, Meta-SNP, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2 yazılım araçlarından yararlanılırken; protein stabilizasyonundaki değişimlerin tespiti için I-Mutant ve MUpro yazılım araçları kullanılmıştır. Yabani ve mutant tip proteinlerin üç boyutlu modellemelerinin yapılabilmesi için Project HOPE yazılım aracından faydalanılmıştır. GeneMANIA ile gen-gen etkileşimlerine bakılmıştır. STRING yazılımı ile protein-protein etkileşimleri hakkında veri sağlanmıştır. ConSurf çevrim içi yazılım aracı bir amino asidin makro molekülerindeki evrimsel korunma derecesini tahmin etmede kullanılan *in silico* bir araç olarak veri sağlamıştır.

Bu çalışmada araştırılan genlerden *POP7* ve *GEMIN6* genlerinde yer alan tek nükleotid polimorfizmlerinin, protein yapısındaki zararlı etkisi olabilecek missense SNP'lerin bilinmesi ilerde yapılabilecek genotipleme çalışmalarında ve bunun yanı sıra SNP seçiminde ve deney tasarımlarında kullanılabileceği öngörülmektedir. Aynı zamanda ileride yapılacak Spinal Muscular Atrofi (SMA) hastalığıyla ilgili çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

7. REFERANSLAR

Adzhubei I., Jordan D. M., & Sunyaev S. R. (2015). Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Current Protocols in Human Genetics*, 1-52.

Altman S. & Kirsebom L. (1999). Ribonuclease P. In: Gesteland RF, et al., editörler. *RNA dünyası*. Cold Spring Harbor Laboratuvar Presi; Cold Spring Harbor, NY: s. 351–380.

Anfinsen C. B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. *Science* (New York, N.Y.), 181(4096), 223–230. <https://doi.org/10.1126/science.181.4096.223>

Aksoy, Z., & Soydemir , E. (2017). Polimorfizm. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 9-13.

Ashkenazy H., Abadi S. & Martz E. (2016). ConSurf: makromoleküllerde evrimsel korumayı tahmin etmek ve görselleştirmek için geliştirilmiş bir metodoloji. *Nükleik Asitler Araştırma*. 2016; 44 (W1):W344–W350. doi: 10,1093/nar/gkw408

Bhagwat, M. (2010). Searching NCBI's dbSNP database. *Current Protocols in Bioinformatics*, 1-27.

Biro J. C. (2006). Amino acid size, charge, hydropathy indices and matrices for protein structure analysis. *Theoretical biology & medical modelling*, 3, 15

Bosshard H. R., Marti D. N. & Jelesarov I. (2004). Protein stabilization by salt bridges: concepts, experimental approaches and clarification of some misunderstandings. *Journal of molecular recognition : JMR*, 17(1), 1–16

Brijesh, D. & Mistry, K. (2014). In silico analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in human TNF- α gene.

Buhler D., Raker V., Luhrmann R. & Fischer U. (1999). Spliceosomal U snRNP düzeneğinde SMN'nin tudor alanı için temel rol: spinal müsküler atrofi için çıkarımlar. *Hum Mol Genet*; 8: 2351–2357.

Burghes AH., Ingraham SE., Kote-Jarai Z., Rosenfeld S., Herta N. & Nadkarni N. (1994). Spinal müsküler atrofi geninin bağlantı haritalaması. *Hum Genet*; 93: 305–312.

Brüning (1 Ocak 2015). "Misfolded proteins: from little villains to little helpers in the fight against cancer". *Frontiers in Oncology*. Cilt 5. s. 47

Calabrese, R., Capriotti, E., Fariselli, P., Martelli, P. L., & Casadio, R. (2009). Functional annotations improve the predictive score of human disease-related mutations in proteins. *Human mutation*, 30(8), 1237–1244

Carissimi C., Saieva L., Baccon J., Chiarella P. & Maiolica A. (2006). Gemin8, hayatta kalma motor nöron kompleksinin yeni bir bileşenidir ve küçük nükleer ribonükleoprotein düzeneğinde işlev görür. *J Biol Kimya*; 281: 8126-8134.

Capriotti, E., Calabrese, R., & Casadio, R. (2006). Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 22(22), 2729–2734.

Capriotti, E., Altman, R. B., & Bromberg, Y. (2013). Collective judgment predicts disease-associated single nucleotide variants. *BMC Genomics*, 1-9

Capriotti E., Fariselli P. & Casadio R. (2005). I-Mutant2.0: protein dizisinden veya yapısından mutasyon üzerine stabilite değişikliklerinin tahmin edilmesi. *Nükleik Asitler Araştırma*; 33 (Web Sunucusu):W306–W310. doi: 10,1093/nar/gki375.

Cheng J., Randall A. & Baldi P. (2006). Destek vektör makineleri kullanılarak tek bölge mutasyonları için protein stabilite değişikliklerinin tahmini. *Proteinler*; 62 (4):1125-1132. doi: 10,1002/prot.20810.

Choi Y., Sims G. E., Murphy S., Miller J. R., & Chan A. P. (2012). Predicting the Functional Effect of Amino Acid Substitutions and Indels. *PLOS One*, 1-13.

Dubowitz V. (1999). Çok şiddetli spinal müsküler atrofi (SMA tip 0): genişleyen bir klinik fenotip. *Eur J Pediatr Neurol*; 3 :49-51.

Edwards A., Civitello A., Hammond H., & Caskey C.T. (1991). DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *American Journal of Human Genetics*, 49, 746-756.

Evangelou, E. & Ioannidis, J. P. (2013). Meta-analysis methods for genome-wide association studies and beyond. *Nat Rev Genet*.14, 379–389

Franz, M., Rodriguez, H., Lopes, C., Zuberi, K., Montojo, J., Bader, G. D., & Morris, Q. (2018). GeneMANIA update 2018. *Nucleic Acids Research*, 60-64.

Felderhoff-Mueser U., Grohmann K., Harder A., Stadelmann C., Zerres K., Bührer C. & Obladen M. (2002). Konjenital kemik kırıkları ile ilişkili şiddetli spinal müsküler atrofi varyantı. *J Çocuk Nörol*; 17 :718–721. doi: 10.1177/088307380201700915.

Henikoff S. (2003). SIFT: Nükleik Asitler Araştırma; 31 (13):3812–3814. doi: 10.1093/nar/gkg509.

Hoffmann J. (1893). U" ber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer Basis [Çocuklukta kronik spinal müsküler atrofi üzerine, ailesel temelde; Almanca] *Dtsch Z Nervenheilkd*; 3 :427–470. doi: 10.1007/BF01668496.

Kikovska E., Svard S.G. & Kirsebom L.A. (2007). Eukaryotic RNase P RNA mediates cleavage in the absence of protein. *Proc. Natl. Acad. Sci*;104:2062–2067.

Lefebvre S., Burglen L., Reboullet S., Clermont O., Burlet P., Viollet L, Benichou B., Cruaud C., Millasseau P., Zeviani M., Le Paslier D., Frézal J., Cohen D., Weissenbach J., Munnich A. & Melki J. (1995). Tanımlama ve bir spinal müsküler atrofiyi belirleyen genin karakterizasyonu. *Hücre*; 80 :155-65. doi: 10.1016/0092-8674(95)90460-3.

Lefebvre S., Burlet P., Liu Q., Bertrand S. & Clermont O. (1997). Spinal müsküler atrofide şiddet ile SMN protein seviyesi arasındaki korelasyon. *Nat Genet*; 16: 265–269.

MacLeod MJ., Taylor JE., Lunt PW., Mathew CG. & Robb SA. (1999). Doğum öncesi başlangıçlı spinal müsküler atrofi. *Eur J Pediatr Neurol*; 3 :65-72.

Madabushi S., Yao H., Marsh M., Kristensen DM., Philippi A., Sowa ME., Lichtarge O. (2002). Evrimsel eser kalıntılarının yapısal kümeleri istatistiksel olarak anlamlıdır ve proteinlerde yaygındır. *J. Mol. Biol.* 316 :139–154

M Cargill, & D Altshuler, J. I. (1999). Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes

Marquez S.M., Chen J.L., Evans D. & Pace N.R. (2006). Structure and function of eukaryotic Ribonuclease P RNA. *Mol. Cell*; 24:445–456.

Messina S., Pane M., De Rose P., Vasta I., Sorleti D., Aloysius A., Sciarra F., Mangiola F., Kınalı M., Bertini E. & Mercuri E. (2008). Spinal müsküler atrofi tip II'de beslenme sorunları ve yetersiz beslenme. N romusk l Bozukluğu; 18: 389-93. doi: 10.1016/j.nmd.2008.02.08.

Munstat TL. & Davies KE. (1992). Uluslararası SMA konsorsiyum toplantısı. N romusk l Bozukluğu; 2 :423–428. doi: 10.1016/S0960-8966(06)80015-5.

Mayrose I., Graur D., Ben-Tal N. & Pupko T. (2004). Protein dizileri için bölgeye özgü hız çıkarım yöntemlerinin karşılaştırılması: ampirik Bayes yöntemleri üstündür. Mol. Biol. Evrim; 21 :1781–1791.

Ogino S., Leonard DG., Rennert H., Ewens WJ. & Wilson RB. (2002). Spinal müsküler atrofi için taşıyıcı testinde genetik risk değerlendirmesi. J Med Genet'im; 110 :301–07. doi: 10.1002/ajmg.10425.

Pearn JH., Wilson J. (1973). Bebeklik ve  ocuklukta kronik genelleştirilmiş spinal müsküler atrofi. Tutuklanan Werdnig- Hoffman hastalığı. Arch Dis Child; 48: 768-774.

Pearn J. (1978). Kronik  ocukluk  ağı spinal müsküler atrofisinin segregasyon analizi. J Med Genet; 15: 418–423.

Rozario L. & Sharker T. A. (2021). In silico analysis of deleterious SNPs of human MTUS1 gene and their impacts on subsequent protein structure and function.

Pundir, S., Martin, M. J., & O'Donovan, C. (2016). UniProt Tools. Current Protocols in Bioinformatics, 1-26.

Pupko T., Bell RE., Mayrose I., Glaser F. & Ben-Tal N. (2002). Rate4Site: homologları i indeki evrimsel belirleyicilerin y zey haritalaması yoluyla proteinlerdeki fonksiyonel bölgelerin tanımlanması için algoritmik bir ara . Biyoinformatik. 18 (Ek 1):S71–S77.

Sim NL., Kumar P., Hu J., Henikoff S. & Schneider G. (2012). Ng Nükleik Asitler Araştırma; 40 (W1):W452–W457. doi: 10.1093/nar/gks539.

Snyder PJ., Rink BD., Pearl DK. & Pyatt RE. (2010). Spinal müsküler atrofi için yenidoğan ve taşıyıcı taraması. J Med Genet A. 152A: 1608-1616.

Snyder PJ., Rink BD., Pearl DK., Pyatt RE., Mihal DC., Conlan T., Schmalz B., Montgomery L., Ziegler K., Noonan C., Hashimoto S. & Garner S. (2010). Spinal müsküler atrofi için yenidoğan ve taşıyıcı taraması. J Med Genet A. 152A :1605-1607. doi: 10.1002/ajmg.a.33519.

Szklarczyk, D., Morris, J. H., Cook, H., Kuhn, M., Wyder, S., Simonovic, M., . . . von Mering, C. (2017). The STRING database in 2017: quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. Nucleic Acids Research, 362-368.

Venselaar H., Te Beek T. A., Kuipers R. K., Hekkelman, M. L., & Vriend, G. (2010). Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. BMC bioinformatics, 11, 548. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548>

Yong J., Pellizzoni L. & Dreyfuss G. (2002). U1 snRNA'nın SMN kompleksi ile diziye zg etkileşimi. EMBO J. 21: 1188–1196.

Yue P., Li Z. & Moult J. (2005). Loss of protein structure stability as a major causative factor in monogenic disease. Journal of molecular biology, 353(2), 459–473. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.08.020>

Zerres K., Rudnik-Schöneborn S., Forrest E., Lusakowska A., Borkowska J. & Hausmanow-Petrusewicz (1997). I. Çocukluk ve geç başlangıçlı proksimal Spinal müsküler atrofinin (tip2,3 SMA) doğal öyküsü üzerine ortak bir çalışma: 569 hasta. J Neurol Sci. 146:67-72. Doi;10.1016/S0022-510x(96)00284-5.

Zhang P., Zhu Y., Li Y., Zhu S., Ma R., Zhao M. & Li J. (2018). Forensic evaluation of STR typing reliability in lung cancer. Legal Medicine, 38-41.

Werdnig G. Zwei (1891). Frhinfantile hereditre Flle von ilerleyici Muskelatrophie unter dem Bilde der Dystrophie, aber auf neurotischer Grundlage [Distrofiyi simle eden, ancak nral bazda iki erken infantil kalıtsal progresif müsküler atrofi vakası; Almanca] Arch Psychiatr Nervenkr. 22 :437–480. doi: 10.1007/BF01776636.