

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NADİR METABOLİK HASTALIKLARDA TÜM EKZOM DİZİLEME
VERİLERİNİN BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ İLE FENOTİPTEN
SORUMLU VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Can KOŞUKCU

Moleküler Metabolizma Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA

2024

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NADİR METABOLİK HASTALIKLARDA TÜM EKZOM DİZİLEME
VERİLERİNİN BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ İLE FENOTİPTEN
SORUMLU VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Can KOŞUKCU

Moleküler Metabolizma Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. RIZA KÖKSAL ÖZGÜL

ANKARA

2024

**NADİR METABOLİK HASTALIKLARDA TÜM EKZOM DİZİLEME VERİLERİNİN
BİYOİNFORMATİK ANALİZLERİ İLE FENOTİPTEN SORUMLU VARYANTLARIN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Can KOŞUKCU

Danışman: Prof. Dr. Rıza Köksal ÖZGÜL

Bu tez çalışması 21.08.2024 tarihinde jürimiz tarafından
“Moleküler Metabolizma Doktora Programı”nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Ali DURSUN

Hacettepe Üniversitesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D.

Üye:

Prof. Dr. Fatih EZGÜ

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları A.D.

Üye:

Prof. Dr. Esra KILIÇ

Sağlık Bilimleri Üniv., Bilkent Şehir Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Bölümü

Üye:

Doç. Dr. Bala GÜR DEDEOĞLU

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Üye:

Dr. Öğr. Üyesi Gülşah Merve KILINÇ

Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoinformatik Anabilim Dalı

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur. 05 Kasım 2024

Prof. Dr. Müge YEMİŞCİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

30 /10/2024

Can KOŞUKCU

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları 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 özgün olduğunu, sayın Prof. Dr. Rıza Köksal ÖZGÜL'ün danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Can KOŞUKCU

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez sürecimde, bilgi birikimi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, her adımda yanımda olan çok değerli hocam ve tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Köksal ÖZGÜL'e;

Aile bireylerinin klinik ve genetik takibi ile değerlendirilmesinde ve tezime kattığı değerli katkılar için Sayın Prof. Dr. Ali DURSUN'a;

Doktora eğitimimin her aşamasında sonsuz desteğini gördüğüm kıymetli dostum Uzm. Dr. Halil Tuna AKAR'a

Laboratuvardaki teknik desteklerinden ötürü Esin GÖKSUN'a

Doktora tez çalışmamın laboratuvar uygulamaları ve veri analiz basamaklarında desteğini esirgemeyen Damla AYGÜN'e

Bütün Çocuk Metabolizma Bilim Dalı ailesine,

Biyoinformatik Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Şu anda bünyesinde çalıştığım QIAGEN Türkiye ailesine,

Tez yazım sürecim nedeniyle son anda en mutlu gününe eşlik edemediğim Hakan YURT'a

Biyoinformatik yazılım ve donanım altyapısı desteği için sayın Ben TURNER'a

Bilim yolunda ilerlemem için her fedakarlığı yapan, bana daima koşulsuz destek olan sevgili ailem ve arkadaşlarıma,

Tez sürecim boyunca bana her türlü desteği koşulsuz şekilde sağlayan, sabrı ve sevgisiyle her daim yanımda olan sevgilim, hayat ortağım, eşim Gülşah KOŞUKCU'ya

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

ÖZET

Koşukcu, C. Nadir Metabolik Hastalıklarda Tüm Ekzom Dizileme Verilerinin Biyoinformatik Analizleri ile Fenotipten Sorumlu Varyantların Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Metabolizma Programı Doktora Tezi, Ankara, 2024. Kalıtsal metabolik hastalık kavramı ilk kez 1903 yılında Garrod tarafından ara metabolitlerin metabolik yıkımlarında rol alan enzimlerin fonksiyon bozukluğu sonucu ortaya çıkan genetik geçişli hastalıklar olarak tanımlanmıştır. Daha sonraki yıllarda hücre içerisinde çok değişik süreçlerde yer alan reseptör gibi enzim dışı proteinlerin fonksiyon bozukluğu sonucunda da metabolik hastalıkların oluşabileceği gösterilmiştir. Şimdiye kadar 700'den fazla kalıtsal metabolik hastalık tanımlanmış olup her geçen yıl yeni metabolik hastalıklar tanımlanmaktadır. İnsan genomunda ortalama 22.000 gen olduğu düşünüldüğünde, ilerleyen yıllarda kalıtsal metabolik hastalıkların sayısı yanında tanımında da değişiklikler olacaktır. Nitekim son yıllarda hücre içinde DNA ürünü proteinin fenotipe etkisi ile ilgili hücresel süreçlerin omiks teknolojileri ile değerlendirilmesi sonucunda metabolik hastalıklara klinik ve moleküler temelli bakış açısı tamamen değişmiştir. Metabolik hastalıklarda hücre içindeki kompartmanlar arası bilgi akışının nicel ve nitel olarak değerlendirilmesi, kurallarının belirlenmesi başta kalıtsal metabolik hastalıklar olmak üzere enfeksiyon hastalıkları gibi edinsel hastalıkların da tanı, tedavi ve izleminde yer alan geleneksel yaklaşımları kökten değiştirecektir. Metabolik hastalıklar patofizyolojik olarak intoksikasyon tipi (aminoasit metabolizması bozuklukları, galaktozemi vb.), enerji metabolizması bozuklukları (mitokondriyal hastalıklar) ve makromolekül hastalıkları (organel fonksiyon bozuklukları) olarak 3 grupta incelenir. İntoksikasyon tipi metabolik hastalıklarda enzim eksikliğine bağlı olarak enzim reaksiyonunun proksimalinde yer alan substratın birikimi ile gelişen toksik etki söz konusu iken, enerji metabolizması bozuklukları ATP molekülünün sentezinde rol alan enzim eksiklikleri sonucu gelişir (PDH eksikliği, Krebs döngüsü enzim eksiklikleri ve solunum zincir fonksiyon bozukluğu vs). Kompleks molekül hastalıkları genel olarak mitokondri dışındaki lizozom, peroksizom, endoplazmik retikulum-golgi cisimciği düzeneğinde rol alan enzim eksiklikleri sonucu gelişir. Lizozomal depo hastalıkları, peroksizomal hastalıklar ve kalıtsal glikolizasyon bozuklukları bu grup hastalıkların klasik

örneklerini oluşturur. Bununla birlikte bizim de içerisinde bulunduğumuz araştırma gruplarının yaptığı çalışmalar sonucunda veziküler trafik bozuklukları, otofaji fonksiyon bozuklukları gibi yeni hastalık grupları tanımlanmaya başlamıştır. Klinik fenotip olarak kalıtsal metabolik hastalıklar, hastalık tipine göre tekli ya da çoklu organ/sistem tutulumu ile kendini gösterir. Santral sinir sistemi metabolik hastalıklarda en sık tutulum gösteren sistemlerin başında gelir (>%55). Bu nedenle kalıtsal metabolik hastalıklarda erken tanı ve tedavinin gerçekleştirilmesi, bu hastalıklarda mortalite ve morbiditenin önlenmesi açısından çok önemlidir. Son yıllarda özellikle geleneksel yöntemlerle tanı konulamayan nadir ya da çok nadir metabolik hastalıkların tanısında ileri düzey genetik analiz yöntemlerinin kullanımı temel yaklaşım olmuştur. Özellikle tüm kodlayıcı gen bölgelerinin analizine olanak veren tüm ekzom dizi analizi yöntemi yeni hastalık genlerinin tanımlanması veya genetik heterojenite gösteren metabolik/nörometabolik hastalıkların moleküler tanısında en önemli araç haline gelmiştir. Ekzom analizleri yeni aday genlerin keşiflerine de ivme kazandırmıştır. Ekzom analizleri ile saptanan genlerin herhangi bir klinik fenotip ile ilişkilendirilmemesi durumunda yeni aday genler karşımıza çıkmaktadır. Bu süreç ister tüm genom ister tüm ekzom analizi ile olsun araştırmacıların ve giderek tıp pratiğinde klinisyenlerin önüne yorumlanması gereken devasa bir bilgi yığını koymuştur. Bu bilgi yığını içerisinde hastalıktan sorumlu olan tek bir aday genin bulunması süreci, tıp pratiğinin şimdiden en temel çalışma alanı olan biyoinformatik bilim dalını yaratmıştır. Devasa bilgi yığınına fenotip eşliğinde en uygun soruları sormak ve yanıtların en uygun şekilde değerlendirilmesi biyoinformatiğin temel sürecini oluşturur. Bu nedenle biyoinformatik analize klinik ile ilgili derin fenotip bilgilerinin eşlik etmesi şarttır. Bunun yanında patojenitenin tahminlenmesi, kopya sayısı analizi, protein modelleme, bağlantı analizleri vb. gibi in siliko analiz metodları hastalıktan sorumlu tek bir aday genin belirlenmesi sürecinde biyoinformatik analizi yapan araştırmacıya kılavuzluk eder. Biyoinformatik analizler ham verinin işlenmesi sürecinde, aday genlerin belirlenmesi, genetik varyasyonların tespiti ve filtrelenmesi ile patojenik mutasyonların saptanmasındaki en kritik basamaktır. Verinin ileri düzey biyoinformatik analizi ile farklı mutasyon tipleri (yanlış anlamlı, anlamsız, kırılma, küçük insersiyon/delesyon tipi mutasyonlar) saptanabilirken büyük boyutlardaki kopya sayısı değişiklikleri de belirlenebilmektedir.

Bu doktora tez çalışmasında Tüm Ekzom Dizileme verilerinin biyoinformatik analizi için birden fazla yazılım kullanılmıştır. FASTQ verilerinin hizalanmasında (*alignment*) BWA (*Burrows-Wheeler Aligner*), Tekrar dizilerinin elenmesi için SAMtools, ekzonik bölgelerin okuma derinliklerinin hesaplanması için BEDtools ve varyant çağırma basamakları için GATK yazılımları kullanılmıştır. Yeniden analiz edilen ham veriler ve kopya sayısı değişikliği (CNV) tespiti için CLC Genomics Server 24.0.1 yazılımından yararlanılmıştır. Yanlış anlamlı mutasyonların PDB dosyaları kullanılarak modellenmesinden önce PDB yapılarının onarılması için FoldX yazılımı kullanılmıştır. Yapılan *in-silico* protein modellemelerinde $\Delta\Delta G$ değerlerinin hesaplanması için dört farklı yazılım kullanılmıştır (DynaMut2 PremPS INPS-3D ve FoldX). Bulunan varyantlara ait genlerin ve saptanan literatürde bildirilmemiş yeni genlerin birbirleri ile olan etkileşimlerini yansıtan bağlantı analizleri (*Network analysis*) STRING 12.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada biyoinformatik yöntemlerle 162 aileden 213 bireye ait Tüm Ekzom Dizileme verisinin ham veri analizleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar yorumlanmıştır. 155 olguya kesin tanı konulmuştur ve toplamda ulaşılan varyant sayısı 170 olarak hesaplanmıştır. Kesin tanıya ulaşılan vakaların 103'ünde yanlış anlamlı mutasyon (%61), 18'inde çerçeve kayması mutasyonu (%10), 17'sinde anlamsız mutasyon (%10), 17'sinde kırılma mutasyonu (%10), 6'sında kopya sayısı değişikliği (%4), 5'inde başlangıç kodonu mutasyonu (%3), 4'ünde ise *in-frame* delesyon veya insersiyon (%2) tespit edilmiştir. Belirlenen 103 yanlış anlamlı mutasyon dört farklı yöntem ile protein yapısı üzerinde modellenmiş ve *in-silico* tahminlemeler gerçekleştirilerek mutasyonun protein yapısı üzerinde oluşturduğu yapısal değişiklikler şematize edilmiştir. Saptanan varyantlar, gen düzeyinde bağlantı analizine tabi tutularak nadir kalıtsal metabolik hastalık grubundaki moleküler yolaklar arasındaki ilişkiler tespit edilmiş, belirlenen yeni genlerin bu yolaklar içerisinde ne şekilde konumlandığı araştırılmıştır. Bu tez çalışmasında toplamda 162 aileden 213 bireyde gerçekleştirilen WES analizi sonucunda hastaların 155'ine moleküler tanı konulmuş, 58 vaka ise sonuçsuz kalmıştır. Buna göre yapılan biyoinformatik analizlerde başarılı moleküler tanı oranı %73 olarak hesaplanmıştır. Tüm Ekzom Dizileme verisinin elde edilmesinde kullanılan laboratuvar yöntemleri ve dizileme tekniklerinin son derece gelişmiş olmasına karşın

doğru ve kapsamlı biyoinformatik analizlerin yapılması, klinik yorumlamada son derece önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Kalıtsal metabolik hastalık, Yeni Nesil Dizileme, Tüm Ekzom Dizileme, biyoinformatik analiz, protein modelleme, kopya sayısı değişikliği, derin fenotipleme



ABSTRACT

Kosukcu, C. Bioinformatics Analysis and Variant Interpretation of Whole Exome Sequencing Data in Inborn Errors of Metabolism. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Molecular Metabolism, Ankara 2024. Inborn errors of metabolism are pathophysiologically examined in three groups, as intoxication type (amino acid metabolism disorders, galactosemia, etc.), energy metabolism disorders (mitochondrial diseases) and macromolecular diseases (organelle dysfunctions). In intoxication type metabolic diseases, there is a toxic effect that develops with the accumulation of the substrate located proximal to the enzyme reaction due to enzyme deficiency, while energy metabolism disorders develop as a result of enzyme deficiencies involved in the synthesis of the ATP molecule (PDH deficiency, Krebs cycle enzyme deficiencies and respiratory chain dysfunction, etc.). Complex molecule diseases generally develop as a result of enzyme deficiencies involved in the lysosome, peroxisome, endoplasmic reticulum-Golgi apparatus mechanism outside the mitochondria. Lysosomal storage diseases, peroxisomal diseases and hereditary glycation disorders are classic examples of this group of diseases. However, as a result of the studies carried out by research groups in which we are a part, new disease groups such as vesicular traffic disorders and autophagy dysfunctions have begun to be defined. As a clinical phenotype, hereditary metabolic diseases manifest themselves with single or multiple organ/system involvement, depending on the disease type. The central nervous system is one of the systems most frequently involved in metabolic diseases (>55%). Therefore, early diagnosis and treatment of hereditary metabolic diseases is very important to prevent mortality and morbidity in these diseases. In recent years, the use of advanced genetic analysis methods has become the main approach in the diagnosis of rare or very rare metabolic diseases that cannot be diagnosed by traditional methods. In particular, the whole exome sequence analysis method, which allows the analysis of all coding gene regions, has become the most important tool in the identification of new disease genes or in the molecular diagnosis of metabolic/neurometabolic diseases that show genetic heterogeneity. Exome analyzes have also accelerated the discovery of new candidate genes. If the genes detected by exome analyzes are not associated with any clinical phenotype, new candidate genes emerge. This process, whether through whole genome

or whole exome analysis, has placed a huge pile of information that needs to be interpreted in front of researchers and increasingly clinicians in medical practice. The process of finding a single candidate gene responsible for a disease from this mass of information has created the field of bioinformatics, which is already the most fundamental field of study in medical practice. Asking the most appropriate questions to the huge pile of information in the context of the phenotype and evaluating the answers in the most appropriate way constitute the basic process of bioinformatics. Therefore, it is essential that bioinformatic analysis be accompanied by in-depth clinically relevant phenotype information. In addition, prediction of pathogenicity, copy number analysis, protein modeling, pathway analysis, etc. In-silico analysis methods such as these guide the researcher performing bioinformatics analysis in the process of identifying a single candidate gene responsible for the disease. Bioinformatics analysis is the most critical step in the processing of raw data, identifying candidate genes, detecting and filtering genetic variations, and detecting pathogenic mutations. With advanced bioinformatics analysis of the data, different mutation types (missense, nonsense, truncation, small INDELs) can be detected, while large copy number changes can also be determined. In this doctoral thesis, multiple software tools were utilized for the bioinformatic analysis of Whole Exome Sequencing (WES) data. BWA (Burrows-Wheeler Aligner) was used for aligning FASTQ data, SAMtools for filtering repetitive sequences, BEDtools for calculating the read depth of exonic regions, and GATK for the variant calling steps. CLC Genomics Server 24.0.1 was employed for reanalysis of raw data and detection of copy number variations (CNVs). FoldX software was used for repairing PDB structures prior to modeling missense mutations using PDB files. In the in-silico protein modeling, four different software tools (DynaMut2, PremPS, INPS-3D, and FoldX) were used to calculate $\Delta\Delta G$ values. Pathway analyses reflecting the interactions between the identified genes and newly discovered genes that have not been reported in the literature were conducted using the STRING 12.0 software. In this study, raw data analyses of Whole Exome Sequencing from 213 individuals across 162 families were performed using bioinformatic methods and the results were interpreted. A definitive diagnosis was made for 155 cases, and the total number of identified variants was calculated as 170. Among the cases with a definitive diagnosis, 103 had missense

mutations (61%), 18 had frameshift mutations (10%), 17 had nonsense mutations (10%), 17 had splice site mutations (10%), 6 had copy number variations (4%), 5 had start codon mutations (3%), and 4 had in-frame deletions or insertions (2%). The 103 identified missense mutations were modeled on the protein structure using four different methods, and in-silico predictions were conducted to illustrate the structural changes induced by the mutations on the protein structure. The identified variants were subjected to pathway analysis at the gene level to detect relationships among the molecular pathways involved in rare inherited metabolic diseases and to explore the positioning of newly identified genes within these pathways. In this thesis study, WES analysis was performed on 213 individuals from a total of 162 families, resulting in molecular diagnosis for 155 patients, while 58 cases remained undiagnosed. Accordingly, the success rate of molecular diagnosis in the bioinformatic analyses was calculated as 73%. Although, the laboratory methods and sequencing techniques used to obtain Whole Exome Sequencing data are highly developed, accurate and comprehensive bioinformatics analyzes are extremely important in clinical interpretation.

Keywords: Inborn errors of metabolism, Next Generation Sequencing, Whole Exome Sequencing, bioinformatics, protein modelling, Copy Number Variation, deep phenotyping

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	vi
TEŞEKKÜR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	xii
İÇİNDEKİLER	xv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xxx
ŞEKİLLER DİZİNİ	xxxı
TABLOLAR DİZİNİ	xxxv
GRAFİKLER DİZİNİ	xxxvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nadir Hastalıklar	3
2.2. Kalıtsal Metabolik Hastalıklar	3
2.3. Kalıtsal Metabolik Hastalıklarda Moleküler Tanı Yöntemleri	6
2.3.1. Yeni Nesil Dizileme Yöntemleri ve En Yaygın Kullanılan Platformlar	6
2.3.2. Kalıtsal Metabolik Hastalıklardan Sorumlu Genetik Etkenin Saptanması	17
2.4. Bağlantı Analizleri	18

3. BİREYLER VE YÖNTEM	20
3.1. Bireyler	20
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Illumina Yeni Nesil Dizileme Islak Laboratuvar Uygulamaları	20
3.2.2. Yeni Nesil Dizileme Sonucunda Üretilen Ham Verilerin Biyoinformatik Analizi	22
3.2.3. Varyant Filtreleme Yöntemleri	23
3.2.4. Yeni Nesil Dizileme Verisinden Kopya Sayısı Değişikliği Tayini	24
3.2.5. Tüm Ekzom Dizileme Veri Analizi Sonrasında Saptanan Varyantların Değerlendirilmesi ve Tanıya Giden Yolda İzlenen Strateji	26
3.2.6. Saptanan Yanlış Anlamli Mutasyonların Proteinin Üç Boyutlu Yapısı Üzerine Etkilerinin <i>in-silico</i> Yöntemler ile Tayini	29
3.2.7. Saptanan Varyantların Bulunduğu Genler Arasındaki Bağlantı Analizi	31
4. BULGULAR	33
4.1. Nokta Mutasyonu ve Küçük INDEL Saptanan Vakalar	33
4.2. Kopya Sayısı Değişikliği (Büyük Delesyon) Saptanan Vakalar	67
4.3. Tüm Ekzom Dizileme Analizi Sonrası Saptanan Genler Kullanılarak Gerçekleştirilen Bağlantı Analizi Sonuçları	70
5. TARTIŞMA	76
5.1. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Moleküler Tanıdaki Avantajları ve Kısıtlılıkları	112
5.1.1. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Avantajları	113
5.1.2. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Dezavantajları	114

5.2. Kalıtsal Metabolik Hastalıkların Moleküler Tanısında Bağlantı	116
Analizlerinin Avantajları ve Dezavantajları	116
5.2.1. Bağlantı Analizinin Avantajları	116
5.2.2. Bağlantı Analizinin Dezavantajları	117
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	119
7. KAYNAKLAR	121
8. EKLER	136
Ek 1. Etik Kurul Onayı	
Ek 2. Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
Ek 3. Bu tez çalışması kapsamında sonuca ulaşılan (genotip-fenotip korelasyonu kurulan) olgulardaki nokta mutasyonları ve küçük INDELler	
Ek 4. Bu tez çalışması kapsamında saptanan yeni (literatürde bildirilmemiş) genler ve bu genlerdeki varyantlar	
Ek 5. Bu tez çalışması kapsamında saptanan kopya sayısı değişiklikleri (CNV)	
Ek 6. Bu tez çalışması kapsamında sonuca ulaşılamayan olgular (Genotip fenotip korelasyonu kurulamayan olgular)	
Ek 7. Bu tez çalışması kapsamında WES analizi yapılan olgulara ait elde edilen klinik bulgular	
Ek 8. Ham verinin kalite kontrolü, dizi hizalaması ve varyant çağırma basamakları için kullanılan Linux komutları	
Ek 9. Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen WES analizi ile saptanan yanlış anlamli (missense) varyantların 4 farklı in-silico yöntemle modellenmesi sonucu elde edilen Gibbs Serbest Enerji Değişim (kJ/mol) değerleri ve <i>wild-type</i> – mutant protein yapıları arasındaki polar olmayan bağların sayısı	

- Ek 10. Bu tez çalışması kapsamında Tüm Ekzom Dizileme analizi gerçekleştirilen olguların DNA kodları
- Ek 11. Bu tez çalışması kapsamında varyant filtreleme basamaklarında kullanılan 1419 genlik metabolik ve mitokondriyal hastalık gen paneli
- Ek 12. Bu tez çalışması kapsamında STRING programı ile gerçekleştirilen bağlantı analizi sonrası saptanan moleküller arasındaki ilişkiler ve hesaplanan skorlar
- Ek 13. ETHE1 proteininin doğal (AF-O95571-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95571-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg163 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg163Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli
- Ek 14. VARS2 proteininin doğal (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr367 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr367Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli
- Ek 15. SLC19A3 proteininin doğal (AF-Q9BZV2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly430 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly430Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli
- Ek 16. ADA2 proteininin doğal (AF-Q9NZK5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro193 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro193Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli
- Ek 17. UPF3B proteininin doğal (AF-Q9BZI7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg379 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg379Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli
- Ek 18. NAGLU proteininin doğal (AF-P54802-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P54802-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp312

amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp312Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 19. NEU1 proteininin doğal (AF-Q99519-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99519-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly227 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly227Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 20. COQ7 proteininin doğal (AF-Q99807-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99807-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly206 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly206Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 21. CYP2U1 proteininin doğal (AF-Q7Z449-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly353 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly353Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 22. COA7 proteininin doğal (AF-Q96BR5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96BR5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe230 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe230Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 23. COQ4 proteininin doğal (AF-Q9Y3A0-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9Y3A0-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe146 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe146Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 24. ATP8A2 proteininin doğal (AF-Q9NTI2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NTI2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ala818 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ala818Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 25. PTPN23 proteininin doğal (AF-Q9H3S7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda

Ser1544 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser1544Phe varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 26. UFSP2 proteininin doğal (AF-Q9NUQ7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NUQ7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val115 amino asit etkileşimlerinin ve p.Val115Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 27. PTPN23 proteininin doğal (AF-Q9H3S7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg1595 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg1595Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 28. GLRA1 proteininin doğal (AF-P23415-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23415-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp98 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp98Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 29. PIGN proteininin doğal (AF-O95427-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95427-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro345 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro345Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 30. HIBCH proteininin doğal (AF-Q6NVY1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q6NVY1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr305 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr305Ala varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 31. NEU1 proteininin doğal (AF-Q99519-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99519-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly243 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly243Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 32. FUK proteininin doğal (AF-Q8N0W3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8N0W3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda

Met996 amino asit etkileşimlerinin ve p.Met996Thr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 33. ALOXE3 proteininin doğal (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp327 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp327Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 34. OPA3 proteininin doğal (AF-Q9H6K4-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H6K4-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe6 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe6Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 35. TSC2 proteininin doğal (AF-P49815-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P49815-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg905 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg905Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 36. PRUNE1 proteininin doğal (AF-Q86TP1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q86TP1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp106 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp106Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 37. PYCR2 proteininin doğal (AF-Q96C36-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg199 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg199Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 38. NUP62 proteininin doğal (AF-P37198-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P37198-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gln391 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gln391Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 39. NARS1 proteininin doğal (AF-O43776-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43776-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu538

amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu538Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 40. TPP1 proteininin doğal (AF-O14773-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O14773-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asn286 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn286Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 41. VPS33A proteininin doğal (AF-Q96AX1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96AX1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg498 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg498Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 42. GNPAT proteininin doğal (AF-O15228-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O15228-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg248 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg248Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 43. KCTD7 proteininin doğal (AF-Q96MP8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96MP8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asn273 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn273Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 44. GNAL proteininin doğal (AF-P38405-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P38405-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg329 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg329Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 45. RARS2 proteininin doğal (AF-Q5T160-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5T160-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr346 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr346Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 46. RNASEH2B proteininin doğal (AF-Q5TBB1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5TBB1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda

Leu138 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu138Phe varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 47. GALC proteininin doğal (AF-P54803-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P54803-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Tyr567 amino asit etkileşimlerinin ve p.Tyr567Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 48. TSEN2 proteininin doğal (AF-Q8NCE0-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NCE0-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr364 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr364Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 49. AASS proteininin doğal (AF-Q9UDR5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UDR5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser62 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser62Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 50. ACADM proteininin doğal (AF-P11310-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P11310-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly267 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly267Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 51. PLG proteininin doğal (AF-P00747-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P00747-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly712 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly712Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 52. UNC79 proteininin doğal (AF-Q9P2D8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P2D8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr1554 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr1554Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 53. SCO2 proteininin doğal (AF-O43819-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43819-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ala201

amino asit etkileşimlerinin ve p.Ala201Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 54. SUCLA2 proteininin doğal (AF-Q9P2R7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P2R7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Met329 amino asit etkileşimlerinin ve p.Met329Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 55. ADCY5 proteininin doğal (AF-O95622-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95622-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser636 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser636Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 56. CLN8 proteininin doğal (AF-Q9UBY8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UBY8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly74 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly74Asp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 57. EARS2 proteininin doğal (AF-Q5JPH6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5JPH6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg107 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg107Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 58. GCDH proteininin doğal (AF-Q92947-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q92947-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda His348 amino asit etkileşimlerinin ve p.His348Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 59. CHCHD10 proteininin doğal (AF-Q8WYQ3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8WYQ3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly58 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly58Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 60. CES1 proteininin doğal (AF-P23141-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23141-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val38

amino asit etkileşimlerinin ve p.Val38Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 61. CES1 proteininin doğal (AF-P23141-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23141-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile49 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ile49Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 62. DNM1 proteininin doğal (AF-Q05193-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q05193-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser45 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser45Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 63. ADAM22 proteininin doğal (AF-Q9P0K1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P0K1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro438 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro438Thr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 64. GPD1 proteininin doğal (AF-P21695-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P21695-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly121 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly121Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 65. VAC14 proteininin doğal (AF-Q08AM6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg623 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg623Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 66. RBCK1 proteininin doğal (AF-Q9BYM8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BYM8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg480 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg480Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 67. VAC14 proteininin doğal (AF-Q08AM6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda

Asn628 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn628Lys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 68. KCNB1 proteininin doğal (AF-Q14721-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q14721-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda His8 amino asit etkileşimlerinin ve p.His8Tyr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 69. FBXL4 proteininin doğal (AF-Q9UKA2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UKA2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg482 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg482Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 70. ACAD9 proteininin doğal (AF-Q9H845-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H845-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg433 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg433Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 71. NUS1 proteininin doğal (AF-Q96E22-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96E22-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg20 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg20Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 72. CLP1 proteininin doğal (AF-Q92989-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q92989-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg140 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg140His varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 73. VPS16 proteininin doğal (AF-Q9H269-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Trp180 amino asit etkileşimlerinin ve p.Trp180Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 74. NAXE proteininin doğal (AF-Q8NCW5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NCW5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile214 amino

asit etkileşimlerinin ve p.Ile214Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 75. MMAB proteininin doğal (AF-Q96EY8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96EY8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg195 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg195Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 76. CPS1 proteininin doğal (AF-P31327-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P31327-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr2 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr2Met varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 77. AGL proteininin doğal (AF-P35573-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P35573-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile1237 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ile1237Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 78. SCO2 proteininin doğal (AF-O43819-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43819-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Tyr127 amino asit etkileşimlerinin ve p.Tyr127His varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 79. VPS13B proteininin doğal (AF-A0A804HL73-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-A0A804HL73-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser918 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser918Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 80. UQCRC1 proteininin doğal (AF-P31930-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P31930-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu120 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu120Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 81. PITRM1 proteininin doğal (AF-Q5JRX3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser323 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser323Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Ek 82. MOSPD2 proteininin doğal (AF-Q8NHP6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val445 amino

asit etkileşimlerinin ve p.Val445Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

9. ÖZGEÇMİŞ

259



SİMGELER VE KISALTMALAR

1000G	<i>1000 Genomes Project</i>
BAM	<i>Binary Alignment File</i>
bç	Baz çifti
BWA	<i>Burrows Wheeler Aligner</i>
cDNA	Komplementer DNA
CNV	<i>Copy Number Variation</i>
ENCODE	<i>The Encyclopedia of DNA Elements</i>
IGBAM	TÜBİTAK İleri Genom ve Biyoinformatik Araştırma Merkezi
IGV	<i>Integrative Genomics Viewer</i>
INDELs	<i>Insertion or Deletions</i>
mRNA	Mesajcı RNA
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
PAH	<i>Phenylalanine Hydroxylase</i>
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
TÜSEB	Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı
vcf	<i>Variant call format</i>
WES	<i>Whole Exome Sequencing</i>
WGS	<i>Whole Genome Sequencing</i>

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1. Tüm Ekzom Dizileme veri analizi sonrası elde edilen varyantların filtreleme stratejisi	23
2. Tüm Ekzom Dizileme veri analizi ile saptanan varyantların değerlendirilmesi ve tanıya giden yolda izlenen strateji	27
3. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (<i>variant calling format</i>) dosyası kullanılarak yapılan homozigotluk haritalaması	33
4. M-19-4998 numaralı olgu için çizilen aile ağacı (pedigri)	34
5. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık nedeni patojenik mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları	34
6. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen <i>VPS16</i> ; c.540G>T; p.Trp180Cys yanlış anlamlı mutasyonun Sanger dizileme analizine ait kromatogram görüntüleri	35
7. M-19-4998 numaralı olguda <i>VPS16</i> geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Trp180Cys) yönelik Trp180 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu	35
8. M-19-5077 ve M-19-5078 numaralı olgular için çizilen aile ağacı	37
9. M-19-5078 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık nedeni patojenik mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları	37
10. M-19-5078 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen <i>FITM2</i> ; c.1A>G; p.Met1? başlangıç kodon mutasyonunun Sanger dizileme analizine ait kromatogram görüntüleri	38
11. M-17-4247 numaralı olgunun aile ağacı	39
12. M-17-4247 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (<i>variant calling format</i>) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	40

13. M-17-4247 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi	41
sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık etkeni mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları	
14. M-17-4247 ve M-21-5669 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen <i>UQCRC1</i> ; c.359T>C; p.Leu120Pro yanlış anlamlı mutasyonun Sanger dizileme görüntüleri	42
15. M-17-4247 ve M-21-5669 numaralı olgularda <i>UQCRC1</i> geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Leu120Pro) yönelik Leu120 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu	42
16. M-16-3619 ve M-16-3620 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	45
17. M-16-3798 ve M-16-3799 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	49
18. M-16-3705 ve M-16-3706 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	50
19. M-16-3657 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	52
20. M-16-3560 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	53
21. M-16-3528 ve M-16-3529 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	55
22. M-15-3189 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	56
23. M-16-3715 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (variant calling format) dosyası kullanılarak	57

oluşturulan homozigotluk haritalaması	
24. M-11-1421 numaralı olgu ve anne ile baba için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (<i>variant calling format</i>) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	60
25. M-11-1421 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen <i>PYCR2</i> ; c.595C>T; p.Arg199Trp yanlış anlamlı mutasyonun Sanger dizileme görüntüleri	61
26. M-11-1421 numaralı olguda <i>PYCR2</i> geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Arg199Trp) yönelik Arg199 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu	62
27. M-11-1548, M-11-1552, M-11-1553 numaralı etkilenmiş olgular ve M-11-1551 numaralı etkilenmemiş kardeş için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (<i>variant calling format</i>) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	63
28. M-11-1548, M-11-1552, M-11-1553 numaralı olgularda <i>ALOXE3</i> geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Asp459Glu) yönelik Asp459 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu	64
29. M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552 numaralı etkilenmiş olgular ve M-11-1553 numaralı etkilenmemiş kardeş için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (<i>variant calling format</i>) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması	65
30. M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552 numaralı olgularda <i>OPA3</i> geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Phe6Ser) yönelik Phe6 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu	66
31. M-11-1443 ve M-11-1446 numaralı olgularda <i>COL4A5</i> geninde saptanan homozigot tüm gen delesyonu (ekzon 1-51)	67
32. M-20-5282 numaralı olguda <i>ALMS1</i> geninde saptanan homozigot ekzon 16 delesyonu	68
33. M-15-3089 numaralı olguda <i>IDS</i> geninde saptanan homozigot tüm gen gen delesyonu (ekzon 1-9)	68
34. M-12-1986 numaralı olguda <i>FBP1</i> geninde saptanan homozigot ekzon	69

1-2 delesyonu	
35. M-16-3651 ve M-16-3652 numaralı olgularda <i>SNX14</i> geninde saptanan homozigot ekzon 14-22 delesyonu	69
36. Bu tez kapsamında belirlenen genler kullanılarak gerçekleştirilen bağlantı analizi sonuçları	75
37. UQCRC1 proteinin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi	83
38. PITRM1 proteinin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi	107
39. MOSPD2 proteinin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi	108



TABLÖLER

Tablo	Sayfa
1. DNA Dizi Analizinde Kilometre Taşları	11
2. Yüksek ölçekli DNA dizileme teknolojilerinin özellikleri, avantajları ve dezavantajları	15
3. Kopya sayısı değişiklikleri ve kat değişimi arasındaki sayısal korelasyon	25
4. Tez çalışmasında yer alan vakaları temsil etmesi için seçilen olgularda saptanan genler ve bu genlerin dahil olduğu metabolik yollar	32
5. Bu doktora tezi kapsamında incelenen vakalarda hastalık etkeni genlerin dahil olduğu metabolik yollar	71

GRAFİKLER

Grafik	Sayfa
1. Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu elde edilen başarılı tanı oranını gösteren pasta dilimi grafiği	77
2. Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların literatürde bildirilme yüzdesini gösteren pasta dilimi grafiği	78
3. Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların kalıtım kalıbına göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği	79
4. Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların türüne göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği	80
5. Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların boyutuna göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği	81

• GİRİŞ

Her canlı hayatta kalmak için enerji üretmek zorundadır. Canlıların enerji üretimi, hücre yenilenmesi ve besin sindirimi gibi süreçlerdeki biyokimyasal reaksiyonların tümüne metabolizma adı verilir. Diğer bir tanımıyla metabolizma; metabolit adı verilen kimyasal bileşiklerin enzim aktiviteleri aracılığıyla birbirlerine dönüşümünü, bu dönüşümlerin gerçekleştiği biyokimyasal yollar ile bu yollar içerisindeki metabolit akışlarını düzenleyen mekanizmaların bir bütünüdür. Metabolizma, en temelde anabolizma ve katabolizma olmak üzere iki dala ayrılır. Anabolizma; canlıların enzimatik reaksiyonlar yardımıyla vücutlarına aldıkları besinleri parçalayarak buradan elde ettikleri enerji ile yeni hücreler meydana getirdiği bir biyokimyasal süreçtir. Katabolizma ise bunun tam aksine, canlıların yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirebilmek için enerji kullanması ve bunun sonucunda gerçekleşen hücresel yıkımın tanımıdır. Organizmanın yaşamsal döngüsünün temelini oluşturan bu yapım ve yıkım süreçlerinde meydana gelen aksaklıklardan kaynaklanan hastalıklara metabolik hastalıklar adı verilmektedir.

Metabolik hastalıklar, hücrelerin içerisindeki molekül ve/veya metabolitlerin birbirleri ile olan etkileşim süreçlerindeki sorunlar nedeniyle ortaya çıkar. Kalıtsal olarak alt kuşaklara aktarılan metabolik hastalıklar temelde; aminoasit metabolizması bozuklukları, organik asidemiler, üre döngüsü bozuklukları, karbonhidrat metabolizması bozuklukları, yağ asidi oksidasyon defektleri ve mitokondriyal hastalıklar olmak üzere altı ana başlık altında incelenebilir. Kalıtsal olarak aktarılan metabolik hastalıkların toplumdaki görülme sıklığı nadir olmakla birlikte, bu hastalıkların gerek doğum öncesinde (*prenatal*), gerek yenidoğanlarda gerekse de erken yaşta ileri moleküler yöntemlerle tespiti mümkündür.

Nadir hastalıkların özellikle Türk toplumu için önemli bir bölümünü ilgilendiren kalıtsal metabolik hastalıkların tanısı, günümüzde yeni nesil dizileme teknolojileri sayesinde hızlı ve etkin şekilde konabilmektedir. Gün geçtikçe gelişen teknolojik imkanlar ve yaygınlaşan dizileme yöntemlerindeki alternatif seçenekler ile yeni nesil dizileme teknikleri artık herkes için ulaşılabilir hale gelmiştir.

Bu bağlamda nadir kalıtsal metabolik hastalıklarda hastalığın genetik etiyolojisini aydınlatmak, moleküler tanının kesinleşmesi ve tedavi stratejisinin belirlenmesi için

elzemdir. Bununla beraber belirlenen hastalık etkeni mutasyonların ve/veya genetik varyantların moleküler düzeyde hangi mekanizmalarla fenotipe etki ettiğinin aydınlatılması, ileri tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi için yol gösterici niteliğindedir.

Kalıtsal metabolik hastalıkların etki mekanizmalarının protein düzeyinde aydınlatılması, yüksek bütçeli hücresel deneyler, model organizma çalışmaları ve hastalardan elde edilen çeşitli biyolojik materyallerin moleküler yöntemlerle incelenmesi ile mümkündür.

Yukarıda belirtilen tekniklerin uygulanma güçlüğü, bütçe kısıtlılıkları ve fonksiyonel çalışmaların sonuçlanma süresi gibi sebeplere bağlı olarak biyoinformatik yöntemler ve bilgisayarlı modellemeler ile elde edilen sonuçların önemi gün geçtikçe artmaktadır. İn-siliko (*in-silico*) analiz yöntemler adı verilen bu stratejiler, kurgulanacak ıslak laboratuvar çalışmaları için bir alt yapı oluşturabilme potansiyeline sahiptir.

Kalıtsal metabolik hastalıklara neden olan genetik değişikliklerin çoğu, yanlış anlamlı mutasyonlardır (1). Saptanan mutasyonların protein düzeyindeki etkilerinin *in-silico* modelleme sonuçları, hastalıkların moleküler mekanizmalarının aydınlatılması ile ilgili önemli bir ön veri niteliğindedir.

- **GENEL BİLGİLER**

- **Nadir Hastalıklar**

Nadir hastalıklar, ortalama olarak toplumlardaki her 2.000 kişiden birini etkileyen hastalıklardır. Dünya çapında yaklaşık 263 milyon kişinin nadir bir kalıtsal hastalığa sahip olduğu tahmin edilirken, 5.000 ile 8.000 arasında nadir hastalık olduğu düşünülmektedir (2, 3). OMIM veri tabanındaki (*Online Mendelian Inheritance in Man*) istatistiklere göre insan genomundaki protein kodlayan yaklaşık 20.000 genin 4.434'ündeki mutasyonlar, 6.306 Mendel hastalığının nedensel temelini oluşturmaktadır (4), (<https://www.omim.org/statistics/geneMap>). Bununla beraber, mevcut nadir hastalıklara ek olarak önümüzdeki yıllarda kurulması beklenen 6.000 ile 13.000 arasında Mendel hastalığı-gen ilişkisi olduğu öngörülmektedir (5). Bu nedenle önümüzdeki on yıllarda binlerce ek nadir hastalığın etkeni olan mutasyonun keşfedilmesi beklenebilir.

- **Kalıtsal Metabolik Hastalıklar**

Kalıtsal metabolik hastalıklar, hastalıktan etkilenen metabolik yolağa dayalı olarak çeşitli alt sınıflara ayrılır (6). Bu alt sınıflar şu şekilde sıralanabilir:

- **Mitokondriyal Hastalıklar:** Mitokondriyal hastalıklar, oksidatif fosforilasyondaki kusurlarla karakterize edilen ve yapısal mitokondriyal proteinleri veya mitokondriyal fonksiyonda yer alan proteinleri kodlayan nükleer DNA (nDNA) ve mitokondriyal DNA'daki (mtDNA) genlerindeki mutasyonların neden olduğu bir grup nadir metabolik hastalıktır. Mitokondriyal hastalıklar, kalıtsal metabolik bozuklukların en yaygın grubudur ve nörolojik hastalıkların en yaygın nedenleri arasındadır. Mitokondriyal hastalıklarda tanı koyma zorluklarından biri, hastalarda görülen ve tanıyı geciktirebilen belirgin klinik varyasyonlardır. Buna karşın yeni nesil dizileme tekniklerindeki gelişmeler, özellikle çocukluk çağındaki tanı oranını önemli ölçüde iyileştirmiştir. Konulan genetik tanı, mitokondriyal hastalığa sahip bireylerin çocuk sahibi olma seçeneklerini artırsa da, anneden geçen patojenik mitokondriyal DNA mutasyonlarına sahip kadınlar

için bu durumdan kaçınmak daha zordur. Mitokondri bağıışı da dahil olmak üzere in vitro fertilizasyon tekniklerindeki son gelişmeler, gelecekte kadınlar için daha iyi bir sağlıklı çocuk doğurma seçeneğı sunabilir. Mitokondriyal hastalıklardan etkilenmiş bireylerin tedavisi, günümüzde halen zorlu bir süreçtir; ancak hastalığa bağılı komplikasyonları kontrol altına alabilmek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bununla beraber, giderek artan sayıda tedavi seçenekleri bulunarak geniş hasta gruplarında yapılan çalışmalar ile biyobelirteçlerin geliştirilmesiyle birlikte çok sayıda klinik araştırma umut verici niteliktedir.

- Amino asit metabolizması bozuklukları: Aminoasitler, vücudun çeşitli işlevleri için elzem olan proteinlerin yapı taşlarıdır. Canlıların vücudu, bu kritik molekülleri işlerken meydana gelebilecek bir aksaklık, amino asit metabolizma bozuklukları olarak bilinen bir grup hastalığın temel sebebidir. Bu bozukluklar, bireyleri farklı şekilde etkileyen çok çeşitli semptomlarla ortaya çıkar. Bunlar, amino asit metabolizmasındaki aksaklıkları kapsar.
- Karbonhidrat Metabolizması Bozuklukları: Karbonhidrat molekülü, insan vücudunda enerji ve besin sağlamak için ihtiyaç duyulan önemli bir makro moleküldür. Karbonhidrat molekülü, vücutta enerji üretimi için kullanılmadan önce glikoz gibi basit şekerlere parçalanır veya vücutta karaciğer ve kas dokularında glikojen formunda depolanır. Glikojen karaciğerde açlık durumunda kan şekeri seviyesinin korunması için glikoz rezervi olarak görev alır. Glikojen molekülü kas dokularında kas kasılması için enerji kaynağı olarak kullanılır (7). Glikojen sentez yolağında çok sayıda enzim ve taşıyıcı molekül rol oynar. Bu moleküllerden herhangi birinin eksikliği, glikojen depo hastalıklarına neden olur.
- Yağ Asidi Oksidasyon Bozuklukları: Yağ asidi oksidasyon bozuklukları, mitokondriyal β -oksidasyon yolağı veya karnitin metabolik yolağındaki yağ asitlerinin taşınmasında meydana gelen aksaklıklardan kaynaklanan nadir metabolik hastalıklardır. Yağ asidi oksidasyon bozuklukları, yenidoğanlarda ilk olarak şiddetli kardiyomiyopatik bulgularla ortaya çıkar. Bebeklerde ve çocukluk

çağında ise karaciğer fonksiyon bozuklukları ile hipoketotik hipoglisemi ile karakterizedir. Ergenlik dönemi ve sonrasında ise belirtiler arasında epizodik rabdomyoliz mevcutsa da, yağ asidi oksidasyon bozukluğu hastalarının çoğunda bu semptomlar herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir. Semptomların başlangıç yaşından bağımsız olarak, bütün hastaların tedavisinde açlık durumundan kaçınmak, semptom belirtileri halinde agresif tedavi ve takviye olarak karnitin molekülünün alınması önerilmektedir. Yağ asidi oksidasyon bozuklukları, yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkili, otozomal resesif kalıtılan bir grup nadir metabolik hastalıktır. Yenidoğan taraması ile erken teşhis ve tedavi yoluyla hastalık semptomları azaltılabilir.

- **Peroksizomal Hastalıklar:** Kompleks molekül bozukluklarının bir diğer önemli grubu, lipid metabolizmasından ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonundan sorumlu hücresel organeller olan peroksizomlardaki aksaklıklardan kaynaklanır. Zellweger Sendromu gibi peroksizomal hastalıklar, çok uzun zincirli yağ asitlerinin (VLCFA'lar) ve diğer lipid türlerinin düzgün bir şekilde metabolize edilememesinden kaynaklanır ve bu da ileri nörolojik bulgular, karaciğer fonksiyon bozuklukları ve iskelet anomalilerine yol açar. Peroksizom biyogenezi veya peroksizomal enzimlerdeki bozukluklar, hücresel toksisiteye neden olan lipid türlerinin birikmesiyle sonuçlanır ve safra asitleri ve plazmalojenler gibi temel hücresel bileşenlerin biyosentez yollarını bozar. Zellweger Sendromu gibi peroksizomal hastalıklar, hipotoni, nöbet, kraniyofasiyal anomaliler ve gelişimsel gecikme gibi önemli klinik özellikler nedeniyle genellikle yenidoğan döneminde karakterizedir. Adrenolökodistrofi (ALD) gibi daha hafif vakalarda, hastalar çocukluk veya yetişkinlik döneminin sonlarına kadar belirti göstermeyebilir ve sıklıkla ilerleyen nörolojik gerileme ve adrenal yetmezlik tablosu gösterir.

2.3. Kalıtsal Metabolik Hastalıklarda Moleküler Tanı Yöntemleri

Kalıtsal metabolik hastalıklarda geleneksel tanı yöntemleri büyük ölçüde fenotipik değerlendirme ve laboratuvar bulgularının yorumlanmasına dayanır. Bununla beraber daha önce gözlenen nadir hastalık deneyimlerinden elde edilen klinik tecrübenin literatür bilgileriyle birleştirilmesi de tanı koyma yüzdesini artırmaktadır. Nadir hastalıklardan etkilenmiş birçok hastaya yıllarca tanı konulamamakta ve birçok hasta doğru teşhis verilmeden komplikasyonlar ve ağırlaşan klinik tablo sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Son yıllarda gerçekleşen tıp alanındaki teknolojik ve teorik bilgileri kapsayan ilerlemelere karşın, nadir hastalıklarda fizik muayene ve biyokimyasal metotlarla tanı verilemeyen hastaların en fazla %25-35'ine moleküler yöntemlerle tanı konulabilmektedir (8).

Moleküler metotlar arasında DNA dizi analiz yöntemi (Sanger dizileme), son yıllara kadar genetik hastalıkların tanısında kullanılan altın standart teknik olarak kabul edilse de, gelişen teknoloji ile son yıllarda DNA dizi analiz yöntemlerinde önemli gelişmeler gerçekleşmiştir (Tablo 1). Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing/NGS) tekniklerinde gün geçtikçe gerçekleşen teknolojik gelişmeler, dizileme maliyetlerinin azalması ve farklı merkezlerde kullanımın yaygınlaşması sayesinde yeni nesil dizileme yöntemi, nadir hastalıklara tanı verirken en sık kullanılan ve önemli araç haline gelmiştir. Özellikle gen panelleri ile dizileme, mikrodizin yöntemi ve ekzom dizileme, nadir ve teşhis edilemeyen hastalıkların moleküler nedeninin belirlenmesinde yardımcı olmuştur.

2.3.1. Yeni Nesil Dizileme Yöntemleri ve En Yaygın Kullanılan Platformlar

Yaklaşık 6,3 milyar baz dizisinden meydana gelen insan genomunun yarısı tekrar bölgeleri, %25'i intergenik bölgeler, %23,5'i protein kodlamayan bölgeler olan intronlar ve %1,5'i protein kodlayan gen bölgeleri olan ekzonlardan oluşur. 20 yıl önce gelişmeye başlayan ve günümüzde yaygın şekilde kullanılan yeni nesil dizileme teknikleri sayesinde insan genomunun tek seferde dizilenebilmesi mümkündür. Yeni nesil dizileme teknolojisi sayesinde üretilen büyük ölçekli dizileme verileri, nadir hastalıkların kalıtımına yönelik gerçekleştirilen çalışmalara hız kazandırmış ve genetik hastalıkların etkeni olan patojenik

varyantların tanımlanmasını mümkün hale getirmiştir. Bu teknolojiler ile üretilen büyük ölçekli veriler (*big data*), benzer şekilde insan genomundaki kişiye ve topluma özgü genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Bu sayede nadir hastalıklar için sağlıklı olduğu bilinen bireylerin genom dizileri elde edilerek genomik çalışmalarda kullanılan referans diziler için geniş arşivler oluşturulmuştur. Arşiv niteliğindeki bu veri tabanlarının en yaygın kullanılanı “*Genome Aggregation Database (gnomAD)*” veri tabanıdır (9).

Gerçekleştirilecek genetik çalışmalar için hangi yeni nesil dizileme teknolojisinin kullanılacağı; çalışmanın hedefi, dizilenecek organizmanın genom boyutu, dizileme verisinin niteliği ve boyutu, yöntemin maliyeti, laboratuvar veya merkezin fiziksel olanakları gibi değişkenler göz önüne alınmalıdır. Kullanılacak yeni nesil dizileme yöntemi, hedeflenen genom bölgesinin boyutu ve dizileme cihazının kapasitesine göre üç başlıkta incelenebilir:

Bölgeye Özgü Hedefli Dizileme (*Targeted Re-sequencing*)

Bölgeye özgü hedefli dizileme, genomdaki bir veya birden fazla bölgenin hedeflenerek çalışmaya uygun bir tasarım ile dizilenmesi yöntemidir. Bölgeye özgü hedefli yeni nesil dizileme yönteminin uygulanması için genomdaki bir veya birden fazla bölgenin belirli yöntemler ile seçilmesi gerekmektedir. Bölgeleri seçme işlemi prob veya primerler kullanılarak gerçekleştirilir. Prob kullanılan yöntemlerde genomdaki hedef bölgeler ile eşleşen biyotin işaretli diziler, kırılmış (fragmente) DNA bölgeleri ile hibridizasyona maruz bırakılır. Bu aşamaların sonrasında, biyotin ile işaretlenmiş fragmentler, streptavidin kaplı manyetik nano kürecikler ile bağlanır ve saflaştırma işlemi gerçekleştirilir. Primerlerin kullanıldığı sistem ise polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) esasına dayanır. Bu yöntem ile binlerce polimeraz zincir reaksiyonu (*High Multiplex PCR*) sonucunda çoğaltılan hedef DNA bölgelerinin çoğaltılması esastır.

Hedeflenen DNA bölgesinin karakterizasyonu, DNA haritalaması (*mapping*) sonrasında gerçekleşir. Ayrıca incelenen hastalığın etkeni olan genler literatürde

bildirilmişse sadece bu bölgelere göre primerler tasarlanarak konvansiyonel dizileme de gerçekleştirilebilir. Yapılacak araştırmanın niteliğine bağlı olarak kullanılacak olan yeni nesil dizileme tasarımı tek kullanımlıktır. Bu nedenle oluşacak yüksek maliyetlerin önüne geçebilmek için günümüzde genetik çalışmalarda genellikle genlerin protein kodlayan bölgeleri olan ekzonlar ve kırılma (*splicing*) bölgelerini hedefleyen dizileme stratejisi olan tüm ekzom dizileme yöntemi uygulanmaktadır.

Tüm Ekzom Dizileme (*Whole Exome Sequencing/WES*)

Genetik hastalıklara neden olan patojenik mutasyonların neredeyse %90'ı genlerin protein kodlayan bölgelerinde yer alır. Ekzon adı verilen bu gen bölgeleri, insan genomunun yaklaşık %1,5'luk kısmını meydana getirir ve hemen hemen 50 Mb (milyon baz/ megabaz) boyutundadır. İnsan genomda yer alan protein kodlayan genlerin toplamdaki 180.000 civarında ekzonunun bir seferde dizilenmesi, tüm ekzom dizileme (*Whole Exome Sequencing/WES*) yöntemi olarak adlandırılır. Tüm ekzom dizilemenin maliyeti, tüm genom dizileme yöntemine kıyasla çok daha düşüktür. Ayrıca tüm ekzom dizileme yöntemi, biyoinformatik basamakların kolaylığı ve veri analiz gereksinimlerinin görece düşük olması sayesinde hastalara kısa sürede sonuç verilmesini mümkün kılmaktadır. Nadir kalıtsal hastalıklarda tanıya yönelik yapılan dizileme yöntemleri arasında en sık kullanılan dizileme stratejisi tüm ekzom dizilemedir. Tüm ekzom dizileme yöntemindeki en büyük dezavantajlardan biri 5' UTR (*untranslated regions*), 3' UTR ve intronik bölgelerde yer alan mutasyonların kaçırılmasıdır. Buna ek olarak büyük insersiyon/delesyonların saptanması ve kromozomal yeniden düzenlenmelerin (*chromosomal rearrangements*) tespiti de bu yöntemle çok düşük hassasiyet ile gerçekleşebilmektedir. Ayrıca tüm ekzom dizileme verisinin biyoinformatik analizi sonrasında kopya sayısı değişikliklerini (CNV) saptamaya yönelik yazılımlar mevcutsa da elde edilen verinin yapısı (*data structure*) nedeniyle bu yöntemler günümüzde de hastalık sebebi yukarıda belirtilen etkenlerden biriye doğru tanısı verecek hassasiyette çalışmamaktadır.

Tüm Genom Dizileme (*Whole Genome Sequencing/WGS*)

Bir organizma genomunun, herhangi bir bölge ayrımı gözetmeksizin bütün nükleotidlerinin dizilenmesi, Tüm genom dizileme (*Whole Genome Sequencing*) olarak adlandırılır. Tüm genom dizileme metodunda; DNA moleküllerinin farklı yöntemler ile (ses dalgaları, enzimatik reaksiyonlar veya azot gazı ile muamele vb.) belirli uzunluklarda parçalanması, diğer bir adıyla fragmentasyon işlemi gerçekleştirilmelidir. DNA materyali, istenilen uzunluktaki parçalara ayrıldıktan sonra oluşan nükleotit parçalarının uçlarına, adaptör adı verilen baz dizileri bağlanır.

DNA parçalarının dizilenmesi sonrasındaki veri analiz basamakları arasında referans genoma göre hizalanma (*alignment*) aşaması, genomdaki tek nükleotit tekrarları, yüksek homoloji gösteren bölgeler veya Guanin-Sitozin (GC) içeriğince zengin bölgeler sebebiyle diğer yöntemlere kıyasla daha zordur.

Yeni nesil dizileme stratejileri arasında en kapsamlı ve detaylı sonuç, tüm genom dizileme yöntemi ile elde edilebilir. Bu dizileme yöntemi ile, büyük insersiyon ve delesyonlar (*INDELs*), yapısal yeniden düzenlenmeler, 3', 5' UTR ve intronlarda yer alan genetik değişiklikler gibi bulguların elde edilmesi de mümkündür. Bu yöntem sayesinde kopya sayısı değişiklikleri de (≥ 100 nükleotit) yüksek hassasiyet ile saptanabilmektedir. Tüm genom dizileme ile nadir genetik hastalıkların tanısı verimli şekilde gerçekleştirilmesine rağmen; üretilen verinin okuma derinliklerinin (*coverage*) diğer yeni nesil dizileme yöntemlerine göre düşük olması bir dezavantajdır. Bununla birlikte maliyetin yüksek olması, elde edilen büyük boyutlu verilerin saklanması, analiz ve değerlendirme süreçlerinin zor ve uzun olması gibi sebeplerle, tüm genom dizileme yöntemi nadir hastalıklarda tanı vermek için günümüzde halen ilk seçenek olarak tercih edilmemektedir.

Günümüzde yeni nesil dizileme teknolojisinde kullanılan araçlar ve platformların sayısı artmıştır. Aynı şekilde bu yöntemlerin kullanım alanı da gün geçtikçe genişlemektedir. Çok sayıda farklı ticari firmanın geliştirdiği dizileme teknolojileri, farklı tasarımlar ve platformlar ile karşımıza çıkmaktadır. Bu sayede gerçekleştirilecek çalışmaya veya mevcut bütçeye göre seçilecek olan dizileme teknolojileri de çeşitlilik

göstermektedir. Ülkemizde yeni nesil dizileme teknolojilerinin ilk ıslak laboratuvar uygulamaları, 20 yıldan uzun bir süre önce Roche firmasının piyasaya sürdüğü GS Junior ve GS FLX dizileme cihazları (*Roche/454 Life Sciences*) ile yaygınlaşmaya başlamıştır.



Tablo 1: DNA Dizi Analizinde Kilometre Taşları

Yıl	Gerçekleştirilen Çalışma
1944	Oswald Avery, Colin MacLeod ve Maclyn McCarty, DNA'nın kalıtsal bilginin taşıyıcısı olduğunu gösterdi.
1953	James D. Watson ve Francis Crick, DNA'nın çift sarmal yapısını belirledi.
1965	Robert Holley 74 nükleotitlik tRNA molekülünün tam dizi analizini gerçekleştirdi
1975	Walter Gilbert ve Allan Maxam, kimyasal bozunma yöntemiyle DNA dizilimini geliştirdiler.
1977	Frederick Sanger øX174 bakteriyofaj genomunu dizileyerek ilk tüm genom (shotgun) dizileme çalışmasını geliştirdi.
1977	Frederick Sanger zincir sonlanma yöntemi adı verilen tekniği geliştirdi.
1984	DNA dizi analiz yöntemi Akiyoshi Wada tarafından otomatize edildi ve bu yöntem <i>Nature</i> dergisinde yayınlandı.
1987	DNA dizi analizi Leroy Hood ve Llyod Smith tarafından tam otomatize hale getirildi bu yöntem <i>Genomics</i> dergisinde yayınlandı.
1995	Craig Venter, Claire Fraser ve Hamilton Smith gerçekleştirdikleri ilk bakteriyel genom dizileme çalışması ile <i>H.influenzae</i> 'nin DNA dizisini belirledi.
1996	André Goffeau ilk ökaryotik genom dizileme ile <i>S.cerevisiae</i> 'nin DNA dizisini belirledi.
1998	Sanger Dizileme Merkezi'nde gerçekleştirilen ilk çok hücreli organizma genomunun dizilenmesi ile <i>C.elegans</i> 'ın DNA dizisi belirlendi.
1999	Sanger Dizileme Merkezi'nde insan genomundaki 22. kromozomun DNA dizisi belirlendi ve sonuçlar <i>Nature</i> dergisinde yayınlandı.
2000	Celera Genomics merkezinde gerçekleştirilen <i>D.melanogaster</i> tüm genom dizileme çalışması <i>Science</i> dergisinde yayınlandı.
2000	Mitsuharu Hattori ark. tarafından 21. kromozomun DNA Dizi Analizi gerçekleştirilerek sonuçlar <i>Nature</i> dergisinde yayınlandı.
2000	<i>A.thaliana</i> genomu dizilenerek ilk defa bir bitki türünün DNA dizisi tanımlandı ve sonuçlar <i>Nature</i> dergisinde yayınlandı.
2001	The International Human Genome Mapping Consortium, ilk kez insan genomunun fiziksel haritasını çıkardı.
2002	Uluslararası Fare Genomu Dizileme Konsorsiyumu (<i>The International Mouse Genome Sequencing Consortium</i>) C57BL/6J suşuna ait dişilerden fare genomunun ilk taslak dizisini tanımladı.

2002	Veri tabanlarının yayınlanması: Dizileme ile üretilen büyük miktardaki genom verisinin ek açıklamalarla görselleştirilmesi ve veri tabanlarına entegre edilerek yayınlanması. Ensembl ve UCSC gibi genom tarayıcıları, çok sayıda farklı türe ait genom verilerine erişmeyi mümkün kıldı.
2003	İnsan genomundaki 20.000 ile 25.000 genin haritalanması ve genom dizisinin belirlenmesini amaçlayan insan Genom Projesi (<i>The Human Genome Project</i>) tamamlandı.
2005	İnsan genomunun haplotip haritalaması ile hastalık etkeni genetik değişikliklerin aydınlatılması için yol gösterici olan HapMap projesinin ilk verileri <i>Nature</i> dergisinde yayınlandı.
2005	Primatlardan şempanzeye ait ilk DNA dizi taslağı yayınlanarak insan biyolojisi ve evrimine dair önemli bir adım atıldı.
2005	Önemli besin kaynaklarından biri olan pirincin (<i>Oryza sativa</i>) genomu tanımlandı.
2005	Geleneksel Sanger dizileme tekniğine kıyasla daha az maliyet ve zaman harcayarak bir bakteri genomunu dizileyebilen yüksek verimli paralel dizileme teknolojisi geliştirildi. Bu yöntem daha sonraki yıllarda "Yeni Nesil Dizileme" (<i>Next Generation Sequencing/NGS</i>) teknikleri olarak adlandırılmıştır.
2007	Kromatin immünopresipitasyon yöntemini yüksek verimli yeni nesil dizilemeyle birleştiren ChIP-Seq metodu geliştirildi.
2008	RNA-Seq olarak bilinen yöntem ile genomdaki tüm genlerin transkriptlerinin (Transkriptom) yüksek verimli dizi analizi gerçekleştirildi.
2009	Uzun dizi okumalarını mümkün kılan dizileme teknolojileri (<i>Long Read Sequencing</i>), mevcut tekniklerin eksiklikleri nedeniyle oluşan boşlukları kapatarak insan genomundaki karmaşık dizileri ortaya çıkarmaya başladı.
2009	Hedefli yeni nesil dizileme yöntemi (<i>Targeted re-sequencing</i>) kullanılarak insan genomunda protein kodlayan ekzonlar (genomun yaklaşık %1'i) dizilendi. Tüm Ekzom Dizileme (<i>Whole Exome Sequencing/WES</i>) adı verilen bu yöntemin geliştirilmesi sayesinde nadir hastalıklara moleküler tanı koyma sürecinde bir çığır açıldı.
2009	Sodyum bisülfidin metillenmemiş sitozinleri urasile dönüştürdüğü keşfi ile, birçok DNA metilasyonu tespit edilebilir hale geldi. Bisülfid uygulamalarını yeni nesil dizilemeyle birleştiren tüm genom bisülfid dizilimi sayesinde tek nükleotid hassasiyetinde genom çapında DNA metilasyonunun karakterizasyonu mümkün hale geldi.
2010	Neandertal genomunun ilk taslağının yayınlanması, paleogenomik çalışmalar için bir dönüm noktası oldu.
2010	Ng ve ark. tüm ekzom dizileme yöntemi ile gerçekleşen ilk yeni gen bulma çalışmasını tamamladı. Çalışma sonunda <i>DHODH</i> genindeki mutasyonların Miller Sendromu'na neden olduğu gösterildi.
2011	1 milyon Tüm Genom Dizileme hedefi ile Amerika Birleşik Devletleri (USA) toplumunda "All of Us" genom projesine başlandı.
2012	Farklı etnik gruplardan 1000 sağlıklı bireyin genom dizilemesinin gerçekleştiği 1000 Genom Projesi (<i>1KGP</i>) tamamlandı.

2012	İnsan genomundaki protein ve RNA düzeyinde işlev gören fonksiyonel elemanları tanımlamamızı sağlayan ENCODE (<i>The Encyclopedia of DNA Elements</i>) projesinin ilk sonuçları yayınlandı.
2013	2001 yılında başlayan Zebra Balığı (<i>D.rerio</i>) genom dizileme projesinin <i>shotgun</i> yöntemi ile gerçekleştirilmiş tüm genom dizisi yayınladı. Bu sayede model organizma çalışmaları hız kazandı.
2017	500.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile Finlandiya toplumunda "FinnGen" genom projesine başlandı.
2017	100.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile Çin toplumunda " <i>Harbin Institute of Technology (HIT)</i> " bünyesindeki genom projesine başlandı.
2017	100.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile Avustralya toplumunda " <i>National Health and Medical Research Council (NHMRC)</i> " bünyesindeki genom projesine başlandı.
2018	100.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile İngiltere toplumunda <i>National Health Service (NHS) Genome Medicine</i> bünyesindeki genom projesine başlandı.
2019	100.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile Türk toplumunda Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) bünyesindeki genom projesine başlandı.
2023	Türkiye İnsan Genom Projesi: 100.000 Tüm Genom Dizileme hedefi ile başlayan ve TÜSEB tarafından başlatılan Türk Genom Projesi'nin ilk verileri yayınlandı.

Bu iki yöntem de DNA molekülünün hedefli yeniden dizilenmesi (*targeted re-sequencing*) için bir öncü niteliğindedir. Aynı firma bünyesinde geliştirilen iki cihaz arasındaki en önemli fark dizileme kapasitesidir. GS Junior daha küçük gen bölgelerini dizilemeye olanak sağlarken, GS FLX cihazının dizileme kapasitesi daha yüksektir. Her iki kapasitedeki teknoloji de hem uzun süreli hem de verimsiz kütüphane hazırlık süreçleri nedeniyle zaman içerisinde kullanıcılar arasında tercih edilmemiştir. Bununla birlikte Roche firmasının kullanıcılara sunduğu veri analiz seçeneklerinin (Dizi hizalaması için *GS Reference Mapper* ve varyant belirleme basamakları için *GS Amplicon Variant Analyzer*) kullanımının zor olması sebebiyle de bu yöntemlerin yerlerini zaman içerisinde başka platformlar doldurmuştur.

Yeni nesil dizileme çalışmalarında en yaygın şekilde Illumina platformu kullanılmaktadır. Bunun dışına Thermo Fisher Scientific/Life Technologies, Pacific Biosciences (PacBio) ve Oxford Nanopore firmalarının da yeni nesil dizileme için tasarladığı cihazlar bulunmaktadır. Bu teknolojiler arasında Oxford Nanopore ve PacBio markaları, kullanıcılara daha uzun okuma uzunlukları (*read length*) sağlayabilmektedir. Bundan dolayı bu platformlar genellikle daha önce tanımlanmamış mikroorganizma genomlarının karakterize edilmesi için kullanılır. Bununla birlikte Illumina ve Thermo Fisher Scientific platformları, nadir kalıtsal hastalıklarının tanısında sıklıkla kullanılmaktadır. Çeşitli yeni nesil dizileme markaları ve teknolojileri, bu platformlardan elde edilen yüksek ölçekli dizileme verilerinin niteliği, bu metotların avantaj ve dezavantajları Tablo 2’de özetlenmiştir. Bu doktora tez çalışmasındaki kalıtsal metabolik hastalıkların genetik tanısında Illumina altyapıları kullanılmıştır.

Tablo 2: Yüksek ölçekli DNA dizileme teknolojilerinin özellikleri, avantajları ve dezavantajları (10)

Platform/ Cihaz	Üretilen Verinin Büyüklüğü (Milyar Baz/Gb)	Okuma Uzunluğu (Baz çifti)	Avantaj	Dezavantaj
Sanger Dizileme				
ABI 3500/3730	0,0003	1000 nükleotide kadar	Okuma uzunluğu ve doğruluğu	Maliyet ve veri çıktısı
Illumina				
MiniSeq	1,7 - 7,5	1 x 75 - x 150	Düşük başlangıç maliyeti	Koşum süresi ve okuma uzunluğu
MiSeq	0,3 - 15	1 x 36 - 2 x 300	Okuma uzunluğu ve ölçeklenebilirlik	Okuma uzunluğu
NextSeq	10 - 120	1 x 75 - 2 x 150	Veri çıktısı	Koşum süresi ve okuma uzunluğu
HiSeq (2500)	10 - 1000	x 50 - 150	Okuma doğruluğu ve veri hacmi	Yüksek başlangıç maliyeti ve koşum süresi
NovaSeq 5000/6000	2.000 - 6.000	2 x 50 - x 150	Okuma doğruluğu ve veri hacmi	Yüksek başlangıç maliyeti ve koşum süresi
IonTorrent				

PGM	0,08 - 2	400'e kadar	Okuma uzunluğu ve hız	Çıktı boyutu ve homopolimer hataları
S5	0,6 - 15	400'e kadar	Okuma uzunluğu ve hız	Homopolimer hataları
Proton	10 - 15	200'e kadar	Hız ve veri hacmi	Homopolimer hataları
Pacific BioSciences				
PacBio RSII	0,5 - 1	60.000'e kadar	Okuma uzunluğu ve hız	Yüksek hata oranı
			(Ortalama 10.000 nükleotid)	
Sequel	5 - 10	60.000'e kadar	Okuma uzunluğu ve hız	Yüksek hata oranı
Oxford Nanopore			(Ortalama 10.000 nükleotid)	
MInION	0,1 - 1	100.000'e kadar	Okuma uzunluğu, sekans cihazının boyutu	Yüksek hata oranı, koşum süresi

2.3.2. Kalıtsal Metabolik Hastalıklardan Sorumlu Genetik Etkenin Saptanması

Kalıtsal metabolik hastalıkların büyük kısmı için hem klinik hem de moleküler tanı basamaklarındaki aksaklıklar nedeniyle genotip-fenotip ilişkisi doğru şekilde kurulamamaktadır. Bu hastalıktan etkilenen bireylerde doğru tanıya ulaşabilmek için geçen süre zarfında çeşitli tıbbi müdahaleler uygulanmaktadır. Kalıtsal nadir hastalıklara moleküler tanı koymak için ortalama 5-6 yıl gerekmektedir (11). Çeşitli merkezlerde sürekli olarak tekrar edilen tanı vermeye yönelik girişimsel işlemler, aynı hastalığa sahip bireylerde benzer testlerin tekrarlanması, hastalık ile ilişkisi olmayan çok sayıda test ve değerlendirmeler, tanıdan uzak radyolojik tetkikler, doku biyopsisi gibi girişimsel işlemler ve patolojik incelemeler sebebiyle yanlış tedavilerin uygulanması vb. yöntemlerin sonucunda hastalıktan etkilenen bireylerin çözümsüz vaka şeklinde nitelendirilmesi ile bu hastalıklarda tanı ve tedavi sürecinin etkin yönetimi son derece zorlaşmaktadır (12).

Son yıllarda gerçekleşen yeni nesil dizileme yöntemlerinin gelişimi ve yaygın şekilde kullanımı, kalıtsal nadir metabolik hastalıklara konulan moleküler tanı oranını önemli ölçüde artırmıştır. Nadir metabolik hastalıklarda en etkili moleküler tanı koyma metodu Tüm Ekzom Dizileme (WES) yöntemidir. Bu yöntemin yaygın şekilde kullanılması, hücresel işlevleri tam olarak belirlenmemiş genlerin nadir hastalıklar ile ilişkilendirilmesine olanak tanımıştır. Genellikle nadir metabolik hastalıklar için konulan moleküler tanı, uygulanması gereken tedavi yöntemine kısıtlı etkide bulursa da kalıtsal metabolik hastalıklarda bu durum aynı değildir. WES çıktılarının yorumlanması sonrasında, doğru tanı yollarının izlenmesi ile nadir kalıtsal metabolik hastalıklar hem hücresel hem de moleküler düzeyde aydınlatılabilir. Nadir metabolik hastalıklar için uygulanan değişik tedavi metotları, hastalıktan etkilenen bireylerdeki klinik tablonun ilerleyişini de değiştirmektedir. Yeni nesil dizilemenin ham veri analizinde kullanılan algoritmalar ve tanıya giden yolda araştırmacıya yol gösteren karar destek sistemleri her geçen gün gelişmektedir. Günümüzde nadir hastalıklar için tanı verme algoritmalarına yapay zeka entegre edilmeye başlanmasına karşın, halen bütün nadir kalıtsal genetik hastalıklarda Tüm Ekzom Dizileme yönteminin tanı verme oranı %30 ile %35 arasında

değişiklik göstermektedir. Kalıtsal metabolik hastalıklar için tanı verme oranının artması; işlenmemiş verilerin gelişmiş biyoinformatik yöntemler ile analiz edilmesi, klinik açıdan yorumlayarak belirli standartların oluşturulması, ham verinin yeniden analizi (*re-analysis*) veya analiz edilmiş sonuçların zamanla tekrar yorumlanması (*re-interpretation*) ile mümkün olmaktadır. Bunlarla beraber yine sonuç yorumlama basamaklarına entegre edilen yapay zeka teknolojileri ve derin fenotipleme aşamaları yardımı ile tanı verme yüzdeleri artmaktadır. Bütün bu yaklaşımlar sayesinde, yakın bir gelecekte nadir kalıtsal metabolik hastalıklara hızlı ve etkin şekilde tanı konulabilecek ve meydana gelebilecek komplikasyonların önüne geçilebilecektir.

Nadir metabolik hastalıkların büyük bir kısmından nokta mutasyonları sorumlu olsa da küçük insersiyon/delesyonlar (*INDELs*) ile birlikte kopya sayısı değişiklikleri (*CNV*) ve genomun büyük yapısal yeniden düzenlenmelerini de göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Her geçen gün geliştirilmeye devam eden veri analiz yöntemleri sayesinde yeni nesil dizileme verisinden kopya sayısı değişikliklerini tespit etmek mümkün hale gelmiştir. Hem tüm genom hem de tüm ekzom dizileme verilerinin farklı yöntemler ile analizi sonrasında saptanan kopya sayısı varyantları, nadir metabolik hastalıklar için yeni bir moleküler tanı yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bütün bunlara ek olarak nadir metabolik hastalıkların önemli bir çoğunluğunu meydana getiren yanlış anlamlı (*missense*) mutasyonların, proteinlerin üç boyutlu yapısı üzerinde yarattığı yıkıcı etkilerin *in-silico* yöntemlerle incelenmesi, tanı koyma basamaklarında hesaplamalı bir karar destek yöntemi olarak değerlendirilebilir.

2.4. Bağlantı Analizleri

Bağlantı analizleri (*Network Analysis*), literatürde bildirilmiş protein-protein etkileşimlerini görselleştirmeye yarar. Bu analizler, belirlenen parametreler ile birlikte çok sayıda ilişkiyi tanımlamamızı sağlar. Bağlantı analizleri çoğunlukla açık erişimli *in-silico* araçlar ile gerçekleştirilir. Bu yöntemin çalışma prensibi, literatürden meta-analizi ile çekilen verilerin ilişkilendirilmesine dayanır.

Bağlantı analizlerinde çok sayıda ön veri, doğrudan ve dolaylı protein-protein etkileşimlerinin tanımlanması için kullanılır. Bun ön veriler:

- Genlerin kromozomal pozisyonları
- Yeni Nesil Dizileme verileri
- Proteinlerin farklı türler arasındaki evrimsel korunmuşluğu
- Genlerin ifade profilleri
- Çeşitli veri tabanları ve literatürde yer alan bilgilerdir.

BioCarta (National Cancer Institute), BioCyc Pathway/Genome Database Collection, KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), Reactome ve STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins), bilimsel çalışmalarda en sık kullanılan bağlantı analizi programlarıdır.

3. BİREYLER VE YÖNTEM

3.1. Bireyler

Bu tez kapsamında 162 aileden 213 kalıtsal metabolik hastalığa sahip pediatrik hastaya ait Tüm Ekzom Dizileme (WES) verisinin ham veri analizi biyoinformatik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen verilerin hasta kodları Ek tablo 10'da verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Illumina Yeni Nesil Dizileme Islak Laboratuvar Uygulamaları

Yeni nesil dizileme çözümleri arasından başı çeken Illumina firması tarafından geliştirilen stratejide DNA kütüphaneleri iki yöntem kullanılarak hazırlanır. Bunların birincisinde hedefli oligo dizileri, tasarlanan probalar kullanılarak *flow cell* adı verilen cam bir yüzeye hibridizasyon yöntemiyle ısıtılarak bağlanır.

Son yıllarda gelişen ıslak laboratuvar teknikleri sayesinde kütüphane hazırlama basamakları *Thermo Fisher Scientific* firması tarafından tasarlanan ve kullanıcılara 12 farklı primer havuzu içinde liyofize şekilde sunulan yaklaşık 294.000 primer dizisi ile oluşturulabilmektedir. Hem prob teknolojisi ile hem de primer dizileri kullanılarak gerçekleştirilen polimeraz zincir reaksiyonları sayesinde kütüphane hazırlama basamaklarındaki polimerizasyon, yukarıda bahsedilen cam yüzeyin üzerinde köprü amplifikasyonu (*bridge amplification*) adı verilen teknik ile gerçekleştirilir. Uygulanan bu yöntem sonrasında lokal DNA kopyaları oluşturulur. Polimerizasyon basamakları esnasında A (Adenin), T (Timin), G (Guanin) ve C (Sitozin) molekülleri eş zamanlı şekilde tepkimenin gerçekleştiği ortama salınır ve DNA dizisine bağlanmayan azotlu nükleotitler yıkanarak ortamdan uzaklaştırılır. Kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği cam yüzeyde, azotlu nükleotitlerin hedef DNA dizilerine bağlanması ile ortaya çıkan kimyasal enerji, çeşitli enzimatik reaksiyonlar sonrasında ışığa dönüşür. Yeni nesil dizilemenin gerçekleştirildiği cihaza bağlı bir CCD (Charged Couple Device) adı verilen gelişmiş

kamera yardımı ile sinyaller tespit edilir. Kullanılan bu kameranın algıladığı işaretli nükleotitlerden gelen sinyaller sonrasında kalıp dizinin 3' ucundaki işaret ortadan kalkar ve DNA molekülü sonraki tepkime döngüsü için hazır hale getirilir.

Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen tüm ekzom dizileme ıslak laboratuvar uygulamaları ağırlıklı olarak TÜBİTAK İleri Genom ve Biyoinformatik Araştırma Merkezi (İGBAM), Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure, Centro Nacional de Análisis Genómico (BBMRI, CNAG-CRG) merkezlerinde gerçekleştirilmiştir. Bunların haricinde 30 örneğin tüm ekzom dizileme laboratuvar uygulamaları *MacroGen* şirketi bünyesinde gerçekleştirilerek hizmet alımı yöntemiyle ham veri temini sağlanmıştır. Bu tez kapsamında analiz edilmiş tüm ekzom dizileme verileri için kütüphane hazırlama basamakları (*library preparation*) üç farklı yöntem ile gerçekleştirilmiştir.

TÜBİTAK İGBAM Bünyesinde Gerçekleştirilen Tüm Ekzom Dizileme Islak Laboratuvar Uygulamaları

TÜBİTAK-İGBAM bünyesinde hazırlanan DNA kütüphaneleri, *Illumina TruSeq Sample Preparation Kit* (Illumina, San Diego, CA) kullanılarak hazırlanmıştır. *Illumina TruSeq Exome Enrichment Kit* kullanılarak ekzonik DNA bölgeleri hedeflenmiştir. Çift yönlü okumalar için kümeler (*paired-end cluster generation*) *Illumina TruSeq PE Cluster v3-cBot-HS* kiti ile oluşturulmuştur. Çift yönlü okumalar ile oluşturulan kütüphaneler (2x101), *TruSeq SBS Kit v3-HS reagent kit* kullanılarak HiSeq 2000 sistemi ile dizilenmiştir. Nükleotit çağırma ve görüntü işleme, varsayılan parametrelerle Illumina platformunun gerçek zamanlı analiz yazılımı sürüm 1.13 kullanılarak yapılmıştır.

BBMRI CNAG Bünyesinde Gerçekleştirilen Tüm Ekzom Dizileme Islak Laboratuvar Uygulamaları

BBMRI CNAG bünyesinde hazırlanan DNA kütüphaneleri, *SureSelect Human All Exon V5+UTR* kiti (*Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD*) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yeni nesil dizileme basamağı, Barselona Ulusal Genomik Analiz Merkezi'nde (CNAG-CRG, İspanya) çift yönlü okumalar ile oluşturulan kütüphanelerin (2x101) Illumina HiSeq2000 platformunda (Illumina, San Diego, CA) dizilenmesi ile gerçekleştirildi.

Macrogen Bünyesinde Gerçekleştirilen Tüm Ekzom Dizileme Islak Laboratuvar Uygulamaları

Macrogen firması bünyesinde hazırlanan DNA kütüphaneleri ve zenginleştirme aşaması için *SureSelectXT (SureSelectXT Target Enrichment System for Illumina Version B.2, April 2015)* kiti kullanılmıştır. Çift yönlü okumalar ile oluşturulan kütüphaneler (2x101) Illumin HiSeq 4000 platformu ile dizilenmiştir.

3.2.2. Yeni Nesil Dizileme Sonucunda Üretilen Ham Verilerin Biyoinformatik Analizi

Çift yönlü dizilemeden elde edilen FASTQ verileri, BWA yazılımı kullanılarak insan referans genomuna (hg19) hizalandı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) nedeniyle oluşan tekrar (*duplicate*) dizilerinin elenmesi için SAMtools yazılımı kullanıldı (13). Hedeflenen ekzonik bölgelerin okuma derinliği BEDtools kullanılarak hesaplandı (14). Hedeflenen bölgelerin ortalama okuma derinliği için alt sınır 5X olarak belirlendi. Tüm Ekzom Dizileme sonucu elde edilen ham verilerin analizi ve varyant çağırma aşamaları aşağıdaki basamakları içerir:

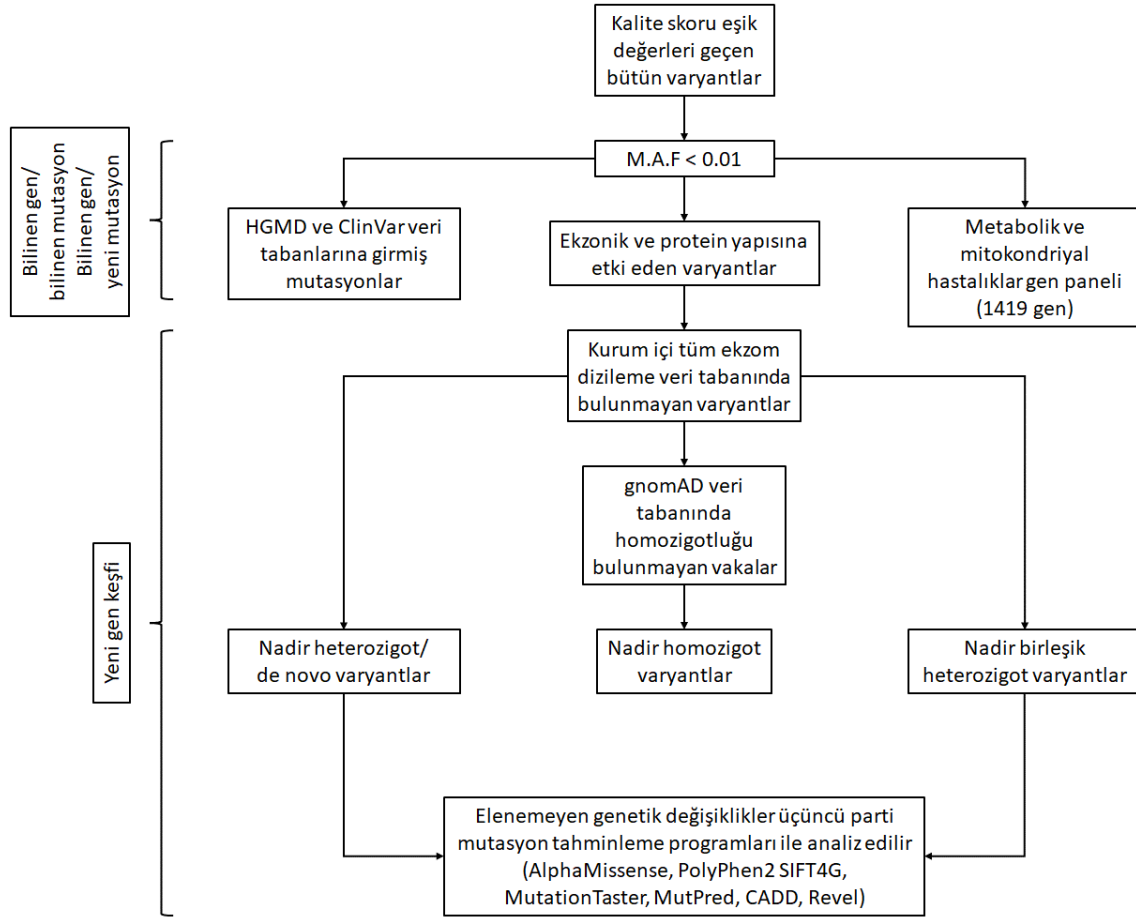
1. FASTQC: Yeni Nesil Dizileme sonrası elde edilen ham FASTQ dosyaları için verilerin kalite kontrollerini gerçekleştirir.
2. BWA-MEM: Elde edilen okumaları (reads) insan referans genomuna (hg19 veya hg38) göre hizalar.

3. SAMtools: BAM dosyalarının oluşumu, sıralanması ve indekslenmesini sağlar.
4. Picard: Hizalanmış okumalar içerisindeki Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kopyalarını ayıklar.
5. GATK: Temel kalite skorlarını gözeterek yeniden kalibrasyonu gerçekleştirir (Variant Quality Score Recalibration/VQSR), varyantları (SNV'ler ve INDEL'ler) çağırır ve çağrılan varyantları filtreler.

Ham verinin kalite kontrolü, dizi hizalaması ve varyant çağırma basamakları için kullanılan Linux komutları detaylı biçimde Ek 8’de verilmiştir.

3.2.3. Varyant Filtreleme Yöntemleri

Tüm Ekzom Dizileme veri analizi sonrasında kullanılan dizileme platformuna bağlı olarak 30.000-50.000 arasında varyant tespit edilir. Bu varyantların doğru bir stratejiyle filtrelenerek hastalık etkeni genetik mutasyonun saptanması için farklı yaklaşımlar olsa da varyantın sağlıklı toplumda görülme sıklığı, kalıtım kalıbı, genin protein kodlayan bölgesine denk gelip gelmemesi gibi kriterler göz önünde bulundurulmalıdır. Bu tez kapsamında gerçekleştirilen varyant filtreleme stratejisi Şekil 1’de gösterilmektedir. Varyant filtreleme stratejisinin bir basamağında kullanılan metabolik ve mitokondriyal hastalıklar gen paneli Ek 11’de verilmiştir.



Şekil 1: Tüm Ekzom Dizileme veri analizi sonrası elde edilen varyantların filtreleme stratejisi

3.2.4. Yeni Nesil Dizileme Verisinden Kopya Sayısı Değişikliği Tayini

Tüm Ekzom Dizileme verilerinden kopya sayısı değişikliklerinin (CNV) tayininde CLC Genomics Server 24.0.1 (QIAGEN) yazılımı kullanılmıştır. CLC Genomics Server üzerinden kopya sayısı değişikliği aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır.

CNV'leri belirlerken minimum kat değişim eşiklerini belirleyebilmek için kopya sayısı (CN) ve kat değişim arasındaki farkı hesaba katmak gerekmektedir. Kopya sayısı (CN), bir genin kaç kopyaya sahip olduğunu gösterir. Normal diploid bir örnek için bir genin kopya sayısı ya da ploidi 2'dir.

Kat değişimi ise bir vakadaki kopya sayısının normal bir örnekteki kopya sayısından ne kadar farklı olduğunu ölçen bir değerdir. Hem vaka örneği hem de normal örnek için kopya sayısı 2 olduğunda bu, kat değişiminin 1 (veya -1) olduğu anlamına gelir (Tablo 3). Örneęe ait kat değişimi, normal kopya sayısı ve örnekteki kopya sayısının oranlanması ile hesaplanabilir. Bu hesaplama aşağıdaki gibi gerçekleştirilir ve amplifikasyonlar ile delesyonlar için farklılık gösterir.

$$\text{Fold change, amplifications } (CN(\text{sample}) > CN(\text{normal})) = \frac{CN(\text{sample})}{CN(\text{normal})}$$

$$\text{Fold change, deletions } (CN(\text{sample}) < CN(\text{normal})) = -\frac{CN(\text{normal})}{CN(\text{sample})}$$

Amplifikasyonlar ve delesyonlar için kat değişim değerleri asimetriktir. Kopya sayısındaki %50'lik bir artış (Örn: 2'den 3'e, heterozigot amplifikasyon) 1.5'lik bir kat değişime karşılık gelirken, kopya sayısında %50'lik bir azalma (Örn: 2'den 1'e, heterozigot delesyon) -2.0'lik bir kat değişime karşılık gelir. Bu fark, homozigot bir duplikasyon (kopya sayısı 4) ve homozigot bir delesyon (kopya sayısı 0) düşünöldüğünde daha da belirgin hale gelir. Bu durumda, hesaplanan kat değişim değerleri sırasıyla 2 ve $-\infty$ olur.

Kopya sayısındaki yüzdesel farklılıkların, delesyonlar için amplifikasyonlara göre daha yüksek bir kat değişime yol açması sonucu, yanlış pozitif delesyon çağırma riski amplifikasyonlara göre daha yüksektir.

Tablo 3: Kopya sayısı değişiklikleri ve kat değişimi arasındaki sayısal korelasyon

Kopya Sayısı	Kat Değişimi
Amplifikasyon	
2	1
3	1.5
4	2
6	3
8	4
Delesyon	
2	-1
1	-2
0.5	-4
0.2	-10
0.1	-20
0	$-\infty$

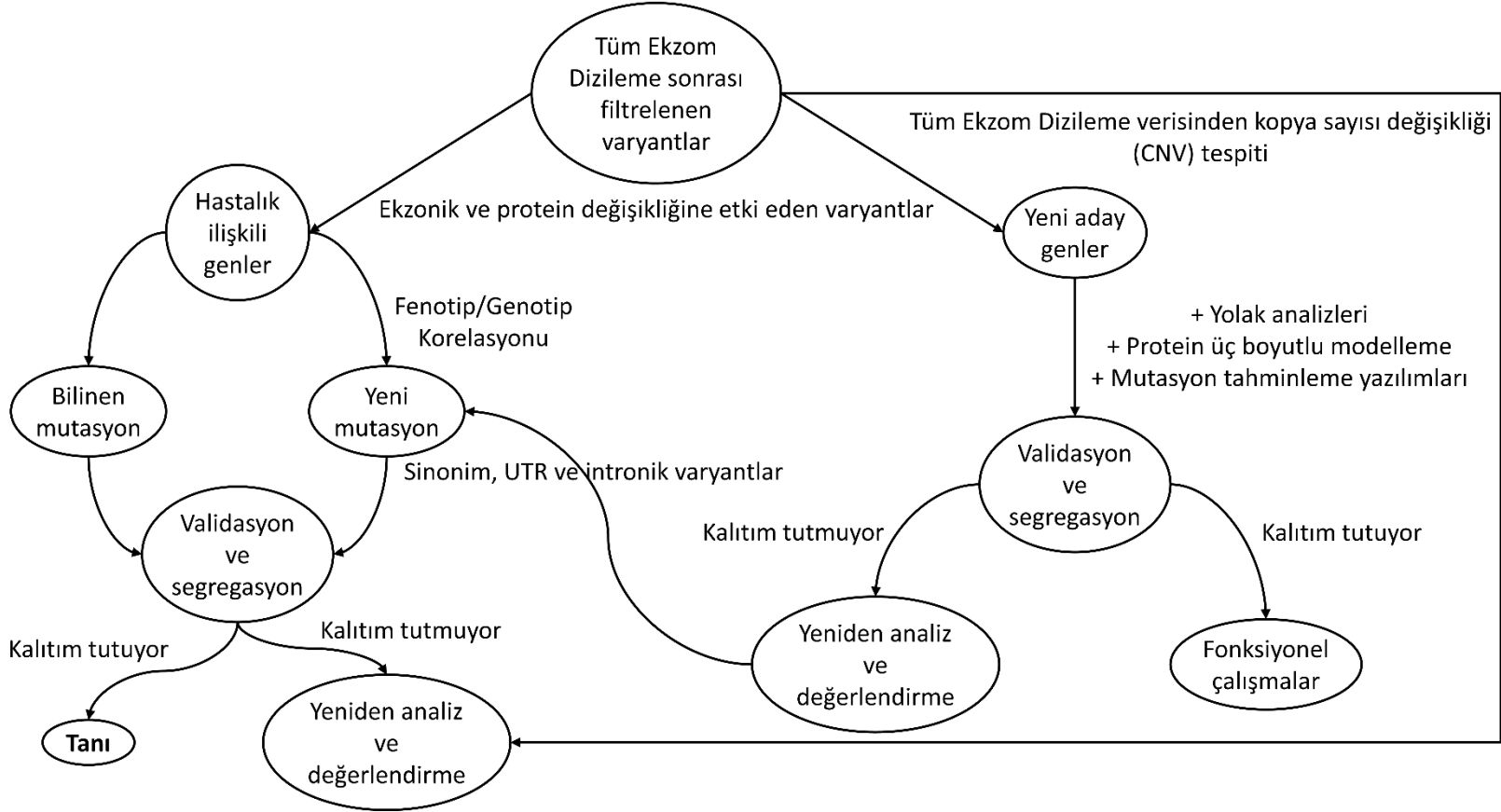
3.2.5. Tüm Ekzom Dizileme Veri Analizi Sonrasında Saptanan Varyantların Değerlendirilmesi ve Taniya Giden Yolda İzlenen Strateji

Tüm Ekzom Dizileme sonrasında izlenen varyant filtreleme stratejisi ve izlenen yaklaşım, doğru moleküler tanıya hızlı şekilde ulaşabilmek için kritik öneme sahiptir. Saptanan varyantlar arasından öncelikle genlerin protein kodlayan bölgelerindeki “ekzonik” varyantlar ve bu varyantlar arasından protein değişikliğine etki edenler öncelenmelidir. Yani ilk basamakta protein kodlamayan bölgelerdeki ve protein yapısına etki etmeyen “sinonim” değişikliklere odaklanmamalıdır. İster daha önce literatürde bildirilmiş, isterse yeni bir mutasyon olsun fenotip-genotip korelasyonu kurmaya uygun bir gende belirlenen varyant için aile içi kalıtım kalıbı incelenmelidir. Segregasyon analizi adı verilen bu yöntemle, saptanan varyantın veya varyantların anne-babadaki taşıyıcılığı ile hasta ve sağlıklı kardeşlerdeki varlığı Sanger Dizileme yöntemi kullanılarak incelenmelidir.

Nokta mutasyonu tespit edilemeyen vakalarda ham veri kullanılarak gerçekleştirilecek kopya sayısı değişikliği (CNV) analizi de tanı yüzdesini artıracaktır. Aynı zamanda vakalara ait ham ve işlenmiş verilerin saklanarak 6 ay aralıklarla tekrar analiz edilip yorumlanması ve güncel literatür bilgisi ile karşılaştırılması önemlidir.

Yapılan analiz ve değerlendirmeler sonucu literatür taraması ile birlikte daha önce hastalık ile ilişkilendirilmemiş bir gende varyant saptanırsa öncelikle bu gen ile ilgili yapılan fonksiyonel çalışmalar, hayvan modellemeleri ve gen ekspresyon verileri detaylıca incelenmelidir. Yapılan incelemelerde literatürde vakadaki fenotiple ilişkilendirilmemiş bir gende varyant tespit edilirse; “Yolak Analizleri”, “Protein Üç Boyutlu Modelleme” ve “Mutasyon Tahminleme Yazılımları” gibi destekleyici Biyoinformatik yöntemler kullanılarak sonrasında aile içi kalıtımın belirlenmesi için Segregasyon Analizi gerçekleştirilmelidir.

Tespit edilen varyantların yorumlanması ve destekleyici moleküler yöntemlerle tanıya giden yol için izlenecek stratejinin yer aldığı diyagram Şekil 9’da belirtilmiştir.



Şekil 2. Tüm Ekzom Dizileme Veri Analizi ile Saptanan Varyantların Değerlendirilmesi ve Tanıya Giden Yolda İzlenen Strateji

3.2.6. Saptanan Yanlış Anlamlı Mutasyonların Proteinin Üç Boyutlu Yapısı Üzerine Etkilerinin *in-silico* Yöntemler ile Tayini

Proteinlerin üç boyutlu yapıları ve yanlış anlamlı mutasyonların bu yapılarda meydana getirdiği enerji değişimlerini hesaplayıp modelleyebilmek için ΔG ve $\Delta\Delta G$ kavramlarını termodinamik yasalar çerçevesinde incelemek gereklidir. Bu iki kavramın farkı aşağıdaki gibidir:

ΔG (Gibbs Serbest Enerji Değişimi)

ΔG değeri, bir kimyasal reaksiyon veya biyokimyasal süreç sırasında serbest enerjideki değişimi ifade eder. Proteinlerin üç boyutlu yapıları için farklı ΔG değerleri mevcuttur:

- Katlanma Serbest Enerjisi (ΔG *folding*): Proteinin katlanmış ve katlanmamış durumları arasındaki serbest enerji değişimi.
- Bağlanma Serbest Enerjisi (ΔG *binding*): Bir protein ile ligand veya başka bir molekül arasındaki bağlanma reaksiyonu sonucundaki serbest enerji değişimi.

ΔG değeri negatif hesaplandığında, biyokimyasal süreç kendiliğinden gerçekleşir, yani tepkime termodinamik olarak elverişlidir.

$\Delta\Delta G$ (Gibbs Serbest Enerji Değişimleri Arasındaki Fark)

$\Delta\Delta G$, bir yanlış anlamlı varyantın protein kararlılığı üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılır ve mutasyon öncesi ve sonrası Gibbs serbest enerji değişimleri arasındaki farkı ifade eder. Bu değer iki farklı ΔG değerinin farkıdır ve aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$\Delta\Delta G = \Delta G_{mutant} - \Delta G_{wild-type}$$

$\Delta\Delta G$ değeri birden fazla hesaplama sonucunu yansıtır:

- Yanlış Anlamli Mutasyonun Protein Katlanma Kararlılığına Etkisi:

Bir proteinin native formasyonunda katlanma kararlılığındaki değişim. Örneğin: Bir amino asit değişikliğinin (yanlış anlamli mutasyon) proteinin katlanma enerjisini nasıl etkilediği.

- Yanlış Anlamli Bir Mutasyonun Bağlanma Afinitesine Etkisi: Bir proteinin ligand veya başka bir moleküle bağlanma eğilimdeki değişimi.

Bu tez kapsamında $\Delta\Delta G$ değerlerinin hesaplanması için dört farklı yazılım kullanılmıştır. Bu yazılımlar; DynaMut2 (<https://biosig.lab.uq.edu.au/dynamut2/>), PremPS (<https://lilab.jysw.suda.edu.cn/research/PremPS/>), INPS-3D (<https://inpsmd.biocomp.unibo.it/inpsSuite/default/index3D>) ve FoldX (<https://foldxsuite.crg.eu/>) olarak sıralanabilir. Hesaplanan $\Delta\Delta G$ değerleri yanlış anlamli mutasyonların protein katlanma kararlılığına etkisini yansıtmaktadır. Kısaca özetlenecek olursa; ΔG değeri bir termodinamik sürecin (katlanma, bağlanma vb.) serbest enerji değişimini yansıtırken, $\Delta\Delta G$ değeri bir yanlış anlamli mutasyonun öncesi ve sonrasındaki serbest enerji değişimi farkını temsil etmektedir (15).

- Yanlış Anlamli Mutasyonların Modellenmesi İçin Kullanılan PDB Dosyalarında Enerji Minimizasyonu

Yanlış anlamli mutasyonların PDB dosyaları kullanılarak modellenmesinden önce PDB yapılarının FoldX yazılımı ile onarılması gerekmektedir. RepairPDB kodu ile kötü torsiyon açıları, VanderWaals etkileşimleri veya toplam enerjiye sahip olan rezidüler tanımlanır ve onarılır.

RepairPDB komutunun çalışma prensibi şu şekildedir: Öncelikle tüm Asn, Gln ve His rezidüleri saptanır ve bunlar üç boyutlu modelde 180 derece döndürülür. Bu işlem, yapıdaki rotamer tayininde hatalara neden olabilecek Asn

ve Gln karboksamid gruplarının elektron yoğunluğunun neredeyse simetrik olmasından dolayı yapılır; doğru yerleşim ancak çevredeki atomlarla etkileşimleri hesaplayarak belirlenebilir. His için de aynı durum geçerlidir. Yan zincirlerde küçük Van der Waals çatışmalarını ortadan kaldırmak için küçük bir optimizasyon yapılır. Bu şekilde, son adımda yan zincirlerin hareketi engellenir. Çok yüksek enerjilere sahip rezidüler belirlenir ve bu rezidüler ile komşularının farklı rotamer kombinasyonları bulunarak değiştirilir. Böylece yapının toplam serbest enerjisi minimize edilir.

Örnek RepairPDB Komutu:

```
/mnt/c/Desktop/foldx5Linux64/foldx_20241231 --command=RepairPDB
--pdb=AF-Q9BQ52-F1-model_v4.pdb --water=CRYSTAL
```

3.2.7. Saptanan Varyantların Bulunduğu Genler Arasındaki Bağlantı Analizi

Bu doktora tez çalışması kapsamında bağlantı analizlerinin gerçekleştirilmesi için STRING v.12.0 kullanılmıştır (<https://string-db.org/>). STRING veri tabanında bağlantı analizleri sonucunda belirlenen düğümler (*node*) proteinler yapılarını, renkli çizgiler ise protein-protein etkileşimlerini ifade eder. Analiz sonuçları proteinlerin kendi aralarındaki etkileşimlerin detayına bağlı olarak göre dört farklı şekilde görselleştirilebilir. Ağ görünümündeki renkli çizgiler, proteinlerin kendi aralarındaki bağlantıların niteliğini belirtir. Yazılım içerisinde farklı parametrelere göre sekiz bağlantı türü mevcuttur. Bu bağlantı türleri aşağıda detaylandırılmıştır:

1. **Komşuluk (*Neighborhood*):** Prokaryotik genomda yapılan çalışmalar için daha uygundur. İncelenen genlerin birbirlerine olan kromozomal yakınlığını kullanır.
2. **Füzyon (*Fusion*):** Farklı genler arasındaki yapısal yeniden düzenlenmeler (*structural re-arrangements*) nedeniyle meydana gelen gen füzyonlarını kullanır.
3. **Beraber bulunma (*Co-occurrence*):** Genlere ait protein ürünlerinin farklı türlerdeki evrimsel korunmuşluğunu esas alır.

4. **Gen ifadesi benzerliği (Co-expression):** Gen ifadesi profilleri arasındaki yakınlığı kullanır.
5. **Deneyisel veriler (Experiment):** Genlerin kodladığı protein ürünleri arasındaki etkileşimleri gösteren veri tabanlarını kullanılır.
6. **Veri tabanları (Database):** STRING dışında bağlantı analizi gerçekleştirmeye yarayan programlardaki (Biocarta, BioCyc, GO, KEGG ve Reactome) protein etkileşimlerini kullanır.
7. **Metin madenciliği (Text Mining):** PubMed arşivinde yer alan çalışmaların başlık ve özet bölümlerinde ilgilenilen genlerin beraber bulunma durumunu esas alır.
8. **Homoloji (Homology):** Genlerin kodladığı proteinler arasındaki homoloji (yapısal benzerlik) yüzdesini kullanır.

Yukarıda belirtilen bütün parametreler kullanılarak genlerin kodladığı protein ürünleri arasındaki ilişki yüzdesel olarak hesaplanır ve bu ölçütlerden alınan veriler sayısal bir değere dönüştürülerek model kurulması sağlanır. Proteinleri temsil eden düğümlerin birbirleriyle olan ilişkileri farklı renkler ile şematize edilir. Bu parametrelerle hesaplanan protein-protein etkileşimlerinin kurulan modele olan etkisi de farklı şekilde ağırlıklandırılır. Bu etkileşimleri sayısal olarak tablo formatında kaydetmek mümkündür. Bu tabloların son sütununda bütün parametreler kullanılarak hesaplanan sayısal değerlerin ortalamasını yansıtan skor yer alır.

STRING yazılımı 12,535 farklı organizmaya ait (10,756 bakteri, 1,322 ökaryot ve 457 arkea) 59,309,604 protein bilgisi bulunmaktadır. Bağlantı analizi gerçekleştirilmek istenen genlerin isimleri veya protein tanımlayıcıları (Örneğin: ENSP00000203407) çoklu veya tek başına sisteme tanıtılabilir. Tek bir protein incelenecekse ana sayfadaki “search by name” bölümüne gen ismi yazılır. Yine bu sayfadaki “organism” bölümüne organizmanın türü yazılarak “GO” sekmesi işaretlenir ve analiz başlatılır. Çok sayıda genin protein ürünleri arasındaki bağlantılar araştırılıyorsa gen adları ana sayfadaki “multiple names” bölümüne liste şeklinde yazılır.

4. BULGULAR

Bu doktora tezi kapsamında saptanan 114 farklı gendeki varyant, 20 farklı metabolik yolakta yer alan proteini kodlamaktadır. Bulgular başlığında bu metabolik yolları temsil etmesi için 25 olgu örneği detaylandırılmıştır. Bu olgularda tespit edilen varyantlar Tablo 4'teki genler ve bu genlerin dahil olduğu metabolik yollar ile ilişkilendirilmiştir.

Tablo 4: Tez çalışmasında yer alan vakaları temsil etmesi için seçilen olgularda saptanan genler ve bu genlerin dahil olduğu metabolik yollar

Gen	Yolak
<i>UQCRC1</i>	Mitokondriyal Solunum Zinciri
<i>ETHE1</i>	Mitokondriyal Solunum Zinciri
<i>COQ7</i>	Mitokondriyal Solunum Zinciri
<i>PITRM1</i>	Mitokondriyal Solunum Zinciri
<i>FITM2</i>	Lipid Metabolizması
<i>NEU1</i>	Lipid Metabolizması
<i>CYP2U1</i>	Lipid Metabolizması
<i>SNX14</i>	Lipid Metabolizması
<i>MOSPD2</i>	Lipid Metabolizması
<i>VPS16</i>	Lizozom İlişkili Metabolik Yollar
<i>NAGLU</i>	Lizozom İlişkili Metabolik Yollar
<i>IDS</i>	Lizozom İlişkili Metabolik Yollar
<i>PYCR2</i>	Amino asit metabolizması
<i>ALOXE3</i>	Amino asit metabolizması
<i>SLC19A3</i>	Enerji Metabolizması
<i>OPA3</i>	Enerji Metabolizması
<i>HPRT1</i>	Pürin Metabolizması
<i>CECR1</i>	Pürin Metabolizması
<i>VAR2</i>	Aminoasit transfer RNA (tRNA) sentezi
<i>NGLY1</i>	Endoplazmik Retikulum ile ilişkili Degradasyon
<i>FBP1</i>	Glikojen metabolizması
<i>SAMHD1</i>	Bilinmiyor
<i>COL4A5</i>	Bilinmiyor
<i>ALMS1</i>	Bilinmiyor
<i>UPF3B</i>	Bilinmiyor

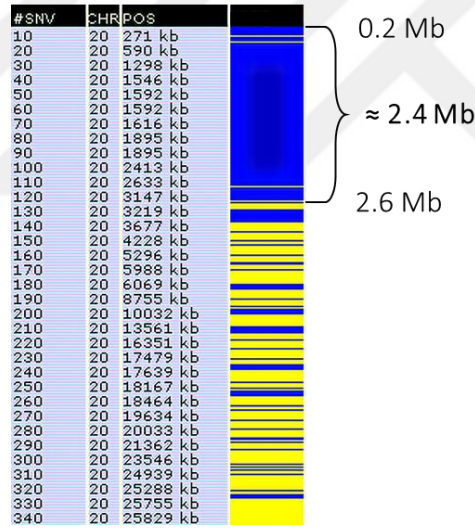
4.1. Nokta Mutasyonu ve Küçük INDEL Saptanan Vakalar

- **Olgu 1 (M-19-4998):**

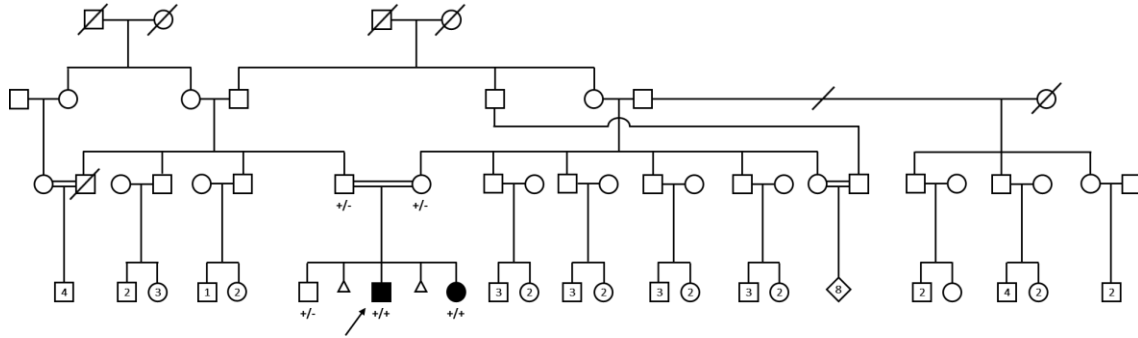
Mutasyon Adlandırması: VPS16 (NM_022575.2); homozigot c.540G>T; p.Trp180Cys (W180C) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

M-19-4998 numaralı olgudaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

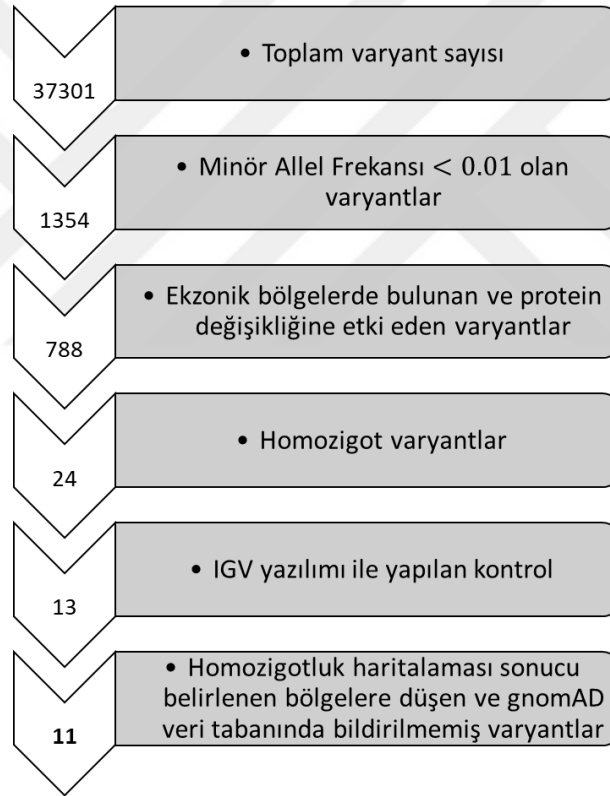
- Polinöropati
- Nörodejenerasyon
- Splenomegali
- Kemik displazisi
- Mukopolisakkaridoz benzeri fenotip
- Depo hastalığına benzer klinik



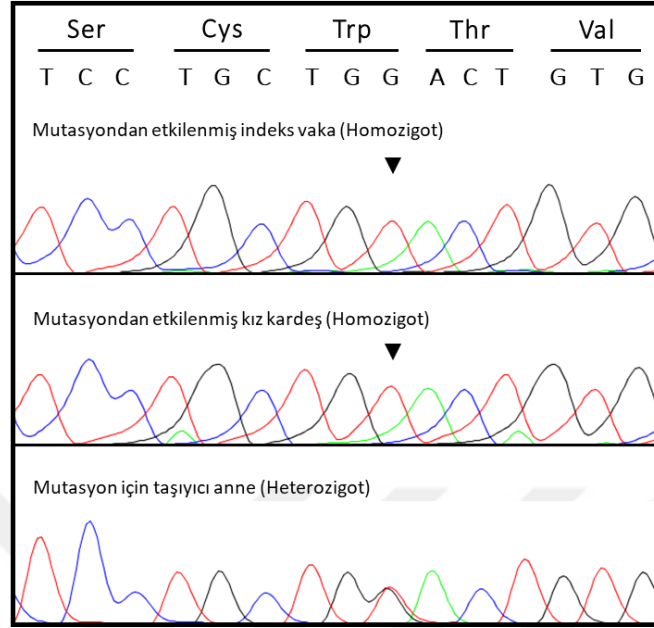
Şekil 3. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak yapılan homozigotluk haritalaması



Şekil 4. M-19-4998 numaralı olgu için çizilen aile ağacı (pedigri)



Şekil 5. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık nedeni patojenik mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları



Şekil 6. M-19-4998 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen *VPS16*; c.540G>T; p.Trp180Cys yanlış anlamlı mutasyonun Sanger dizileme analizine ait kromatogram görüntüleri

<i>H. sapiens</i>	LRRMPEVPGLQSAPSCWTVLCQDRVAHILLAVGP
<i>P. troglodytes</i>	LRRMPEVPGLQSAPSCWTVLCQDRVAHILLAVGP
<i>M. mulatta</i>	LRRMPEVPGLQSAPSCWTALCQDRVAHILLAVGP
<i>C. familiaris</i>	LRRMPEVPGLQSAPSCWTTLCQDRVAHILLAVGP
<i>M. musculus</i>	LRRMPEVPGLQSAPSCWTTLCHDRVPHILLAVGP
<i>X. Tropicalis</i>	LRRLEIPALRGPPTCWTVLFNDRVPLVLAAGP
	::*.*:..*:***.*:***:.*****

Şekil 7. M-19-4998 numaralı olguda *VPS16* geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Trp180Cys) yönelik Trp180 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu

VPS16 geninde tespit edilen yanlış anlamlı p.Trp180Cys mutasyonuna yönelik üçüncü parti mutasyon tahminleme yazılımlarından elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir:

- AlphaMissense: 0.99 (Patojenik)
- SIFT4G: 0 (Patojenik)
- MutationTaster: 1 (Patojenik)
- MutPred: 0.61 (Patojenik)

- CADD: 28.6 (Patojenik)

VPS16 proteininin doğal (AF-Q9H269-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Trp180 amino asit etkileşimlerinin ve p.Trp180Cys varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 73'de verilmiştir.

VPS16 geninde meydana gelen p.Trp180Cys yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9H269-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -2.01 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -1.98 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 1.25 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 5.25 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -2.38 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -1.83 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 1.01 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 5.62 (Kararlılığı azaltıcı)

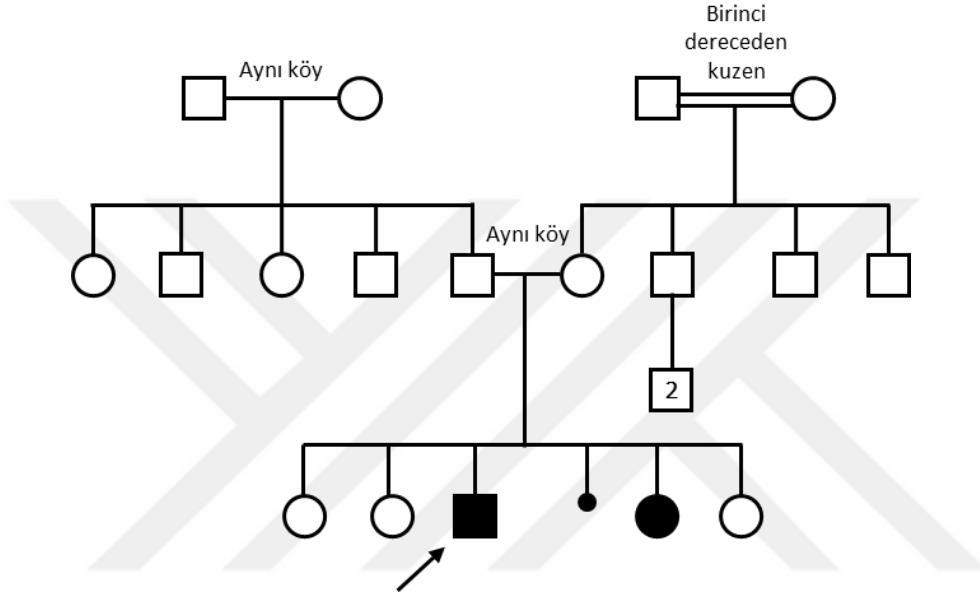
- **Olgu 2 (M-19-5077 ve M-19-5078):**

Mutasyon Adlandırması: *FITM2* (NM_001080472.1); homozigot c.1A>G; p.Met1? başlangıç kodon mutasyonu.

M-19-5077 ve M-19-5078 numaralı iki hasta kardeşin klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Sıddıqi Sendromu (MIM: #618635)
- Sağırlık-distoni sendromu

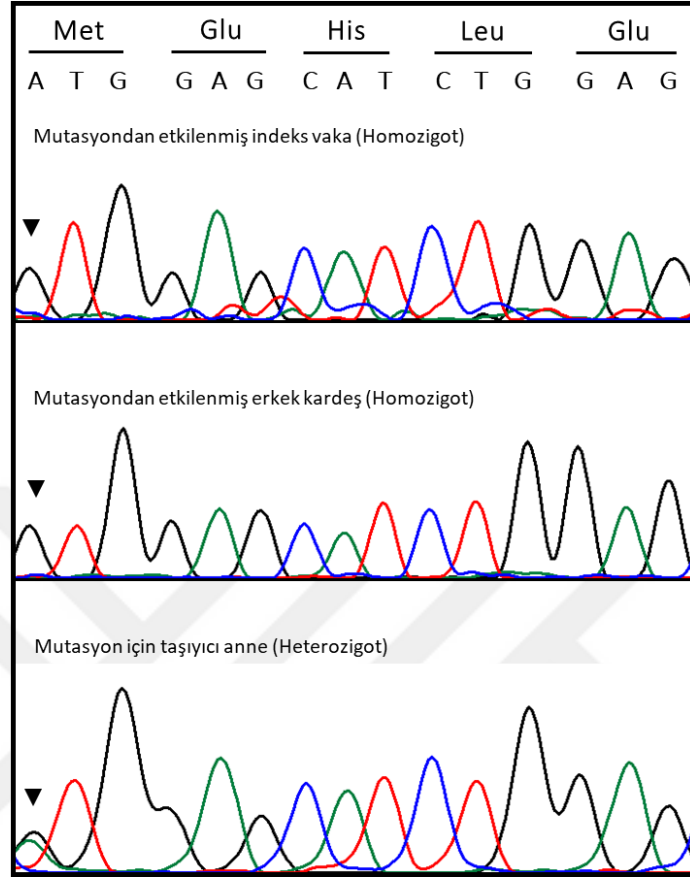
- Cilt kuruluğu ve iktiyozis
- Bilateral işitme kaybı
- Ataksik yürüme bozukluğu
- Pes cavus



Şekil 8. M-19-5077 ve M-19-5078 numaralı olgular için çizilen ait aile ağacı

43533	{	• Toplam varyant sayısı
1310	{	• Minör Allel Frekansı < 0.01 olan ekzonik varyantlar
58	{	• Protein değişikliğine etki eden homozigot varyantlar
7	{	• Homozigotluk haritalaması sonucu belirlenen bölgelere düşen ve gnomAD veri tabanında bildirilmemiş varyantlar

Şekil 9. M-19-5078 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık nedeni patojenik mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları



Şekil 10. M-19-5078 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen *FITM2*; c.1A>G; p.Met1? başlangıç kodon mutasyonunun Sanger dizileme analizine ait kromatogram görüntüleri

• **Olgu 3 (M-17-4247):**

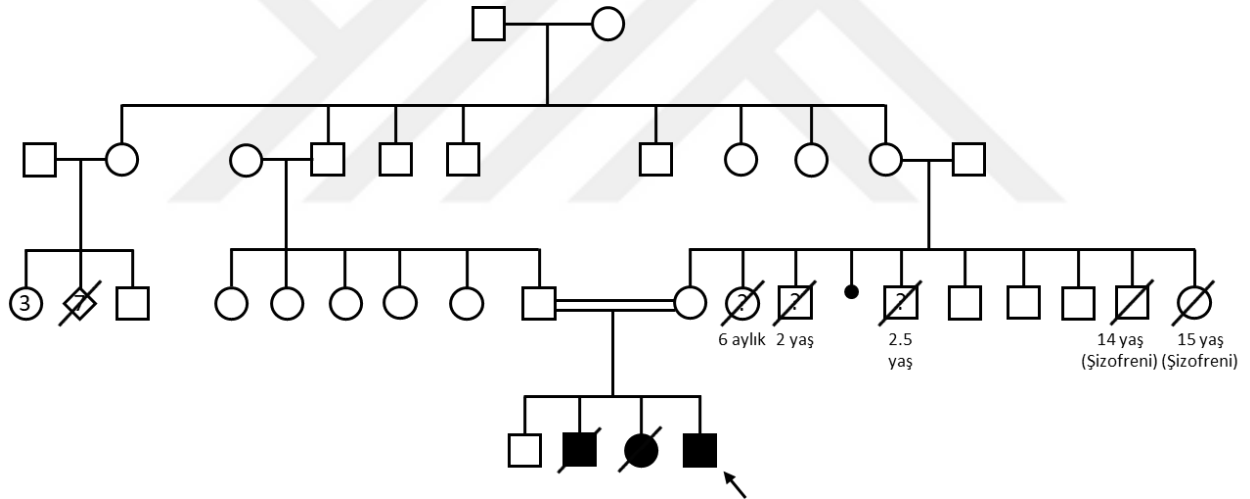
Mutasyon Adlandırması: *UQCRC1* (NM_003365.2); homozigot c.359T>C; p.Leu120Pro (L120P) yanlış anlamlı (missense) mutasyon.

M-17-4247 numaralı olgudaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

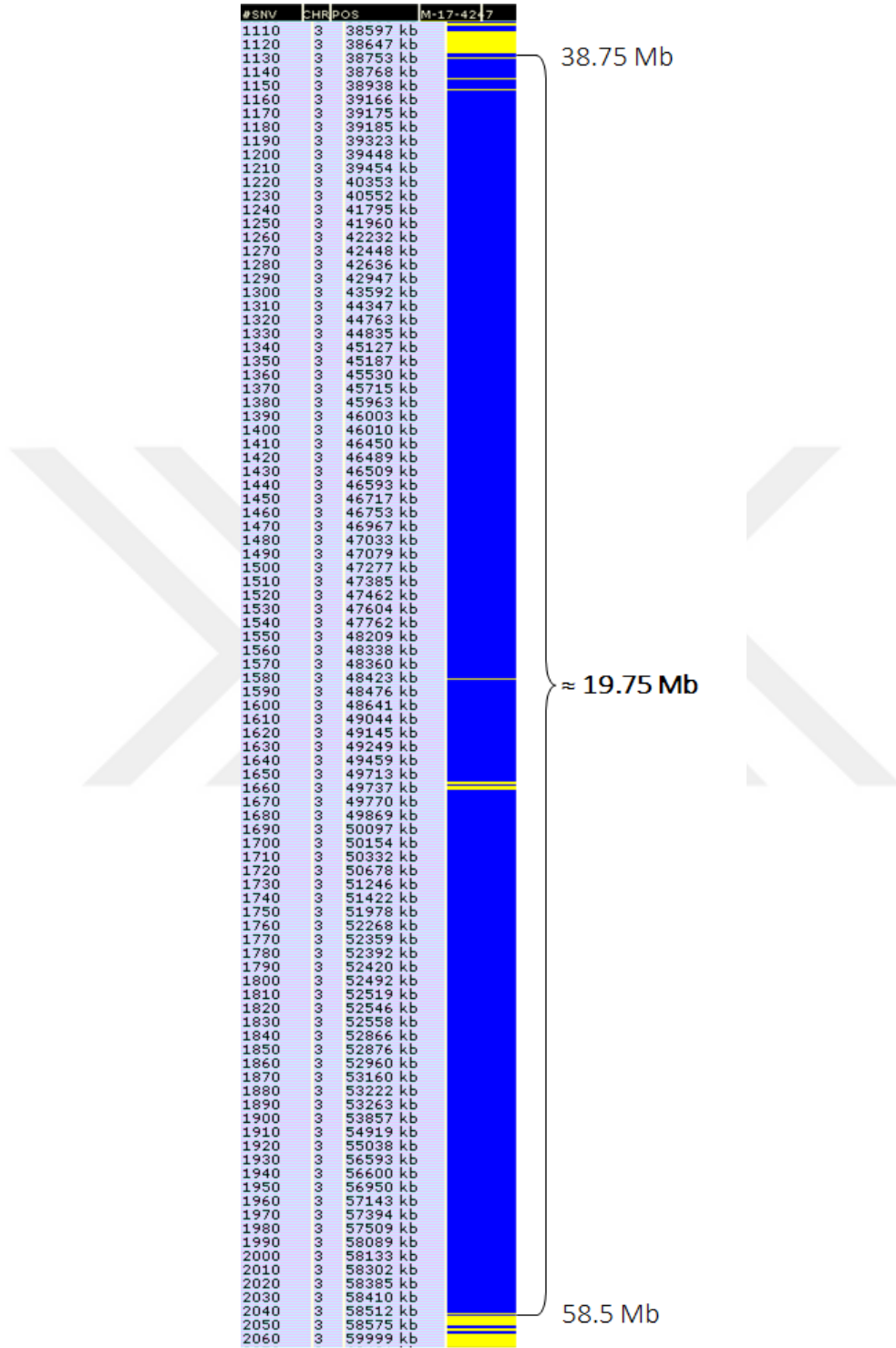
- Bir hafta süren karın ağrısı, kusma, uyku hali şikâyetleri
- Huzursuzluk, göz temasının kaybı, ismine cevap vermemesi, başını sağa sola çevirme gibi nöbet benzeri hareketler
- Serum CK düzeyi: 1222 U/L
- Mitokondriyal hastalık şüphesi?

M-21-5669 numaralı indeks vakanın kaybedilmiş (ex olmuş) ablasındaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

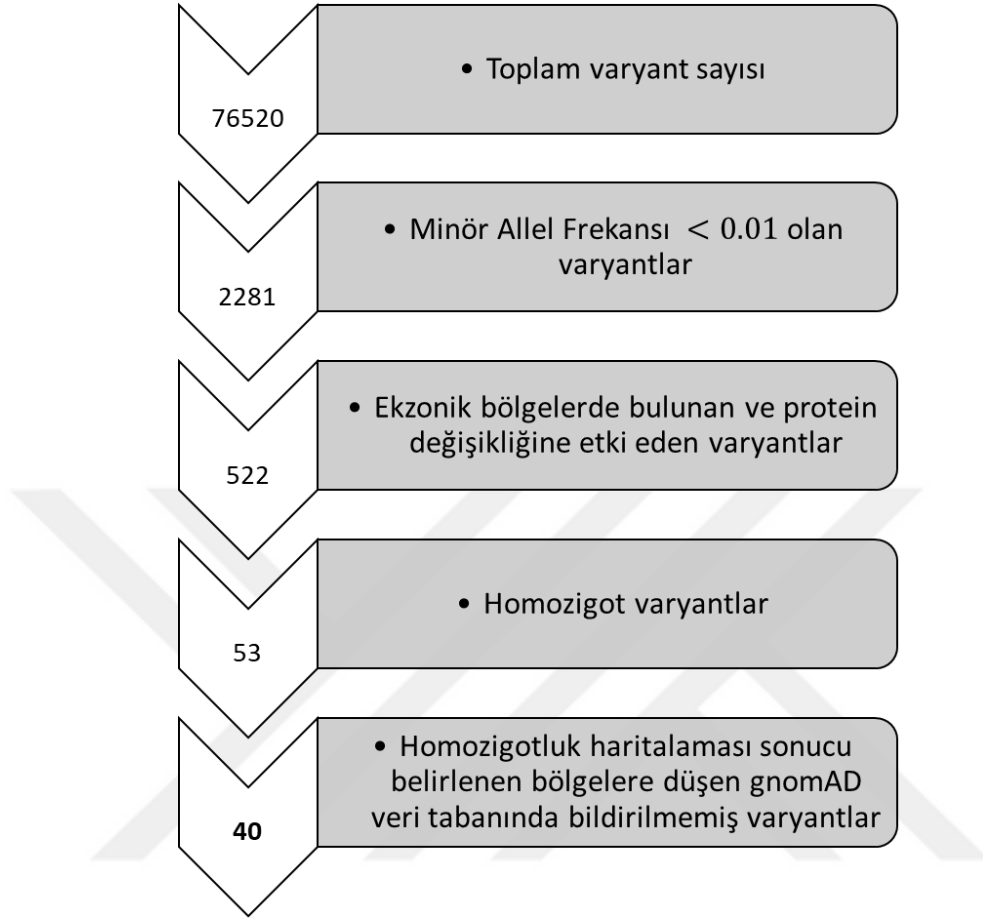
- 1 yaşında başlayan kilo kaybı, kusma ve bilinç kaybı
- Açıkarnitin yüksekliği
- Dikarboksilik asidüri
- Laktik asidüri
- Bir ketoasidoz atağı sırasında gerçekleşen eksitus



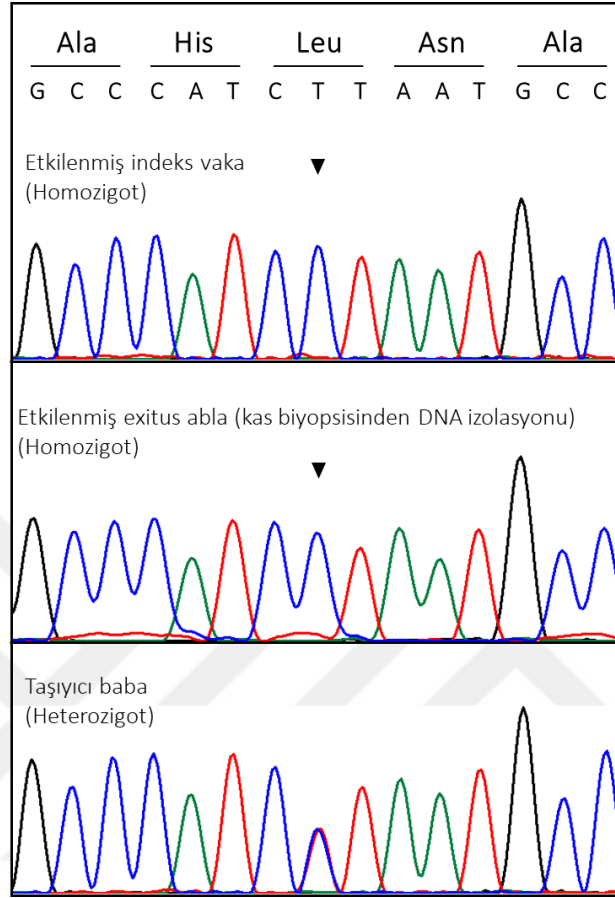
Şekil 11. M-17-4247 numaralı olgunun aile ağacı



Şekil 12. M-17-4247 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması



Şekil 13. M-17-4247 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu elde edilen varyant tablolarından hastalık etkeni mutasyonun tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilen varyant filtreleme basamakları



Şekil 14. M-17-4247 ve M-21-5669 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen *UQCRC1*; c.359T>C; p.Leu120Pro yanlış anlamalı mutasyonun Sanger dizileme görüntüleri

H. sapiens	LEKEVESMGAHLNAYSTREHTAYYIK
P. troglodytes	LEKEVESMGAHLNAYSTREHTAYYIK
M. mulatta	LEKEVESMGAHLNAYSTREHTAYYIK
B. taurus	LEKEVESMGAHLNAYSTREHTAYYIK
C. familiaris	LEKEVESMGAHLNAYSTREHTAYYIK
M. musculus	LEKEVESIGAHLNAYSTREHTAYLIK
R. norvegicus	LEKEVESIGAHLNAYSTREHTAYLIK
X. tropicalis	LEQEVESLGAHLNAYTTREQTAYYIK
D. rerio	LEQAVESMGGHLNAYTSREHTAYYMK
D. melanogaster	LELEVENLGAHLNAYTSREQTVFYAK
	** **.:*.*****:.*.*. *

Şekil 15. M-17-4247 ve M-21-5669 numaralı olgularda *UQCRC1* geninde tespit edilen yanlış anlamalı mutasyona (p.Leu120Pro) yönelik Leu120 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu

UQCRC1 geninde tespit edilen yanlış anlamlı p.Leu120Pro mutasyonuna yönelik üçüncü parti mutasyon tahminleme yazılımlarından elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir:

- AlphaMissense: 0.96 (Patojenik)
- SIFT4G: 0 (Patojenik)
- MutationTaster: 1 (Patojenik)
- MutPred: 0.9 (Patojenik)
- CADD: 29.4 (Patojenik)

UQCRC1 proteininin doğal (AF-P31930-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P31930-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu120 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu120Pro varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 80'de verilmiştir.

UQCRC1 geninde meydana gelen p.Leu120Pro yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-P31930-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.35 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -2.92 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 2.1 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 3.49 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-P31930-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.34 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -2.95 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 2.28 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 3.6 (Kararlılığı azaltıcı)
- **Olgu 4 (M-16-3785):**

Mutasyon Adlandırması: *ETHE1* (NM_014297.3); homozigot c.487C>T; p.Arg163Trp (R163W) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

ETHE1 proteininin doğal (AF-O95571-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95571-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg163 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg163Trp varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9’da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 13’de verilmiştir.

ETHE1 geninde meydana gelen p.Arg163Trp yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

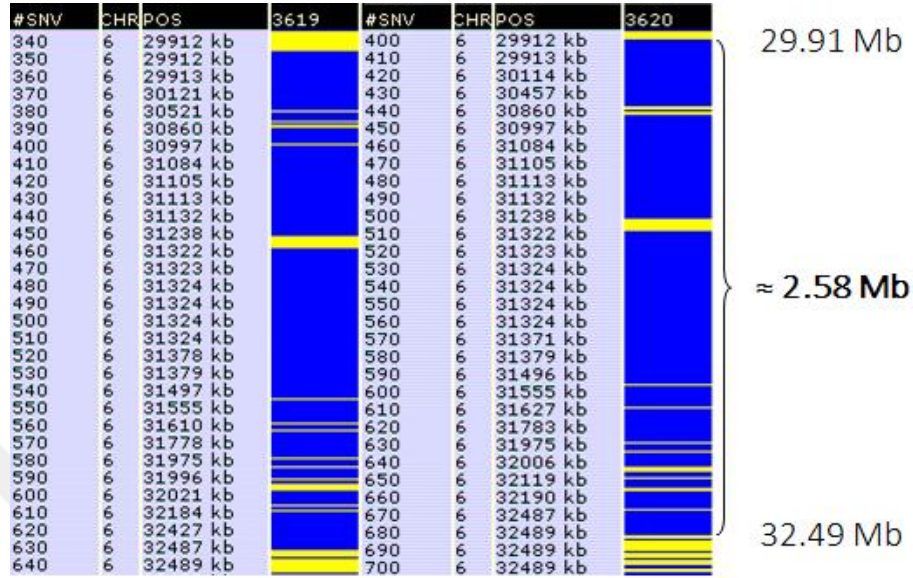
- AF-O95571-F1-model_v4:
 - DynaMut2: 0.55 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.86 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.75 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 1.25 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-O95571-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: 0.41 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.8 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.64 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 1.72 (Kararlılığı azaltıcı)

• **Olgu 5 (M-16-3790 ve M-16-3791):**

Mutasyon Adlandırması: *HPRT1* (NM_000194.2); hemizigot c.212dupG; p.Tyr72LeufsTer2 (p.Y72L*2) çerçeve kayması (*frameshift*) mutasyon.

• **Olgu 6 (M-16-3619 ve M-16-3620):**

Mutasyon Adlandırması: *VAR2* (NM_001167734.1); homozigot c.1100C>T; p.Thr367Ile (T367I) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon



Şekil 16. M-16-3619 ve M-16-3620 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

VARS2 proteininin doğal (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr367 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr367 varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9’da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 14’de verilmiştir.

VARS2 geninde meydana gelen p.Thr367 ile yanlış anlamalı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4:
 - DynaMut2: 0.3 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.65 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.57 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: -1.06 (Kararlılığı artırıcı)
- AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair:

- DynaMut2: 0.55 (Kararlılığı artırıcı)
- INPS-3D: -0.7 (Kararlılığı azaltıcı)
- PremPS: 0.42 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
- FoldX: -1.04 (Kararlılığı artırıcı)

• **Olgu 7 (M-16-3721, M-16-3722):**

Mutasyon Adlandırması: *SLC19A3* (NM_025243.3); homozigot c.1289G>A; p.Gly430Glu (G430E) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

SLC19A3 proteininin doğal (AF-Q9BZV2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly430 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly430Glu varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 15'de verilmiştir.

SLC19A3 geninde meydana gelen p.Gly430Glu yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9BZV2-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.27 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: 0.57 (Kararlılığı artırıcı)
 - PremPS: 0.58 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 18.8 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.55 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: 0.58 (Kararlılığı artırıcı)
 - PremPS: 0.53 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 18.9 (Kararlılığı azaltıcı)

- **Olgu 8 (M-16-3793):**

Mutasyon Adlandırması: ADA2 (CECR1) (NM_001282228.1); homozigot c.578C>T; p.Pro193Leu (P193L) yanlış anlamalı (*missense*) mutasyon.

ADA2 proteininin doğal (AF-Q9NZK5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro193 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro193Leu varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 16'da verilmiştir.

ADA2 geninde meydana gelen p.Pro193Leu yanlış anlamalı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9NZK5-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.44 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.76 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.82 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 4.94 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.38 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.76 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.94 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 2.74 (Kararlılığı azaltıcı)

- **Olgu 9 (M-15-3186):**

Mutasyon Adlandırması: UPF3B (NM_080632.2); hemizigot c.1135C>T; p.Arg379Cys (R379C) yanlış anlamalı (*missense*) mutasyon.

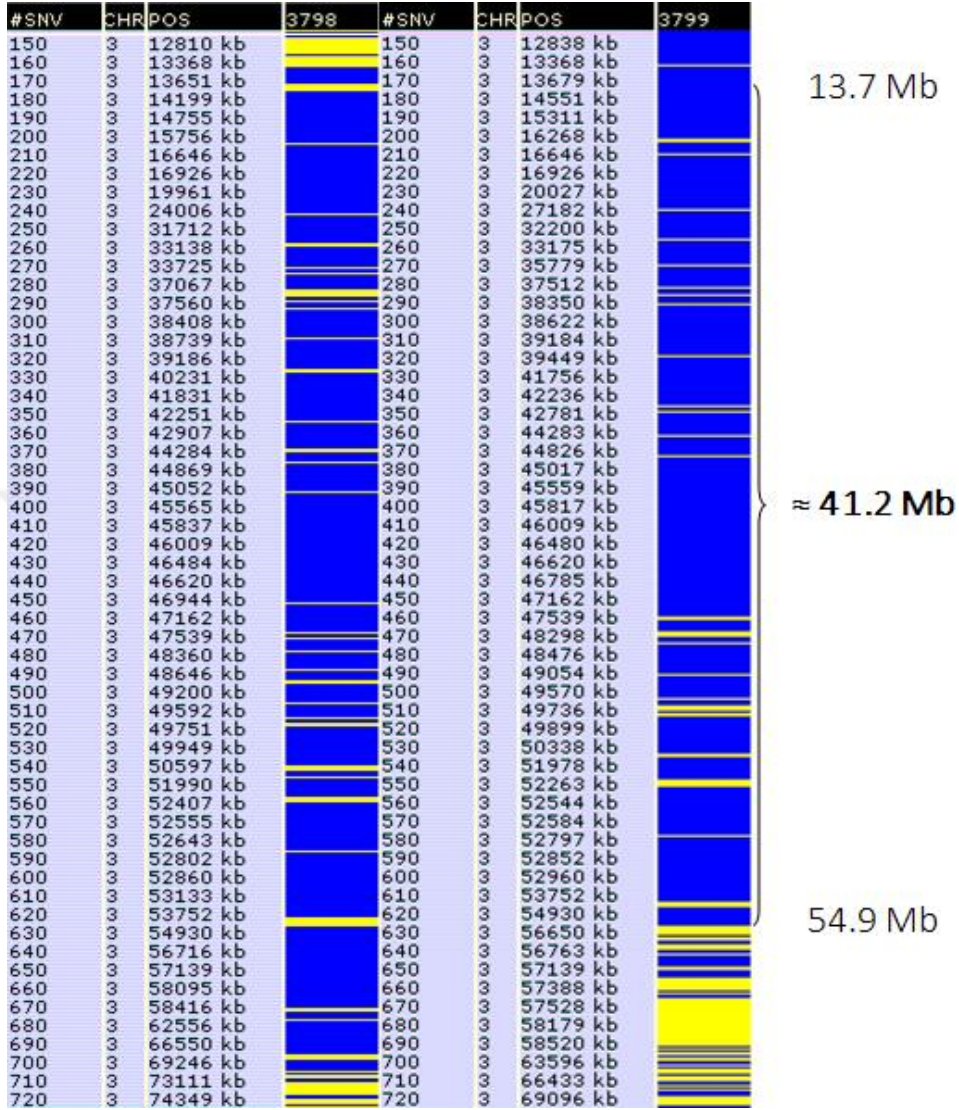
UPF3B proteininin doğal (AF-Q9BZI7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg379 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg379Cys varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9’da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 17’de verilmiştir.

UPF3B geninde meydana gelen p.Arg379Cys yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9BZI7-F1-model_v4:
 - DynaMut2: 0.49 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.38 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.35 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.94 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: 0.2 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.73 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.33 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 1.42 (Kararlılığı azaltıcı)

• **Olgu 10 (M-16-3798 ve M-16-3799):**

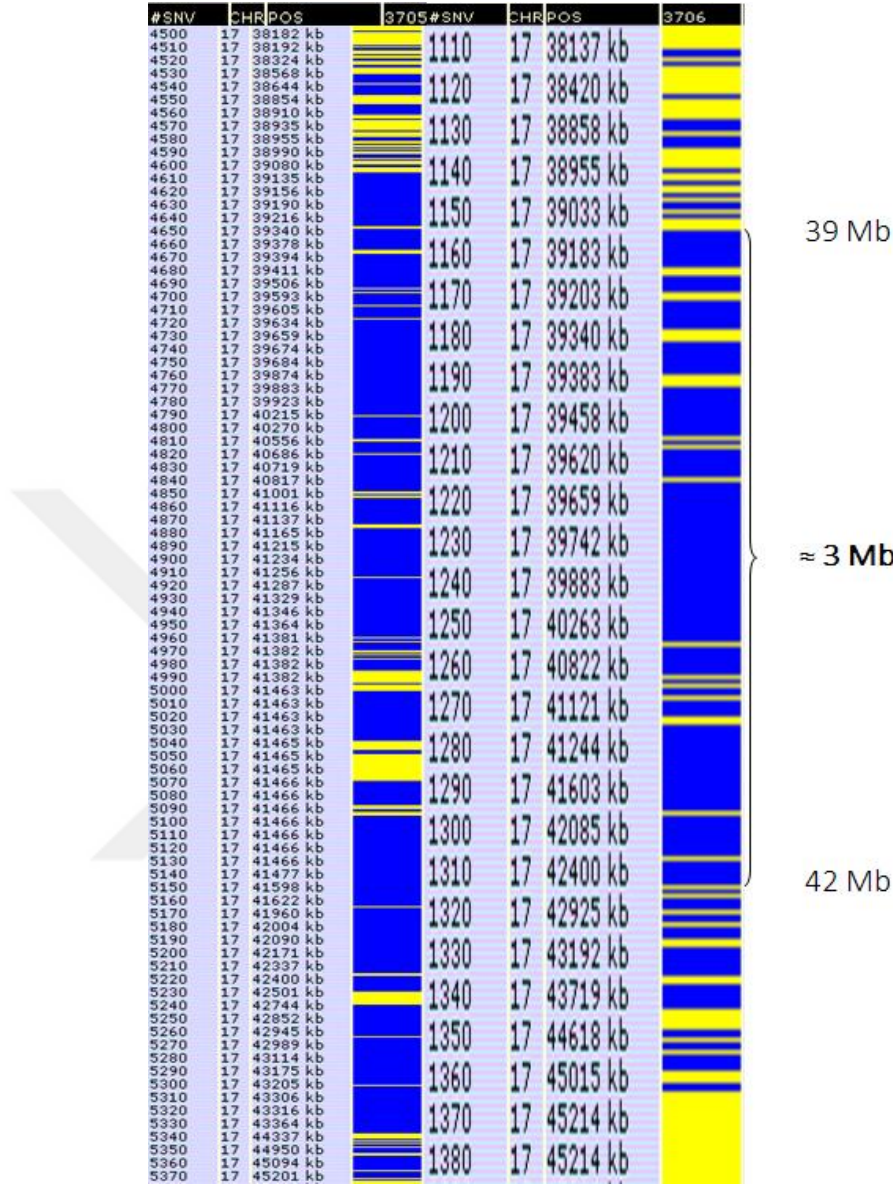
Mutasyon Adlandırması: *NGLY1* (NM_018297.3); homozigot c.1260+1G>A kırılma (*splice site*) mutasyonu.



Şekil 17. M-16-3798 ve M-16-3799 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

- **Olgu 11 (M-16-3705 ve M-16-3706):**

Mutasyon Adlandırması: *NAGLU* (NM_000263.3); homozigot c.934G>A; p.Asp312Asn (D312N) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



Şekil 18. M-16-3705 ve M-16-3706 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

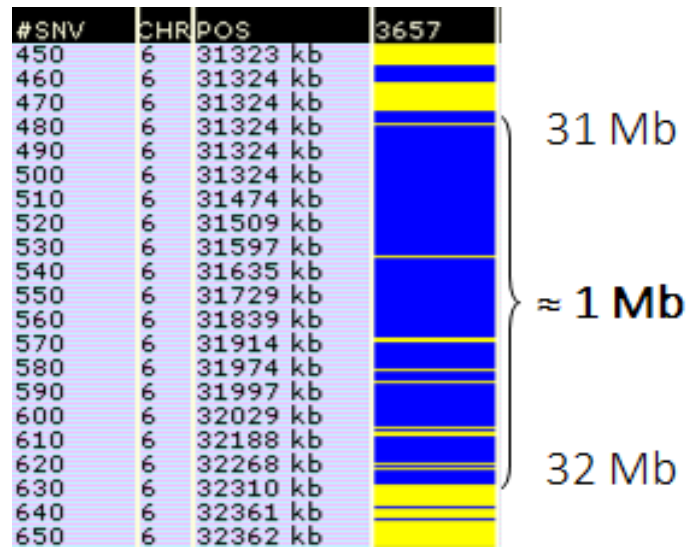
NAGLU proteininin doğal (AF-P54802-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P54802-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp312 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp312Asn varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9’da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 18’de verilmiştir.

NAGLU geninde meydana gelen p.Asp312Asn yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-P54802-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.75 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.67 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.38 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 0.23 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-P54802-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.7 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.64 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.62 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: -0.33 (Kararlılığı artırıcı)

• **Olgu 12 (M-16-3657):**

Mutasyon Adlandırması: *NEU1* (NM_000434.3); homozigot c.679G>A; p.Gly227Arg (G227R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



Şekil 19. M-16-3657 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

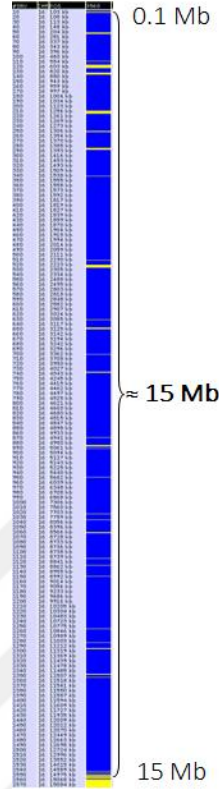
NEU1 proteininin doğal (AF-Q99519-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99519-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly227 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly227Arg varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9’da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 19’da verilmiştir.

NEU1 geninde meydana gelen p.Gly227Arg yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q99519-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.94 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: 0.03 (Kararlılığı artırıcı)
 - PremPS: 1.17 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 27.85 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q99519-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -1.01 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: 0.06 (Kararlılığı artırıcı)
 - PremPS: 1.31 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 28.94 (Kararlılığı azaltıcı)

- **Olgu 13 (M-16-3560):**

Mutasyon Adlandırması: COQ7 (NM_016138.4); homozigot c.616G>A; p.Gly206Arg (G206R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



Şekil 20. M-16-3560 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

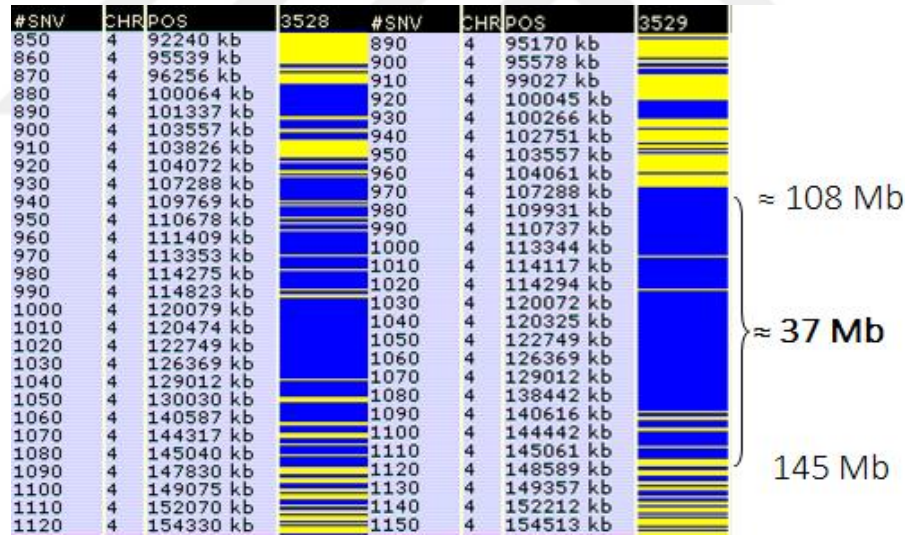
COQ7 proteininin doğal (AF-Q99807-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99807-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly206 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly206Arg varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 20'de verilmiştir.

COQ7 geninde meydana gelen p.Gly206Arg yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q99807-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.58 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.73 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 1.34 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)

- FoldX: -1.27 (Kararlılığı artırıcı)
- AF-Q99807-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.54 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.73 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 1.27 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: -1.36 (Kararlılığı artırıcı)
- **Olgu 14 (M-16-3528 ve M-16-3529):**

Mutasyon Adlandırması: *CYP2U1* (NM_183075.2); homozigot c.1057G>A; p.Gly353Arg (G353R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



Şekil 21. M-16-3528 ve M-16-3529 numaralı olgular için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

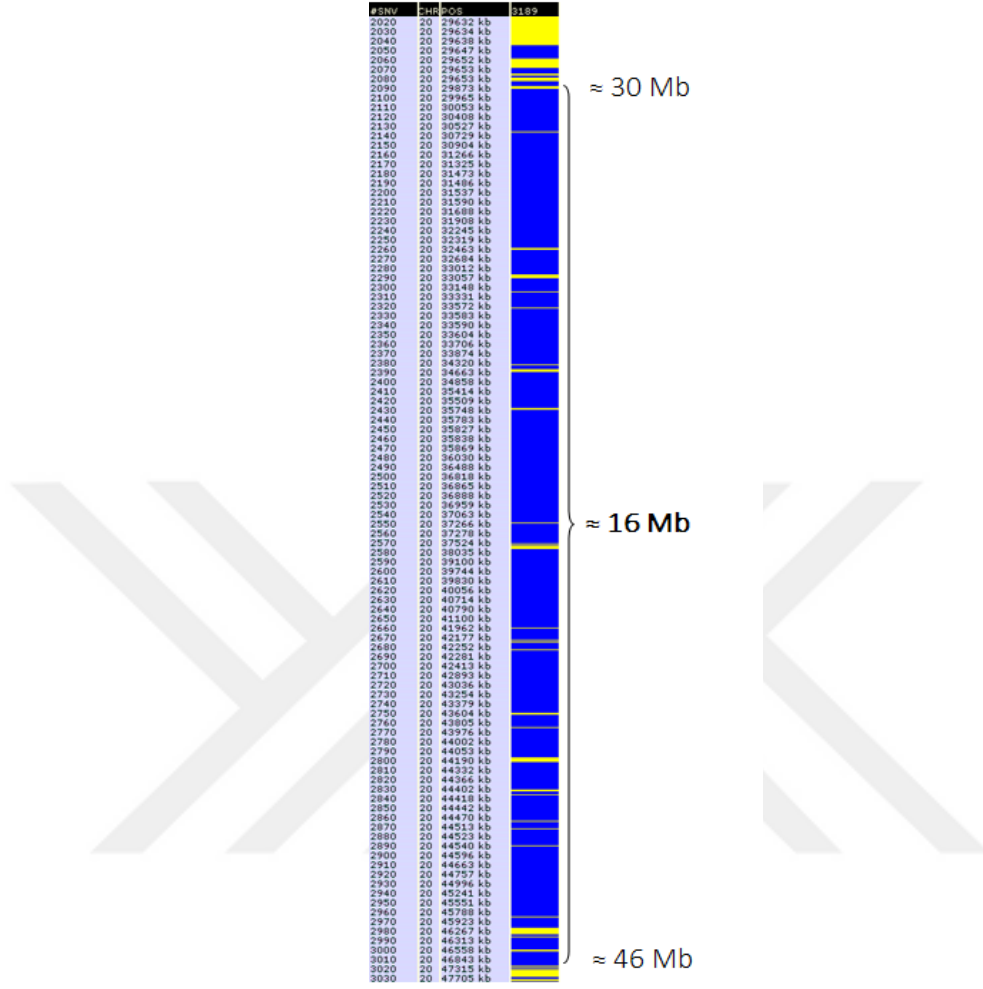
CYP2U1 proteininin doğal (AF-Q7Z449-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly353 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly353Arg varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 21'de verilmiştir.

CYP2U1 geninde meydana gelen p.Gly353Arg yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q7Z449-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.72 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.6 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.89 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 3.87 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.64 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.6 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.73 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısına gömülü)
 - FoldX: 4.0 (Kararlılığı azaltıcı)

• **Olgu 15 (M-16-3528 ve M-16-3529):**

Mutasyon Adlandırması: *SAMHD1* (NM_015474.3); homozigot p.Met216fsTer2 çerçeve kayması (*frameshift*) mutasyon.



Şekil 22. M-15-3189 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

• **Olgu 16 (M-16-3715):**

Mutasyon Adlandırması: *PITRM1* (NM_014889.3); homozigot c.968C>G; p.Ser323Cys (S323C) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

M-16-3715 numaralı olgudaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

- Epilepsi
- Laktik asidoz
- Gelişim Geriliği

- Mikrosefali
- Mitokondriyal hastalık



Şekil 23. M-16-3715 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

PITRM1 proteininin doğal (AF-Q5JRX3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser323 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser323Cys varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 81'de verilmiştir.

PITRM1 geninde meydana gelen p.Ser323Cys yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q5JRX3-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.25 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.65 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.51 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.97 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair:

- DynaMut2: -0.3 (Kararlılığı azaltıcı)
- INPS-3D: -0.66 (Kararlılığı azaltıcı)
- PremPS: 0.6 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
- FoldX: 1.15 (Kararlılığı azaltıcı)

• **Olgu 17 (M-16-3787):**

Mutasyon Adlandırması: *MOSPD2* (NM_152581.3); homozigot c.1333G>A; p.Val445Ile (V445I) yanlış anlamalı (*missense*) mutasyon.

M-16-3787 numaralı olgudaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

- Global gelişim geriliği
- Mikrosefali
- Kalça displazisi
- Pes ekinovarus
- Hipotoni

MOSPD2 proteininin doğal (AF-Q8NHP6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val445 amino asit etkileşimlerinin ve p.Val445Ile varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 82'de verilmiştir.

MOSPD2 geninde meydana gelen p.Val445Ile yanlış anlamalı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q5JRX3-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.12 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.06 (Kararlılığı azaltıcı)

- PremPS: -0.15 (Kararlılığı artırıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
- FoldX: -0.52 (Kararlılığı artırıcı)
- AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.12 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: 0.02 (Kararlılığı artırıcı)
 - PremPS: -0.12 (Kararlılığı artırıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: -0.55 (Kararlılığı artırıcı)

• **Olgu 18 (M-11-1421):**

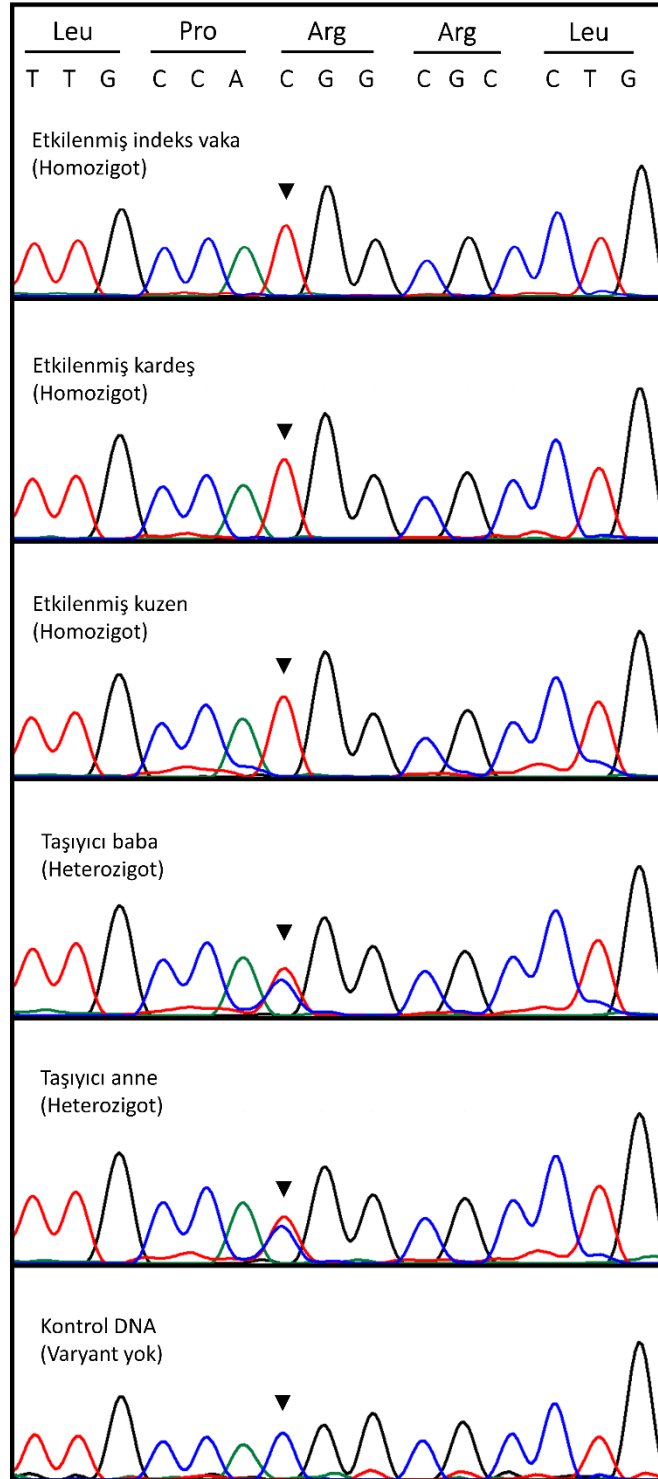
Mutasyon Adlandırması: *PYCR2* (NM_013328.4); homozigot c.595C>T; p.Arg199Trp (R199W) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

M-11-1421 numaralı olgudaki klinik bulgular aşağıdaki gibidir:

- Psikomotor gelişmede gecikme
- Konuşma geriliği
- Yürüyememe
- Spastisite
- Hiperrefleksi
- Epilepsi
- Serebral ve kortikal atrofi
- Kortikal atrofi



Şekil 24. M-11-1421 numaralı olgu ve anne ile baba için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması



Şekil 25. M-11-1421 numaralı olgu için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonucu tespit edilen *PYCR2*; c.595C>T; p.Arg199Trp yanlış anlamlı mutasyonun Sanger dizileme görüntüleri

H. sapiens	AFMALDALADGGVKMGLPRLAIQLGAQALLGAAKMLLDSE
P. troglodytes	AFMALDALADGGVKMGLPRLAIQLGAQALLGAAKMLLDSE
C. familiaris	AFMALDALADGGVKMGLPRLAVRLGAQALLGAAKMLLDSE
M. musculus	AFMALDALADGGVKMGVPRRLAVRLGAQALLGAAKMLLDSE
R. norvegicus	AFMALDALADGGVKMGVPRRLAVRLGAQALLGAAKMLLDSE

***** : ***** : *****

Şekil 26. M-11-1421 numaralı olguda *PYCR2* geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Arg199Trp) yönelik Arg199 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu

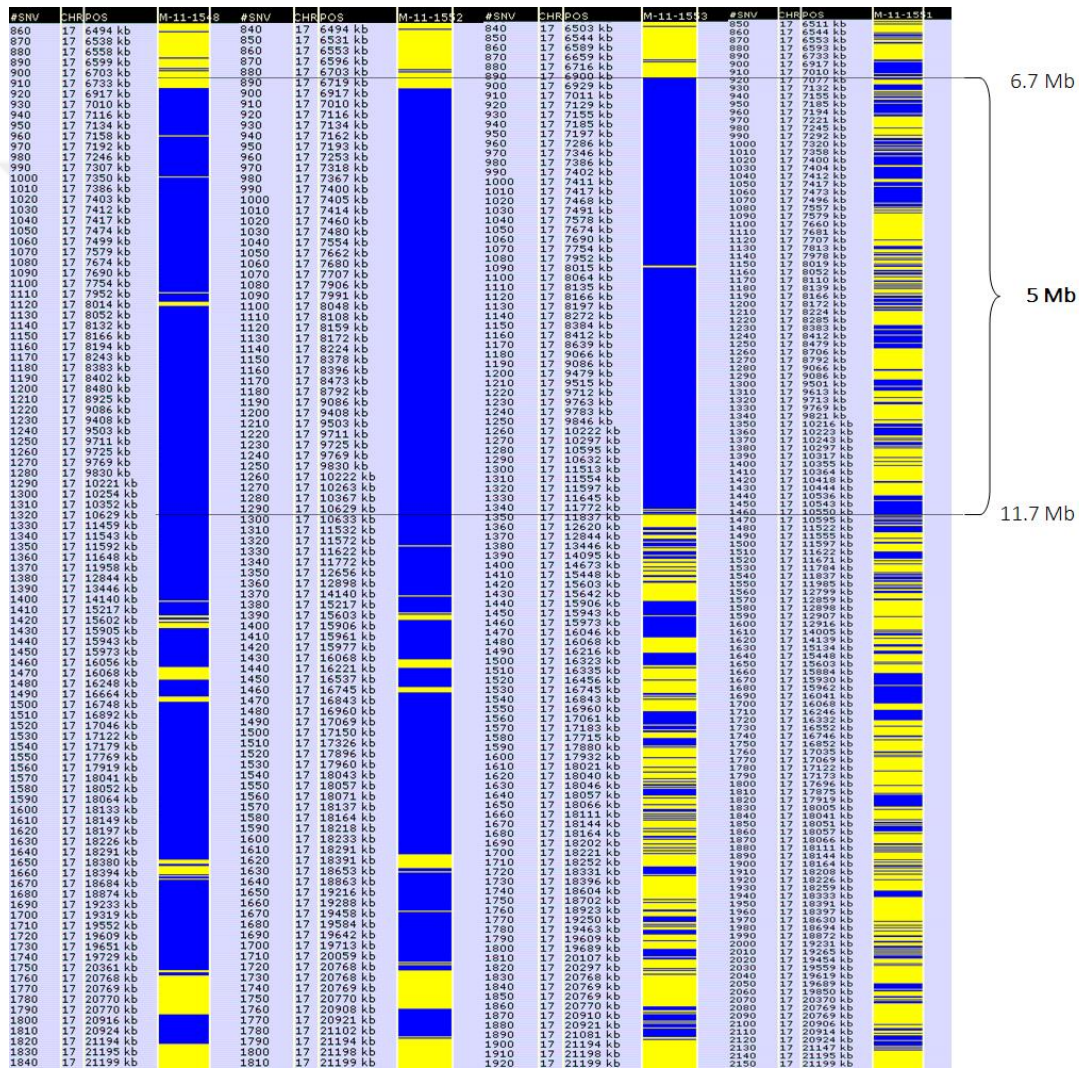
PYCR2 proteininin doğal (AF-Q96C36-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg199 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg199Trp varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 37'de verilmiştir.

PYCR2 geninde meydana gelen p.Arg199Trp yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q96C36-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.52 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.07 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.25 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.25 (Kararlılığı artırıcı)
- AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: 0.14 (Kararlılığı artırıcı)
 - INPS-3D: -0.29 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.16 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.1 (Kararlılığı azaltıcı)

• **Olgu 19 (M-11-1548, M-11-1552 ve M-11-1553):**

Mutasyon Adlandırması: *ALOXE3* (NM_001165960.1); homozigot c.1377C>A; p.Asp459Glu (D459E) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



H. sapiens	TCLQTELE ^R GNIFLAD ^Y WILAEAPTHCLNG
P. troglodytes	TCLQTELE ^R GNIFLAD ^Y WILAEAPTHCLNG
M. mulatta	TCLQTELE ^R GNIFLAD ^Y WILAEAPTHCLNG
B. taurus	TCLQTELE ^R GNIFLAD ^Y WILAEVPVHCING
C. familiaris	TCLQTELE ^R GHI ^F FLAD ^Y WILEEAPVHCING
M. musculus	TCLQTELE ^R GHI ^F FLAD ^Y WILAEAPVHCING
R. norvegicus	TCLQTELE ^R GHI ^F FLAD ^Y WILAEAPVHCING
	*****:***** *.*.***:**

Şekil 28. M-11-1548, M-11-1552, M-11-1553 numaralı olgularda *ALOXE3* geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Asp459Glu) yönelik Asp459 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu

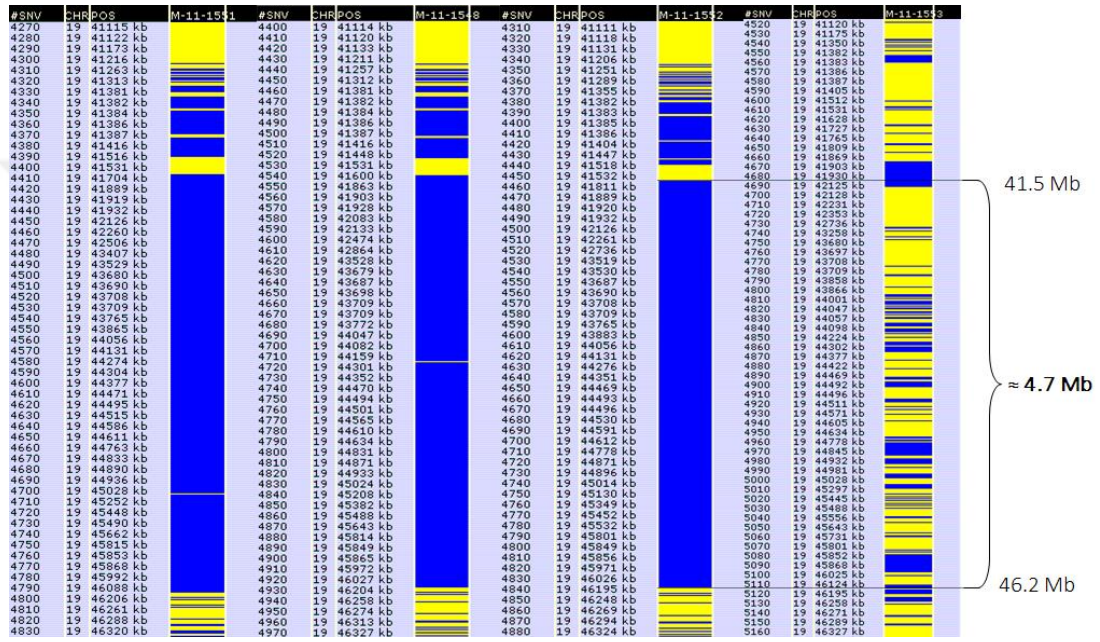
ALOXE3 proteininin doğal (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp459 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp459Glu varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 33'de verilmiştir.

ALOXE3 geninde meydana gelen p.Asp459Glu yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9BYJ1-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.46 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.49 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.59 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 2.7 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.07 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -0.57 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.6 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 2.61 (Kararlılığı azaltıcı)

- Olgu 20 (M-11-1548, M-11-1551 ve M-11-1552):

Mutasyon Adlandırması: OPA3 (NM_001017989.2); homozigot c.17T>C; p.Phe6Ser (F6S) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.



Şekil 29. M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552 numaralı etkilenmiş olgular ve M-11-1553 numaralı etkilenmemiş kardeş için yeni nesil dizileme verilerinin analizi sonrası elde edilen vcf (*variant calling format*) dosyası kullanılarak oluşturulan homozigotluk haritalaması

H. sapiens	MVVGAFPMKLLYLGIQVSKPLANRIK
P. troglodytes	MVVGAFPMKLLYLGIQVSKPLANRIK
M. mulatta	MVVGAFPMKLLYLGIQVSKPLANRIK
B. taurus	MVVGAFPMKLLYLGIQVSKPLANRIK
C. familiaris	MVVGAFPIAKLLYLGIQVSKPLANRIK
M. musculus	MVVGAFPMKLFYLGIRQVSKPLANRIK
R. norvegicus	MVVGAFPMKLFYLGIRQVSKPLANRIK
***** : *** : *****	

Şekil 30. M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552 numaralı olgularda OPA3 geninde tespit edilen yanlış anlamlı mutasyona (p.Phe6Ser) yönelik Phe6 amino asit bölgesinin evrimsel korunmuşluğu

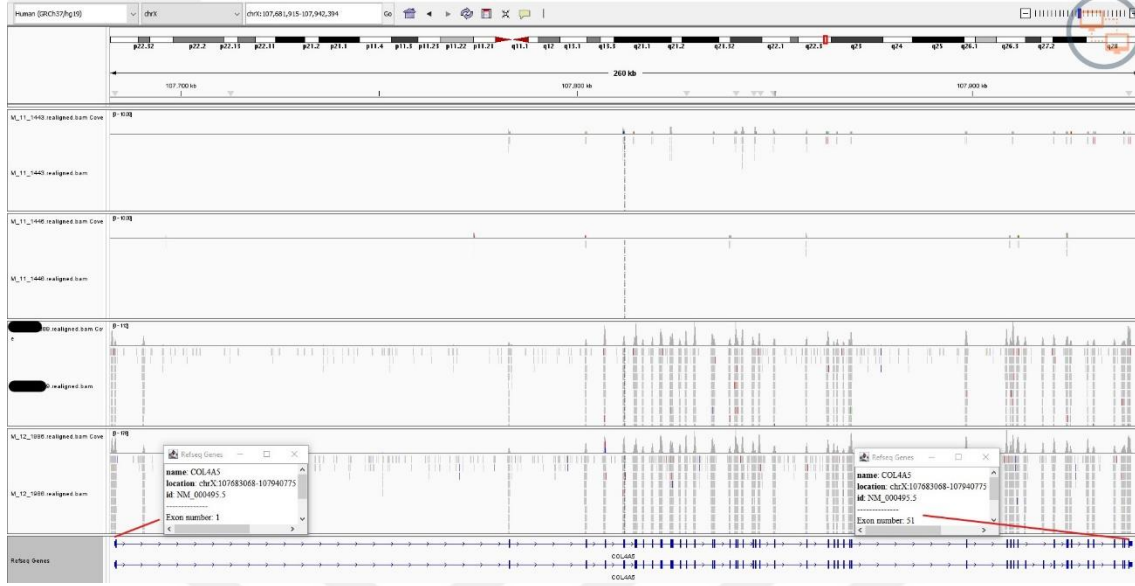
OPA3 proteininin doğal (AF-Q9H6K4-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H6K4-F1-model_v4) konformasyonunda Phe6 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe6Ser varyantı sonrasındaki Gibbs enerji değişim hesaplama sonuçları Ek 9'da, polar olmayan bağların görseli ise Ek 34'de verilmiştir.

OPA3 geninde meydana gelen p.Phe6Ser yanlış anlamlı mutasyonun protein üzerindeki üç boyutlu modelleme sonuçları aşağıdaki gibidir:

- AF-Q9H6K4-F1-model_v4:
 - DynaMut2: -0.36 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -1.41 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.04 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.38 (Kararlılığı azaltıcı)
- AF-Q9H6K4-F1-model_v4_Repair:
 - DynaMut2: -0.39 (Kararlılığı azaltıcı)
 - INPS-3D: -1.40 (Kararlılığı azaltıcı)
 - PremPS: 0.0 (Kararlılığı azaltıcı ve protein üç boyutlu yapısının yüzeyinde)
 - FoldX: 0.43 (Kararlılığı azaltıcı)

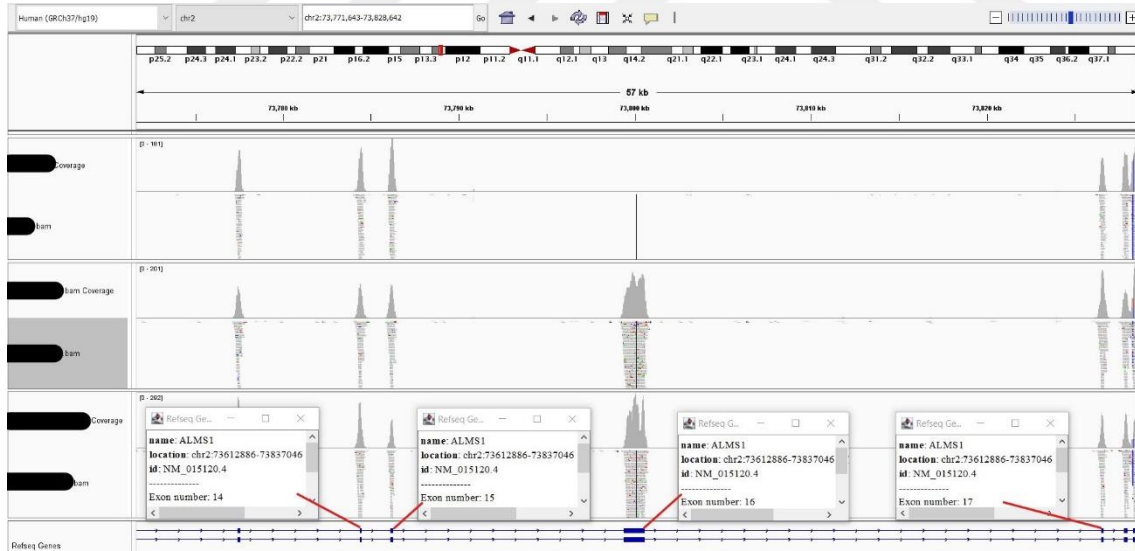
4.2. Kopya Sayısı Değişikliği (Büyük Delesyon) Saptanan Vakalar

- Olgu 20 (M-11-1443, M-11-1446):



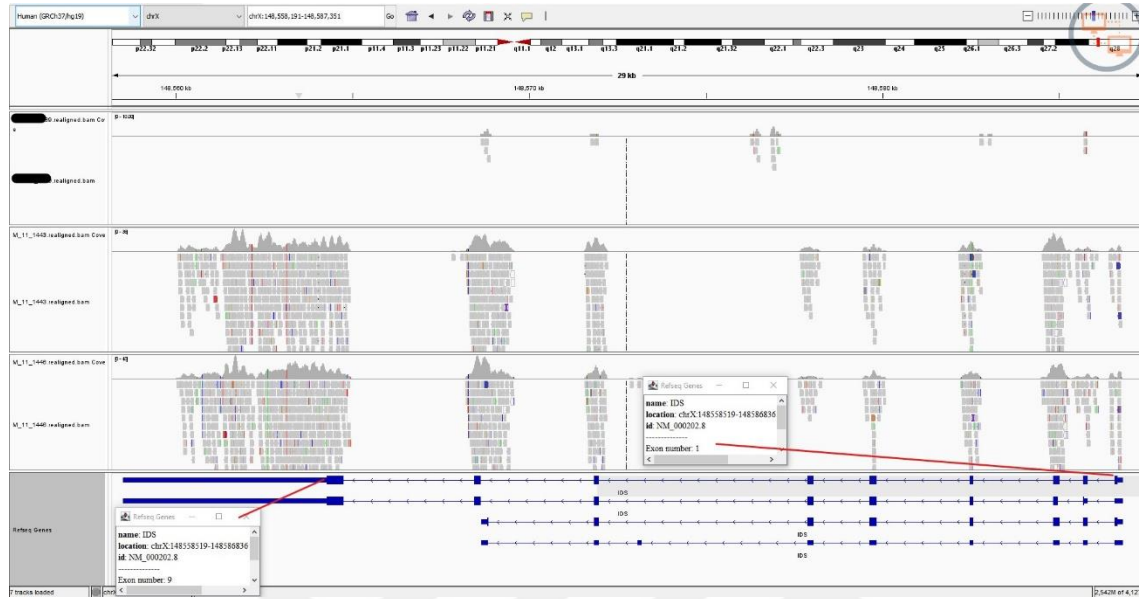
Şekil 31: M-11-1443 ve M-11-1446 numaralı olgularda *COL4A5* geninde saptanan homozigot tüm gen delesyonu (ekzon 1-51)

- **Olgu 21 (M-20-5282):**



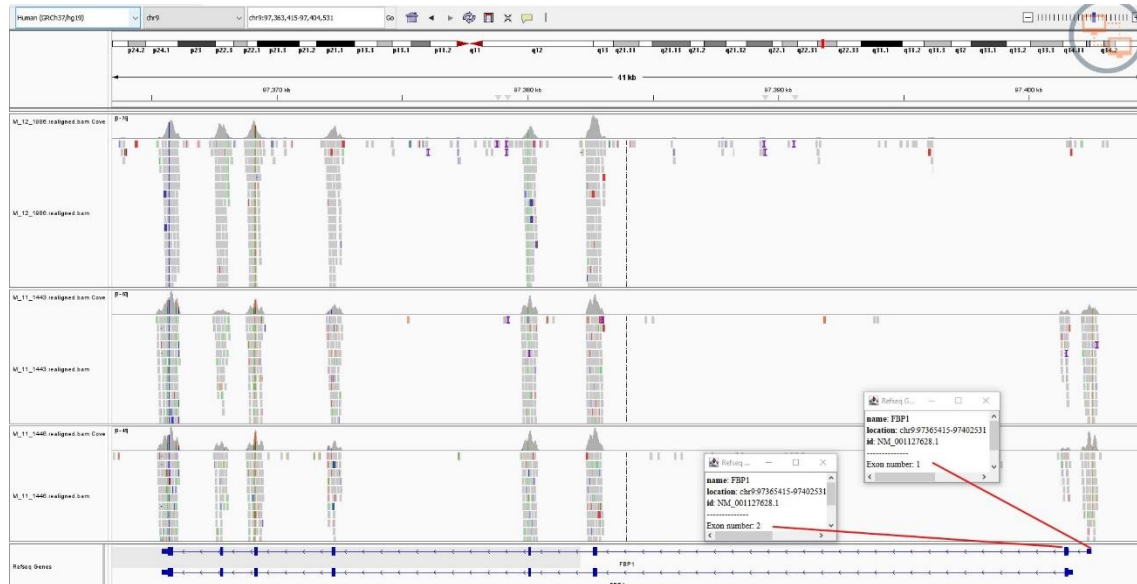
Şekil 32: M-20-5282 numaralı olguda *ALMS1* geninde saptanan homozigot ekzon 16 delesyonu

- **Olgu 22 (M-15-3089):**



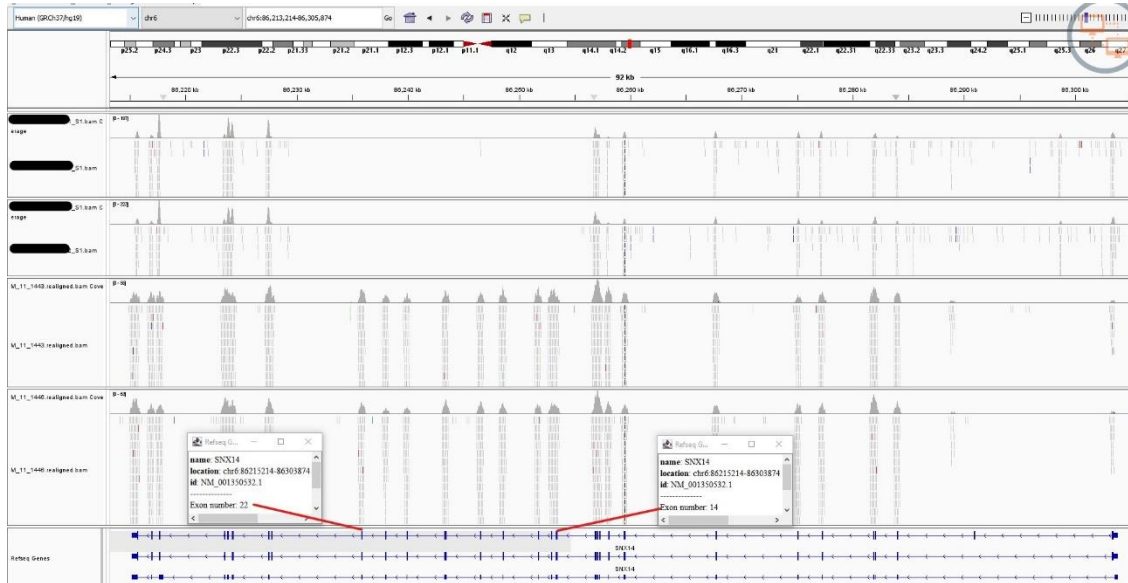
Şekil 33: M-15-3089 numaralı olguda *IDS* geninde saptanan homozigot tüm gen delesyonu (ekzon 1-9)

- **Olgu 23 (M-12-1986):**



Şekil 34: M-12-1986 numaralı olguda *FBP1* geninde saptanan homozigot ekzon 1-2 delesyonu

- **Olgu 24 (M-16-3651, M-16-3652):**



Şekil 35: M-16-3651 ve M-16-3652 numaralı olgularda *SNX14* geninde saptanan homozigot ekzon 14-22 delesyonu

4.3. Tüm Ekzom Dizileme Analizi Sonrası Saptanan Genler Kullanılarak Gerçekleştirilen Bağlantı Analizi Sonuçları

Bu doktora tezi kapsamında 114 farklı gende varyant tespit edilmiştir. Bu genler 20 farklı metabolik yolda yer alan proteinleri kodlamaktadır (Tablo 5). 25 varyantın genlerinden kodlanan proteinler ise herhangi bir metabolik yolak ile ilişkilendirilememiştir. Metabolik yollar ile ilişkili genler aşağıdaki gibi gruplanmıştır:

1. Mitokondriyal solunum zinciri (19 Gen: *CHCHD10*, *COA7*, *COQ4*, *COQ7*, *DYRK1A*, *ETHE1*, *FBXL4*, *MICOS13*, *MT01*, *NDUFA12*, *NDUFA4*, *PITRM1*, *POLG*, *PRUNE1*, *SCO2*, *SERAC1*, *SLC25A3*, *SUCLA2*, *UQCRC1*)
2. Lipid metabolizması (13 Gen: *ARV1*, *ATP8A2*, *CES1*, *CYP2U1*, *FITM2*, *GALC*, *GLB1*, *GNPAT*, *GPD1*, *MOSPD2*, *NEU1*, *PLG*, *VPS13B*)
3. Amino asit metabolizması (9 Gen: *AASS*, *ALOXE3*, *AMD1*, *CPS1*, *GCDH*, *GCSH*, *HIBCH*, *MMAB*, *PYCR2*)
4. Glikojen metabolizması (9 Gen: *AGL*, *FBP1*, *FUCA1*, *FUK*, *GLRA1*, *PDHB*, *PDHX*, *PYGM*, *TSC2*)

5. Veziküler trafik (7 Gen: *AP3B2*, *AP4M1*, *CLN8*, *HEATR5B*, *KCTD7*, *TBCK*, *TRAPPC2*)
6. Lizozom ilişkili Metabolik Yolaklar (5 Gen: *IDS*, *NAGLU*, *NUS1*, *VPS16*, *VPS33A*)
7. Aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezi (4 Gen: *EARS2*, *NARS1*, *RARS2*, *VAR2*)
8. Pürin metabolizması (4 Gen: *ADCY5*, *CECR1*, *ENTPD1*, *HPRT1*)
9. Enerji metabolizması (3 Gen: *OPA3*, *SLC19A3*, *SLC25A20*)
10. ER ilişkili metabolik yolaklar (3 Gen: *NGLY1*, *PIGN*, *SNX14*)
11. Protein ubiquitinasyonu (3 Gen: *HERC2*, *PTPN23*, *TPP1*)
12. Yağ asidi oksidasyonu (2 Gen: *ACAD9*, *ACADM*)
13. Ekstrasellüler matriks (1 Gen: *ELFN1*)
14. Fosfoinositid sinyalizasyonu (1 Gen: *PI4KA*)
15. Hücre diferansiyasyonu (1 Gen: *FOXP1*)
16. Hücre membran kanal proteini (1 Gen: *UNC79*)
17. Mikrotübül organizasyonu (1 Gen: *OFD1*)
18. Otofaji (1 Gen: *KCNB1*)
19. Peroksizom biyogenezi (1 Gen: *DNM1*)
20. Ubikütinasyon (1 Gen: *UFSP2*)

Herhangi bir metabolik yolak ile ilişkilendirilemeyen 25 gen mevcuttur (*ADAM22*, *ADPRS*, *ALMS1*, *CDKL5*, *CFTR*, *CLP1*, *CNGB3*, *COL4A5*, *CTNNB1*, *DNAJC5*, *GNAL*, *HEPACAM*, *HYCC1*, *KIF1C*, *NAXE*, *NUP62*, *PDLIM2*, *RBCK1*, *RNASEH2B*, *SAMHD1*, *TDP2*, *TSEN2*, *UPF3B*, *VAC14*, *ZNF75D*)

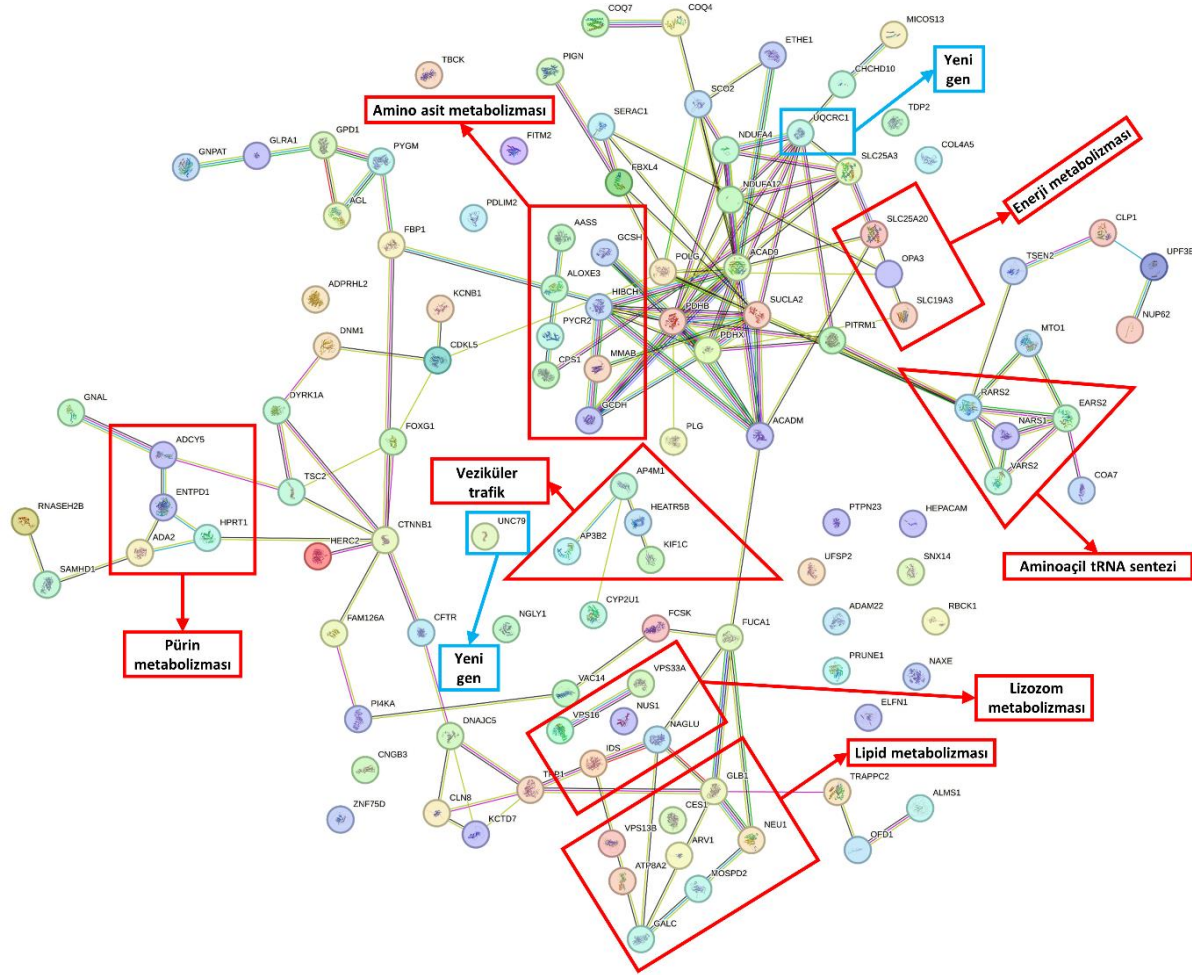
Tablo 5: Bu doktora tezi kapsamında incelenen vakalarda hastalık etkeni genlerin dahil olduğu metabolik yolaklar

Gen	Genin Dahil Olduğu Metabolik Yolak	Referans
<i>AASS</i>	Amino asit metabolizması	16
<i>ACAD9</i>	Yağ asidi oksidasyonu	17
<i>ACADM</i>	Yağ asidi oksidasyonu	18

<i>ADAM22</i>	Bilinmiyor	-
<i>ADCY5</i>	Pürin metabolizması	19
<i>ADPRS</i>	Bilinmiyor	-
<i>AGL</i>	Glikojen metabolizması	20
<i>ALMS1</i>	Bilinmiyor	-
<i>ALOXE3</i>	Amino asit metabolizması	21
<i>AMD1</i>	Amino asit metabolizması	22
<i>AP3B2</i>	Veziküler trafik	23
<i>AP4M1</i>	Veziküler trafik	24
<i>ARV1</i>	Lipid metabolizması	25
<i>ATP8A2</i>	Lipid metabolizması	26
<i>CDKL5</i>	Bilinmiyor	-
<i>CECR1</i>	Pürin metabolizması	27
<i>CES1</i>	Lipid metabolizması	28
<i>CFTR</i>	Bilinmiyor	-
<i>CHCHD10</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	29
<i>CLN8</i>	Veziküler trafik	30
<i>CLP1</i>	Bilinmiyor	-
<i>CNGB3</i>	Bilinmiyor	-
<i>COA7</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	31
<i>COL4A5</i>	Bilinmiyor	-
<i>COQ4</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	32
<i>COQ7</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	33
<i>CPS1</i>	Amino asit metabolizması	34
<i>CTNNB1</i>	Bilinmiyor	-
<i>CYP2U1</i>	Lipid metabolizması	35
<i>DNAJC5</i>	Bilinmiyor	-
<i>DNM1</i>	Peroksizom biyogenezi	36
<i>DYRK1A</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	37
<i>EARS2</i>	Aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezi	38
<i>ELFN1</i>	Ekstrasellüler matriks	39
<i>ENTPD1</i>	Pürin metabolizması	40
<i>ETHE1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	41
<i>FBP1</i>	Glikoliz	42
<i>FBXL4</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	43
<i>FITM2</i>	Lipid metabolizması	44
<i>FOXG1</i>	Hücre diferansiyasyonu	45
<i>FUCA1</i>	Glikozilasyon	46
<i>FUK</i>	Glikozilasyon	47
<i>GALC</i>	Lipid metabolizması	-
<i>GCDH</i>	Amino asit metabolizması	48
<i>GCSH</i>	Amino asit metabolizması	49

<i>GLB1</i>	Lipid metabolizması	-
<i>GLRA1</i>	Glikoz metabolizması	50
<i>GNAL</i>	Bilinmiyor	-
<i>GNPAT</i>	Lipid metabolizması	51
<i>GPD1</i>	Lipid metabolizması	52
<i>HEATR5B</i>	Veziküler trafik	53
<i>HEPACAM</i>	Bilinmiyor	-
<i>HERC2</i>	Protein ubiquitinasyonu	54
<i>HIBCH</i>	Amino asit metabolizması	55
<i>HPRT1</i>	Pürin metabolizması	56
<i>HYCC1</i>	Bilinmiyor	-
<i>IDS</i>	Lizozomal degradasyon	57
<i>KCNB1</i>	Otofaji	58
<i>KCTD7</i>	Veziküler trafik (Lizozomal trafik)	59
<i>KIF1C</i>	Bilinmiyor	-
<i>MICOS13</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	60
<i>MMAB</i>	Amino asit metabolizması	61
<i>MOSPD2</i>	Lipid metabolizması	62
<i>MTO1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	63
<i>NAGLU</i>	Lizozomal degradasyon	64
<i>NARS1</i>	Aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezi	65
<i>NAXE</i>	Bilinmiyor	-
<i>NDUFA12</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	66
<i>NDUFA4</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	67
<i>NEU1</i>	Lipid metabolizması	68
<i>NGLY1</i>	ER ile ilişkili degradasyon	69
<i>NUP62</i>	Bilinmiyor	-
<i>NUS1</i>	Lizozomal kolesterol birikimi	70
<i>OFD1</i>	Mikrotübül organizasyonu	71
<i>OPA3</i>	Enerji metabolizması	72
<i>PDHB</i>	Glikoliz	73
<i>PDHX</i>	Glikoliz	74
<i>PDLIM2</i>	Bilinmiyor	-
<i>PI4KA</i>	Fosfoinositid sinyali	75
<i>PIGN</i>	ER'de protein birikimi	76
<i>PITRM1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	77
<i>PLG</i>	Lipid metabolizması	78
<i>POLG</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	79
<i>PRUNE1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	80
<i>PTPN23</i>	Protein ubiquitinasyonu	81
<i>PYCR2</i>	Amino asit metabolizması	82
<i>PYGM</i>	Glikojen Metabolizması	83

<i>RARS2</i>	Aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezi	84
<i>RBCK1</i>	Bilinmiyor	-
<i>RNASEH2B</i>	Bilinmiyor	-
<i>SAMHD1</i>	Bilinmiyor	-
<i>SCO2</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	85
<i>SERAC1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	86
<i>SLC19A3</i>	Enerji metabolizması	87
<i>SLC25A20</i>	Enerji metabolizması	88
<i>SLC25A3</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	89
<i>SNX14</i>	ER ile ilişkili lipid metabolizması	90
<i>SUCLA2</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	91
<i>TBCK</i>	Veziküler trafik	92
<i>TDP2</i>	Bilinmiyor	-
<i>TPP1</i>	Protein ubiquitinasyonu	-
<i>TRAPPC2</i>	Veziküler trafik	93
<i>TSC2</i>	Glikoz metabolizması	94
<i>TSEN2</i>	Bilinmiyor	-
<i>UFSP2</i>	Ubikutinasyon	95
<i>UNC79</i>	Hücre membran kanal proteini	96
<i>UPF3B</i>	Bilinmiyor	-
<i>UQCRC1</i>	Mitokondriyal solunum zinciri	97
<i>VAC14</i>	Bilinmiyor	-
<i>VAR2</i>	Aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezi	98
<i>VPS13B</i>	Lipid metabolizması	99
<i>VPS33A</i>	Lizozomal depolanma	100
<i>VPS16</i>	Lizozomal depolanma	101
<i>ZNF75D</i>	Bilinmiyor	-



Şekil 36: Bu tez kapsamında belirlenen genler kullanılarak gerçekleştirilen bağlantı analizi sonuçları (<https://string-db.org/>)

5. TARTIŞMA

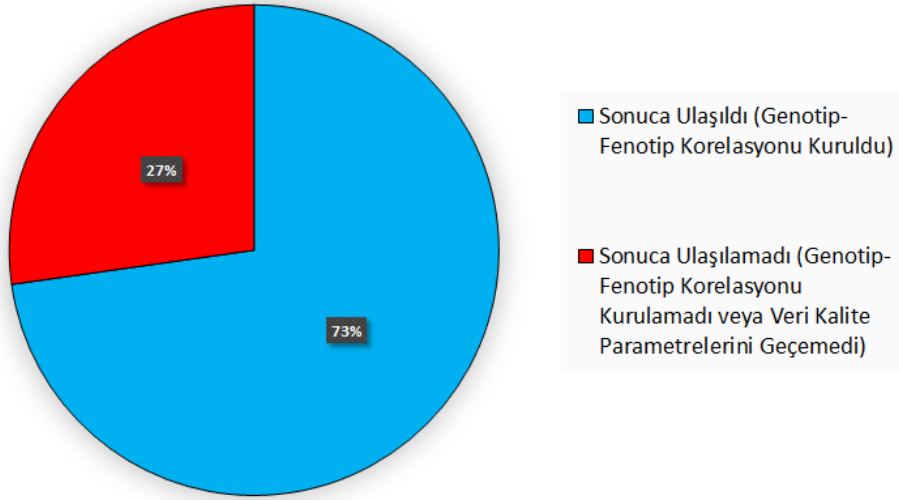
Bu doktora tez çalışmasında çocukluk çağı nadir kalıtsal bir metabolik hastalık ön tanısı ile takip edilen, klinik ve laboratuvar bulguları, radyolojik, görüntüleme ve diğer konvansiyonel tanı tetkikleri ile tanı konulamayan ailelerin WES analizleri ile hastalıktan sorumlu aday genler ve patojenik mutasyonlar araştırılmıştır.

Bu tez kapsamında 162 aileden 213 bireye ait Tüm Ekzom Dizileme (WES) verisinin ham veri analizi biyoinformatik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. 155 olguda moleküler tanıya ulaşılmıştır. Bu olgular için 170 farklı varyant saptanmıştır. Saptanan varyantların 103'ü yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon, 18'i çerçeve kayması (*frameshift*) mutasyon, 17'si anlamsız (*nonsense, stop codon*) mutasyon, 17'si kırılma (*splice site*) mutasyonu, 6'sı kopya sayısı değişikliği (büyük delesyon), 5'i başlangıç kodonu (*start codon*) mutasyonu, 4'ü ise *in-frame* delesyon veya insersiyon (*non-frameshift deletion&insertion*) olarak tespit edilmiştir (Şekil 80-84 ve Ek 5). Saptanan 103 yanlış anlamlı mutasyon, dört farklı yöntem ile protein yapısı üzerinde modellenmiş ve *in-silico* tahminlemeler gerçekleştirilerek mutasyonun protein yapısı üzerinde oluşturduğu yapısal (konformasyonel) değişiklikler üç boyutlu şekilde şematize edilmiştir. Son olarak saptanan mutasyonlar, gen düzeyinde bağlantı analizine tabi tutularak, nadir kalıtsal metabolik hastalık grubundaki moleküler yollar arasındaki ilişkiler tespit edilmiş, saptanan yeni genlerin bu yollar içerisinde ne şekilde konumlandığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada toplamda 162 aileden 213 bireyde gerçekleştirilen WES analizi sonucunda hastaların 155'ine moleküler tanı konulmuş, 58 vaka ise sonuçsuz kalmıştır. Buna göre yapılan biyoinformatik analizlerde başarılı moleküler tanı oranı %72.7 olarak hesaplanmıştır (Grafik 1).

WES analizi tamamlanan birey sayısı: 213

- Sonuca ulaşılan olgu sayısı (Genotip-fenotip korelasyonu kurulan olgu sayısı): 155
- Sonuca ulaşılamayan olgu sayısı (Genotip-fenotip korelasyonu kurulamayan veya WES verisi kalite parametrelerini geçemeyen olgu sayısı): 58

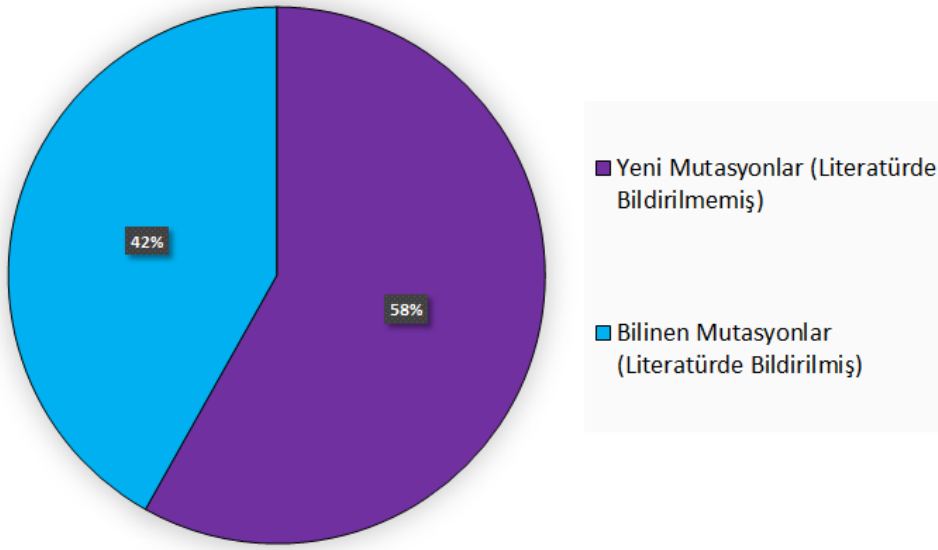


Grafik 1: Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu elde edilen başarılı tanı oranını gösteren pasta dilimi grafiği

Bu tez çalışması kapsamında analiz edilen veriler sonucunda toplamda 128 farklı varyant bulunmuştur. Bu varyantların 75'i literatürde bildirilmemiş yeni mutasyondur. 54'ü ise daha önce literatürde farklı yayınlarda bildirilmiştir. Bu doktora tez çalışması kapsamında 6 yeni aday gen önerilmiştir. Bu genler sırasıyla: *PITRM1*, *MOSPD2*, *DNAJC5*, *AMD1*, *UQCRC1* ve *UNC79* olarak adlandırılmaktadır (Grafik 2 ve Ek 4). Bu genlerden *UQCRC1* ve *UNC79* genlerinde aile içi kalıtım (segregasyon analizi) gerçekleştirilmiş ve bu iki gendeki varyantların ailelerde tam segregasyon gösterdiği, yani pedigrig analizi sonucunda beklenen şekilde aktarıldığı gözlenmiştir. *PITRM1*, *MOSPD2*, *DNAJC5* ve *AMD1* genlerindeki varyantlar için biyolojik materyal yetersizliği (anne-baba DNA'larına ulaşamaması) nedeniyle aile içi kalıtım gösterilememiştir.

WES analizleri sonrasında ulaşılan varyant sayısı: 128

- Literatürde bildirilmemiş mutasyon sayısı (Yeni mutasyonlar): 75
- Literatürde bildirilmiş mutasyon sayısı (Bilinen mutasyonlar): 54

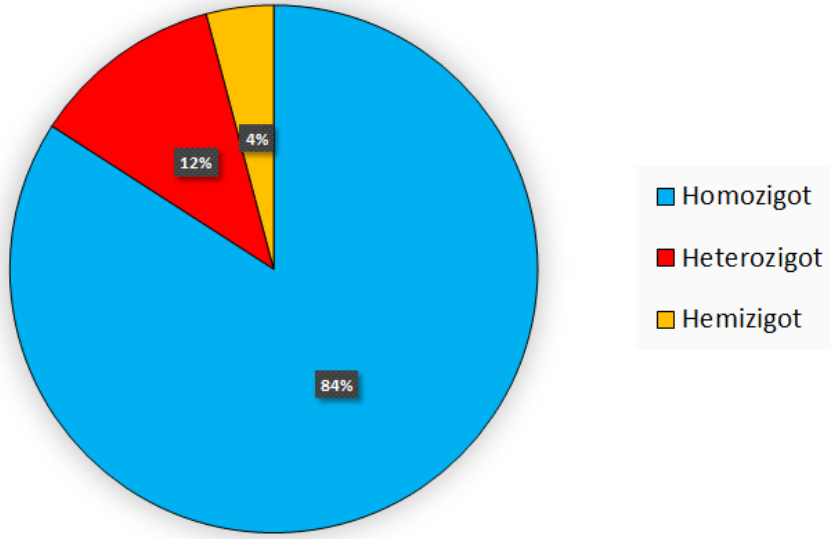


Grafik 2: Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların literatürde bildirilme yüzdesini gösteren pasta dilimi grafiği

Bu tez çalışması kapsamında analiz edilen WES verileri sonucunda 170 varyant bulunmuştur. 42 varyant birden fazla etkilenmiş aile bireyinde mevcuttur veya farklı ailelerde aynı varyant tespit edilmiştir. Bu durum kurucu etkisi (*founder effect*) adı verilen türleşme mekanizmasından ileri gelmektedir ve anne-baba arasındaki akrabalığın yüksek olduğu toplumlarda gözlenmektedir. Bu 170 varyantın 143'ü homozigot, 20'si heterozigot, 7'si ise hemizigot kalıtım kalıbına göre kalıtılmaktadır (Grafik 3).

Toplamda ulaşılan varyant sayısı: 170

- Homozigot varyant sayısı: 143
- Heterozigot varyant sayısı: 20
- Hemizigot varyant sayısı: 7

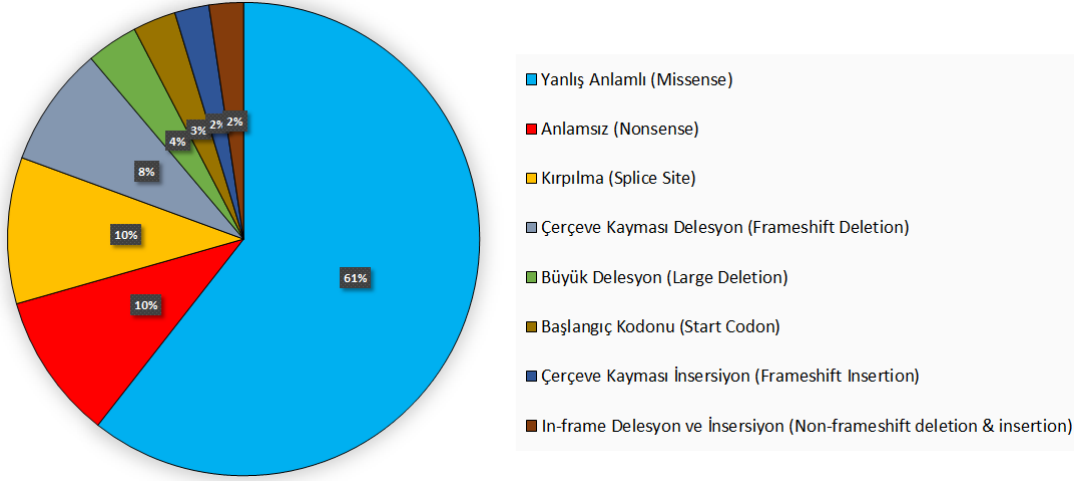


Grafik 3: Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların kalıtım kalıbına göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği

Bu tez çalışması kapsamında analiz edilen WES verileri sonucunda saptanan 170 varyantın 103'ü yanlış anlamlı mutasyon (*missense*), 17'si anlamsız mutasyon (*nonsense*, *stop codon*), 17'si kırılma bölgesi mutasyonu (*splice site/splice region*), 14'ü çerçeve kayması delesyon (*frameshift deletion*), 6'sı büyük delesyon/kopya sayısı değişikliği (*large deletion/CNV*), 5'i başlangıç kodon mutasyonu (*start codon mutation*), 4'ü çerçeve kayması insersiyon (*frameshift insertion*) ve 4'ü de *in-frame* delesyon veya insersiyon (*non-frameshift deletion/insertion*) olarak belirlenmiştir (Grafik 4).

Toplamda ulaşılan varyant sayısı: 170

- Yanlış anlamlı (*Missense*) varyant sayısı: 103
- Anlamsız (*Nonsense*) varyant sayısı: 17
- Kırılma bölgesi (*Splice site/Splice region*) varyant sayısı: 17
- Çerçeve kayması delesyon (*Frameshift deletion*) sayısı: 14
- Büyük delesyon (*Large deletion*): 6
- Başlangıç kodonu (*Start codon*) varyant sayısı: 5
- Çerçeve kayması insersiyon (*Frameshift insertion*) sayısı: 4
- *In-frame* delesyon ve insersiyon (*Non-frameshift deletion/insertion*) sayısı: 4

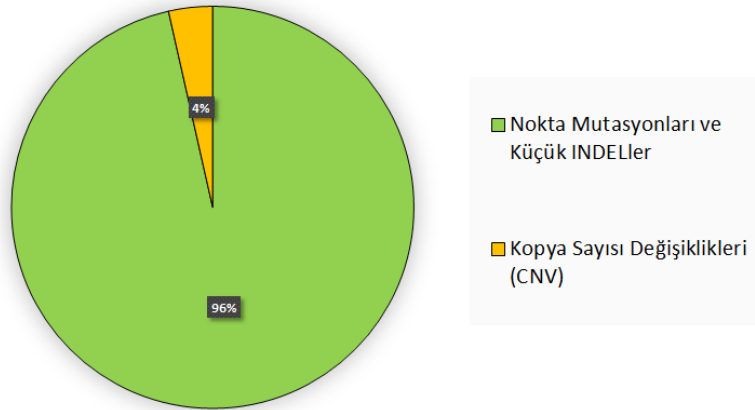


Grafik 4: Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların türüne göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği

Bu tez çalışması kapsamında analiz edilen WES verileri sonucunda saptanan 170 varyantın 164'ü nokta mutasyonu (SNV) veya küçük INDEL, 6'sı ise kopya sayısı değişikliği (CNV) olarak belirlenmiştir (Grafik 5).

Toplamda ulaşılan varyant sayısı: 170

- Nokta mutasyonları ve küçük INDEL'lerin sayısı: 164
- Kopya sayısı değişikliklerinin (CNV) sayısı: 6



Grafik 5: Gerçekleştirilen WES analizleri sonucu tespit edilen varyantların boyutuna göre dağılımını gösteren pasta dilimi grafiği

- **Olgu 1 (M-19-4998):**

Mutasyon Adlandırması: *VPS16* (NM_022575.2); homozigot c.540G>T; p.Trp180Cys (W180C) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

VPS16 geninin NM_022575.2 kodlu transkripti, 839 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 24 ekzondan oluşmaktadır. *VPS16* geni (Vacuolar Protein Sorting 16), lizozomal ve endozomal membran trafiğinde önemli rol oynayan bir proteini kodlar. *VPS16* molekülü, hücre içerisindeki madde taşıma ve süreçlerinde görev alır. Bu protein özellikle lizozom kompartmanlarının oluşumu, olgunlaşması ve fonksiyon göstermesi için kritik öneme sahiptir. Bu protein, homotipik füzyon ve vakuoler proteinleri önceleme (*Homotypic Fusion and Vacuole Protein Sorting*, HOPS) kompleksinin bir parçası olarak işlev görür ve hücre içi veziküler trafik süreçlerinde elzem rol oynar (101). *VPS16* geninin kodladığı protein, lizozom ilişkili metabolik yollarda görev almaktadır.

M-19-4998 DNA numaralı örnekte saptanan homozigot *VPS16*; p.Trp180Cys mutasyonu, dbSNP veri tabanına rs2089219111 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV000932238.1 koduyla ve “Klinik Önemi Bilinmeyen” (VUS) etiketiyle kayıtlıdır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/932238/>). Bu mutasyon HGMD (*Human Gene Mutation Database*, HGMD) veri tabanına ise CM2117654 koduyla kaydedilmiştir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 20 farklı *VPS16* mutasyonu bildirilmiştir. *VPS16*; p.Trp180Cys yanlış anlamlı mutasyon gnomAD veri tabanında şimdiye kadar bildirilmemiştir (<https://gnomad.broadinstitute.org/>).

- **Olgu 2 (M-19-5077 ve M-19-5078):**

Mutasyon Adlandırması: *FITM2* (NM_001080472.1); homozigot c.1A>G; p.Met1? başlangıç kodon mutasyonu.

FITM2 geninin NM_001080472.1 kodlu transkripti, 262 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 2 ekzondan oluşmaktadır. *FITM2* geni, hücrelerde lipid damlacıklarının oluşumu ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan FITM2 (Fat Storage-Inducing Transmembrane Protein 2) proteinini kodlar. Bu protein, lipid damlacıklarının membranında lokalizedir ve trigliseridler ile diğer yağ asitlerinin depolanmasını sağlar. FITM2 molekülü enerji depolama ve hücrelerin enerji ihtiyaçlarını yönetme süreçlerinde kritik bir bileşendir (102). *FITM2* geninin kodladığı protein, lipid metabolizmasında görev almaktadır.

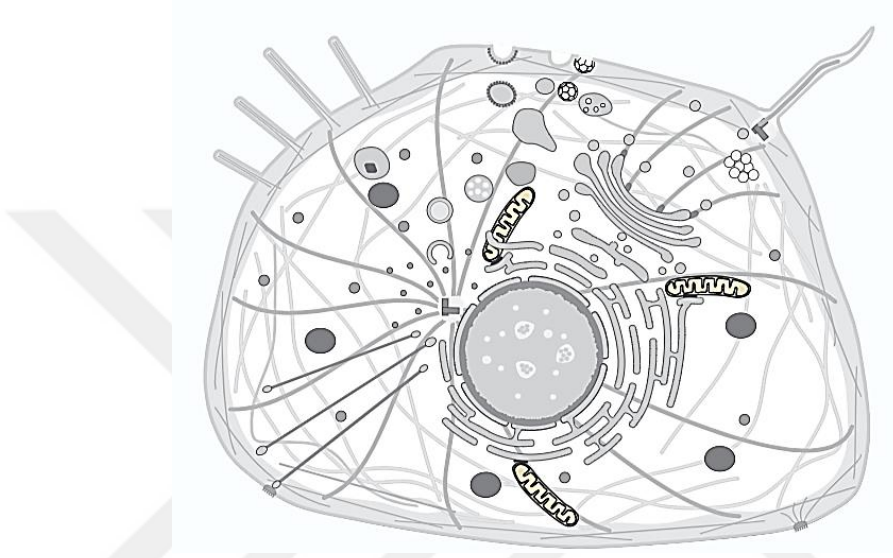
M-19-5077 ve M-19-5078 DNA numaralı olgularda ortak şekilde saptanan homozigot *FITM2*; p.Met1? başlangıç kodon mutasyonu dbSNP, ClinVar ve HGMD veri tabanlarında yer almamaktadır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 12 farklı *FITM2* mutasyonu bildirilmiştir. *FITM2* p.Met1? başlangıç kodon mutasyonu için gnomAD veri tabanında 1 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 6.208×10^{-7} , https://gnomad.broadinstitute.org/variant/20-44311147-A-G?dataset=gnomad_r4). Sonuç olarak bu gende yeni bir mutasyon tanımlanarak, klinik bulgularla birlikte literatürde tanımlanmış olan Siddiği Sendromu ile uyumlu bulunarak hastaların tanısı kesinleştirilmiştir.

- **Olgu 3 (M-17-4247):**

Mutasyon Adlandırması: *UQCRC1* (NM_003365.2); homozigot c.359T>C; p.Leu120Pro (L120P) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

UQCRC1 geninin NM_003365.2 kodlu transkripti, 480 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 13 ekzondan oluşmaktadır. *UQCRC1* (Ubiquinol-Cytochrome C Reductase Core Protein I) proteini, mitokondriyal elektron taşıma zincirinin üçüncü bileşeni olan Kompleks III'ün bir parçasıdır ve mitokondriyal Kompleks III alt ünitesinin dimerizasyonunda görev almaktadır. *UQCRC1* proteini, ökaryotik hücrelerin mitokondri iç zarlarında ifade edilmektedir (Şekil 85). Bu protein, elektronların koenzim Q molekülünden sitokrom c molekülüne taşınmasını katalize eden reaksiyonlarda kritik bir role sahiptir. Bu süreç,

hücredeki solunum zincirinin ATP üretimi halkasına katkıda bulunan proton gradientinin oluşmasını sağlar (103). *UQCRC1* geninin kodladığı protein, mitokondriyal solunum zincirinde görev almaktadır.



Şekil 37: *UQCRC1* proteininin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P31930/entry>)

M-17-4247 DNA numaralı olgu ve M-21-5669 numaralı vefat eden hasta ablanın kas biyopsisinden elde edilen DNA numunesinde ortak şekilde saptanan homozigot *UQCRC1*; p.Leu120Pro yanlış anlamlı mutasyon dbSNP ve HGMD veri tabanlarında yer almamaktadır. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında RCV003236751.1 koduyla ve “Olası Patojenik” (LP) etiketiyle kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 16 farklı *UQCRC1* mutasyonu bildirilmiştir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/2506569/>). Bu mutasyonların tamamı heterozigot/de novo şekilde ortaya çıkıp otozomal dominant kalıtım kalıbıyla kalıtılmaktadır ve aşağıdaki kalıtsal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir.

- Otizm spektrum bozukluğu (OSB)
- Erken başlangıçlı Parkinson hastalığı
- Parkinson hastalığı ve polinöropati

- Gelişimsel gerilik
- Konjenital kalp hastalığı
- Juvenil İdyopatik Artrit (JIA)

UQCRC1; p.Leu120Pro yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 1 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 6.195×10^{-7} , https://gnomad.broadinstitute.org/variant/3-48604719-A-G?dataset=gnomad_r4).

UQCRC1 genindeki p.Leu120Pro yanlış anlamlı mutasyonunun, çocukluk çağı nadir hastalıklar için sağlıklı bireylerden oluşan toplum veri tabanlarında homozigot olarak bildirilmemiş olması, aile üyelerinde segregasyonun gösterilmesi, genin fonksiyonu ve klinik bulguların mitokondriyal hastalık ile uyumlu olması nedeniyle bu ailede *UQCRC1* geninde saptanan değişikliğin hastalıktan sorumlu patojenik mutant allel olma olasılığı yüksektir. *In-silico* analizler ve protein modelleme yöntemleri ile elde edilen sonuçlar bu bulguyu desteklemektedir (Şekil 26-29). Yapılacak fonksiyonel çalışmalar ve protein fonksiyonuna yönelik ileri araştırmalar için hastalardan elde edilen fibroblast vb. doku örnekleri mevcut olmadığı için ileri deneysel süreçlerin planlanması bu aşamada mümkün olmamıştır.

- **Olgu 4 (M-16-3785):**

Mutasyon Adlandırması: *ETHE1* (NM_014297.3); homozigot c.487C>T; p.Arg163Trp (R163W) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

ETHE1 geni, sülfür metabolizmasında önemli bir rol oynayan mitokondriyal enzimi kodlar. Bu enzim, sülfür metabolizmasında, özellikle sülfid oksidasyonunda görev alır. *ETHE1* proteini, sülfid detoksifikasyonunda ve sülfat üretiminde rol oynar. Bununla birlikte, *ETHE1* proteininin serbest sülfür iyonlarının toksik etkilerini nötralize ettiği ve hücrel fonksiyonları koruduğu bilinmektedir. *ETHE1* genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar, Etilmalonik Ensefalopati adı verilen nadir bir metabolik hastalığa neden olur (MIM: #602473). Bu hastalık otozomal resesif kalıtılır ve ilk olarak İtalyan ailelerde tespit edilmiştir (104). *ETHE1* geninin kodladığı protein, mitokondriyal

solunum zincirinde görev almaktadır. Bu kalıtsal nadir hastalığın klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Gelişim bozukluğu
- Retina lezyonları
- Akrosiyanoz
- Kronik ishal
- Peteşi
- Zeka geriliği
- Piramidal ve ekstrapiramidal semptomlar
- Ataksi
- Hipotoni
- Nöbet (Epilepsi)
- MR'da bazal ganglionlarda hiperintens lezyonlar
- Laktik asidemi
- Etilmalonik asidüri
- Metilsüksinik asidüri
- İskelet kası ve beyinde sitokrom c oksidaz eksikliği
- Serum C4 ve C5 asilkarnitin esterlerinde artış
- İdrarda izobutiril glisin artışı
- İdrarda 2-metilbutiril glisin artışı
- İdrar tiyosülfat artışı
- Semptomlar yaşamın ilk aylarında başlar. Hastalar çoğunlukla Akdeniz

kökenlidir genellikle on yaşına kadar kaybedilir.

ETHE1 proteini, mitokondriyal fonksiyonlar için kritik olan sülfat metabolizmasında rol oynar. *ETHE1* genindeki mutasyonlar, protein aktivitesinin kaybına yol açar. Bu durum, sülfat birikimine ve buna bağlı olarak mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresle sonuçlanır. Sülfat birikimi, özellikle sinir sistemi ve dolaşım sistemi üzerinde toksik etkiler gösterir. Kalıtsal metabolik hastalıklar, genellikle hücrelerin metabolik süreçlerinde yer alan proteinlerin işlev kaybından kaynaklanır.

ETHE1 genindeki mutasyonlar, sülfür metabolizmasının bozulmasına ve dolayısıyla hücrel enerji üretiminde aksamalara neden olur.

M-16-3785 DNA numaralı örnekte saptanan homozigot *ETHE1*; p.Arg163Trp mutasyonu, dbSNP veri tabanına rs28940289 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında RCV000002407.9 koduyla ve “Patojenik” etiketiyle kayıtlıdır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000002407.9/?redir=rcv>). Bu mutasyon HGMD (*Human Gene Mutation Database*, HGMD) veri tabanına ise CM040420 koduyla kaydedilmiştir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 49 farklı *ETHE1* mutasyonu bildirilmiştir. *ETHE1*; p.Arg163Trp yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 24 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.000015, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/19-43511455-G-A?dataset=gnomad_r4). (105).

- **Olgu 5 (M-16-3790 ve M-16-3791):**

Mutasyon Adlandırması: *HPRT1* (NM_000194.2); hemizigot c.212dupG; p.Tyr72LeufsTer2 (p.Y72L*2) çerçeve kayması (*frameshift*) mutasyon.

HPRT1 geni, hipoksantin-fosforibozil transferaz (HPRT) enzimini kodlamaktadır. *HPRT1* geninin NM_000194.2 kodlu transkripti 218 amino asit uzunluğunda bir protein üretmektedir. HPRT1 proteini, pürin geri kazanım yolağında kritik rol oynayan bir enzimdir. Bu enzim, hipoksantin ve guanini fosforibozil pirofosfat (PRPP) ile reaksiyona sokarak, sırasıyla inozin monofosfat (IMP) ve guanozin monofosfat (GMP) üretir. Bu reaksiyonlar, vücutta pürin nükleotitlerinin yeniden kullanılmasını sağlar ve DNA/RNA sentezi için elzemdir (106). *HPRT1* geninin kodladığı protein, pürin metabolizmasında görev almaktadır.

HPRT1 genindeki hemizigot mutasyonlar Lesch-Nyhan Sendromu’na (LNS) yol açar (MIM: #300322). Bu nadir kalıtsal metabolik hastalık X’e bağlı resesif kalıtım kalıbına sahiptir. Erkeklerin tek X kromozomu taşıması sebebiyle erkek çocuklarda daha sık görülür. Bu hastalığın klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Kısa boy
- Gelişim geriliği
- Kusma
- Testis atrofisi
- Nefrolitiazis
- Gut
- Motor becerilerde gecikme
- Hipotoni
- Kendine zarar verme (ortalama başlangıç yaşı 2 yaş)
- Ekstrapiramidal bulgular
- Koreoatetoz
- Distoni
- Bazal ganglion disfonksiyonu
- Spastisite, hiperrefleksi
- Opistotonus
- Dizartri
- Disfaji
- Zeka geriliği (45-75 IQ)
- Anemi/Megaloblastik anemi
- Hiperürisemi
- Hiperürikozüri
- Klasik Lesch-Nyhan Sendromu'nda hipoksantin fosforibosiltransferaz (HPRT)

enzim aktivitesi %1,5'in altındadır.

Lesch-Nyhan Sendromu, *HPRT1* genindeki mutasyonlar sonucunda HPRT enziminin eksikliği veya işlevsizliği ile karakterizedir. Bu durum, pürin metabolizmasında birikimle sonuçlanır. Bunun sonucunda ürik asit üretiminde bir artış gerçekleşir. Artan ürik asit seviyesi gut benzeri artrit ve böbrek taşları gibi sorunlara yol açar. Aynı zamanda, beyin fonksiyonları etkilenecek nörolojik ve davranışsal anomaliler gelişir.

HPRT1 geninde meydana gelen hemizigot p.Tyr72LeufsTer2 çerçeve kayması mutasyon, protein işlevini büyük ölçüde bozarak hastalık fenotipini oluşturmaktadır.

M-16-3790 ve M-16-3791 DNA numaralı örneklerde saptanan hemizigot *HPRT*; p.Tyr72LeufsTer2 mutasyonu, dbSNP veri tabanına rs786200980 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında RCV000153367.3, RCV001198061.1 ve RCV001229151.2 kayıtlarıyla ve “Patojenik” etiketiyle mevcuttur (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000153367.3/?redir=rcv>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV001198061.1/?redir=rcv>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV001229151.2/?redir=rcv>). Bu mutasyon, HGMD (*Human Gene Mutation Database*) veri tabanına CM040420 koduyla kaydedilmiştir. HGMD veri tabanında şimdiye kadar 457 farklı *HPRT* mutasyonu bildirilmiştir. *HPRT1*; p.Tyr72LeufsTer2 çerçeve kayması mutasyon gnomAD veri tabanında şimdiye kadar bildirilmemiştir.

- **Olgu 6 (M-16-3619 ve M-16-3620):**

Mutasyon Adlandırması: *VAR2* (NM_001167734.1); homozigot c.1100C>T; p.Thr367Ile (T367I) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

VAR2 geni mitokondriyal Valil-tRNA sentetaz-2 proteinini kodlar. Bu transkript, 1093 amino asit uzunluğunda bir protein sentezler. *VAR2* proteini, mitokondriyal valil-tRNA sentetaz olarak bilinen enzimin üretiminden sorumludur ve metabolik süreçlerde valin amino asidinin doğru tRNA'ya bağlanmasını (aminoasilasyon) katalizler. Bu metabolik süreç, mitokondriyal protein sentezi için kritik bir basamaktır ve mitokondriyal DNA tarafından kodlanan proteinlerin sentezinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu proteinler, mitokondriyal solunum zincirinin bileşenleridir ve hücrenin enerji üretimi için elzemdir. *VAR2* genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar, Kombine Oksidatif Fosforilasyon Eksikliği adı verilen nadir bir metabolik hastalığa neden olur (MIM: #615917). Bu hastalık otozomal resesif kalıtılır ve p.Thr367Ile mutasyonu daha önce literatürde mitokondriyal ensefalopati fenotipiyle bağlantılı şekilde bildirilmiştir (107). *VAR2* geninin kodladığı protein, aminoasıl transfer RNA (tRNA) sentezinde görev almaktadır. Bu nadir kalıtsal metabolik hastalığın klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Mikrosefali
- Yüz deformasyonu
- Ptozis ve progresif bilateral oküler hareket bozukluğu
- Hipotoni
- Mitokondriyal kompleks 1 eksikliği
- Motor gelişim geriliği
- Nöbetler
- Ataksi

VARs2 genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar, mitokondriyal valil-tRNA sentetazın işlevini bozarak mitokondriyal protein sentezinde aksamalara yol açar. Bu da mitokondriyal solunum zincirinin düzgün çalışmasını engeller ve hücresel enerji döngüsünü bozar. Mitokondriyal disfonksiyon yüksek enerji gereksinimi olan dokularda (örn: beyin, kaslar gibi) belirgin semptomlara neden olur.

M-16-3619 ve M-16-3620 DNA numaralı olgularda saptanan homozigot VARs2; ; p.Thr367Ile yanlış anlamlı mutasyon dbSNP veri tabanına rs587777585 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV000141427.0 koduyla ve “Patojenik” etiketiyle kayıtlıdır ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000129937 /](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000129937/)). Bu mutasyon HGMD (*Human Gene Mutation Database*, HGMD) veri tabanına ise CM147384 koduyla kaydedilmiştir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 27 farklı VARs2 mutasyonu bildirilmiştir. VARs2; p.Thr367Ile yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 38 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.00002, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/6-30918851-C-T?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 7 (M-16-3721, M-16-3722):**

Mutasyon Adlandırması: SLC19A3 (NM_025243.3); homozigot c.1289G>A; p.Gly430Glu (G430E) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

SLC19A3 geni, tiamin (B1 vitamini) taşıyıcı 2 (THTR-2) proteinini kodlar. *SLC19A3* geninin NM_025243.3 numaralı transkripti, 496 amino asit uzunluğunda bir proteini sentezler. Bu proteinin temel işlevi hücrelere tiamin molekülünün alımını düzenlemektir. *SLC19A3* proteini özellikle beyin ve enerji ihtiyacı yüksek diğer dokular için kritik bir rol oynar. Tiamin, hücrelerin enerji üretiminde ve sinir sistemi fonksiyonlarının doğru şekilde gerçekleşmesi için kritik önem taşıyan bir vitamindir. THTR-2 proteini, tiamin molekülünün hücre içine taşınmasını sağlayarak enerji metabolizmasının idamesini gerçekleştirir.

SLC19A3 genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar Tiamin-biyotin duyarlı bazal ganglion hastalığı (BTBGD) gibi ciddi bir nörolojik hastalığa neden olur (MIM: #607483). Bu nadir metabolik hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (108). *SLC19A3* geninin kodladığı protein, enerji metabolizmasında görev almaktadır. Tiamin-biyotin duyarlı bazal ganglion hastalığının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Distoni
- Nistagmus ve eksternal oftalmopleji
- Pitozis
- Disfaji (Yutma güçlüğü)
- Ensefalopati
- Nöbetler
- Konfüzyon
- Aksiyal hipotoni
- Parapleji
- Rijidite
- Dizartri
- Piramidal semptomlar
- Koma
- MR görüntülemelerde bazal ganglion lezyonları
- Kortikal ve subkortikal hiperintensite

Tiamin-biyotin duyarlı bazal ganglion hastalığı, *SLC19A3* genindeki mutasyonlar nedeniyle tiamin ve biyotin moleküllerinin taşınmasında aksaklıklar ile karakterizedir. Bu vitaminlerin eksikliği, enerji üretimini ve nörolojik fonksiyonların bozulmasına neden olur. Biyotin ve tiamin takviyesi ile bu hastalığın semptomları hafifletilebilir.

M-16-3721 ve M-16-3722 DNA numaralı olgularda saptanan homozigot *SLC19A3*; p.Gly430Glu yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP ve ClinVar veri tabanlarında bulunmamaktadır. Bu mutasyon HGMD veri tabanında da bildirilmemiştir; ancak bu gende aynı amino asit bölgesinde p.Gly430Arg ise koduyla kayıtlı bir mutasyon mevcuttur. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 90 farklı *SLC19A3* mutasyonu bildirilmiştir. *SLC19A3*; p.Gly430Arg yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 1 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 6.196×10^{-7} , https://gnomad.broadinstitute.org/variant/2-227688191-C-T?dataset=gnomad_r4).

- **Olgu 8 (M-16-3793):**

Mutasyon Adlandırması: *ADA2* (*CECR1*) (NM_001282228.1); homozigot c.578C>T; p.Pro193Leu (P193L) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

ADA2 geninin NM_001282228.1 kodlu transkripti, 511 amino asit uzunluğunda bir proteini sentezler. Bu transkript, 9'u protein kodlayan toplamda 10 ekzondan oluşmaktadır. *ADA2* geni, adenzin deaminaz 2 proteinini kodlar. *ADA2* proteini, adenzin deaminaz ailesine ait bir enzimdir ve adenzin ile 2'-deoksiadenozini inosine ve 2'-deoksiinosine dönüştürerek immün sistemde ve inflamatuvar süreçlerde rol oynar. *ADA2* proteini ayrıca vasküler sistemin en önemli elemanlarından ve vasküler gelişim, immün yanıt ve inflamasyonun düzenlenmesinden sorumludur.

ADA2 genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar Adenzin Deaminaz 2 Eksikliği (Vaskülit, otoinflamasyon, immün yetmezlik ve hematolojik defekt sendromu) gibi bir immün sistem bozukluğuna neden olur (MIM: #615688). Bu nadir metabolik hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (109). *ADA2* geninin

kodladığı protein, pürin metabolizmasında görev almaktadır. Adenozin Deaminaz 2 eksikliğinin klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Yüz sinirlerinde felç
- Oftalmopleji
- Vaskülit
- Felç (İskemik ve Hemorajik)
- Poliarteritis Nodosa (PAN)
- Anevrizma
- Hepatomegali
- Splenomegali
- Gastrointestinal spazm
- Renal arter anevrizmaları
- Artrit
- İskemik nekroz
- Eritema nodozum
- Ürtiker
- Purpura
- Lökositoklastik vaskulit
- Pannikülit
- Miyalji
- İnme
- Hemipleji
- Ataksi
- Kranial sinir disfonksiyonu
- Afazi
- MR'da görülen Laküner infarktlar
- Raynaud fenomeni
- Nöropati
- Tekrarlayan ateş
- İmmün yetmezlik

- Lökopeni
- Lökositoz
- Karaciğer enzim değerlerinde bozulma
- Alevlenme döneminde artan akut faz reaktanları

ADA2 genindeki mutasyonlar, ADA2 proteininin işlevini bozarak adenozin metabolizmasında bozulmaya ve inflamatuvar yanıtta düzensizliklere yol açar. ADA2 eksikliği, damar inflamasyonu ve sistemik inflamatuvar yanıtlarla ilişkili çeşitli klinik belirtilerle kendini gösterir. ADA2 eksikliğinin tedavisinde Anti-TNF ajanları (etanercept, adalimumab, golimumab, infliximab, certolizumab) kullanılmaktadır.

M-16-3793 DNA numaralı olguda saptanan homozigot ADA2; p.Pro193Leu yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs199567025 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV000647422.3 koduyla ve “Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS)” etiketiyle kayıtlıdır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000647422.3/?redir=vcv>). Bu mutasyon HGMD (Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CM1410258 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 184 farklı ADA2 mutasyonu bildirilmiştir. ADA2; p.Pro193Leu yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 13 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.000008, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/22-17203738-G-A?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 9 (M-15-3186):**

Mutasyon Adlandırması: *UPF3B* (NM_080632.2); hemizigot c.1135C>T; p.Arg379Cys (R379C) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

UPF3B geninin NM_080632.2 kodlu transkripti, 483 amino asit uzunluğunda bir proteini sentezler. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 11 ekzondan oluşmaktadır. *UPF3B* geni, “Nonsense-mediated mRNA decay” (NMD) mekanizmasında kritik bir rol oynayan *UPF3B* proteini kodlar. NMD, hatalı veya erken durdurma kodunu içeren

mRNA'ların tespit edilerek yıkımını sağlayan bir kontrol mekanizmasıdır. Bu mekanizma, protein sentezindeki hataları önlemek için elzemdir. Özet olarak UPF3B proteini, NMD yolunun temel bileşenlerinden biridir ve hatalı sentezlenmiş mRNA'ların tanınarak yıkılmasında görev alır.

UPF3B genindeki hemizigot mutasyonlar X kromozomuna bağlı sendromik zihinsel gelişimsel bozukluğa neden olur (MIM: #300676). Bu nadir kalıtsal hastalık, X kromozomuna bağlı resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (110). *UPF3B* genine bağlı sendromik zihinsel gelişimsel bozukluğun klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Makrosefali
- Uzun, ince yüz
- Belirgin alın ve çene
- Maksiller hipoplazi
- Yüksek burun köprüsü ve yüksek kemerli damak
- Pektus Ekskavatum ve pektus karinatum
- Kifoza
- Skolyoz
- Uzun eller, parmaklar ve ayaklar
- Hafif/şiddetli zihinsel gerileme
- Otizm bulguları

UPF3B genindeki mutasyonlar, NMD yolağını etkileyerek hatalı sentezlenen mRNA'ların birikmesine ve bunun sonucunda işlevsel olmayan veya toksik proteinlerin sentezlenmesine yol açar. Bunun sonucunda özellikle beyin gelişimi ve zihinsel fonksiyonlar üzerinde ciddi etkiler ortaya çıkarak zihinsel yetersizlik ve birçok nörolojik bozukluk meydana gelir.

M-15-3186 DNA numaralı olguda saptanan homozigot *UPF3B*; p.Arg379Cys yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs761031567 koduyla kaydedilmiştir. Bu mutasyon, ClinVar veri tabanında yer almamaktadır; ancak HGMD veri tabanında CM2030979 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 36 farklı *UPF3B*

mutasyonu bildirilmiştir. *UPF3B*; p.Pro193Leu yanlış anlamlı mutasyon gnomAD veri tabanında şimdiye kadar bildirilmemiştir.

• **Olgu 10 (M-16-3798 ve M-16-3799):**

Mutasyon Adlandırması: *NGLY1* (NM_018297.3); homozigot c.1260+1G>A kırpılma (*splice site*) mutasyonu.

NGLY1 geni, N-glycanase 1 (*NGLY1*) adı verilen proteini kodlar. *NGLY1* geninin NM_018297.3 kodlu transkripti, 654 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 12 ekzondan oluşmaktadır. *NGLY1* proteini, glikoproteinlerin degradasyonunda rol oynayan bir enzimdir. *NGLY1*, endoplazmik retikulumda yanlış katlanmış glikoproteinlerden N-glikan moleküllerini çıkararak bu proteinlerin proteozom yoluyla yıkımını kolaylaştırır. Bu metabolik süreç, hücre içi protein kalite kontrolünde önemli bir rol oynar ve protein homeostazının idamesinde elzemdir.

NGLY1 genindeki homozigot veya birleşik heterozigot mutasyonlar Konjenital Deglikolikolizasyon Defekti (CDDG) adı verilen nadir bir nörometabolik hastalığa neden olur (MIM: # 615273). Bu nadir metabolik hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (111). *NGLY1* geninin kodladığı protein, endoplazmik retikulum ile ilişkili degradasyon süreçlerinde görev almaktadır. *NGLY1* eksikliğine bağlı Konjenital Deglikolikolizasyon Defekti'nin klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Doğuştan gözyaşı kanal tıkanıklığı
- Alakrima
- Kornea ülserasyonu
- Şaşılık
- Karaciğer fonksiyonlarında bozulma ve karaciğerde inflamasyon
- Küçük eller ve ayaklar
- Gelişim geriliği
- Hipotoni

- İstemsiz hareketler
- Miyoklonus
- Dirençli multifokal nöbetler
- Motor gelişimde gerileme
- Miyelinizasyon gecikmesi
- Hiporefleksi
- Periferik nöropati
- İdrar oligosakkarit ölçümlerinde bozulma (keratan sülfat, heparan sülfat ve kondroitin sülfat)
- Adrenal yetmezlik

NGLY1 genindeki kırılma (*splice site*) mutasyonları, RNA seviyesinde intronların doğru şekilde kırılmasını engelleyerek mRNA'nın hatalı şekilde işlenmesine neden olabilir. M-16-3798 ve M-16-3799 DNA numaralı olgularda saptanan homozigot *NGLY1*; c.1260+1G>A kırılma mutasyonu, dbSNP ve ClinVar veri tabanlarında yer almamaktadır; ancak HGMD veri tabanında CS2066057 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 77 farklı *NGLY1* mutasyonu bildirilmiştir. *NGLY1*; c.1260+1G>A çerçeve kayması mutasyonu gnomAD veri tabanında şimdiye kadar bildirilmemiştir.

• **Olgu 11 (M-16-3705 ve M-16-3706):**

Mutasyon Adlandırması: *NAGLU* (NM_000263.3); homozigot c.934G>A; p.Asp312Asn (D312N) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

NAGLU geni, alfa-N-asetilglukosaminidaz (*NAGLU*) adı verilen bir enzimi kodlar. *NAGLU* geninin NM_000263.3 kodlu transkripti, 743 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 6 ekzondan oluşmaktadır. *NAGLU* geninin kodladığı enzim, lizozomal bir hidrolaz olup heparan sülfatın degradasyonunda rol oynar. Heparan sülfat, glikozaminoglikan (GAG) olarak bilinen kompleks şeker zincirlerinden biridir ve hücrel sinyalizasyon, adezyon ve hücre dışı

matrisin yapısında önemli rol oynar. NAGLU enzimi, heparan sülfatın N-asetilglukozamin birimlerini hidrolize ederek daha küçük moleküllere ayrıştırır, böylece lizozomlarda birikmesini engeller.

NAGLU genindeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “Mukopolisakkaridoz Tip III-B” (MPS III-B, Sanfilippo Sendromu) adı verilen nadir bir metabolik hastalığa neden olur (MIM: #252920). Bu nadir kalıtsal hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (112). *NAGLU* geninin kodladığı protein, lizozom ilişkili metabolik yollarda görev almaktadır. *NAGLU* genine bağlı Mukopolisakkaridoz Tip III-B hastalığının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Kaba yüz görünümü
- İşitme kaybı
- Korneada bozukluklar
- Asimetrik septal hipertrofi
- Kardiyomegali
- Üst solunum yolu enfeksiyonlarında sıklaşma
- Hepatomegali ve splenomegali
- İshal
- Hafif dizostosis multipleks
- Eklem sertliği
- Hirsutizm
- İlerleyici nörolojik bozulma
- Uyku bozuklukları
- Zeka geriliği
- Nöbet
- Hiperaktivite
- Agresif davranışlar
- Fibroblastlarda N-asetil-alfa-D-glukozaminidaz eksikliği
- İdrarda heparan sülfat atılımı

NAGLU genindeki mutasyonlar, alfa-N-asetilglukosaminidaz enziminin fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Bunun sonucunda heparan sülfat molekülü lizozomlarda birikir. Heparan sülfatın birikimi, hücresel fonksiyonları bozarak yukarıda belirtilen semptomların gelişmesine neden olur.

M-16-3705 ve M-16-3706 DNA numaralı olguda saptanan homozigot *NAGLU*; p.Asp312Asn yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs1052471595 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV000437446.4 koduyla ve “Patojenik” (2 kayıt), “Olası Patojenik” (2 kayıt) ve “Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS)” (5 kayıt) etiketleriyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/437446/>). Bu mutasyon HGMD (Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CM113463 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 292 farklı *NAGLU* mutasyonu bildirilmiştir. *NAGLU*; p.Asp312Asn yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 60 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.00004, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/17-42541119-G-A?dataset=gnomad_r4).

- **Olgu 12 (M-16-3657):**

Mutasyon Adlandırması: *NEU1* (NM_000434.3); homozigot c.679G>A; p.Gly227Arg (G227R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

NEU1 geni, sialidaz 1 (*NEU1*) adlı bir enzim kodlar. *NEU1* geninin NM_000434.3 kodlu transkripti, 415 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 6 ekzondan oluşmaktadır. *NEU1* geninin kodladığı enzim, hücre yüzeyinde ve lizozomlarda bulunan glikokonjugatlardan sialik asit kalıntılarının çıkarılmasında görevlidir. *NEU1* enzimi, glikoproteinler, glikolipidler ve oligosakkaritlerin doğru şekilde yıkılması için kritik bir rol oynar. Sialik asit moleküllerinin uzaklaştırılması, bu moleküllerin ileri yıkım ve geri dönüşüm süreçlerinde önemlidir.

NEU1 genindeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “Tip I ve Tip II Sialidoz” adı verilen nadir bir metabolik hastalığa neden olur (MIM: #256550). Bu nadir kalıtsal hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (113). *NEU1* geninin kodladığı protein, lipid metabolizmasında görev almaktadır. *NEU1* genine bağlı Tip I ve Tip II Sialidoz hastalıklarının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Kısa boy (İnfantil ve juvenil Tip-II Sialidoz)
- Kaba fasiyes (Tip-I ve Tip-II Sialidoz)
- Yüz ödemi (Doğuştan gelen Tip-II Sialidoz)
- Sensörinöral işitme kaybı (Tip-II Sialidoz)
- İlerleyici görme kaybı (Tip-I Sialidoz)
- Nistagmus (Tip-I Sialidoz)
- Tay-Sachs hastalığı (İnfantil ve juvenil Tip-II, ve Tip-I Sialidoz)
- Lens opasitesi (İnfantil ve juvenil Tip-II Sialidoz)
- Kardiyomegali (İnfantil Tip-II Sialidoz)
- Kardiyomiyopati (Konjenital Tip-II Sialidoz)
- Karında şişlik (Konjenital Tip-II Sialidoz)
- Hepatomegali ve splenomegali (Tip-II Sialidoz)
- Erkeklerde eksternal genitalya
- Kasık fıtığı (Tip-II Sialidoz)
- Disostoz multipleks (Tip-II Sialidoz)
- Epifizlerde noktalanma (Tip-II Sialidoz)
- Kas güçsüzlüğü ve atrofisi (Tip-I Sialidoz)
- Ataksi (İnfantil ve juvenil Tip-I ve Tip-II Sialidoz)
- Nöbetler (Juvenil Tip-I ve Tip-II Sialidoz)
- Orta/şiddetli zihinsel yetersizlik (İnfantil ve juvenil Tip-II Sialidoz)
- Miyoklonus (İnfantil ve juvenil Tip-I ve Tip-II Sialidoz)
- Dismetri (Tip-I Sialidoz)
- Hipotoni (İnfantil Tip-I ve Tip-II Sialidoz)
- Hiperrefleksi (Tip-I Sialidoz)
- Lenfositler vakuollenme (Tip-II Sialidoz)

- Kemik iliği aspirasyonunda gözlenen köpük hücreleri (Tip-II Sialidoz)
- Hidrops fetalis (Konjenital Tip-II Sialidoz)
- Ölü doğum
- Proteinüri (Konjenital Tip-II Sialidoz)
- İdrar sialiloligosakkaritleri artış ve siyalilglikopeptidlerinde
- Nöraminidaz eksikliği

NEU1 genindeki mutasyonlar sialidaz 1 enziminde fonksiyon kayıplarına neden olur. Bunun sonucunda lizozomlarda sialik asit içeren substratlar birikir ve hücrel işlevler bozulur. Bu birikim neticesinde lizozomlar ve hücrelerin doğal işlevleri sürdürülemez. Bütün bu süreçlerin sonucunda sialidoz semptomları gelişir.

M-16-3657 DNA numaralı olguda saptanan homozigot *NEU1*; p.Gly227Arg yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs769765227 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV002077437.1 koduyla ve “Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS)” etiketiyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV002077437.1/?redir=vcv>). Bu mutasyon HGMD (Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CM000764 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 90 farklı *NEU1* mutasyonu bildirilmiştir. *NEU1*; p.Gly227Arg yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 24 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.00001, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/6-31860558-C-T?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 13 (M-16-3560):**

Mutasyon Adlandırması: *COQ7* (NM_016138.4); homozigot c.616G>A; p.Gly206Arg (G206R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

COQ7 geni, ubiquinone (koenzim Q) biyosentezinde önemli bir rol oynayan bir proteini kodlar. *COQ7* geninin NM_016138.4 kodlu transkripti, 217 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 6

ekzondan oluşmaktadır. *COQ7* geninin kodladığı protein, koenzim Q10 (CoQ₁₀) biyosentezinde kritik bir enzim olan 5-demethoxyubiquinone hidroksilaz olarak adlandırılır. CoQ₁₀ enzimi, mitokondriyal elektron taşıma zincirinde elektron taşıyıcısı olarak görev alır ve hücresel enerji üretiminde kritik bir öneme sahiptir. Bu enzim, hücrenin enerji metabolizması için elzemdir. Bununla birlikte CoQ₁₀ enzimi, hücrede bir antioksidan olarak oksidatif stresi azaltmada yardımcıdır.

COQ7 genindeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “Koenzim Q10 eksikliği” adı verilen nadir bir metabolik hastalığa neden olur (MIM: #616733). Bu nadir kalıtsal hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (114). *COQ7* geninin kodladığı protein, mitokondriyal solunum zincirinde görev almaktadır. *COQ7* genine bağlı Koenzim Q10 eksikliğinin klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- İntrauterin ve postnatal gelişme geriliği (IUGR)
- Sensörinöral işitme kaybı
- Görme bozukluğu
- Böbrek fonksiyon bozukluğu
- Hipertansiyona bağlı sekonder böbrek fonksiyon bozukluğu
- Akciğer hipoplazisi
- Yenidoğanda kalıcı pulmoner hipertansiyon ve solunum güçlüğü
- Beslenme zorlukları
- Multikistik displastik böbrekler
- Eklem kontraktürleri
- Hipotoni
- Alt ekstremitte zayıflığı
- Motor gelişimde gecikme
- Gelişimsel bozukluklar
- Kendi başına oturamama, ayakta duramama veya yürüyememe
- Hafif öğrenme güçlüğü
- Dizartri
- Sensorimotor aksonal ve demiyelinizan polinöropati

- Oligohidramnios (Amniyon sıvısının azalması)
- İdrarda fumarat ve malat moleküllerinde artış
- İskelet kası ve fibroblastlarda CoQ₁₀ enzim düzeyinde azalma
- CoQ₁₀ enzim replasman tedavisi ile bazı klinik semptomlar düzelebilir

COQ7 genindeki mutasyonlar, koenzim Q10 sentezinin bozulmasına neden olur. Bunun sonucunda mitokondriyal enerji üretimi etkilenir ve böylece hücredeki oksidatif stres artar. Hücre enerji üretimi yetersiz kaldığında yüksek enerjiye ihtiyaç duyan dokularda (kaslar, sinir sistemi vb.) ciddi semptomlar gelişir.

M-16-3560 DNA numaralı olguda saptanan homozigot COQ7; p.Gly206Arg yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs760045887 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV002077437.1 koduyla ve “Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS)” etiketiyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV002077437.1/?redir=vcv>). Bu mutasyon HGMD veri tabanında bildirilmemiştir; Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 16 farklı COQ7 mutasyonu bildirilmiştir. COQ7; p.Gly206Arg yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 27 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.000016, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/16-19078120-G-A?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 14 (M-16-3528 ve M-16-3529):**

Mutasyon Adlandırması: CYP2U1 (NM_183075.2); homozigot c.1057G>A; p.Gly353Arg (G353R) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

CYP2U1 geni, sitokrom P450 süper ailesine ait bir enzimi kodlar. Bu enzim, yağ asitlerinin hidroksilasyonu gibi çeşitli biyokimyasal reaksiyonları katalize eder. CYP2U1 geninin NM_183075.2 kodlu transkripti, 544 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 5 ekzondan oluşmaktadır. Sitokrom P450 enzimi, ilaç metabolizmasında kolesterol, steroid ve diğer lipid

moleküllerinin sentezi ve metabolize edilmesinde kritik öneme sahiptir. CYP2U1 proteini özellikle beyin dokusunda yüksek oranda ifade edilen bir enzimdir ve uzun zincirli yağ asit metabolizmasında görev alır.

CYP2U1 genindeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “Spastik Parapleji” adı verilen nadir bir nörolojik hastalığa neden olur (MIM: #615030). Bu nadir kalıtsal hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (115). *CYP2U1* geninin kodladığı protein, lipid metabolizmasında görev almaktadır. *CYP2U1* genine bağlı Spastik Parapleji hastalığının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Motor gelişiminde gerileme
- Spastik parapleji
- Yürümede dengesizlik ve parmak ucunda yürüme
- Üst ve alt ekstremitelerde hiperrefleks
- Distoni
- Ekstansör Plantar Yanıt (Babinski Bulgusu)
- Bilişsel bozukluklar
- Korpus kallozumda incelme
- Beyaz cevher anormalileri
- Bazal gangliyon kalsifikasyonu
- Aksonal nöropati

CYP2U1 genindeki mutasyonlar, enzim aktivitesinin azalmasına veya tamamen kaybına yol açar. Bu durumda yağ asitleri normal şekilde metabolize edilemez ve böylece yağ asidi birikimi gerçekleşir. Bu birikimin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri, kalıtsal spastik parapleji belirtilerine neden olur.

M-16-3528 ve M-16-3529 DNA numaralı olgularda saptanan homozigot *CYP2U1*; p.Gly353Arg yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanında bildirilmemiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV001690737.2 koduyla ve “Klinik Önemi Bilinmeyen (VUS)” etiketiyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/1690737/>). Bu mutasyon HGMD

(Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CM166952 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 52 farklı *CYP2U1* mutasyonu bildirilmiştir. *CYP2U1*; p.Gly353 yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 1 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: $6.199e^{-7}$, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/4-107945536-G-C?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 15 (M-16-3528 ve M-16-3529):**

Mutasyon Adlandırması: *SAMHD1* (NM_015474.3); homozigot c.646_647delAT; p.Met216fsTer2 çerçeve kayması (*frameshift*) mutasyon.

SAMHD1 geni, hücrede deoksinükleotit trifosfat (dNTP) seviyesini düzenleyen proteini kodlar. Bu protein, dNTP'leri hidrolize eder ve bu molekölü DNA sentez sürecinde kullanılması gereken seviyede tutarak retroviral replikasyonun önüne geçer. Bununla birlikte, *SAMHD1* proteini bağışıklık sistemiyle de ilişkilidir ve antiviral savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynar. dNTPaz aktivitesi, DNA replikasyonu ve tamirinde kritik öneme sahiptir.

SAMHD1 genindeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “Aicardi-Goutieres Sendromu” adı verilen nadir bir otoimmün hastalığa neden olur (MIM: #612952). Bu nadir kalıtsal otoimmün hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (116). *SAMHD1* genine bağlı Aicardi-Goutieres sendromunun klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Mikrosefali
- Ağız ülseri
- Yetersiz beslenme
- Artropati
- Kontraktürler
- Pernio (*Chilblains*)
- Kuru cilt ve pullu deri

- Global gelişme geriliği
- Hipotoni
- Spastisite
- Bazal ganglion ve periventriküler bölgelerde intraserebral kalsifikasyonlar
- Derin beyaz madde hipodansitesi
- Lökensefalopati
- Trombositopeni
- Beyin omurilik sıvısında (BOS) artan alfa-interferon molekül düzeyi

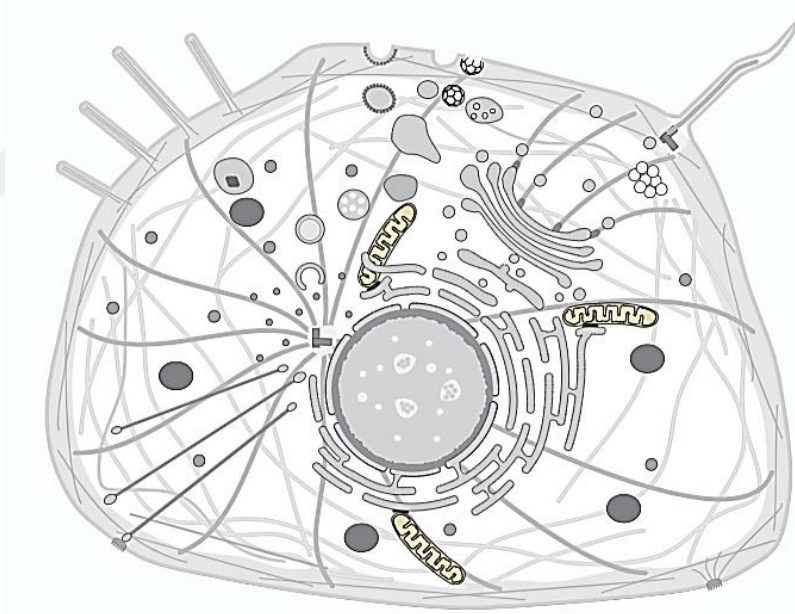
M-15-3189 DNA numaralı olguda saptanan homozigot *SAMHD1*; p.Met216fsTer2 çerçeve kayması mutasyon, dbSNP veri tabanına rs768019897 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında RCV000985137.2 koduyla “Patojenik” ve “Olası Patojenik” etiketleriyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/RCV000985137.2/?redir=rcv>). Bu mutasyon HGMD (Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CD177963 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 94 farklı *SAMHD1* mutasyonu bildirilmiştir. *SAMHD1*; p.Met216fsTer2 çerçeve kayması mutasyon için gnomAD veri tabanında 19 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.00001, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/20-36927230-CAT-C?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 16 (M-16-3715):**

Mutasyon Adlandırması: *PITRM1* (NM_014889.3); homozigot c.968C>G; p.Ser323Cys (S323C) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

PITRM1 geninin NM_014889.3 kodlu transkripti, 1038 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 27 ekzondan oluşmaktadır. *PITRM1* (Pitirilsin Metallopeptidase 1) proteini hücrenin mitokondriyal fonksiyonlarında önemli bir rol oynar. Bu proteinin başlıca işlevleri aşağıdaki gibidir:

- Mitokondriyal proteinlerin hücre dışına çıkması: Mitokondriyal pre-peptitler (mitokondri dışına sentezlenen proteinlerin öncülleri) ve diğer peptitlerin parçalanmasında rol alır.
- Amiloid- β Peptit Metabolizması: Beta amiloid peptitlerin mitokondri içerisinde doğru şekilde parçalanmasını düzenler.
- Mitokondriyal Fonksiyonun Muhafaza Edilmesi: PITRM1 proteininin aktivitesi, hücre içerisinde mitokondriyal protein dengesinin (homeostazının) korunması için elzemdir.



Şekil 38: PITRM1 proteinin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q5JRX3/entry>)

M-16-3715 DNA numaralı olguda saptanan homozigot *PITRM1*; p.Ser323Cys yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP, ClinVar, HGMD ve gnomAD veri tabanlarında bildirilmemiştir. *PITRM1* genindeki mutasyonlar mitokondriyal disfonksiyonlara ve

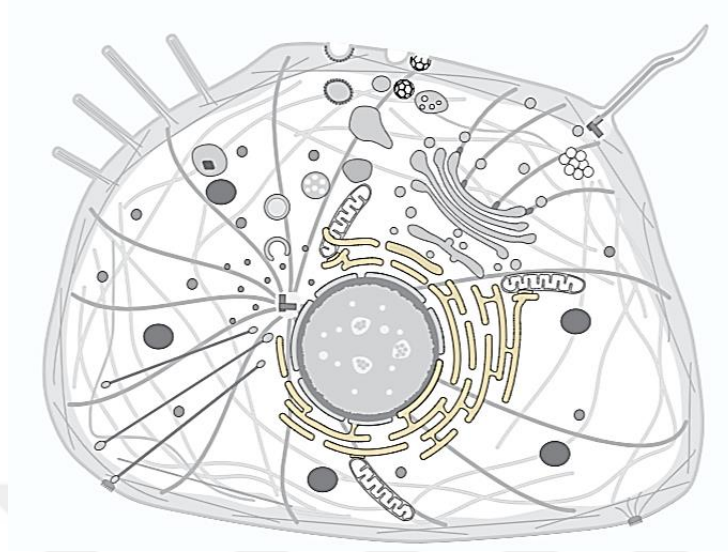
nörolojik bozukluklara neden olabilir (117). *PITRM1* geninin kodladığı protein, mitokondriyal solunum zincirinde görev almaktadır.

- **Olgu 17 (M-16-3787):**

Mutasyon Adlandırması: *MOSPD2* (NM_152581.3); homozigot c.1333G>A; p.Val445Ile (V445I) yanlış anlamalı (*missense*) mutasyon.

MOSPD2 geninin NM_152581.3 kodlu transkripti, 518 amino asit uzunluğunda bir protein kodlamaktadır. Bu transkript, tamamı protein kodlayan 15 ekzondan oluşmaktadır. *MOSPD2* (Motile Sperm Domain-Containing Protein 2) proteini, hücre-hücre etkileşimlerinde ve hücre göçünde önemli bir rol oynamaktadır. *MOSPD2* geninin kodladığı protein, lipid metabolizmasında görev almaktadır. *MOSPD2* molekülünün hücredeki başlıca işlevleri şunlardır:

- Hücre göçü ve invazyon: *MOSPD2* proteini, hücre göçü ve invazyonu düzenleyerek bağışıklık hücrelerinin hedef dokulara taşınmasını kolaylaştırır.
- Hücre Membranındaki İşlevi: *MOSPD2* molekülü, hücre zarının geçirgenliğinde görev alarak Endoplazmik Retikulum (ER) ve plazma membranı arasında temas noktalarının iletişimini sağlar. Bu sayede hücrel sinyal iletimine ve lipid metabolizmasına etki eder.
- Bağışıklık Sistemi Fonksiyonları: *MOSPD2* molekülü, bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve göçü üzerindeki etki eder. Bu özelliğiyle enflamatuvar süreçlerde kritik bir rol oynar.



Şekil 39: MOSPD2 proteininin ökaryotik hücrelerdeki ifadesi (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q8NHP6/entry>)

- **Olgu 18 (M-11-1421 ve M-11-1422):**

Mutasyon Adlandırması: *PYCR2* (NM_013328.4); homozigot c.595C>T; p.Arg199Trp yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

PYCR2 geninin (Pyrroline-5-Carboxylate Reductase 2), NM_013328.4 kodlu transkripti 320 amino asitlik bir protein kodlar ve protein kodlayan 7 ekzon içerir. *PYCR2* geni, prolin biyosentezinde yer alan Prolin-5-Karboksilat Redüktaz 2 enzimini kodlar. *PYCR2* enzimi (Prolin-5-Karboksilat Redüktaz 2), amino asit metabolizmasında, özellikle de prolin sentezinde önemli bir rol oynar. Bu enzim, redoks dengesi ve stres tepkileri gibi hücresel işlevler için önemli bir süreç olan pirolin-5-karboksilatın (P5C) proline dönüşümünü katalizler. *PYCR2* enzimi, prolin biyosentezini kolaylaştırarak, hücrelerdeki reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etmek için kritik olan NADP⁺/NADPH dengesinin korunmasına katkıda bulunur. *PYCR2* enzimi ayrıca glikoliz ve hücre sağ kalımında rol oynayan AKT sinyal yolağı ile bağlantılıdır (118).

PYCR2 genindeki mutasyonlar cutis laxa, global gelişim geriliği ve nörodejenerasyon ile karakterizedir. Bu gendeki homozigot ve birleşik heterozigot mutasyonlar “*Hypomyelinating Leukodystrophy*” adı verilen nadir bir metabolik hastalığa

neden olur (MIM: #616420). Bu nadir kalıtsal metabolik hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (119). *PYCR2* geninin kodladığı protein, amino asit metabolizmasında görev almaktadır. *PYCR2* genindeki patojenik mutasyonlarda kaynaklanan sendromun klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Psikomotor gelişim geriliği
- Konuşmama
- Yürüyememe
- Hipertoni
- Spastisite
- Hiperrefleksi
- Serebral ve kortikal atrofi
- Hipomiyelinizasyon
- Serebral beyaz maddede bozulma
- Korpus kallozum ve beyin sapında incelme
- Dismorfik yüz bulguları

M-11-1421 ve M-11-1422 DNA numaralı olgularda saptanan homozigot *PYCR2*; p.Arg199Trp yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP veri tabanına rs758595075 koduyla kaydedilmiştir. Bununla birlikte bu mutasyon ClinVar veri tabanında VCV000254249.2 koduyla “Patojenik” ve “Olası Patojenik” etiketleriyle bildirilmiştir. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000254249.2/?redir=vcv>). Bu mutasyon HGMD (Human Gene Mutation Database, HGMD) veri tabanında CM168137 koduyla kayıtlıdır. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 27 farklı *PYCR2* mutasyonu bildirilmiştir. *PYCR2*; p.Arg199Trp yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında 22 heterozigot taşıyıcılık mevcuttur (Allel Frekansı: 0.00001, https://gnomad.broadinstitute.org/variant/1-225921590-G-A?dataset=gnomad_r4).

• **Olgu 19 (M-11-1548, M-11-1552 ve M-11-1553):**

Mutasyon Adlandırması: *ALOXE3* (NM_001165960.1); homozigot c.1377C>A; p.Asp459Glu (D459E) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

ALOXE3 geninin (Arachidonate Lipoxygenase 3) NM_001165960.1 kodlu transkripti 843 amino asitlik bir proteini kodlar ve protein kodlayan 16 ekzon içerir. *ALOXE3* geni, lipid metabolizmasında yer alan bir lipoksijenaz enzimini sentezlemekle görevlidir. Bu enzim hidroperoksi yağ asitlerini epoksi alkol türevlerine dönüştüren bir hidroperoksit izomeraz görevi görür. Bu süreç, cilt bariyerinin bütünlüğünü ve geçirgenliğini korumak için çok önemlidir. *ALOXE3* enzimi epidermal farklılaşma kompleksinde önemli bir rol oynar. *ALOXE3* enzimi, lipoksijenaz ailesinin bir parçasıdır ve araşidonik asidin hepoksilinlere dönüşümünü katalizler. Bu metabolitler çok sayıda hücrel süreçte önemli bir rol oynar (120). *ALOXE3* geninin kodladığı protein, amino asit metabolizmasında görev almaktadır.

ALOXE3 genindeki mutasyonlar, özellikle “*Non-Bullous Congenital Ichthyosiform Erythroderma*” olarak bilinen alt tip başta olmak üzere, otozomal resesif konjenital iktiyozis ile ilişkilendirilmiştir (MIM: #606545). Konjenital iktiyozis, kuru, pullu cilt, anormal kornifikasyon ve kızarıklık (eritroderma) ile karakterizedir. Bu nadir hastalık, otozomal resesif kalıtım kalıbıyla aktarılır (121). *ALOXE3* genindeki mutasyonlar sebebiyle ortaya çıkan Konjenital İktiyozis hastalığının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Balık Pulu Hastalığı (İktiyozis)
- Eritem
- Saçlı deri, yüz, gövde ve uzuvlarda ince beyaz veya açık kahverengi pullar
- Boyun, dirsek ve dizlerde koyu kahverengi, sert, yapışık pullar
- Atopik dermatit
- Hipohidroz

M-11-1548, M-11-1552 ve M-11-1553 numaralı olgularda saptanan homozigot *ALOXE3*; p.Asp459Glu yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP, ClinVar ve HGMD veri tabanlarında bildirilmemiştir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 34 farklı *ALOXE3* mutasyonu bildirilmiştir. *ALOXE3*; p.Asp459Glu yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında heterozigot taşıyıcılık mevcut değildir.

• **Olgu 20 (M-11-1548, M-11-1551 ve M-11-1552):**

Mutasyon Adlandırması: *OPA3* (NM_001017989.2); homozigot c.17T>C; p.Phe6Ser (F6S) yanlış anlamlı (*missense*) mutasyon.

OPA3 geninin (Optic Atrophy 3) NM_001017989.2 kodlu transkripti 180 amino asitlik bir proteini kodlar ve protein kodlayan 2 ekzon içerir. *OPA3* geni, iç mitokondriyal zar da ifade olan “*Outer Mitochondrial Membrane Lipid Metabolism Regulator*” proteinini kodlar. *OPA3*, mitokondriyal homeostazın bir elemanıdır ve oksidatif stres süreçlerinde rol oynar (122) *OPA3* geninin kodladığı protein, enerji metabolizmasında görev almaktadır.

OPA3 geni 3-Metilglutakonik Asidüri Tip-III (Costeff Sendromu) ile ilişkilendirilmiştir (MIM: #258501). Bu kalıtsal metabolik hastalık erken başlangıçlı optik atrofi, hareket bozuklukları ve yüksek 3-metilglutakonik asit seviyeleri ile karakterize otozomal resesif bir bozukluktur. Genellikle görme bozukluğu, ataksi ve bilişsel bozukluklarla karakterizedir (123). *OPA3* genindeki mutasyonlar sebebiyle ortaya çıkan 3-Metilglutakonik Asidüri Tip-III hastalığının klinik bulguları aşağıdaki gibidir:

- Optik atrofi
- Görme keskinliğinde azalma
- Ataksi
- Spastisite
- Hiperrefleksi
- Ekstansör plantar tepkiler

- Ekstrapiramidal belirtiler
- Dizartri

M-11-1548, M-11-1551 ve M-11-1552 numaralı olgularda saptanan homozigot *OPA3*; p.Phe6Ser yanlış anlamlı mutasyon, dbSNP, ClinVar ve HGMD veri tabanlarında bildirilmemiştir. Şimdiye kadar HGMD veri tabanında 24 farklı *OPA3* mutasyonu bildirilmiştir. *OPA3*; p.Phe6Ser yanlış anlamlı mutasyon için gnomAD veri tabanında heterozigot taşıyıcılık mevcut değildir.

5.1. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Moleküler Tanıdaki Avantajları ve Kısıtlılıkları

Semptomları çocukluk çağında başlayan nadir kalıtsal metabolik hastalıklar (*Inborn errors of metabolism*), çoğunluğu otozomal resesif aktarılan ve hücredeki enzim fonksiyonlarını etkileyen genetik mutasyonlardan kaynaklanır. Bu hastalık grubunun tanı ve izlemi genellikle karmaşıktır. Konvansiyonel tanı yöntemlerinin zorluklarından dolayı Yeni Nesil Dizileme (*Next Generation Sequencing/NGS*) ve bu başlık altında moleküler tanıda sıklıkla kullanılan Tüm Ekzom Dizileme (*Whole Exome Sequencing/WES*) gibi ileri genetik tetkikler tanıya giden yolda önemli bir rol oynamaktadır. NGS teknolojisinden elde edilen verinin biyoinformatik analizleri, bu teknolojinin sağladığı verilerin anlamlandırılmasında ve klinik olarak yorumlanmasında kritik bir öneme sahiptir. NGS, genomdaki büyük bölgeleri hızlı ve hassas bir şekilde dizileme kapasitesine sahip bir teknolojidir. WES yönteminde ise, genomun protein kodlayan bölgelerinin (ekzonların) dizilenmesi sağlanır. WES yöntemi, çocukluk çağı nadir kalıtsal metabolik hastalıklarda, hastalık etkeni mutasyonların belirlenmesinde verimli bir yöntemdir. WES yöntemi ile çocukluk çağı nadir kalıtsal metabolik hastalıklardaki genetik tanı oranı genellikle %25-40 arasında değişiklik gösterir. Bu oran, hastalığın genetik heterojenitesine ve analiz edilen gen bölgesinin büyüklüğü ve karakteristik özelliklerine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Tüm Ekzom Dizileme yöntemi birçok kalıtsal nadir hastalığın altında yatan genetik faktörün tespitinde önemli bir araç olmasına rağmen her zaman kesin bir sonuç vermeyebilir. WES yöntemi tanıya giden yolda çok

sayıda avantaj sunarken kalıtsal metabolik hastalıklar için genotip-fenotip korelasyonunun kurulmasında da belirli kısıtlamaları beraberinde getirir.

5.1.1. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Avantajları

- **Moleküler Tanı Verimi**

WES, özellikle klinik semptomların karışık olduğu veya biyokimyasal testlerin belirgin bir klinik tablo ile eşleşmediği durumlarda kalıtsal metabolik hastalıklardaki tanı oranını büyük ölçüde artırmıştır. WES yöntemi, özellikle kalıtsal metabolik hastalıklarla ilişkili genlerde literatürde bildirilmiş ve yeni mutasyonların saptanmasında verimli bir yaklaşımdır. İnsan genomundaki protein kodlayan ekzonik bölgeler, tüm dizinin yalnızca %1-2'sini oluşturur; ancak monogenik bozukluklarla bağlantılı mutasyonların %90'ından sorumludur. Bu hedefli dizileme yöntemi, Tüm Genom Dizilime (WGS) ile karşılaştırıldığında tanı verimliliğini artırırken maliyetleri düşürür.

- **Geniş Gen Kapsamı**

WES yöntemi tek seferde yaklaşık 20.000 protein kodlayan genin eş zamanlı olarak incelenmesini sağlar. WES yöntemi böylece özellikle spesifik olmayan ve tanı koymada yetersiz kalan semptomların bulunduğu kalıtsal metabolik hastalıkların teşhisindeki en maliyet etkin yöntem olarak kullanılmaktadır. Birçok kalıtsal metabolik hastalık karmaşık biyokimyasal yollardan etkilenir ve hastadaki semptomlar belirli bir metabolik hastalığa açıkça işaret etmeyebilir. WES yöntemi, neredeyse bütün metabolik genleri kapsayarak, altta yatan genetik faktörü belirlemek için kapsamlı bir yaklaşımdır.

- **Yeni Mutasyonların Tanımlanması ve Nadir Varyantların Bulunması**

WES yönteminin en güçlü taraflarından biri özellikle atipik klinik tablo gösteren vakalarda nadir veya daha önce bildirilmemiş varyantları tespit edebilme özelliğidir.

Özellikle nadir kalıtsal metabolik hastalıklar için anne-baba arasındaki akrabalığın oransal olarak yüksek olduğu toplumlarda yeni mutasyonların tespit edilmesi WES yöntemi ile mümkündür. Bu yöntem, kalıtsal metabolik hastalıkların biyolojik mekanizmalarının anlaşılması ve metabolik bozukluklarla ilişkili yeni genlerin belirlenmesinde çığır açmıştır.

- **Genetik Danışmanlık ve Tedavi Süreçlerinin İyileştirilmesi**

WES yöntemi aracılığıyla patojenik varyantların belirlenmesi, aileler için daha hedefe yönelik genetik danışmanlık sağlar ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerini kolaylaştırır. Moleküler tanıya ulaşıldıktan sonra enzim replasman terapileri veya diyet müdahaleleri gibi uygulanması gereken tedaviler daha doğru bir şekilde hedeflenebilir. Bu durum, doğru müdahalelerin geri döndürülemez hasarı önleyebildiği fenilketonüri (PKU) veya üre döngüsü bozuklukları gibi durumlarda kritik öneme sahiptir.

5.1.2. Tüm Ekzom Dizileme Yönteminin Dezavantajları

- **Protein Kodlamayan Genomik Bölgelerdeki Varyantların Saptanamaması**

WES yönteminde protein kodlamayan gen bölgeleri dahil olmak üzere genomun büyük bölümü dışarıda bırakılarak ekzonik bölgelere odaklanılır. Bu durumda kalıtsal metabolik bozukluklara neden olan ve gün geçtikçe daha çok sayıda tanımlanan düzenleyici mutasyonlar (*regulatory mutations*), derin intronik varyantlar ve yapısal varyasyonlar gözden kaçırılabilir. Bu kısıtlılık özellikle protein kodlayan bölgelerin dışındaki mutasyonların rol oynadığı durumlarda tanı verimini olumsuz yönde etkiler.

- **Varyant Yorumlama Aşamasındaki Zorluklar**

WES yönteminde önemi belirsiz varyantların (VUS) anlamlandırılması önemli bir kısıtlayıcı basamaktır. Varyant önceliklendirme basamaklarında tespit edilen

değişikliklerin büyük bir kısmının klinik önemi belirsiz olabilir. Bu durumda doğru tanıyı koymak zorlaşabilir ve patojenik varyantı doğrulamak için ek fonksiyonel çalışmalar gerekebilir. Bununla birlikte yeni tanımlanan varyantların klinik önemi genellikle Türk genom karakteristiğini yansıtmayan veri tabanlarına bağlı olarak hesaplanır ve bu durum patojenitenin belirlenmesinde zorluklara yol açar.

- **Yapısal Yeniden Düzenlenmeler (*Structural Rearrangements*) ve Kopya Sayısı Değişiklikleri (CNVs)**

WES yöntemi ile kalıtsal metabolik hastalıkların nedenlerinden biri olan büyük delesyonlar, duplikasyonlar veya yapısal yeniden düzenlemeleri tespit etmek çok zordur. Tüm Ekzom Dizileme verilerinden kopya sayısı değişikliklerini saptamak için belirli algoritmalar geliştirilmiş olsa da bu yöntemler Tüm Genom Dizileme (WGS) verileri kullanılarak gerçekleştirilen CNV tespiti kadar güvenilir değildir.

- **Düşük Frekanslı Varyantların Tespiti için Sınırlı Duyarlılık**

Özellikle mozaikliğin olduğu durumlarda düşük frekanslı varyantlar WES yöntemiyle gözden kaçırılabilir. Bu, farklı dokularda değişken mutasyon yükü nedeniyle ortaya çıkabilen metabolik bozuklukları teşhis ederken önemli bir dezavantaj olabilir.

Tüm Ekzom Dizileme yöntemi, kapsamlı bir genetik analiz ile patojenik varyantların tanımlanmasına olanak sağlayarak doğuştan gelen kalıtsal metabolik hastalıkların teşhisinde önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Protein kodlayan gen bölgelerinin hedeflenmesi sayesinde WES yönteminde tanı verimliliği yüksektir. Buna karşın protein kodlamayan gen bölgelerindeki varyantlar, yapısal değişiklikler ve önemi bilinmeyen varyantların yorumlamasındaki zorluklar, Tüm Genom Dizileme ve çoklu omik yöntemleri gibi tamamlayıcı yaklaşımlara ihtiyaç duyar.

WES yöntemindeki bu kısıtlılıkların üstesinden gelmek için özellikle ekzom analizi sonucunda çözilemeyen vakalarda RNA-Seq, metabolomik veya hedefli gen

panellerinin entegre edilmesi önerilmektedir. Ek olarak, yeni keşfedilen varyantların patojenitesini doğrulamak için işlevsel çalışmalar önemlidir. Kodlamayan gen bölgeleri ve düzenleyici unsurlar hakkındaki bilgi dağarcığımız genişledikçe bu kısıtlılıkların ele alınması ve Tüm Ekzom Dizileme yönteminin klinik tanıdaki kullanımı artacaktır (124-126).

Yeni Nesil Dizileme yöntemleri, çocukluk çağı nadir kalıtsal metabolik hastalıkların moleküler tanısında bir devrim yaratmış olsa da bu yöntemin kısıtlılıkları bulunmaktadır. Gerek ham veri analiz basamaklarına, gerekse de varyant yorumlama süreçlerine yapay zeka entegrasyonunun gerçekleşmesi ile birlikte, bu teknoloji kullanılarak gerçekleşen tanıların yüzdesinin artması ile genetik hastalıkların tanı ve tedavisinde büyük ilerlemeler gerçekleşebilir. Yakın gelecekte yüksek ölçekli genetik verilerin daha hızlı ve etkin şekilde analiz edilerek yorumlanması, kişiselleştirilmiş tıbbın yaygınlaşmasına ve nadir metabolik hastalıkların daha etkin şekilde çözümlenmesine olanak sağlayabilir (127).

5.2. Kalıtsal Metabolik Hastalıkların Moleküler Tanısında Bağlantı Analizlerinin Avantajları ve Dezavantajları

5.2.1. Bağlantı Analizinin Avantajları

- **Saptanan Aday Genlerin Önceliklendirilmesi**

Bağlantı analizlerinde hedefli veriler kullanılmaz. Bu yaklaşımda elde edilen gen-gen etkileşimleri yolak ağlarıyla ilişkilendirilir. Bu şekilde geleneksel yöntemlere kıyasla aday genler daha yüksek bir doğrulukla önceliklendirilebilir.

- **Kullanılan Diğer *in-silico* Yöntemleri Tamamlayıcı Özelliği**

Bağlantı analizi sonuçları farklı fenotip odaklı in-silico yöntemlerin sonuçlarıyla birleştirildiğinde bu yaklaşımlar birbirini etkili bir şekilde tamamlayabilir ve sorumlu genetik etkenin önceliklendirilmesi sağlanabilir.

- **Tek Boyutlu Verinin Kısıtlılıklarının Önüne Geçilmesi**

Bağlantı analizi yaklaşımı sayesinde, fenotiple ilişkili genetik etken doğrudan tespit edilemese bile ilk bakışta görünür olmayan gen-gen etkileşimleri görünür kılınabilir. Bu sayede bağlantı analizi araçları daha önce literatürde herhangi bir klinik ile ilişkilendirilmemiş genlerin veri içerisinde görünür olmasına olanak tanır.

- **Karmaşık Klinik Tablolardaki Uygulamalar**

Bağlantı analizleri klasik ve en yaygın gözlenen kalıtsal metabolik hastalıkların yanı sıra nörometabolik hastalıklarda da tanıya giden yolda yardımcı bir araç olarak kullanılabilir.

5.2.2. Bağlantı Analizinin Dezavantajları

- **Bağlantı Analizi Çıktılarının Veri Kalitesine Olan Bağımlılığı**

Bağlantı analizi yöntemlerinin etkinliği, etkileşim ağlarının eksiksiz şekilde karakterize edilmesine bağlı olduğu için veri kalitesiyle doğrudan ilişkilidir. Yanlış veya eksik gen-gen etkileşim verileri, yanlış pozitif sonuçlara veya klinik ile ilişkili genlerin gözden kaçırılmasına yol açabilir.

- **Literatürde Bir Arada Bildirilmiş Genlere Yönelik Yanlılık**

Bağlantı analizi sonuçları, literatürde sıkça birlikte bildirilmiş ve etkileşim halinde olan genleri yanlı şekilde birbirine bağlayabilir. Bu da yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir. Bu yanlışlığın üstesinden gelebilmek için bağlantı analizi parametreleri değiştirilebilir.

- **Sonuçların Veri Tabanları ve Literatür ile Sınırlı Olması**

Kullanılan yöntemin doğruluğu, İnsan Metabolom Veri Tabanı (*Human Metabolome Database/HMDB*) gibi veri tabanlarındaki gen-gen ilişkilerinin kapsamına bağlıdır. Veri tabanlarına girmiş olan eksik veya hatalı bilgiler, bağlantı analizi yönteminin nedensel genleri tespit etmedeki hassasiyetini sınırlayabilir.

- **Veri Entegrasyonundaki Kısıtlılıklar**

Bağlantı analizlerinde tek bir veri tipi kullanılır. Farklı -omic veri türlerinin bir arada kullanılması bu kısıtlılığın önüne geçebilir; ancak analiz edilecek veri çeşitliliği artacağı için hesaplama işlemi zorlaşacaktır. Bu durumun önüne bir veri ön işleme basamağı ile geçilebilir.

Özetle bağlantı analizi yaklaşımları kalıtsal metabolik hastalıklarda hastalık ilişkili genleri önceliklendirmek için önemli bir *in-silico* yöntemdir. Bu yöntem girdi olarak kullanılan verilerin kalitesi, literatür bilgisi ve veri tabanlarının içeriği ile kısıtlıdır. Bağlantı analizlerini diğer başka *in-silico* yöntemlerle birleştirmek, bu sınırlamaların kısmen üstesinden gelmede yardımcı olabilir (128-130).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- 1- Bu doktora tez çalışması kapsamında nadir kalıtsal metabolik hastalıktan etkilenmiş pediatrik olgulara ait Tüm Ekzom Dizileme (WES) verilerinin analizi gerçekleştirilmiştir.
- 2- Yapılan kopya sayısı değişikliği (CNV) analizleri sonucunda farklı genlerde homozigot delesyonlar saptanmıştır.
- 3- Gerçekleştirilen analizler ile şimdiye kadar literatürde bildirilmemiş yeni genler tanımlanmıştır.
- 4- Başarılı bir şekilde genotip-fenotip korelasyonu kurulan olguların yüzdesi literatürde bildirilen oranın üzerindedir.
- 5- WES yöntemi klinik bulguların desteğiyle analiz edildiğinde önemli bir tanı aracı olarak sunulabilir.
- 6- Tüm Ekzom Dizileme yöntemi protein kodlamayan bölgelerdeki mutasyonların tanımlanmasında yetersizdir.
- 7- Bu doktora tezi kapsamında WES yöntemi ile tespit edilen kopya sayısı değişiklikleri olsa da Yeni Nesil Dizileme teknolojisi kopya sayısı değişikliklerinin tayini için altın standart bir yöntem değildir.
- 8- Tespit edilen mutasyonların *in-silico* analizleri tutarlı sonuçlar verse de elde edilen bulgular fonksiyonel çalışmalar ve hücre deneyleri ile desteklenmelidir.
- 9- Özellikle yanlış anlamlı (*missense*) varyantların sınıflandırılmasında üç boyutlu protein modelleme yöntemi önemli bir *in-silico* araç olarak karşımıza çıkmaktadır.
- 10- Biyoinformatik araçlar yapay zeka teknolojisi ile ortak şekilde kullanılmaya başlandıkça, kişiselleştirilmiş tıpta çığır açacak yenilikler gerçekleşecektir.
- 11- Sonuçlanmamış vakalar için Yeni Nesil Dizileme verilerinin sonuçları, güncel literatür takip edilerek yeniden analiz edilmeli ve değerlendirilmelidir.

- 12- Bu doktora tez çalışması kapsamında yeni gen olarak önerilen ve aile içi kalıtımın gösterildiği *UQCRC1* ve *UNC79* genlerinde ile fonksiyonel çalışmalar (hücre çalışmaları, model organizma deneyleri vb.) gerçekleştirilmelidir.
- 13- Bu doktora tez çalışması kapsamında yeni gen olarak önerilen; ancak anne-babaya ait DNA numunelerine ulaşamadığı için aile içi kalıtımın gösterilemediği *PITRM1*, *MOSPD2*, *DNAJC5* ve *AMD1* genlerindeki varyantları taşıyan aileler ile iletişime geçilip, yeniden biyolojik materyal elde edilmesi ve segregasyon analizlerinin tamamlanması gerekmektedir.
- 14- Önerilen çalışmaların tamamlanması, çocukluk çağı nadir kalıtsal metabolik hastalıkların moleküler patolojisini aydınlatmada kritik öneme sahiptir.

7. KAYNAKLAR

1. Aoki E, Manabe N, Ohno S, et al. Predicting the pathogenicity of missense variants based on protein instability to support diagnosis of patients with novel variants of ARSL. *Mol Genet Metab Rep*. 2023;37:101016. Published 2023 Oct 29. doi:10.1016/j.ymgmr.2023.101016
2. Hieter P, Andrews B, Fowler D, Bellen H. Highlighting rare disease research with a GENETICS and G3 series on genetic models of rare diseases. *Genetics*. 2023;224(4):iyad121. doi:10.1093/genetics/iyad121
3. Chung BHY, Chau JFT, Wong GK. Rare versus common diseases: a false dichotomy in precision medicine. *NPJ Genom Med*. 2021;6(1):19. Published 2021 Feb 24. doi:10.1038/s41525-021-00176-x
4. Lu S, Zhang J, Lian X, et al. A hidden human proteome encoded by 'non-coding' genes. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(15):8111-8125. doi:10.1093/nar/gkz646
5. Bamshad MJ, Nickerson DA, Chong JX. Mendelian Gene Discovery: Fast and Furious with No End in Sight. *Am J Hum Genet*. 2019;105(3):448-455. doi:10.1016/j.ajhg.2019.07.011
6. Saudubray JM, Mochel F, Lamari F, Garcia-Cazorla A. Proposal for a simplified classification of IMD based on a pathophysiological approach: A practical guide for clinicians. *J Inherit Metab Dis*. 2019;42(4):706-727. doi:10.1002/jimd.12086
7. Yeo, M., Moawad, H., & Grunewald, S. (2023). Disorders of carbohydrate metabolism: a review of glycogen storage disorders. *Paediatrics and Child Health*, 33(3), 65-72.
8. Marwaha S, Knowles JW, Ashley EA. A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome. *Genome Med*. 2022;14(1):23. Published 2022 Feb 28. doi:10.1186/s13073-022-01026-w
9. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans [published correction appears in *Nature*. 2021 Feb;590(7846):E53.
10. Besser J, Carleton HA, Gerner-Smidt P, Lindsey RL, Trees E. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial

- infections. Clin Microbiol Infect. 2018;24(4):335-341. doi:10.1016/j.cmi.2017.10.013
11. Blöß S, Klemann C, Rother AK, et al. Diagnostic needs for rare diseases and shared prediagnostic phenomena: Results of a German-wide expert Delphi survey. PLoS One. 2017;12(2):e0172532. Published 2017 Feb 24. doi:10.1371/journal.pone.0172532
 12. Benito-Lozano J, Arias-Merino G, Gómez-Martínez M, et al. Diagnostic Process in Rare Diseases: Determinants Associated with Diagnostic Delay. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(11):6456. Published 2022 May 26. doi:10.3390/ijerph19116456
 13. Li H, Handsaker B, Wysoker A, et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. Bioinformatics. 2009;25(16):2078-2079. doi:10.1093/bioinformatics/btp352
 14. Quinlan AR. BEDTools: The Swiss-Army Tool for Genome Feature Analysis. Curr Protoc Bioinformatics. 2014;47:11.12.1-11.12.34. Published 2014 Sep 8. doi:10.1002/0471250953.bi1112s47
 15. Funahashi J, Sugita Y, Kitao A, Yutani K. How can free energy component analysis explain the difference in protein stability caused by amino acid substitutions? Effect of three hydrophobic mutations at the 56th residue on the stability of human lysozyme. Protein Eng. 2003;16(9):665-671. doi:10.1093/protein/gzg083
 16. Marinella G, Pascarella F, Vetro A, et al. Hyperlysinemia, an ultrarare inborn error of metabolism: Review and update. Seizure. 2024;120:135-141. doi:10.1016/j.seizure.2024.06.020
 17. Schiff M, Haberberger B, Xia C, et al. Complex I assembly function and fatty acid oxidation enzyme activity of ACAD9 both contribute to disease severity in ACAD9 deficiency. Hum Mol Genet. 2015;24(11):3238-3247. doi:10.1093/hmg/ddv074
 18. Madeira CA, Anselmo C, Costa JM, et al. Functional and structural impact of 10 ACADM missense mutations on human medium chain acyl-CoA dehydrogenase.

- Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2023;1869(7):166766. doi:10.1016/j.bbadis.2023.166766
19. Doyle TB, Hayes MP, Chen DH, Raskind WH, Watts VJ. Functional characterization of AC5 gain-of-function variants: Impact on the molecular basis of ADCY5-related dyskinesia. *Biochem Pharmacol.* 2019;163:169-177. doi:10.1016/j.bcp.2019.02.005
 20. Bai Y, Morita K, Kokaji T, et al. Trans-omic analysis reveals opposite metabolic dysregulation between feeding and fasting in liver associated with obesity. *iScience.* 2024;27(3):109121. Published 2024 Feb 26. doi:10.1016/j.isci.2024.109121
 21. Tang HL, Chen SY, Zhang H, et al. Expression Pattern of ALOXE3 in Mouse Brain Suggests Its Relationship with Seizure Susceptibility. *Cell Mol Neurobiol.* 2022;42(3):777-790. doi:10.1007/s10571-020-00974-4
 22. Ling ZN, Jiang YF, Ru JN, Lu JH, Ding B, Wu J. Amino acid metabolism in health and disease. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8(1):345. Published 2023 Sep 13. doi:10.1038/s41392-023-01569-3
 23. Shin J, Nile A, Oh JW. Role of adaptin protein complexes in intracellular trafficking and their impact on diseases. *Bioengineered.* 2021;12(1):8259-8278. doi:10.1080/21655979.2021.1982846
 24. García-Cazorla A, Oyarzábal A, Saudubray JM, Martinelli D, Dionisi-Vici C. Genetic disorders of cellular trafficking. *Trends Genet.* 2022;38(7):724-751. doi:10.1016/j.tig.2022.02.012
 25. Caryn S & Annette H, Tracie S, Ira T, Stephen S. (2010). The Role of Arv1 in Sterol Metabolism and its Contribution to the Unfolded Protein Response. *The FASEB Journal.* 24. 10.1096/fasebj.24.1_supplement.845.4.
 26. Tadini-Buoninsegni F, Mikkelsen SA, Mogensen LS, Holm R, Molday RS, Andersen JP. Electrogenic reaction step and phospholipid translocation pathway of the mammalian P4-ATPase ATP8A2. *FEBS Lett.* 2023;597(4):495-503. doi:10.1002/1873-3468.14459
 27. Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion [published correction appears in *Int J Cardiol.*

- 2023 Sep 15;387:131126. doi: 10.1016/j.ijcard.2023.131126]. *Int J Cardiol.* 2016;213:8-14. doi:10.1016/j.ijcard.2015.08.109
28. Li G, Li X, Mahmud I, et al. Interfering with lipid metabolism through targeting CES1 sensitizes hepatocellular carcinoma for chemotherapy. *JCI Insight.* 2023;8(2):e163624. Published 2023 Jan 24. doi:10.1172/jci.insight.163624
 29. Purandare N, Somayajulu M, Hüttemann M, Grossman LI, Aras S. The cellular stress proteins CHCHD10 and MNRR1 (CHCHD2): Partners in mitochondrial and nuclear function and dysfunction. *J Biol Chem.* 2018;293(17):6517-6529. doi:10.1074/jbc.RA117.001073
 30. di Ronza A, Bajaj L, Sharma J, et al. CLN8 is an endoplasmic reticulum cargo receptor that regulates lysosome biogenesis. *Nat Cell Biol.* 2018;20(12):1370-1377. doi:10.1038/s41556-018-0228-7
 31. Formosa LE, Maghool S, Sharpe AJ, et al. Mitochondrial COA7 is a heme-binding protein with disulfide reductase activity, which acts in the early stages of complex IV assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(9):e2110357119. doi:10.1073/pnas.2110357119
 32. Pelosi L, Morbiato L, Burgardt A, et al. COQ4 is required for the oxidative decarboxylation of the C1 carbon of coenzyme Q in eukaryotic cells. *Mol Cell.* 2024;84(5):981-989.e7. doi:10.1016/j.molcel.2024.01.003
 33. Wasilewski M, Chojnacka K, Chacinska A. Protein trafficking at the crossroads to mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research.* Volume 1864, Issue 1, 2017, Pages 125-137, ISSN 0167-4889,
 34. Yao S, Nguyen TV, Rolfe A, et al. Small Molecule Inhibition of CPS1 Activity through an Allosteric Pocket. *Cell Chem Biol.* 2020;27(3):259-268.e5. doi:10.1016/j.chembiol.2020.01.009
 35. Chuang SS, Helvig C, Taimi M, et al. CYP2U1, a novel human thymus- and brain-specific cytochrome P450, catalyzes omega- and (omega-1)-hydroxylation of fatty acids. *J Biol Chem.* 2004;279(8):6305-6314. doi:10.1074/jbc.M311830200
 36. Xie X, Wang Y, Yu D, Xie R, Liu Z, Huang B. DNMT1, a Dynamin-Related Protein That Contributes to Endocytosis and Peroxisome Fission, Is Required for the Vegetative Growth, Sporulation, and Virulence of *Metarhizium robertsii*.

- Appl Environ Microbiol. 2020;86(17):e01217-20. Published 2020 Aug 18. doi:10.1128/AEM.01217-20
37. Marada A, Walter C, Suhm T, et al. DYRK1A signalling synchronizes the mitochondrial import pathways for metabolic rewiring. *Nat Commun.* 2024;15(1):5265. Published 2024 Jun 20. doi:10.1038/s41467-024-49611-4
 38. Ni M, Black LF, Pan C, et al. Metabolic impact of pathogenic variants in the mitochondrial glutamyl-tRNA synthetase EARS2. *J Inherit Metab Dis.* 2021;44(4):949-960. doi:10.1002/jimd.12387
 39. Ayhan S, Dursun A. ELFN1 is a new extracellular matrix (ECM)-associated protein. *Life Sci.* 2024;352:122900. doi:10.1016/j.lfs.2024.122900
 40. Rocconi RP, Stanbery L, Tang M, et al. ENTPD1/CD39 as a predictive marker of treatment response to gemogenovatucel-T as maintenance therapy in newly diagnosed ovarian cancer. *Commun Med (Lond).* 2022;2:106. Published 2022 Aug 29. doi:10.1038/s43856-022-00163-y
 41. Ersoy M, Tiranti V, Zeviani M. Ethylmalonic encephalopathy: Clinical course and therapy response in an uncommon mild case with a severe ETHE1 mutation. *Mol Genet Metab Rep.* 2020;25:100641. Published 2020 Aug 28. doi:10.1016/j.ymgmr.2020.100641
 42. Zhao G, Lin Q, Meng Z, Sheng X, Ma L, Zhao Y. Face off: a metabolic enzyme becomes a protein phosphatase. *Protein Cell.* 2023;14(7):474-476. doi:10.1093/procel/pwad006
 43. Alsina D, Lytovchenko O, Schab A, et al. FBXL4 deficiency increases mitochondrial removal by autophagy. *EMBO Mol Med.* 2020;12(7):e11659. doi:10.15252/emmm.201911659
 44. Bond LM, Ibrahim A, Lai ZW, et al. Fitm2 is required for ER homeostasis and normal function of murine liver. *J Biol Chem.* 2023;299(3):103022. doi:10.1016/j.jbc.2023.103022
 45. Pancrazi L, Di Benedetto G, Colombaioni L, et al. Foxg1 localizes to mitochondria and coordinates cell differentiation and bioenergetics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(45):13910-13915. doi:10.1073/pnas.1515190112

46. Domin A, Zabek T, Kwiatkowska A, et al. The Identification of a Novel Fucosidosis-Associated FUCA1 Mutation: A Case of a 5-Year-Old Polish Girl with Two Additional Rare Chromosomal Aberrations and Affected DNA Methylation Patterns. *Genes (Basel)*. 2021;12(1):74. Published 2021 Jan 8. doi:10.3390/genes12010074
47. Scheper AF, Schofield J, Bohara R, Ritter T, Pandit A. Understanding glycosylation: Regulation through the metabolic flux of precursor pathways. *Biotechnol Adv*. 2023;67:108184. doi:10.1016/j.biotechadv.2023.108184
48. Barroso M, Gertzen M, Puchwein-Schwepcke AF, et al. Glutaryl-CoA Dehydrogenase Misfolding in Glutaric Acidemia Type 1. *Int J Mol Sci*. 2023;24(17):13158. Published 2023 Aug 24. doi:10.3390/ijms241713158
49. Arribas-Carreira L, Dallabona C, Swanson MA, et al. Pathogenic variants in GCSH encoding the moonlighting H-protein cause combined nonketotic hyperglycinemia and lipoate deficiency. *Hum Mol Genet*. 2023;32(6):917-933. doi:10.1093/hmg/ddac246
50. Taneera J, Fadista J, Ahlqvist E, et al. Identification of novel genes for glucose metabolism based upon expression pattern in human islets and effect on insulin secretion and glycemia. *Hum Mol Genet*. 2015;24(7):1945-1955. doi:10.1093/hmg/ddu610
51. Itzkovitz B, Jiralerspong S, Nimmo G, et al. Functional characterization of novel mutations in GNPAT and AGPS, causing rhizomelic chondrodysplasia punctata (RCDP) types 2 and 3. *Hum Mutat*. 2012;33(1):189-197. doi:10.1002/humu.21623
52. Liu R, Feng Y, Deng Y, et al. A HIF1 α -GPD1 feedforward loop inhibits the progression of renal clear cell carcinoma via mitochondrial function and lipid metabolism. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40(1):188. Published 2021 Jun 7. doi:10.1186/s13046-021-01996-6
53. Madan V, Albacete-Albacete L, Jin L, et al. HEATR5B associates with dynein-dynactin and promotes motility of AP1-bound endosomal membranes. *EMBO J*. 2023;42(23):e114473. doi:10.15252/embj.2023114473

54. Sala-Gaston J, Pedrazza L, Ramirez J, et al. HERC2 deficiency activates C-RAF/MKK3/p38 signalling pathway altering the cellular response to oxidative stress. *Cell Mol Life Sci.* 2022;79(11):548. Published 2022 Oct 14. doi:10.1007/s00018-022-04586-7
55. Wang J, Liu Z, Xu M, et al. Cinical, Metabolic, and Genetic Analysis and Follow-Up of Eight Patients With HIBCH Mutations Presenting With Leigh/Leigh-Like Syndrome [published correction appears in *Front Pharmacol.* 2021 Jun 10;12:686933. doi: 10.3389/fphar.2021.686933]. *Front Pharmacol.* 2021;12:605803. Published 2021 Mar 8. doi:10.3389/fphar.2021.605803
56. Vinokurov AY, Soldatov VO, Seregina ES, et al. HPRT1 Deficiency Induces Alteration of Mitochondrial Energy Metabolism in the Brain. *Mol Neurobiol.* 2023;60(6):3147-3157. doi:10.1007/s12035-023-03266-2
57. Osaki Y, Saito A, Kanemoto S, et al. Shutdown of ER-associated degradation pathway rescues functions of mutant iduronate 2-sulfatase linked to mucopolysaccharidosis type II. *Cell Death Dis.* 2018;9(8):808. Published 2018 Jul 24. doi:10.1038/s41419-018-0871-8
58. Wang HY, Wang W, Liu YW, et al. Role of KCNB1 in the prognosis of gliomas and autophagy modulation. *Sci Rep.* 2017;7(1):14. Published 2017 Feb 8. doi:10.1038/s41598-017-00045-7
59. Wang Y, Cao X, Liu P, et al. KCTD7 mutations impair the trafficking of lysosomal enzymes through CLN5 accumulation to cause neuronal ceroid lipofuscinoses. *Sci Adv.* 2022;8(31):eabm5578. doi:10.1126/sciadv.abm5578
60. Kishita Y, Shimura M, Kohda M, et al. A novel homozygous variant in MICOS13/QIL1 causes hepato-encephalopathy with mitochondrial DNA depletion syndrome. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;8(10):e1427. doi:10.1002/mgg3.1427
61. Forny P, Plessl T, Frei C, Bürer C, Froese DS, Baumgartner MR. Spectrum and characterization of bi-allelic variants in MMAB causing cblB-type methylmalonic aciduria. *Hum Genet.* 2022;141(7):1253-1267. doi:10.1007/s00439-021-02398-6

62. Zouiouich M, Di Mattia T, Martinet A, et al. MOSPD2 is an endoplasmic reticulum-lipid droplet tether functioning in LD homeostasis. *J Cell Biol.* 2022;221(6):e202110044. doi:10.1083/jcb.202110044
63. O'Byrne JJ, Tarailo-Graovac M, Ghani A, et al. The genotypic and phenotypic spectrum of MTO1 deficiency. *Mol Genet Metab.* 2018;123(1):28-42. doi:10.1016/j.ymgme.2017.11.003
64. Gun Bilgic D, Gerik Celebi HB, Aydin Gumus A, et al. Coinheritance of novel mutations in NAGLU causing mucopolysaccharidosis type IIIB and in DDHD2 causing spastic paraplegia54 in a Turkish family. *J Clin Neurosci.* 2020;82(Pt B):214-218. doi:10.1016/j.jocn.2020.11.007
65. Sung Y, Yoon I, Han JM, Kim S. Functional and pathologic association of aminoacyl-tRNA synthetases with cancer. *Exp Mol Med.* 2022;54(5):553-566. doi:10.1038/s12276-022-00765-5
66. Guan S, Zhao L, Peng R. Mitochondrial Respiratory Chain Supercomplexes: From Structure to Function. *Int J Mol Sci.* 2022;23(22):13880. Published 2022 Nov 10. doi:10.3390/ijms232213880
67. Zhou Q, Li X, Zhou H, et al. Mitochondrial respiratory chain component NDUFA4: a promising therapeutic target for gastrointestinal cancer. *Cancer Cell Int.* 2024;24(1):97. Published 2024 Mar 5. doi:10.1186/s12935-024-03283-8
68. Gorelik A, Illes K, Mazhab-Jafari MT, Nagar B. Structure of the immunoregulatory sialidase NEU1. *Sci Adv.* 2023;9(20):eadf8169. doi:10.1126/sciadv.adf8169
69. Pandey A, Adams JM, Han SY, Jafar-Nejad H. NGLY1 Deficiency, a Congenital Disorder of Deglycosylation: From Disease Gene Function to Pathophysiology. *Cells.* 2022;11(7):1155. Published 2022 Mar 29. doi:10.3390/cells11071155
70. Yu SH, Wang T, Wiggins K, et al. Lysosomal cholesterol accumulation contributes to the movement phenotypes associated with NUS1 haploinsufficiency. *Genet Med.* 2021;23(7):1305-1314. doi:10.1038/s41436-021-01137-6

71. Pezzella N, Bove G, Tammaro R, Franco B. OFD1: One gene, several disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2022;190(1):57-71. doi:10.1002/ajmg.c.31962
72. Tsai HW, Li CJ, Lin LT, et al. Expression status and prognostic significance of mitochondrial dynamics OPA3 in human ovarian cancer. *Aging (Albany NY).* 2022;14(9):3874-3886. doi:10.18632/aging.204050
73. Jiang C, Lu Y, Zhu R, et al. Pyruvate dehydrogenase beta subunit (Pdhb) promotes peripheral axon regeneration by regulating energy supply and gene expression. *Exp Neurol.* 2023;363:114368. doi:10.1016/j.expneurol.2023.114368
74. Inoue J, Kishikawa M, Tsuda H, Nakajima Y, Asakage T, Inazawa J. Identification of PDHX as a metabolic target for esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2021;112(7):2792-2802. doi:10.1111/cas.14938
75. Barlow-Busch I, Shaw AL, Burke JE. PI4KA and PIKfyve: Essential phosphoinositide signaling enzymes involved in myriad human diseases. *Curr Opin Cell Biol.* 2023;83:102207. doi:10.1016/j.ceb.2023.102207
76. Ihara S, Nakayama S, Murakami Y, et al. PIGN prevents protein aggregation in the endoplasmic reticulum independently of its function in the GPI synthesis. *J Cell Sci.* 2017;130(3):602-613. doi:10.1242/jcs.196717
77. Brunetti D, Catania A, Viscomi C, et al. Role of PITRM1 in Mitochondrial Dysfunction and Neurodegeneration. *Biomedicines.* 2021;9(7):833. Published 2021 Jul 17. doi:10.3390/biomedicines9070833
78. Samad F, Bai H, Baik N, et al. The plasminogen receptor Plg-RKT regulates adipose function and metabolic homeostasis. *J Thromb Haemost.* 2022;20(3):742-754. doi:10.1111/jth.15622
79. Rahman S, Copeland WC. POLG-related disorders and their neurological manifestations. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(1):40-52. doi:10.1038/s41582-018-0101-0
80. Scoma ER, Da Costa RT, Leung HH, et al. Human Prune Regulates the Metabolism of Mammalian Inorganic Polyphosphate and Bioenergetics. *Int J Mol Sci.* 2023;24(18):13859. Published 2023 Sep 8. doi:10.3390/ijms241813859

81. Singh S, Yeat NY, Wang YT, et al. PTPN23 ubiquitination by WDR4 suppresses EGFR and c-MET degradation to define a lung cancer therapeutic target [published correction appears in Cell Death Dis. 2024 Jul 2;15(7):468. doi: 10.1038/s41419-024-06747-x]. Cell Death Dis. 2023;14(10):671. Published 2023 Oct 11. doi:10.1038/s41419-023-06201-4
82. Wang S, Yi W, Xu Z, Shi M. PYCR2 promotes growth and aerobic glycolysis in human liver cancer by regulating the AKT signaling pathway. Biochem Biophys Res Commun. 2023;680:15-24. doi:10.1016/j.bbrc.2023.09.007
83. Migocka-Patrzałek M, Lewicka A, Elias M, Daczewska M. The effect of muscle glycogen phosphorylase (Pygm) knockdown on zebrafish morphology. Int J Biochem Cell Biol. 2020;118:105658. doi:10.1016/j.biocel.2019.105658
84. Zhang Y, Yu Y, Zhao X, et al. Novel RARS2 Variants: Updating the Diagnosis and Pathogenesis of Pontocerebellar Hypoplasia Type 6. Pediatr Neurol. 2022;131:30-41. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2022.04.002
85. Miliotou AN, Foltopoulou PF, Ingendoh-Tsakmakidis A, et al. Protein Transduction Domain-Mediated Delivery of Recombinant Proteins and In Vitro Transcribed mRNAs for Protein Replacement Therapy of Human Severe Genetic Mitochondrial Disorders: The Case of Sco2 Deficiency. Pharmaceutics. 2023;15(1):286. Published 2023 Jan 14. doi:10.3390/pharmaceutics15010286
86. Fang H, Xie A, Du M, et al. SERAC1 is a component of the mitochondrial serine transporter complex required for the maintenance of mitochondrial DNA. Sci Transl Med. 2022;14(634):eabl6992. doi:10.1126/scitranslmed.abl6992
87. Norouzi Rostami F, Sadeghi H, Hashemi-Gorji F, et al. Identification of novel mutations in TPK1 and SLC19A3 genes in families exhibiting thiamine metabolism dysfunction syndrome. Heliyon. 2024;10(6):e27434. Published 2024 Mar 6. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27434
88. Tonazzi A, Giangregorio N, Console L, Palmieri F, Indiveri C. The Mitochondrial Carnitine Acyl-carnitine Carrier (SLC25A20): Molecular Mechanisms of Transport, Role in Redox Sensing and Interaction with Drugs. Biomolecules. 2021;11(4):521. Published 2021 Mar 31. doi:10.3390/biom11040521

89. Murata D, Roy S, Lutsenko S, Iijima M, Sesaki H. Slc25a3-dependent copper transport controls flickering-induced Opa1 processing for mitochondrial safeguard. *Dev Cell*. 2024;59(19):2578-2592.e7. doi:10.1016/j.devcel.2024.06.008
90. Datta S, Liu Y, Hariri H, Bowerman J, Henne WM. Cerebellar ataxia disease-associated Snx14 promotes lipid droplet growth at ER-droplet contacts. *J Cell Biol*. 2019;218(4):1335-1351. doi:10.1083/jcb.201808133
91. Boese AC, Kang J, Hwang JS, et al. Succinyl-CoA ligase ADP-forming subunit beta promotes stress granule assembly to regulate redox and drive cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(23):e2217332120. doi:10.1073/pnas.2217332120
92. Moreira DP, Suzuki AM, Silva ALTE, et al. Neuroprogenitor Cells From Patients With TBCK Encephalopathy Suggest Deregulation of Early Secretory Vesicle Transport. *Front Cell Neurosci*. 2022;15:803302. Published 2022 Jan 13. doi:10.3389/fncel.2021.803302
93. Papaioannou P, Wallace MJ, Malhotra N, Mohler PJ, El Refaey M. Biochemical Structure and Function of TRAPP Complexes in the Cardiac System. *JACC Basic Transl Sci*. 2023;8(12):1599-1612. Published 2023 Jul 12. doi:10.1016/j.jacbts.2023.03.011
94. Oeing CU, Jun S, Mishra S, et al. MTORC1-Regulated Metabolism Controlled by TSC2 Limits Cardiac Reperfusion Injury. *Circ Res*. 2021;128(5):639-651. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317710
95. Kang SH, Kim GR, Seong M, et al. Two novel ubiquitin-fold modifier 1 (Ufm1)-specific proteases, UfSP1 and UfSP2. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5256-5262. doi:10.1074/jbc.M610590200
96. Kang Y, Chen L. Structure and mechanism of NALCN-FAM155A-UNC79-UNC80 channel complex. *Nat Commun*. 2022;13(1):2639. Published 2022 May 12. doi:10.1038/s41467-022-30403-7
97. Milenkovic D, Misic J, Hevler JF, et al. Preserved respiratory chain capacity and physiology in mice with profoundly reduced levels of mitochondrial respirasomes. *Cell Metab*. 2023;35(10):1799-1813.e7. doi:10.1016/j.cmet.2023.07.015

98. Kušíková K, Feichtinger RG, Csillag B, et al. Case Report and Review of the Literature: A New and a Recurrent Variant in the VARS2 Gene Are Associated With Isolated Lethal Hypertrophic Cardiomyopathy, Hyperlactatemia, and Pulmonary Hypertension in Early Infancy. *Front Pediatr.* 2021;9:660076. Published 2021 Apr 16. doi:10.3389/fped.2021.660076
99. Leonzino M, Reinisch KM, De Camilli P. Insights into VPS13 properties and function reveal a new mechanism of eukaryotic lipid transport. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2021;1866(10):159003. doi:10.1016/j.bbalip.2021.159003
100. Yim WW, Mizushima N. Lysosome biology in autophagy. *Cell Discov.* 2020;6:6. Published 2020 Feb 11. doi:10.1038/s41421-020-0141-7
101. Yıldız Y, Koşukcu C, Aygün D, et al. Homozygous missense VPS16 variant is associated with a novel disease, resembling mucopolysaccharidosis-plus syndrome in two siblings. *Clin Genet.* 2021;100(3):308-317. doi:10.1111/cge.14002
102. Zazo Seco C, Castells-Nobau A, Joo SH, et al. A homozygous FITM2 mutation causes a deafness-dystonia syndrome with motor regression and signs of ichthyosis and sensory neuropathy. *Dis Model Mech.* 2017;10(2):105-118. doi:10.1242/dmm.026476
103. Tucker EJ, Wanschers BF, Szklarczyk R, et al. Mutations in the UQCC1-interacting protein, UQCC2, cause human complex III deficiency associated with perturbed cytochrome b protein expression. *PLoS Genet.* 2013;9(12):e1004034. doi:10.1371/journal.pgen.1004034
104. Tiranti V, D'Adamo P, Briem E, et al. Ethylmalonic encephalopathy is caused by mutations in ETHE1, a gene encoding a mitochondrial matrix protein. *Am J Hum Genet.* 2004;74(2):239-252. doi:10.1086/381653
105. Tiranti V, Zeviani M. Altered sulfide (H₂S) metabolism in ethylmalonic encephalopathy. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(1):a011437. Published 2013 Jan 1. doi:10.1101/cshperspect.a011437

106. Nguyen KV, Nyhan WL. Mutation in the Human HPRT1 Gene and the Lesch-Nyhan Syndrome. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2016;35(8):426-433. doi:10.1080/15257770.2015.1098660
107. Diodato D, Melchionda L, Haack TB, et al. VARS2 and TARS2 mutations in patients with mitochondrial encephalomyopathies. *Hum Mutat*. 2014;35(8):983-989. doi:10.1002/humu.22590
108. Wang J, Wang J, Han X, et al. Report of the Largest Chinese Cohort With SLC19A3 Gene Defect and Literature Review. *Front Genet*. 2021;12:683255. Published 2021 Jul 1. doi:10.3389/fgene.2021.683255
109. Barron KS, Aksentijevich I, Deutch NT, et al. The Spectrum of the Deficiency of Adenosine Deaminase 2: An Observational Analysis of a 60 Patient Cohort. *Front Immunol*. 2022;12:811473. Published 2022 Jan 10. doi:10.3389/fimmu.2021.811473
110. Tejada MI, Villate O, Ibarluzea N, et al. Molecular and Clinical Characterization of a Novel Nonsense Variant in Exon 1 of the UPF3B Gene Found in a Large Spanish Basque Family (MRX82). *Front Genet*. 2019;10:1074. Published 2019 Oct 31. doi:10.3389/fgene.2019.01074
111. Levy RJ, Frater CH, Gallentine WB, Phillips JM, Ruzhnikov MR. Delineating the epilepsy phenotype of NGLY1 deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2022;45(3):571-583. doi:10.1002/jimd.12494
112. Beesley CE, Jackson M, Young EP, Vellodi A, Winchester BG. Molecular defects in Sanfilippo syndrome type B (mucopolysaccharidosis IIIB). *J Inherit Metab Dis*. 2005;28(5):759-767. doi:10.1007/s10545-005-0093-y
113. Caciotti A, Melani F, Tonin R, et al. Type I sialidosis, a normosomatic lysosomal disease, in the differential diagnosis of late-onset ataxia and myoclonus: An overview. *Mol Genet Metab*. 2020;129(2):47-58. doi:10.1016/j.ymgme.2019.09.005
114. Wongkittichote P, Duque Lasio ML, Magistrati M, et al. Phenotypic, molecular, and functional characterization of COQ7-related primary CoQ10 deficiency: Hypomorphic variants and two distinct disease entities. *Mol Genet Metab*. 2023;139(4):107630. doi:10.1016/j.ymgme.2023.107630

115. Leeson HC, Goh D, Coman D, Wolvetang EJ. Generation of iPSC lines from hereditary spastic paraplegia 56 (SPG56) patients and family members carrying CYP2U1 mutations. *Stem Cell Res.* 2022;64:102917. doi:10.1016/j.scr.2022.102917
116. Rice GI, Bond J, Asipu A, et al. Mutations involved in Aicardi-Goutières syndrome implicate SAMHD1 as regulator of the innate immune response. *Nat Genet.* 2009;41(7):829-832. doi:10.1038/ng.373
117. Brunetti D, Torsvik J, Dallabona C, et al. Defective PITRM1 mitochondrial peptidase is associated with A β amyloidotic neurodegeneration. *EMBO Mol Med.* 2016;8(3):176-190. doi:10.15252/emmm.201505894
118. Wang S, Yi W, Xu Z, Shi M. PYCR2 promotes growth and aerobic glycolysis in human liver cancer by regulating the AKT signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2023;680:15-24. doi:10.1016/j.bbrc.2023.09.007
119. Nakayama T, Al-Maawali A, El-Quessny M, et al. Mutations in PYCR2, Encoding Pyrroline-5-Carboxylate Reductase 2, Cause Microcephaly and Hypomyelination. *Am J Hum Genet.* 2015;96(5):709-719. doi:10.1016/j.ajhg.2015.03.003
120. Tang HL, Chen SY, Zhang H, et al. Expression Pattern of ALOXE3 in Mouse Brain Suggests Its Relationship with Seizure Susceptibility. *Cell Mol Neurobiol.* 2022;42(3):777-790. doi:10.1007/s10571-020-00974-4
121. Eckl KM, Krieg P, Küster W, et al. Mutation spectrum and functional analysis of epidermis-type lipoxygenases in patients with autosomal recessive congenital ichthyosis. *Hum Mutat.* 2005;26(4):351-361. doi:10.1002/humu.20236
122. Tsai HW, Li CJ, Lin LT, et al. Expression status and prognostic significance of mitochondrial dynamics OPA3 in human ovarian cancer. *Aging (Albany NY).* 2022;14(9):3874-3886. doi:10.18632/aging.204050
123. Huizing M, Dorward H, Ly L, et al. OPA3, mutated in 3-methylglutaconic aciduria type III, encodes two transcripts targeted primarily to mitochondria. *Mol Genet Metab.* 2010;100(2):149-154. doi:10.1016/j.ymgme.2010.03.005

124. Tarailo-Graovac M, Shyr C, Ross CJ, et al. Exome Sequencing and the Management of Neurometabolic Disorders. *N Engl J Med*. 2016;374(23):2246-2255. doi:10.1056/NEJMoa1515792
125. Hertzog A, Selvanathan A, Farnsworth E, et al. Intronic variants in inborn errors of metabolism: Beyond the exome. *Front Genet*. 2022;13:1031495. Published 2022 Dec 6. doi:10.3389/fgene.2022.1031495
126. Soriano-Sexto A, Gallego D, Leal F, et al. Identification of Clinical Variants beyond the Exome in Inborn Errors of Metabolism. *Int J Mol Sci*. 2022;23(21):12850. Published 2022 Oct 25. doi:10.3390/ijms232112850
127. Choon YW, Choon YF, Nasarudin NA, et al. Artificial intelligence and database for NGS-based diagnosis in rare disease. *Front Genet*. 2024;14:1258083. Published 2024 Jan 25. doi:10.3389/fgene.2023.1258083
128. Yepes S, Tucker MA, Koka H, et al. Using whole-exome sequencing and protein interaction networks to prioritize candidate genes for germline cutaneous melanoma susceptibility. *Sci Rep*. 2020;10(1):17198. Published 2020 Oct 14. doi:10.1038/s41598-020-74293-5
129. Graham Linck EJ, Richmond PA, Tarailo-Graovac M, et al. metPropagate: network-guided propagation of metabolomic information for prioritization of metabolic disease genes. *NPJ Genom Med*. 2020;5:25. Published 2020 Jul 2. doi:10.1038/s41525-020-0132-5
130. Wu R, Li X, Meng Z, Li P, He Z, Liang L. Phenotypic and genetic analysis of children with unexplained neurodevelopmental delay and neurodevelopmental comorbidities in a Chinese cohort using trio-based whole-exome sequencing. *Orphanet J Rare Dis*. 2024;19(1):205. Published 2024 May 19. doi:10.1186/s13023-024-03214-w

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

Tarih: 13/06/2024 08:33
Sayı: E-16969557-050.04-
00003589340



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU

KURUL KARARI

OTURUM TARİHİ	OTURUM SAYISI	KARAR SAYISI
11.06.2024	2024/10	2024/10-07
Araştırma Numarası : SBA 24/509		Değerlendirme Tarihi : 07.05.2024

Üniversitemiz Çocuk Sağlığı Enstitüsü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Rıza Köksal ÖZGÜL'ün sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Ali DURSUN ile birlikte çalışacakları ve Can KOŞUKCU'nun doktora tezi olan, SBA 24/509 kayıt numaralı **“Kalıtsal Metabolik Hastalıklarda Biyoinformatik Analiz, Derin Fenotipleme, Protein Modelleme ve Yolak Analizleri ile Tanı Algoritmalarının Geliştirilmesi”** başlıklı araştırma önerisi gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 01 Ağustos 2012-01 Ocak 2022 tarihleri arasındaki arşiv kayıtlarının 12 Haziran 2024 – 12 Kasım 2024 tarihleri arasında geçerli olmak üzere incelenmesi etik açıdan **uygun bulunmuştur**.

Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

İZİNLİ

Prof. Dr. Nüket
PAKSOY ERBAYDAR
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Güzide Burça
AYDIN
Kurul Başkan V.

Prof. Dr. Mehmet Özgür
UYANIK
Kurul Üyesi

Prof. Dr. Ayşe KİN
İŞLER
Kurul Üyesi

İZİNLİ

Prof. Dr. Burcu Balam
DOĞU
Kurul Üyesi

Prof. Dr. Tolga
YILDIRIM
Kurul Üyesi

Prof. Dr. İpek GÜRBÜZ
Kurul Üyesi

Prof. Dr. Betül ÇELEBİ
SALTIK
Kurul Üyesi

İZİNLİ

Doç. Dr. Merve BATUK
Kurul Üyesi

Doç. Dr. Gülten IŞIK
KOÇ
Kurul Üyesi

Doç. Dr. İbrahim Halil
ÖNCEL
Kurul Üyesi

İZİNLİ

Dr. Öğr. Üyesi Melike
Hacer ÖZKAN
Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Müge
DEMİR
Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Burcu
Ersöz ALAN
Kurul Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Güneş
GÜNER
Kurul Üyesi

Ek 2. Tez Çalışması Orijinallik Raporu



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Can Kosukcu
Ödev başlığı:	Can Koşukcu Doktora Tezi Ekim 2024
Gönderi Başlığı:	Can Kosukcu HU Molekuler Metabolizma Doktora Tezi 30_10_...
Dosya adı:	Can_Kosukcu_HU_Molekuler_Metabolizma_Doktora_Tezi_30_1...
Dosya boyutu:	44.7M
Sayfa sayısı:	266
Kelime sayısı:	35,509
Karakter sayısı:	226,801
Gönderim Tarihi:	30-Eki-2024 01:15ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2501926052

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ

NADİR METABOLİK HASTALILARDA TÜM EKZOM DEĞİLEME
VERİLERİNİN BİYOFÖRMATİK ANALİZLERİ İLE FENOTİPTEN
SÖRÜMLE VARYANTLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Can KÖŞUKCU

Moleküler Metabolizma Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA
2024

Copyright 2024 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

Can Kosukcu HU Molekuler Metabolizma Doktora Tezi
30_10_24_Turnitin.docx

ORJİNALLİK RAPORU

%5 BENZERLİK ENDEKSİ	%5 İNTERNET KAYNAKLARI	%4 YAYINLAR	%3 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	----------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.medigenome.ch İnternet Kaynağı	%1
2	www.genedx.com İnternet Kaynağı	%1
3	data.broadinstitute.org İnternet Kaynağı	<%1
4	docplayer.nl İnternet Kaynağı	<%1
5	dflat.cs.tufts.edu İnternet Kaynağı	<%1
6	www.biorxiv.org İnternet Kaynağı	<%1
7	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	fddocuments.net İnternet Kaynağı	<%1
9	lovd.nl İnternet Kaynağı	<%1

No	Etkilenen Birey Sayısı	Akrabalık	HGMD	ClinVar ID	dbSNP ID	Gen	Transkript	Mutasyon (Protein)	Mutasyon (cDNA)	gnomAD Het	Kalıtım	Tür	Yeni Gen	Yeni Varyant
M-16-3785	1	+	CM040420	RCV000002407.9 (P)	rs28940289	ETHE1	NM_014297.3	p.Arg163Trp	c.487C>T	24	Hom	Missense	-	-
M-16-3790, M-16-3791	2	-	-	RCV000153367.3 (P), RCV001198061.1 (P), RCV001229151.2 (P)	rs786200980	HPRT1	NM_000194.2	p.Tyr72LeufsTer2	c.212dupG	0	Hem	Frameshift insertion	-	-
M-16-3619, M-16-3620	2	+	CM147384	VCV000141427.0 (P)	rs587777585	VAR2	NM_001167734.1	p.Thr367Ile	c.1100C>T	38	Hom	Missense	-	-
M-16-3721, M-16-3722	2	+	- (Gly430Arg)	-	-	SLC19A3	NM_025243.3	p.Gly430Glu	c.1289G>A	1	Hom	Missense	-	+
M-16-3793	1	+	CM1410258	VCV000647422.3 (VUS)	rs199567025	CECR1	NM_001282228.1	p.Pro193Leu	c.578C>T	13	Hom	Missense	-	-
M-15-3186	1	-	CM2030979	-	rs761031567	UPF3B	NM_080632.2	p.Arg379Cys	c.1135C>T	0	Hem	Missense	-	+
M-16-3801	1	-	-	NA, RCV000791114.1 (VUS)	rs1277316448, rs1576955015	PDHB	NM_001173468.1	p.Tyr166Cys, p.Pro321Leu	c.497A>G, c.962C>T	1, 1	Comp Het	Missense, Missense	-	+, -
M-16-3798, M-16-3799	2	+	CS2066057	-	-	NGLY1	NM_018297.3	NA	c.1260+1G>A	0	Hom	Splice site	-	+
M-16-3705, M-16-3706	2	+	CM113463	VCV000437446.4 - LP (2); P (2); VUS (5)	rs1052471595	NAGLU	NM_000263.3	p.Asp312Asn	c.934G>A	60	Hom	Missense	-	-
M-16-3657	1	+	CM000764	RCV000494284.2 (P)	rs769765227	NEU1	NM_000434.3	p.Gly227Arg	c.679G>A	24	Hom	Missense	-	-
M-16-3560	1	+	-	VCV002077437.1 (VUS)	rs760045887	COQ7	NM_016138.4	p.Gly206Arg	c.616G>A	27	Hom	Missense	-	+
M-16-3528, M-16-3529	2	+	CM166952	VCV001690737.2 (VUS)	-	CYP2U1	NM_183075.2	p.Gly353Arg	c.1057G>A	1	Hom	Missense	-	-
M-15-3189	1	+	CD177963	RCV000985137.2 (P)	rs768019897	SAMHD1	NM_015474.3	p.Met216fsTer2	c.646_647delAT	19	Hom	Frameshift deletion	-	-
M-16-3794	1	+	-	-	-	COA7	NM_023077.2	p.Phe230Ser	c.689T>C	0	Hom	Missense	-	+
M-16-3795	1	+	CM210311	RCV000578266.4 (P)	rs1163170578	COQ4	NM_016035.3	p.Phe146Cys	c.437T>G	5	Hom	Missense	-	-
M-16-3709, M-16-3710	2	+	-	-	-	ATP8A2	NM_016529.4	p.Ala818Pro	c.2452G>C	0	Hom	Missense	-	+
M-16-3841, M-16-3842	2	+	-	VCV000982615.1 (VUS)	rs1705359063	PTPN23	NM_015466.2	p.Ser1544Phe	c.4631C>T	1	Hom	Missense	-	+
M-15-3486	1	+	CM2113471	-	rs766195640	ARV1	NM_022786.1	p.Gln62Ter	c.184C>T	3	Hom	Nonsense	-	+
M-16-3716	1	+	CM2110957	VCV000932944.3 (P)	rs142500730	UFSP2	NM_018359.3	p.Val115Glu	c.344T>A	115	Hom	Missense	-	-
M-16-3826	1	+	-	RCV002011637.2 (VUS)	rs1401681748	PTPN23	NM_015466.2	p.Arg1595Gln	c.4784G>A	12	Hom	Missense	-	+
M-14-2761, M-14-2764	2	+	CM1514336	VCV000464186.7 (VUS)	rs760390019	GLRA1	NM_001146040.1	p.Asp98Asn	c.292G>A	7	Hom	Missense	-	+
M-15-3360	1	+	CM2313130	-	-	PIGN	NM_176787.4	p.Pro345Leu	c.1034C>T	1	Hom	Missense	-	+
M-16-3803	1	+	CM1614385	VCV000987063.1 (LP)	rs558397748	HIBCH	NM_198047.2	p.Thr305Ala	c.913A>G	15	Hom	Missense	-	-
M-15-3183	1	+	CM003464	RCV000002554.3 (P)	rs104893983	NEU1	NM_000434.3	p.Gly243Arg	c.727G>A	22	Hom	Missense	-	-

M-16-3615	1	+	- (CS225738, c.42+2T>G)	-	-	NDUFA4	NM_002489.3	NA	c.42+2T>C	0	Hom	Splice site	+	+
M-16-3599, M-16-3600	2	+	-	VCV001682403.3 (VUS)	rs186359879	FUK	NM_145059.2	p.Met996Thr	c.2987T>C	45	Hom	Missense	-	+
M-16-3788, M-16-3789	2	+	-	-	-	AP3B2	NM_004644.4	NA	c.2440+1G>A	0	Hom	Splice site	-	+
M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552, M-11-1553	4	+	-	-	-	ALOXE3	NM_001165960.1	p.Asp459Glu	c.1377C>A	0	Hom	Missense	-	+
		+	-	-	-	OPA3	NM_001017989.2	p.Phe6Ser	c.17T>C	0	Hom	Missense	-	+
M-16-3816	1	-	CM981949	VCV000012403.38 (P), RCV000042875.3 (NP)	rs45517259	TSC2	NM_000548.3	p.Arg905Gln	c.2714G>A	0	Het	Missense	-	-
M-15-3025	1	+	CM1512541	RCV000490535.9 (P)	rs773618224	PRUNE1	NM_021222.3	p.Asp106Asn	c.316G>A	41	Hom	Missense	-	-
M-11-1421, M-11-1422	2	+	CM168137	VCV000254249.2 (P, LP)	rs758595075	PYCR2	NM_013328.4	p.Arg199Trp	c.595C>T	22	Hom	Missense	-	-
M-11-1456, M-11-1457	2	+	CM062937	RCV000005018.2 (P)	rs121917865	NUP62	NM_001193357.1	p.Gln391Pro	c.1172A>C	0	Hom	Missense	-	-
M-11-1504, M-11-1505	2	+	-	-	rs1233434700	NARS1	NM_004539.4	p.Leu538Ser	c.1613T>C	1	Hom	Missense	-	+
M-13-2035	1	+	CM193914	VCV000650650.1 (P)	rs143131258	PDHX	NM_003477.3	p.Arg284Ter	c.850C>T	24	Hom	Nonsense	-	-
M-13-2044	1	+	CM023617	RCV000002767.4 (LP)	rs119455958	TPP1	NM_000391.4	p.Asn286Ser	c.857A>G	0	Hom	Missense	-	-
M-11-1461, M-11-1484	2	+	CM1611619	VCV000374985.3(P)	rs767748011	VPS33A	NM_022916.6	p.Arg498Trp	c.1492C>T	11	Hom	Missense	-	-
M-11-1426, M-11-1427	2	+	CM187490	-	rs1291871672	KIF1C	NM_006612.6	p.Arg155Ter	c.463C>T	11	Hom	Nonsense	-	-
M-11-1431, M-11-1432	2	+	-	-	-	TBCK	NM_001163435.3	p.Leu637CysfsTer53	c.1909delC	0	Hom	Frameshift deletion	-	+
M-11-1662, M-11-1663	2	+	-	-	-	SNX14	NM_153816.6	p.Cys837Ter	c.2510delT	0	Hom	Nonsense	-	-
M-14-2774	1	+	CM930257	VCV000000686.1 (P)	rs80358197	FUCA1	NM_000147.5	p.Trp387Ter	c.1160G>A	3	Hom	Nonsense	-	-
M-13-2350, M-13-2351	2	+	-	-	-	ATP8A2	NM_016529.6	NA	c.3075+2T>G	0	Hom	Splice site	-	+
M-14-2920	1	+	-	-	-	GNPAT	NM_014236.4	p.Arg248Leu	c.743G>T	0	Hom	Missense	-	+
M-14-2923	1	+	CM981687	VCV000002309.10 (P, LP)	rs267606993	PYGM	NM_005609.2	p.Met1Val	c.1A>G	9	Hom	Start codon	-	-
BA_DM	1	+	CM124823	VCV000037011.1 (P)	rs387907261	KCTD7	NM_014504.2	p.Asn273Ile	c.818A>T	1	Hom	Missense	-	-
M-12-1725, M-12-1726	2	+	-	-	-	GNAL	NM_182978.3	p.Arg406Trp	c.1216C>T	0	Hom	Missense	-	+
M-15-3005	1	+	CM2131355	VCV001027512.2 (US, LP)	-	RARS2	NM_020320.3	p.Thr346Ile	c.1037C>T	0	Hom	Missense	-	-
M-15-3004	1	+	CM074479	VCV000372780.7 (US, LP)	rs78705382	RNASEH2B	NM_024570.3	p.Leu138Phe	c.412C>T	69	Hom	Missense	-	-

M-15-3222	1	+	CM970567	VCV000188969.26 (P, LP)	rs752537626	<i>GALC</i>	NM_000153.4	p.Tyr567Ser	c.1700A>C	109	Hom	Missense	-	-
M-14-2922	1	+	CM981687	VCV000002309.10 (P, LP)	rs267606993	<i>PYGM</i>	NM_005609.2	p.Met1Val	c.1A>G	9	Hom	Start codon	-	-
M-16-3495	2	+	-	-	-	<i>TSEN2</i>	NM_025265.3	p.Thr364Arg	?	0	Hom	Missense	-	+
M-16-3200	1	-	-	-	-	<i>FOXG1</i>	NM_005249.4	p.Thr279ProfsTer47	c.835delA	0	Het	Frameshift deletion	-	+
M-16-3366	1	+	CI1718217	VCV000167522.37	rs59510277	<i>POLG</i>	NM_002693.3	p.Gln55dup	c.156_158dupGCA	33	Hom	Inframe insertion	-	-
			CS1932832	-	-	<i>OFD1</i>	NM_003611.2	NA	c.1222-1G>T	0	Hem	Splice site	-	-
M-14-2630, M-14-2631	2	+	-	-	-	<i>TSEN2</i>	NM_025265.3	p.Thr305Arg	c.914C>G		Hom	Missense	-	+
M-12-1890	1	+	-	-	-	<i>AASS</i>	NM_005763.3	p.Ser62Leu	c.185C>T	4	Hom	Missense	-	+
M-15-3437	1	+	CM910003	VCV000003588.41 (P, LP)	rs121434274	<i>ACADM</i>	NM_001286043.1	p.Gly267Arg	c.799G>A	338	Hom	Missense	-	-
M-16-3544	1	+	-	-	-	<i>AASS</i>	NM_005763.3	p.Leu794_Glu795delinsdel	c.2380_2385delTTGGAG	0	Hom	Inframe deletion	-	+
M-16-3618, M-16-3784	2	+	CS187412	VCV000425157.21 (P)	rs1064797230	<i>MICOS13</i>	NM_205767.1	NA	c.260-2A>G	15	Hom	Splice site	-	-
			CM034888	VCV000810036.22 (VUS)	rs202074006	<i>PLG</i>	NM_000301.3	p.Gly712Arg	c.2134G>A	287	Hom	Missense	-	-
M-15-3126	1	+	CM040416	VCV000002318.5 (P)	rs119103249	<i>ETHE1</i>	NM_014297.3	p.Met1Ile	c.3G>T	3	Hom	Start codon	-	-
M-14-2913	1	+	CM1918861: A201P	-	-	<i>SCO2</i>	NM_001169109.1	p.Ala201Gly	c.602C>G	0	Hom	Missense	-	+
M-14-2807, M-14-2808, M-14-2809	3	+	CM144752	VCV000667329.9 (P), (LP), (VUS)	rs200167311	<i>SUCLA2</i>	NM_003850.2	p.Met329Val	c.985A>G	66	Hom	Missense	-	-
M-11-1439, M-11-1440	2	+	-	-	-	<i>ADCY5</i>	NM_183357.2	p.Ser636Gly	c.1906A>G	0	Hom	Missense	+	-
M-11-1485, M-11-1486	2	+	CD2214006	-	-	<i>ENTPD1</i>	NM_001164178.1	p.Thr193LeufsTer18	c.576delT	0	Hom	Frameshift deletion	+	-
M-13-2337	1	+	CS118854	VCV000215165.12 (P)	rs745305932	<i>SLC25A3</i>	NM_005888.3	-	c.158-9 A>G	0	Hom	Splice site	+	+
M-14-2508	1	-	CI1718210	-	-	<i>CDKL5</i>	NM_001037343.1	p.Val19CysfsTer3	c.54dupT	0	Het	Frameshift insertion	-	-
M-14-2634, M-14-2636	2	+	-	-	-	<i>CLN8</i>	NM_018941.3	p.Gly74Asp	c.221G>A	0	Hom	Missense	-	+
M-14-2637	1	+	-	-	-	<i>HERC2</i>	NM_004667.5	p.Gln2549Ter	c.7645C>T	0	Hom	Nonsense	-	+
M-14-2776	1	+	CM161289	-	-	<i>EARS2</i>	NM_001083614.1	p.Arg107Cys	c.319C>T	0	Hom	Missense	-	+
M-14-2909	1	+		-	-	<i>GCSH</i>	NM_004483.4	p.Trp31Ter	c.93G>A	0	Hom	Nonsense	-	+
				-	-	<i>HEPACAM</i>	NM_152722.4	NA	c.949-2A>C	0	Hom	Splice site	-	+
M-16-3802	1	+	CM2027562	-	-	<i>GCDH</i>	NM_000159.3	p.His348Gln	c.1044C>A	1	Hom	Missense	-	+

M-15-2955	1	-	CM149798	VCV000242618.1	rs730880033	CHCHD10	NM_213720.1	p.Gly58Arg	c.172G>C	0	Het/de novo	Missense	-	-
M-15-3238	1	-	CM146528, -	RCV000191923.9 (P), RCV001912150.4 (VUS)	rs730882249	AP4M1	NM_004722.3	p.Arg318Ter, p.Leu113del	c.952C>T, c.336_338delCCT	14, 0	Comp Het	Nonsense, Inframe deletion	-	+, -
M-15-3266	1	-	-, -	-, -	-	CES1	NM_001266.4	p.Val39Ile, p.Ile50Val	c.115G>A, c.148A>G	0, 0	Comp Het	Missense, Missense	-	+, +
			-	-	-	PDLIM2	NM_021630.5	p.Glu220Ter	c.658G>T	0	Hom	Nonsense	+	+
M-16-3648	1	-	-	RCV003148236.1 (P)	-	CTNNB1	NM_001904.3	p.Gln395Ter	c.1183C>T	0	Het	Nonsense	-	+
M-17-4032	1	+	-	-	-	CNGB3	NM_019098.4	p.Arg491LysfsTer3	c.1472delG	0	Hom	Frameshift deletion	-	+
M-17-4172	1	-	-	-	-	DNM1	NM_004408.2	p.Ser45Gly	c.133A>G	0	Het	Missense	-	+
M-18-4421	1	+	CM2219637	-	-	ADAM22	NM_021722.4	p.Pro438Thr	c.1309C>A	4	Hom	Missense	-	+
M-18-4460	1	+	CM2022669	RCV000871746.29 (VUS)	rs35428353	GPD1	NM_005276.3	p.Gly121Arg	c.292G>A	33	Hom	Missense	-	+
M-18-4463	1	+	-	-	-	HYCC1 (P4KA)	NM_058004.3	p.Gln77Ter	c.229C>T	0	Hom	Missense	-	-
M-18-4404	1	+	-	RCV001823636.3 (VUS), RCV002542740.2 (VUS)	rs1309543103	VAC14	NM_018052.3	p.Arg623Cys	c.1867C>T	8	Hom	Missense	-	+
M-18-4532	1	+	-	VCV001436806.4 (VUS)	rs143684846	RBCK1	NM_031229.2	p.Arg480Cys	c.1438C>T	7	Hom	Missense	-	+
M-18-4537	1	+	-	-	-	NDUFA12	NM_018838.4	p.Phe28SerfsTer11	c.83delT	0	Hom	Frameshift deletion	-	+
M-18-4539	1	+	-	-	-	VAC14	NM_018052.3	p.Asn628Lys	c.1884C>A	1	Hom	Missense	-	+
KC_DM	1	-	-	-	-	CDKL5	NM_001037343.1	p.Leu879Ter	c.2635delC	0	Het	Nonsense	-	-
M-18-4627, M-18-4628	2	-	-	-	-	KCNB1	NM_004975.2	p.His8Tyr	c.22C>T	0	Het	Missense	-	+
M-18-4652	1	+	CM138678	RCV003155062.2 (P)	rs398123061	FBXL4	NM_012160.4	p.Arg482Trp	c.1444C>T	0	Hom	Missense	-	-
M-19-4764	1	+	-	-	-	ACAD9	NM_014049.4	p.Arg433Trp	c.1297C>T	14	Hom	Missense	-	+
M-19-4878	1	+	-	-	-	NUS1	NM_138459.3	p.Arg20Cys	c.58C>T	3	Hom	Missense	-	+
M-19-4873	1	+	-	-	rs1304454264	SERAC1	NM_032861.3	p.Val371AlafsTer22	c.1112_1113delTG	4	Hom	Frameshift deletion	-	+
M-19-4795	1	+	-	-	-	TDP2	NM_016614.2	p.Leu334Ter	c.1001T>A	0	Hom	Nonsense	-	+
M-19-4857	1	+	CM144481	VCV000143934.33 (P), (LP)	rs587777616	CLP1	NM_006831.2	p.Arg140His	c.419G>A	26	Hom	Missense	-	-
M-19-4998	1	+	CM2117654	VCV000932238.1 (VUS)	rs2089219111	VPS16	NM_022575.2	p.Trp180Cys	c.540G>T	1	Hom	Missense	+	+
M-19-4997	1	-	CD213917	VCV000423335.12 (P), (LP)	rs1064796367	DYRK1A	NM_130438.2	p.Lys191ThrfsTer6	c.572_575delAGAA	0	Het	Frameshift deletion	-	-
M-19-5004	1	?	-	-	-	ZNF75D	NM_007131.3	p.Arg403Ter	c.1207A>T	0	Hom	Nonsense	+	+

M-19-5076	1	+	CM1921289	-	-	NAXE	NM_144772.2	p.Ile214Ser	c.641T>G	0	Hom	Missense	-	-
M-19-5077, M-19-5078	2	+	-	RCV000169114.12	rs786204467	FITM2	NM_001080472.1	p.Met1?	c.1A>G	1	Hom	Start codon	-	-
M-20-5279	1	+	CH156377	VCV000550296.8 (P), (LP)	rs757722767	ALMS1	NM_001378454.1	p.Met3937AsnfsTer8	c.11809dupA	0	Hom	Frameshift duplication	-	-
			-	VCV000643413.4 (VUS)	rs199853576	MMAB	NM_052845.3	p.Arg195Cys	c.583C>T	0	Hom	Missense	-	+
4466447	1	+	-	-	-	GLB1	NM_001317040.1	p.Pro45Leu	c.134C>T	0	Hom	Missense	-	-
4587875	1	-	CM2252420, -	VCV000334009.16 (VUS), (LB), -	rs150314086, -	CPS1	NM_001122633.2	p.Thr2Met, p.Ile5_Lys6insTyr	c.5C>T, c.15_16insTAC	153, 0	Comp Het	Missense, Inframe insertion	-	-, +
M-17-4173	1	+	CM2120397	-	-	SLC25A20	NM_000387.5	p.Cys136Ter	c.408C>A	0	Hom	Nonsense	-	-
M-17-3984	1	+	-	VCV001515736.5 (VUS)	rs1432839313	AGL	NM_000028.2	p.Ile1237Val	c.3709A>G	2	Hom	Missense	-	+
M-19-4944	1	+	-	-	-	SCO2	NM_001169109.1	p.Tyr127His	c.379T>C	0	Hom	Missense	-	+
M-17-4177	1	+	-	-	-	VPS13B	NM_017890.4	p.Ser918Pro	c.2752T>C	0	Hom	Missense	-	+
M-17-4177			CD910490, -	RCV000007560.17 (P), -	rs121908776, rs748359104	CFTR	NM_000492.3	p.Tyr515Ter, -	c.1545_1546delTA, c.3368-2_3368delAGG	0, 0	Comp Het	Nonsense, Splice site	-	-, +
M-17-4247	1	+	-	-	-	UQCRC1	NM_003365.2	p.Leu120Pro	c.359T>C	1	Hom	Missense	+	+
M-20-5456	1	+	-	-	-	HEATR5B	NM_019024.2	-	c.4905+3A>G	0	Hom	Splice site	+	+
M-18-4656	1	+	CD002530	RCV000128610.3 (P), RCV001268697.2 (P), RCV002286695.1 (P)	rs587776751	TRAPPC2	NM_001128835.2	p.Gln91ArgfsTer9	c.271_275delCAAGA	0	Hem	Frameshift deletion	-	+
			-	-	-	ADPRS	NM_017825.2	p.Thr122MetfsTer7	c.365delC	0	Hom	Frameshift deletion	-	+
M-11-1435, M-11-1436	2	+	CD2120667	RCV001775169.1 (VUS), RCV001353345.1 (LP)	-	ELFN1	NM_001128636.4	p.Ala15ProfsTer241	c.42_49delGGCCGCCA	0	Hom	Frameshift deletion	-	-

Ek 3: Bu tez çalışması kapsamında sonuca ulaşılan (genotip-fenotip korelasyonu kurulan) olgulardaki nokta mutasyonları ve küçük INDELler

No	Etkilenen Birey Sayısı	Akrabalık	HGMD	ClinVar ID	dbSNP ID	Gen	Transkript	Mutasyon (Protein)	Mutasyon (cDNA)	gnomAD Het	Kalıtım	Tür	Yeni Gen	Yeni Varyant
M-16-3715	1	+	-	-	-	PITRM1	NM_014889.3	p.Ser323Cys	c.968C>G	0	Hom	Missense	+	+
M-16-3787	1	-	-	-	-	MOSPD2	NM_152581.3	p.Val445Ile	c.1333G>A	0	Hem	Missense	+	+
M-16-3832, M-16-3833	2	+	-	-	-	DNAJC5	NM_025219.2	NA	c.493+2T>C	0	Hom	Splice site	+	+
M-16-3754, M-16-3756	2	+	-	-	-	AMD1	NM_001634.4	p.Tyr147Asn	c.439T>A	0	Hom	Missense	+	+
M-17-4247, NA	2	+	-	-	-	UQCRC1	NM_003365.2	p.Leu120Pro	c.359T>C	0	Hom	Missense	+	+
M-15-3438	1	+	-	-	-	UNC79	NM_020818.3	p.Thr1377Arg	c.4130C>G	0	Hom	Missense	+	+

Ek 4: Bu tez çalışması kapsamında saptanan yeni (literatürde bildirilmemiş) genler ve bu genlerdeki varyantlar

No	Etkilenen Birey Sayısı	Akrabalık	HGMD	ClinVar ID	dbSNP ID	Gen	Transkript	Mutasyon (Protein)	Mutasyon (cDNA)	Kalıtım	Tür	Yeni Gen	Yeni Varyant
M-15-3089	1	+	-	-	-	IDS	NM_001166550.1	LARGE DEL	LARGE DEL	Hem	Large Deletion	-	+
M-11-1443, M-11-1446	2	+	-	-	-	COL4A5	NM_033380.2	LARGE DEL	LARGE DEL	Hom	Large Deletion	-	+
M-12-1986	1	+	-	-	-	FBP1	NM_001127628.1	LARGE DEL	LARGE DEL	Hom	Large Deletion	-	+
M-16-3651, M-16-3652	2	+	-	-	-	SNX14	NM_153816.3	LARGE DEL	LARGE DEL	Hom	Large Deletion	-	+
M-20-5282	1	+	-	-	-	ALMS1	NM_001378454.1	LARGE DEL	LARGE DEL	Hom	Large Deletion	-	+

Ek 5: Bu tez çalışması kapsamında saptanan kopya sayısı değişiklikleri (CNV)

No	Etkilenen Birey Sayısı	Akrabalık
M-11-1467, M-11-1470	2	?
M-11-1518, M-11-1519	2	?
M-11-1544, M-11-1547	2	+
M-13-2388	1	?
M-14-2565	1	?
M-14- 2777	?	?
M-15-3273	?	?
M-15-3269	?	?
M-18-4446	?	?
M-18-4467	?	?
M-17-4246	?	?
M-11-1559	1	+
M-11-1562, M-11-1565	2	+
M-11-1605, M-11-1606	2	+
M-12-1978, M-12-1979	2	?
M-2008-732, M-2008-733	2	+
M-14-2613, M-14-2614	2	?
M-14-2617, M-14-2618	2	?
M-14-2622, M-14-2623	2	?
M-14-2626, M-14-2627	2	?
M-14-2682, M-14-2683	2	?
M-14-2687, M-14-2688	2	+
M-14-2702	1	?
M-14-2703	1	?
M-14-2709	?	?
M-14-2711	?	?
M-14-2735	?	?

M-14-2760	?	?
M-14-2811	1	+
M-14-2802, M-14-2803	2	+
M-14-2817	1	?
M-14-2864	1	?
M-15-3006	1	?
M-15-3007	1	?
M-15-3098	1	?
M-15-3170	?	?
M-17-4162	?	?
M-17-4164	?	?
M-17-4166	?	?
M-16-3569	?	?
M-17-3999	?	?
M-17-4291	?	?
M-18-4533	?	?
M-18-4535	?	?

Ek 6: Bu tez çalışması kapsamında sonuca ulaşamayan olgular (Genotip-fenotip korelasyonu kurulamayan olgular)

KLİNİK BULGULAR
M-16-3797
Gelişim geriliği
Dirençli epilepsi
M-16-3845, M-16-3847
Büyüme ve gelişime geriliği
Dismorfik bulgular
Hiperaktivite
Kreatin sentez defekti
Mental retardasyon
Yüksek damak
M-16-3792
Miyopati
Dirençli epilepsi
Senkop, baygınlık
Bayılma, kusma atakları
Rabdomiyoliz
Morarma
Proteinüri
Hereditör nefrit
M-16-3822

Osteom, kemik tümörleri
Epilepsi
Hafif mental retardasyon
Beyaz cevher tutulumu
Kortikal atrofi, hipokarpal hacim kaybı
Dismorfik bulgular
M-16-3823, 4129012
Ağır mental retardasyon
Otizm
Epileptik ensefalopati
Hipokampal skleroz
Normal motor gelişim
Motor dengesizliği
Hareket bozukluğu
Ataksi
M-16-3836, M-16-3837
Hareket bozukluğu
Alt ekstremitelerde spastisite
Global gelişim geriliği
Epilepsi
Aksiyal hipotoni
Tremor

Konuřmada gerilik
Bilateral periventriküler sekel lezyonlar
Globus pallidus lezyonu
Fukosidoz veya gangliosidoz
M-16-3605
Status epilepticus
Beyin atrofisi
Epileptik ensefalopati
Başını tutamıyor
Hipotoni
M-15-3360
Motor mental retardasyon
İnce korpus kallosum
Periventriküler beyaz cevher hiperintens lezyonlar
Hipotoni
Frontotemporal hacim kaybı
Kas krampları
CK yüksekliği yok
M-15-3162
Serebral palsy
COQ kullanıyor

Sıçrama tarzı nöbetler
Trakiostomi
Global gelişim geriliği
Yutma disfonksiyonu
Hipomiyelinizasyon
Subkortikal gliozil bulguları
İskemik ensefalopati
Hipoksik kalma öyküsü
M-16-3716
Epilepsi (İrkilme tarzı nöbetler)
Global gelişim geriliği
İnfanıl spazm
Gecikmiş miyelinizasyon
İnce korpus kallozum
Mikrosefali
Zihinsel yetersizlik
M-16-3813
Dirençli epilepsi
Otistik spektrum bozukluğu
Ağır MR
Kortikal Displazi
Jeneralize tonik klonik nöbetler

M-16-3817
Dismorfik bulgular
Epilepsi
Ptosiz
Hareket bozukluğu
Pes planus
Ataksi
Hafif hipertelorizm
Epileptik ensefalopati
Gelişim geriliği
Epoksik doğmuş
M-16-3820
Puberte prekoks
Korpus kallozum hipoplazisi
Dirençli epilepsi
Nörodejeneratif bulgular
M-11-1555
Konjenital megakolon
Santral hipotroidi
Diyabet
Epilepsi

M-11-1559
Üst ekstremitelerde gecikme
Hipotoni
M-18-4652
Global gelişim geriliği
Kaba yüz görünümü
Mitokondriyal hastalık
M-19-4997
Gelişim geriliği
Tortikollis
Kusma
Huzursuzluk
Desteksiz oturamama
Kraniosinostoz
M-15-3186
Global gelişim geriliği
Zihinsel yetersizlik
Dismorfik bulgular
Mikropenis
Ayak kontraktürleri
Beyaz cevher hasarı

Epilepsi
Hipertrikoz
Endokrinopati
M-16-3709, M-16-3710
Epileptik ensefalopati
İşitme kaybı
Brakisefali
Zihinsel yetersizlik
M-11-1485, M-11-1486
Lökodistrofi
Ayak deformitesi
Beyaz cevher hastalığı
Lizozomal depo hastalığı
Kaba yüz görünümü
M-16-3599, M-16-3600
Konuşamama
Yürüyememe
Başını tutamama
M-17-4247
Tekrarlayan ensefalopati

Hiperamonyemi
Laktik asidoz
CK yüksekliği
Miyopati
M-17-4247 Ex Abla Kas Biyopsisi
Mitokondriyal Miyopati
Diabetik ketoasidoz sonucu exitus
M-16-3715
Epilepsi
Laktik asidoz
Gelişim geriliği
Mikrosefali
Mitokondriyal hastalık
M-16-3787
Global gelişim geriliği
Mikrosefali
Kalça displazisi
Pes ekinovarus
Hipotoni
M-11-1451, M-11-1452

Motor mental retardasyon
Global gelişme geriliği
Artmış derin tendon refleksi
Konuşma geriliği
Miyelinasyon gecikmesi
Spastik dipleji
Beyaz cevher bozukluğu
M-13-2036
Laksik asidoz
Hipertrofik kardiyomiyopati

Ek 7: Bu tez çalışması kapsamında WES analizi yapılan olgulara ait elde edilen klinik bulgular

Ek 8. Ham verinin kalite kontrolü, dizi hizalaması ve varyant çağırma basamakları için kullanılan Linux komutları

```
#!/bin/bash
```

```
FASTQ_DIR="/path/to/fastq"
```

```
REF_GENOME="/path/to/reference/hg19.fa"
```

```
OUT_DIR="/path/to/output"
```

```
GATK="/path/to/gatk"
```

```
PICARD="/path/to/picard.jar"
```

```
FASTQC="/path/to/fastqc"
```

```

BWA="/path/to/bwa"

SAMTOOLS="/path/to/samtools"

FASTQ_R1="${FASTQ_DIR}/sample_R1.fastq.gz"
FASTQ_R2="${FASTQ_DIR}/sample_R2.fastq.gz"

FASTQC_OUT="${OUT_DIR}/fastqc"

BAM_OUT="${OUT_DIR}/sample_aligned.bam"

SORTED_BAM="${OUT_DIR}/sample_sorted.bam"

DEDUP_BAM="${OUT_DIR}/sample_dedup.bam"

VCF_OUT="${OUT_DIR}/sample_variants.vcf"

INTERVALS="/path/to/exome_intervals.bed"

mkdir -p ${OUT_DIR} ${FASTQC_OUT}

${FASTQC} -t ${THREADS} -o ${FASTQC_OUT} ${FASTQ_R1} ${FASTQ_R2}

if [ ! -f "${REF_GENOME}.bwt" ]; then
    echo "Indexing reference genome..."

    ${BWA} index ${REF_GENOME}
fi

${BWA} mem -t ${THREADS} -R "@RG\tID:sample\tSM:sample\tPL:ILLUMINA"
${REF_GENOME} ${FASTQ_R1} ${FASTQ_R2} | ${SAMTOOLS} view -Sb - >
${BAM_OUT}

${SAMTOOLS} sort -@ ${THREADS} -o ${SORTED_BAM} ${BAM_OUT}

java -jar ${PICARD} MarkDuplicates I=${SORTED_BAM} O=${DEDUP_BAM}
M=${OUT_DIR}/dedup_metrics.txt REMOVE_DUPLICATES=true

${SAMTOOLS} index ${DEDUP_BAM}

echo "Running BaseRecalibrator..."

${GATK} BaseRecalibrator \

-I ${DEDUP_BAM} \

-R ${REF_GENOME} \

```

```

--known-sites /path/to/dbsnp.vcf \
--known-sites /path/to/mills_and_1000G_gold_standard.indels.hg19.sites.vcf \
-O ${OUT_DIR}/recal_data.table
${GATK} ApplyBQSR \
-R ${REF_GENOME} \
-I ${DEDUP_BAM} \
--bqsr-recal-file ${OUT_DIR}/recal_data.table \
-O ${OUT_DIR}/sample_recalibrated.bam
${GATK} HaplotypeCaller \
-R ${REF_GENOME} \
-I ${OUT_DIR}/sample_recalibrated.bam \
-O ${VCF_OUT} \
-L ${INTERVALS} \
--standard-min-confidence-threshold-for-calling 20 \
-ERC GVCF
${GATK} VariantFiltration \
-R ${REF_GENOME} \
-V ${VCF_OUT} \
--filter-expression "QD < 2.0 || FS > 60.0 || MQ < 40.0 || MQRankSum < -12.5 ||
ReadPosRankSum < -8.0" \
--filter-name "basic_snp_filter" \
-O ${OUT_DIR}/sample_filtered.vcf
bcftools stats ${OUT_DIR}/sample_filtered.vcf > ${OUT_DIR}/variant_stats.txt

```

		DynaMut2	INPS-3D	PremPS	FoldX	Hydrogen Bond	Aromatic	Polar	Ionic	Hydrophobic	Carbonyl	Clash	VDW	Starting_Gibbs	End_Gibbs
ETHE1; p.Arg163Trp	AF-O95571-F1-model_v4 (WT)	0.55 (S)	-0.86 (D)	0.75 (D) (COR)	1.25 (D)	7	0	7	6	1	0	0	1	68.3762	1.76261
	AF-O95571-F1-model_v4 (MUT)					1	9	1	0	10	0	0	1		
	AF-O95571-F1-model_v4_Repair (WT)	0.41 (S)	-0.80 (D)	0.64 (D) (COR)	1.72 (D)	7	0	7	6	1	0	0	2		
	AF-O95571-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	8	1	0	9	0	0	1		
VAR2; p.Thr367Ile	AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4 (WT)	0.3 (S)	-0.65 (D)	0.57 (D) (SUR)	-1.06 (S)	0	0	0	0	1	0	0	0	196.877	-126.073
	AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	1	0	0	1		
	AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair (WT)	0.55 (S)	-0.7 (D)	0.42 (D) (SUR)	-1.04 (S)	1	0	1	0	1	0	0	0		
	AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	1	0	0	1		
SLC19A3; p.Gly430Glu	AF-Q9BZV2-F1-model_v4 (WT)	-0.27 (D)	0.57 (S)	0.58 (D) (SUR)	18.8 (D)	1	0	1	0	0	0	0	2	135.077	-20.9019
	AF-Q9BZV2-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	5	0	0	3		
	AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.55 (D)	0.58 (S)	0.53 (D) (SUR)	18.9 (D)	1	0	1	0	0	0	0	2		
	AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	5	0	0	3		
ADA2; p.Pro193Leu	AF-Q9NZK5-F1-model_v4 (WT)	-0.44 (D)	-0.76 (D)	0.82 (D) (COR)	4.94 (D)	1	0	3	0	7	0	0	1	43.51	-111.47
	AF-Q9NZK5-F1-model_v4 (MUT)					1	0	3	0	12	0	0	3		
	AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.38 (D)	-0.75 (D)	0.94 (D) (COR)	2.74 (D)	1	0	3	0	7	0	0	2		
	AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	3	0	10	0	0	3		
UPF3B; p.Arg379Cys	AF-Q9BZI7-F1-model_v4 (WT)	0.49 (S)	-0.38 (D)	0.35 (D) (SUR)	0.94 (D)	2	0	6	0	0	0	0	1	526.732	355.278
	AF-Q9BZI7-F1-model_v4 (MUT)					2	0	7	0	0	0	0	1		

	AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair (WT)	0.2 (S)	-0.73 (D)	0.33 (D) (SUR)	1.42 (D)	3	0	7	0	0	0	0	4		
	AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	7	0	0	0	0	1		
NAGLU; p.Asp312Asn	AF-P54802-F1-model_v4 (WT)	-0.75 (D)	-0.67 (D)	0.38 (D) (COR)	0.23 (D)	1	0	1	0	1	0	0	0	30.553	-216.301
	AF-P54802-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	1	0	0	0		
	AF-P54802-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.7 (D)	-0.64 (D)	0.62 (D) (COR)	-0.33 (S)	1	0	2	0	1	0	0	1		
	AF-P54802-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	1	0	0	0		
NEU1; p.Gly227Arg	AF-Q99519-F1-model_v4 (WT)	-0.94 (D)	0.03 (S)	1.17 (D) (COR)	27.85 (D)	0	0	0	0	0	2	0	3	204.602	61.91
	AF-Q99519-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	3	2	0	4		
	AF-Q99519-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.01 (D)	0.06 (S)	1.31 (D) (COR)	28.94 (D)	0	0	0	0	0	2	0	3		
	AF-Q99519-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	3	2	0	4		
COQ7; p.Gly206Arg	AF-Q99807-F1-model_v4 (WT)	-0.58 (D)	-0.73 (D)	1.34 (D) (SUR)	-1.27 (S)	4	0	5	0	0	1	0	0	108.836	28.9365
	AF-Q99807-F1-model_v4 (MUT)					4	0	5	0	0	1	0	0		
	AF-Q99807-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.54 (D)	-0.73 (D)	1.27 (D) (SUR)	-1.36 (S)	4	0	5	0	0	1	0	0		
	AF-Q99807-F1-model_v4_Repair (MUT)					4	0	5	0	0	1	0	0		
CYP2U1; p.Gly353Arg	AF-Q7Z449-F1-model_v4 (WT)	-0.72 (D)	-0.60 (D)	0.89 (D) (COR)	3.87 (D)	1	0	2	0	0	0	0	0	70.285	-104.539
	AF-Q7Z449-F1-model_v4 (MUT)					0	0	2	0	7	0	0	1		
	AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.64 (D)	-0.60 (D)	0.73 (D) (COR)	4.0 (D)	1	0	2	0	0	0	0	0		
	AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	2	0	7	0	0	1		
CLCN1; p.Arg105Cys	AF-P35523-F1-model_v4 (WT)	0.51 (S)	-0.55 (D)	0.46 (D) (SUR)	0.95 (D)	5	0	7	4	0	0	0	1	692.197	408.252
	AF-P35523-F1-model_v4 (MUT)					3	0	4	0	0	0	0	0		

	AF-P35523-F1-model_v4_Repair (WT)	0.24 (S)	-0.58 (D)	0.42 (D) (SUR)	0.97 (D)	3	0	4	0	1	0	0	1		
	AF-P35523-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	4	0	0	0	0	0		
CLCN1; p.Phe167Leu	AF-P35523-F1-model_v4 (WT)	-1.18 (D)	-0.97 (D)	0.77 (D) (SUR)	0.5 (D)	2	4	4	0	15	0	0	4		
	AF-P35523-F1-model_v4 (MUT)					2	0	4	0	12	0	0	3		
	AF-P35523-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.53 (D)	-0.97 (D)	0.76 (D) (SUR)	0.5 (D)	2	4	4	0	15	0	0	4		
	AF-P35523-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	4	0	12	0	0	3		
COA7; p.Phe230Ser	AF-Q96BR5-F1-model_v4 (WT)	-0.55 (D)	-0.62 (D)	1.18 (D) (SUR)	0.69 (D)	0	0	0	0	2	0	0	0	-2.536	-71.4392
	AF-Q96BR5-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q96BR5-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.41 (D)	-0.53 (D)	1.13 (D) (SUR)	0.75 (D)	0	0	0	0	14	0	0	2		
	AF-Q96BR5-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
COQ4; p.Phe146Cys	AF-Q9Y3A0-F1-model_v4 (WT)	-1.40 (D)	-2.5 (D)	2.38 (D) (COR)	3.68 (D)	2	0	2	0	20	0	0	0	69.7655	-25.3672
	AF-Q9Y3A0-F1-model_v4 (MUT)					2	0	3	0	2	0	0	0		
	AF-Q9Y3A0-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.42 (D)	-2.52 (D)	2.45 (D) (COR)	3.95 (D)	2	0	2	0	22	0	0	0		
	AF-Q9Y3A0-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	2	0	0	0		
ATP8A2; p.Ala818Pro	AF-Q9NTI2-F1-model_v4 (WT)	-0.05 (D)	-2.11 (D)	2.17 (D) (COR)	5.43 (D)	2	0	0	2	6	1	0	1	393.84	19.7434
	AF-Q9NTI2-F1-model_v4 (MUT)					1	0	0	1	5	1	0	1		
	AF-Q9NTI2-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.12 (D)	-2.11 (D)	2.12 (D) (COR)	5.48 (D)	2	0	2	0	6	1	0	0		
	AF-Q9NTI2-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	5	1	0	1		
PTPN23; p.Ser1544Phe	AF-Q9H3S7-F1-model_v4 (WT)	-1.01 (D)	0.51 (S)	-0.05 (S) (SUR)	-1.36 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	1480.4	1056
	AF-Q9H3S7-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		

	AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.0 (D)	0.49 (S)	-0.06 (S) (SUR)	-1.49 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
UFSP2; p.Val115Glu	AF-Q9NUQ7-F1-model_v4 (WT)	-1.88 (D)	-2.69 (D)	2.42 (D) (COR)	5.18 (D)	2	0	2	0	13	0	0	0	71.57	-83.36
	AF-Q9NUQ7-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	7	0	0	2		
	AF-Q9NUQ7-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.88 (D)	-2.69 (D)	2.52 (D) (COR)	6.55 (D)	2	0	0	0	13	0	0	0		
	AF-Q9NUQ7-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	7	0	0	2		
PTPN23; p.Arg1595Gln	AF-Q9H3S7-F1-model_v4 (WT)	-0.29 (D)	-0.25 (D)	0.06 (D) (SUR)	-0.26 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	1480.4	1056
	AF-Q9H3S7-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.29 (D)	-0.25 (D)	0.06 (D) (SUR)	-0.24 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
GLRA1; p.Asp98Asn	AF-P23415-F1-model_v4 (WT)	-0.54 (D)	-0.48 (D)	1.01 (D) (COR)	5.4 (D)	8	0	8	6	6	0	0	3	164.64	23.88
	AF-P23415-F1-model_v4 (MUT)					4	0	5	0	6	0	0	1		
	AF-P23415-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.38 (D)	-0.48 (D)	1.08 (D) (COR)	5.91 (D)	7	0	8	6	6	0	0	4		
	AF-P23415-F1-model_v4_Repair (MUT)					4	0	5	0	6	0	0	1		
PIGN; p.Pro345Leu	AF-O95427-F1-model_v4 (WT)	-0.51 (D)	-0.11 (D)	0.53 (D) (COR)	1.7 (D)	1	0	2	0	8	0	0	1	60.3	-259.38
	AF-O95427-F1-model_v4 (MUT)					1	0	3	0	12	0	0	1		
	AF-O95427-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.47 (D)	-0.13 (D)	0.52 (D) (COR)	1.75 (D)	1	0	2	0	8	0	0	1		
	AF-O95427-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	3	0	12	0	0	1		
HIBCH; p.Thr305Ala	AF-Q6NVY1-F1-model_v4 (WT)	-0.61 (D)	-0.85 (D)	1.19 (D) (COR)	-0.13 (S)	1	0	5	0	1	0	0	3	54.7	-74.2
	AF-Q6NVY1-F1-model_v4 (MUT)					1	0	5	0	1	0	0	3		

	AF-Q6NVY1-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.64 (D)	-0.86 (D)	1.09 (D) (COR)	-0.13 (S)	1	0	5	0	1	0	0	3		
	AF-Q6NVY1-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	5	0	1	0	0	3		
NEU1; p.Gly243Arg	AF-Q99519-F1-model_v4 (WT)	-0.81 (D)	-0.7 (D)	0.63 (D) (COR)	14.74 (D)	1	0	1	0	0	0	0	0	204.6	61.9
	AF-Q99519-F1-model_v4 (MUT)					3	0	4	0	6	0	0	4		
	AF-Q99519-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.83 (D)	-0.67 (D)	0.59 (D) (COR)	21.2 (D)	1	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q99519-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	3	5	4	0	0	3		
FUK; p.Met996Thr	AF-Q8N0W3-F1-model_v4 (WT)	-1.26 (D)	-2.20 (D)	1.69 (D) (COR)	2.79 (D)	3	0	3	0	12	0	0	1	50.76	-244.59
	AF-Q8N0W3-F1-model_v4 (MUT)					3	0	4	0	2	0	0	0		
	AF-Q8N0W3-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.3 (D)	-2.19 (D)	1.59 (D) (COR)	2.94 (D)	3	0	3	0	12	0	0	0		
	AF-Q8N0W3-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	4	0	2	0	0	0		
ALOXE3; p.Asp459Glu (p.Asp327Glu)	AF-Q9BYJ1-F1-model_v4 (WT)	-0.46 (D)	-0.49 (D)	0.59 (D) (SUR)	2.7 (D)	5	0	5	2	2	0	0	1	118.52	-122.2
	AF-Q9BYJ1-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	2	0	0	1		
	AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.07 (D)	-0.57 (D)	0.6 (D) (SUR)	2.61 (D)	5	0	5	2	2	0	0	1		
	AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	2	0	0	1		
OPA3; p.Phe6Ser	AF-Q9H6K4-F1-model_v4 (WT)	-0.36 (D)	-1.41 (D)	0.04 (D) (SUR)	0.38 (D)	1	0	1	0	0	0	0	0	60.22	-0.7
	AF-Q9H6K4-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q9H6K4-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.39 (D)	-1.40 (D)	0.0 (SUR)	0.43 (D)	1	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q9H6K4-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	0	0	0	0		
TSC2; p.Arg905Gln	AF-P49815-F1-model_v4 (WT)	-1.0 (D)	-0.95 (D)	1.59 (D) (COR)	4.25 (D)	6	0	8	0	6	0	0	2	1350.76	817.43
	AF-P49815-F1-model_v4 (MUT)					4	0	5	0	6	0	0	1		

	AF-P49815-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.12 (D)	-0.9 (D)	1.53 (D) (COR)	4.45 (D)	6	0	8	0	6	0	0	1		
	AF-P49815-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	4	0	6	0	0	2		
NLGN3; p.Arg785Cys	AF-Q9NZ94-F1-model_v4 (WT)	0.2 (S)	-0.019 (D)	0.29 (D) (SUR)	0.64 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0	549.61	303.09
	AF-Q9NZ94-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q9NZ94-F1-model_v4_Repair (WT)	0.2 (S)	0.077 (S)	0.23 (D) (SUR)	0.75 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q9NZ94-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
PRUNE1; p.Asp106Asn	AF-Q86TP1-F1-model_v4 (WT)	0.49 (S)	-0.44 (D)	0.42 (D) (COR)	-3.53 (S)	4	0	8	2	1	0	0	1	154.81	8.77
	AF-Q86TP1-F1-model_v4 (MUT)					4	0	8	0	1	0	0	2		
	AF-Q86TP1-F1-model_v4_Repair (WT)	0.92 (S)	-0.44 (D)	0.45 (D) (COR)	-2.87 (S)	4	0	8	2	1	0	0	2		
	AF-Q86TP1-F1-model_v4_Repair (MUT)					5	0	8	0	1	0	0	1		
PYCR2; p.Arg199Trp	AF-Q96C36-F1-model_v4 (WT)	-0.52 (D)	-0.07 (D)	0.25 (D) (SUR)	0.25 (D)	4	0	6	5	1	0	0	3	141.02	49.03
	AF-Q96C36-F1-model_v4 (MUT)					1	0	4	0	1	0	0	1		
	AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair (WT)	0.14 (S)	-0.29 (D)	0.16 (D) (SUR)	0.1 (D)	1	0	4	0	3	0	0	2		
	AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	4	0	3	0	0	2		
NUP62; p.Gln391Pro	AF-P37198-F1-model_v4 (WT)	0.33 (S)	-0.63 (D)	0.41 (D) (SUR)	1.68 (D)	3	0	3	0	0	0	0	5	808.57	672.72
	AF-P37198-F1-model_v4 (MUT)					3	0	3	0	0	0	0	5		
	AF-P37198-F1-model_v4_Repair (WT)	0.18 (S)	-0.92 (D)	0.66 (D) (SUR)	1.67 (D)	3	0	3	0	3	0	0	6		
	AF-P37198-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	0	0	0	4		
NARS1; p.Leu538Ser	AF-O43776-F1-model_v4 (WT)	-0.66 (D)	-2.0 (D)	0.94 (D) (SUR)	2.04 (D)	1	0	1	0	1	0	0	0	127.65	-63.22
	AF-O43776-F1-model_v4 (MUT)					0	0	1	0	0	0	0	0		

	AF-O43776-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.86 (D)	-2.0 (D)	1.03 (D) (SUR)	2.35 (D)	1	0	1	0	2	0	0	0		
	AF-O43776-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	0	0	0	0		
TPP1; p.Asn286Ser	AF-O14773-F1-model_v4 (WT)	0.1 (S)	-0.53 (D)	0.98 (D) (SUR)	1.71 (D)	1	0	2	0	1	0	0	0	140.95	-72.58
	AF-O14773-F1-model_v4 (MUT)					0	0	2	0	0	0	0	0		
	AF-O14773-F1-model_v4_Repair (WT)	0.11 (S)	-0.63 (D)	0.87 (D) (COR)	1.99 (D)	2	0	3	0	1	0	0	0		
	AF-O14773-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	2	0	0	0	0	0		
VPS33A; p.Arg498Trp	AF-Q96AX1-F1-model_v4 (WT)	-1.3 (D)	-0.76 (D)	0.31 (D) (COR)	4.64 (D)	8	0	9	5	5	0	0	5	65.28	-127.74
	AF-Q96AX1-F1-model_v4 (MUT)					4	0	5	0	12	0	0	6		
	AF-Q96AX1-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.88 (D)	-0.76 (D)	0.3 (D) (COR)	3.52 (D)	8	0	9	6	5	0	0	6		
	AF-Q96AX1-F1-model_v4_Repair (MUT)					4	0	6	0	12	0	0	5		
POLG; p.Tyr131His	AF-P54098-F1-model_v4 (WT)	-1.09 (D)	-0.81 (D)	0.73 (D) (SUR)	2.31 (D)	2	5	3	1	4	0	0	1	426.62	21.5
	AF-P54098-F1-model_v4 (MUT)					1	0	2	0	2	0	0	1		
	AF-P54098-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.2 (D)	-0.99 (D)	0.66 (D) (SUR)	2.68 (D)	2	6	4	0	8	0	0	2		
	AF-P54098-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	2	0	4	0	0	0		
POLG; p.Glu1143Gln	AF-P54098-F1-model_v4 (WT)	-0.95 (D)	-0.71 (D)	0.56 (D) (SUR)	0.3 (D)	4	0	6	2	2	0	0	2		
	AF-P54098-F1-model_v4 (MUT)					3	0	4	0	1	0	0	1		
	AF-P54098-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.58 (D)	-0.56 (D)	0.45 (D) (SUR)	0.33 (D)	3	0	5	2	0	0	0	1		
	AF-P54098-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	4	0	0	0	0	2		
GNPAT; p.Arg248Leu	AF-O15228-F1-model_v4 (WT)	-0.35 (D)	-0.38 (D)	0.96 (D) (COR)	1.1 (D)	4	0	5	4	9	0	0	2	72.81	-161.5
	AF-O15228-F1-model_v4 (MUT)					0	0	1	0	13	0	0	1		

	AF-O15228-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.35 (D)	-0.37 (D)	0.87 (D) (COR)	1.03 (D)	5	0	6	6	8	0	0	5		
	AF-O15228-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	13	0	0	2		
KCTD7; p.Asn273Ile	AF-Q96MP8-F1-model_v4 (WT)	0.19 (S)	0.78 (S)	0 (SUR)	0.65 (D)	0	0	1	0	1	0	0	0	144.84	63.17
	AF-Q96MP8-F1-model_v4 (MUT)					0	0	1	0	4	0	0	0		
	AF-Q96MP8-F1-model_v4_Repair (WT)	0.32 (S)	0.78 (S)	-0.06 (SUR)	1.26 (D)	0	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q96MP8-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	0	0	0	0		
GNAL; p.Arg406Trp (p.Arg329Trp)	AF-P38405-F1-model_v4 (WT)	-0.98 (D)	-0.84 (D)	1.41 (D) (COR)	6.04 (D)	3	0	6	0	9	0	0	2	93.27	-60.8
	AF-P38405-F1-model_v4 (MUT)					3	4	6	0	23	0	0	4		
	AF-P38405-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.92 (D)	-0.64 (D)	1.27 (D) (COR)	7.07 (D)	3	0	6	0	9	0	0	2		
	AF-P38405-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	6	0	25	4	0	2		
RARS2; p.Thr346Ile	AF-Q5T160-F1-model_v4 (WT)	-0.38 (D)	0.40 (S)	-1.64 (S) (COR)	0.84 (D)	2	0	3	0	2	0	0	4	34.4	-161.33
	AF-Q5T160-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	6	0	0	3		
	AF-Q5T160-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.3 (D)	0.40 (S)	-1.68 (S) (COR)	0.84 (D)	2	0	3	0	3	0	0	5		
	AF-Q5T160-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	6	0	0	3		
RNA5EH2B; p.Leu138Phe	AF-Q5TBB1-F1-model_v4 (WT)	-1.3 (D)	-1.23 (D)	0.94 (D) (COR)	-0.54 (S)	3	0	6	0	18	0	0	3	178.48	84.04
	AF-Q5TBB1-F1-model_v4 (MUT)					4	1	6	0	38	0	0	1		
	AF-Q5TBB1-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.67 (D)	-1.23 (D)	0.86 (D) (COR)	1.31 (D)	3	0	6	0	18	0	0	4		
	AF-Q5TBB1-F1-model_v4_Repair (MUT)					4	0	6	0	38	0	0	5		
GALC; p.Tyr567Ser	AF-P54803-F1-model_v4 (WT)	-2.25 (D)	-2.08 (D)	1.51 (D) (COR)	3.14 (D)	2	7	2	0	7	0	0	3	197.56	-1.43
	AF-P54803-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	0	0	0	1		

	AF-P54803-F1-model_v4_Repair (WT)	-2.04 (D)	-2.2 (D)	1.55 (D) (COR)	3.26 (D)	2	8	2	0	9	0	0	5		
	AF-P54803-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	0	0	0	1		
TSEN2; p.Thr364Arg	AF-Q8NCE0-F1-model_v4 (WT)	-0.48 (D)	-0.92 (D)	1.76 (D) (COR)	2.88 (D)	1	0	5	0	3	1	0	1	312.03	174.88
	AF-Q8NCE0-F1-model_v4 (MUT)					6	0	8	0	1	1	0	3		
	AF-Q8NCE0-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.51 (D)	-0.9 (D)	1.71 (D) (COR)	7.63 (D)	2	0	4	0	2	0	0	3		
	AF-Q8NCE0-F1-model_v4_Repair (MUT)					5	0	7		3	1	0	5		
AASS; p.Ser62Leu	AF-Q9UDR5-F1-model_v4 (WT)	-0.11 (D)	-1.39 (D)	0.41 (D) (COR)	5.41 (D)	4	0	5	0	0	0	0	1	155.44	-102.44
	AF-Q9UDR5-F1-model_v4 (MUT)					1	0	2	0	16	0	0	2		
	AF-Q9UDR5-F1-model_v4_Repair (WT)	0.05 (S)	-1.37 (D)	0.35 (D) (COR)	6.34 (D)	3	0	5	0	0	0	0	2		
	AF-Q9UDR5-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	14	0		2		
ACADM; p.Gly267Arg	AF-P11310-F1-model_v4 (WT)	-0.82 (D)	-0.76 (D)	1.36 (D) (COR)	5.12 (D)	1	0	3	0	0	2	0	0	101.81	-30.82
	AF-P11310-F1-model_v4 (MUT)					3	0	5	3	2	2	0	2		
	AF-P11310-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.81 (D)	-0.82 (D)	1.45 (D) (COR)	5.0 (D)	1	0	3	0	0	2	0	1		
	AF-P11310-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	5	3	2	2	0	2		
PLG; p.Gly712Arg	AF-P00747-F1-model_v4 (WT)	-0.29 (D)	-0.49 (D)	0.89 (D) (COR)	2.84 (D)	1	0	2	0	0	0	0	0	365.6	86.06
	AF-P00747-F1-model_v4 (MUT)					1	0	2	0	6	0	0	0		
	AF-P00747-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.31 (D)	-0.23 (D)	0.8 (D) (SUR)	4.39 (D)	1	0	2	0	0	0	0	0		
	AF-P00747-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	2	0	6	0	0	1		
UNC79; p.Thr1377Arg (p.Thr1554Arg)	AF-Q9P2D8-F1-model_v4 (WT)	-0.51 (D)	-0.34 (D)	0.79 (D) (SUR)	0.18 (D)	3	0	3	0	1	2	0	5	1976.52	1172.83
	AF-Q9P2D8-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	0	2	0	3		

	AF-Q9P2D8-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.52 (D)	-0.43 (D)	0.88 (D) (SUR)	0.61 (D)	3	0	5	0	1	2	0	5		
	AF-Q9P2D8-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	0	2	0	4		
SCO2; p.Ala201Gly	AF-O43819-F1-model_v4 (WT)	-1.01 (D)	-2.08 (D)	1.52 (D) (COR)	2.16 (D)	4	0	5	0	2	0	0	3	90.27	11.56
	AF-O43819-F1-model_v4 (MUT)					4	0	5	0	0	0	0	3		
	AF-O43819-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.22 (D)	-2.08 (D)	1.54 (D) (COR)	2.2 (D)	4	0	6	0	2	0	0	3		
	AF-O43819-F1-model_v4_Repair (MUT)					5	0	6	0	0	0	0	3		
SUCLA2; p.Met329Val	AF-Q9P2R7-F1-model_v4 (WT)	-0.12 (D)	-1.03 (D)	1.1 (D) (SUR)	0.96 (D)	3	0	5	0	3	0	0	1	98.81	-28.33
	AF-Q9P2R7-F1-model_v4 (MUT)					3	0	5	0	2	0	0	1		
	AF-Q9P2R7-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.43 (D)	-1.08 (D)	1.24 (D) (SUR)	0.91 (D)	3	0	6	0	8	0	0	4		
	AF-Q9P2R7-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	5	0	2	0	0	1		
ADCY5; p.Ser636Gly	AF-O95622-F1-model_v4 (WT)	0.06 (S)	0.046 (S)	0.06 (D) (SUR)	-0.1 (S)	1	0	4	0	0	0	0	1	584.5	212.03
	AF-O95622-F1-model_v4 (MUT)					1	0	4	0	0	0	0	1		
	AF-O95622-F1-model_v4_Repair (WT)	0.06 (S)	0.064 (S)	0.06 (D) (SUR)	0.0	1	0	4	0	0	0	0	1		
	AF-O95622-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	4	0	0	0	0	1		
CLN8; p.Gly74Asp	AF-Q9UBY8-F1-model_v4 (WT)	-1.67 (D)	-0.9 (D)	1.39 (D) (COR)	14.2 (D)	2	0	5	0	0	0	0	2	42.29	-54.0
	AF-Q9UBY8-F1-model_v4 (MUT)					2	0	6	0	4	0	0	3		
	AF-Q9UBY8-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.67 (D)	-0.9 (D)	1.39 (D) (COR)	14.46 (D)	2	0	5	0	0	0	0	2		
	AF-Q9UBY8-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	7	0	4	0	0	4		
EARS2; p.Arg107Cys	AF-Q5JPH6-F1-model_v4 (WT)	0.23 (S)	-0.43 (D)	0.3 (D) (SUR)	1.1 (D)	4	0	5	6	0	0	0	2	128.17	-28.58
	AF-Q5JPH6-F1-model_v4 (MUT)					3	0	3	0	0	0	0	3		

	AF-Q5JPH6-F1-model_v4_Repair (WT)	0.33 (S)	-0.33 (D)	0.34 (D) (SUR)	1.15 (D)	4	0	6	6	0	0	0	1		
	AF-Q5JPH6-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	0	0	0	1		
GCDH; p.His348Gln	AF-Q92947-F1-model_v4 (WT)	-0.18 (D)	-0.58 (D)	-0.61 (S) (SUR)	-0.13 (S)	3	0	5	0	0	0	0	2	118.3	-22.68
	AF-Q92947-F1-model_v4 (MUT)					3	0	4	0	0	0	0	1		
	AF-Q92947-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.26 (D)	-0.69 (D)	-0.96 (S) (COR)	0.96 (D)	4	0	5	0	0	0	0	1		
	AF-Q92947-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	2	0	0	2		
CHCHD10; p.Gly58Arg	AF-Q8WYQ3-F1-model_v4 (WT)	-0.28 (D)	-0.46 (D)	0.31 (D) (SUR)	0.64 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0	231.42	201.16
	AF-Q8WYQ3-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q8WYQ3-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.29 (D)	-0.23 (D)	0.32 (D) (SUR)	0.63 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q8WYQ3-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
FRRS1L; p.His293Arg	AF-Q9P0K9-F1-model_v4 (WT)	-0.7 (D)	-0.11 (D)	1.45 (D) (SUR)	0.8 (D)	1	0	0	0	4	0	0	1	274.16	183.23
	AF-Q9P0K9-F1-model_v4 (MUT)					0	0	2	0	5	0	0	0		
	AF-Q9P0K9-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.72 (D)	-0.18 (D)	1.69 (D) (COR)	0.32 (D)	1	0	2	0	4	0	0	1		
	AF-Q9P0K9-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	5	0	0	2		
CES1; p.Val39Ile (Val38Ile)	AF-P23141-F1-model_v4 (WT)	-0.21 (D)	-0.34 (D)	-0.21 (S) (SUR)	-0.28 (S)	2	0	2	0	5	0	0	0	25.16	-121.68
	AF-P23141-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	5	0	0	0		
	AF-P23141-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.22 (D)	-0.33 (D)	-0.18 (S) (SUR)	-0.22 (S)	2	0	2	0	4	0	0	0		
	AF-P23141-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	4	0	0	0		
CES1; p.Ile50Val (Ile49Val)	AF-P23141-F1-model_v4 (WT)	-0.98 (D)	0.15 (S)	-0.15 (S) (COR)	1.10 (D)	2	0	2	0	10	0	0	1		
	AF-P23141-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	10	1	0	0		

	AF-P23141-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.98 (D)	0.15 (S)	-0.11 (S) (COR)	1.06 (D)	2	0	2	0	11	1	0	1		
	AF-P23141-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	10	1	0	0		
DNM1; p.Ser45Gly	AF-Q05193-F1-model_v4 (WT)	-0.65 (D)	-0.74 (D)	1.22 (D) (SUR)	0.32 (D)	2	0	4	0	0	0	0	0	319.32	33.73
	AF-Q05193-F1-model_v4 (MUT)					2	0	3	0	0	0	0	0		
	AF-Q05193-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.68 (D)	-1.2 (D)	1.48 (D) (COR)	1.07 (D)	3	0	5	0	0	0	0	1		
	AF-Q05193-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	0	0	0	0		
ADAM22; p.Pro438Thr	AF-Q9P0K1-F1-model_v4 (WT)	-1.54 (D)	-0.96 (D)	1.71 (D) (COR)	1.45 (D)	0	0	0	0	5	0	0	1	714.8	433.48
	AF-Q9P0K1-F1-model_v4 (MUT)					2	0	3	0	5	0	0	1		
	AF-Q9P0K1-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.62 (D)	-0.99 (D)	1.73 (D) (COR)	2.4 (D)	0	0	0	0	6	0	0	0		
	AF-Q9P0K1-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	6	0	0	0		
GPD1; p.Gly121Arg	AF-P21695-F1-model_v4 (WT)	-0.97 (D)	-0.56 (D)	1.53 (D) (COR)	10.93 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0	2.53	-78.77
	AF-P21695-F1-model_v4 (MUT)					2	0	6	5	4	0	0	4		
	AF-P21695-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.97 (D)	-0.56 (D)	1.59 (D) (COR)	11.49 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-P21695-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	4	2	0	0	1		
VAC14; p.Arg623Cys	AF-Q08AM6-F1-model_v4 (WT)	-0.61 (D)	0.02 (S)	0.36 (D) (SUR)	0.89 (D)	5	0	6	5	3	0	0	2	171.75	-56.02
	AF-Q08AM6-F1-model_v4 (MUT)					2	0	5	0	2	0	0	3		
	AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.42 (D)	-0.08 (D)	0.17 (D) (SUR)	0.9 (D)	3	0	5	0	3	0	0	3		
	AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	5	0	2	0	0	2		
RBCK1; p.Arg480Cys	AF-Q9BYM8-F1-model_v4 (WT)	-0.51 (D)	-0.13 (D)	0.6 (D) (COR)	-0.09 (S)	7	0	4	3	1	0	0	1	206.47	44.75
	AF-Q9BYM8-F1-model_v4 (MUT)					2	0	3	0	1	0	0	2		

	AF-Q9BYM8-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.59 (D)	-0.13 (D)	0.57 (D) (COR)	-0.43 (S)	7	0	6	3	1	0	0	3		
	AF-Q9BYM8-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	1	0	0	1		
VAC14; p.Asn628Lys	AF-Q08AM6-F1-model_v4 (WT)	-0.24 (D)	-0.46 (D)	0.85 (D) (COR)	1.65 (D)	7	0	12	0	2	1	0	4	171.75	-56.02
	AF-Q08AM6-F1-model_v4 (MUT)					5	0	9	1	3	1	0	3		
	AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.68 (D)	-0.46 (D)	0.41 (D) (COR)	1.76 (D)	7	0	11	0	2	1	0	3		
	AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair (MUT)					5	0	9	2	4	1	0	2		
KCNB1; p.His8Tyr	AF-Q14721-F1-model_v4 (WT)	1.28 (S)	0.46 (S)	-0.5 (S) (SUR)	0.07 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0	936.98	663.22
	AF-Q14721-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q14721-F1-model_v4_Repair (WT)	0.6 (S)	0.44 (S)	-0.43 (S) (SUR)	0.15 (D)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-Q14721-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
FBXL4; p.Arg482Trp	AF-Q9UKA2-F1-model_v4 (WT)	-0.19 (D)	-0.42 (D)	0.68 (D) (SUR)	1.01 (D)	4	0	5	2	0	0	0	0	222.19	29.54
	AF-Q9UKA2-F1-model_v4 (MUT)					3	0	5	0	5	0	0	2		
	AF-Q9UKA2-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.38 (D)	-0.43 (D)	0.61 (D) (SUR)	1.27 (D)	4	0	5	3	0	0	0	1		
	AF-Q9UKA2-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	4	0	0	0	0	0		
ACAD9; p.Arg433Trp	AF-Q9H845-F1-model_v4 (WT)	-0.76 (D)	-0.99 (D)	0.92 (D) (COR)	1.43 (D)	8	0	11	5	2	0	0	3	103.17	-92.62
	AF-Q9H845-F1-model_v4 (MUT)					3	0	6	0	8	0	0	3		
	AF-Q9H845-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.92 (D)	-1.0 (D)	0.8 (D) (COR)	2.25 (D)	8	0	11	6	2	0	0	5		
	AF-Q9H845-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	6	0	6	0	0	6		
	AF-Q96E22-F1-model_v4 (WT)	0.18 (S)	0.06 (S)		1.17 (D)	3	0	6	0	0	0	0	1	111.49	7.36

NUS1; p.Arg20Cys	AF-Q96E22-F1-model_v4 (MUT)			0.34 (D) (SUR)		5	0	7	0	0	0	0	1		
	AF-Q96E22-F1-model_v4_Repair (WT)	0.06 (S)	0.06 (S)	0.31 (D) (SUR)	0.83 (D)	3	0	5	0	2	0	0	2		
	AF-Q96E22-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	6	0	0	0	0	0		
CLP1; p.Arg140His	AF-Q92989-F1-model_v4 (WT)	-1.35 (D)	-0.41 (D)	0.8 (D) (SUR)	1.77 (D)	4	0	8	6	1	0	0	3	72.47	-58.76
	AF-Q92989-F1-model_v4 (MUT)					1	0	4	0	0	0	0	0		
	AF-Q92989-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.4 (D)	-0.45 (D)	0.84 (D) (SUR)	1.85 (D)	3	0	7	6	1	0	0	1		
	AF-Q92989-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	4	0	0	0	0	0		
VPS16; p.Trp180Cys	AF-Q9H269-F1-model_v4 (WT)	-2.01 (D)	-1.98 (D)	1.25 (D) (COR)	5.25 (D)	1	6	1	0	27	1	0	0	55.77	-198.66
	AF-Q9H269-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	3	1	0	0		
	AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair (WT)	-2.38 (D)	-1.83 (D)	1.01 (D) (COR)	5.62 (D)	1	6	1	0	23	1	0	0		
	AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	3	1	0	0		
NAXE (APOA1BP); p.Ile214Ser	AF-Q8NCW5-F1-model_v4 (WT)	-3.07 (D)	-3.47 (D)	2.26 (D) (COR)	4.64 (D)	2	0	2	0	5	2	0	2	47.09	-16.85
	AF-Q8NCW5-F1-model_v4 (MUT)					2	0	2	0	0	2	0	2		
	AF-Q8NCW5-F1-model_v4_Repair (WT)	-3.07 (D)	-3.48 (D)	2.35 (D) (COR)	4.64 (D)	2	0	2	0	5	2	0	2		
	AF-Q8NCW5-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	2	0	0	2	0	2		
MMAB; p.Arg195Cys	AF-Q96EY8-F1-model_v4 (WT)	-0.65 (D)	-0.68 (D)	0.55 (D) (SUR)	-0.19 (S)	3	0	4	3	4	0	0	0	135.7	64.9
	AF-Q96EY8-F1-model_v4 (MUT)					3	0	6	0	2	0	0	0		
	AF-Q96EY8-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.65 (D)	-0.65 (D)	0.42 (D) (SUR)	0.22 (D)	3	0	4	0	2	0	0	0		
	AF-Q96EY8-F1-model_v4_Repair (MUT)					4	0	7	0	2	0	0	1		
	AF-P31327-F1-model_v4 (WT)	-0.37 (D)	0.29 (S)	-0.02 (S)	-0.34 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	239.28	-236.32

CPS1; p.Thr2Met	AF-P31327-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-P31327-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.53 (D)	0.28 (S)	-0.04 (S)	-0.3 (S)	0	0	0	0	0	0	0	0		
	AF-P31327-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	0	0	0	0		
AGL; p.Ile1237Val	AF-P35573-F1-model_v4 (WT)	-1.02 (D)	-0.4 (D)	0.62 (D) (COR)	0.24 (D)	2	0	3	0	10	0	0	0	218.45	-277.44
	AF-P35573-F1-model_v4 (MUT)					2	0	3	0	12	0	0	0		
	AF-P35573-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.92 (D)	-0.39 (D)	0.57 (D) (COR)	0.32 (D)	2	0	3	0	10	0	0	0		
	AF-P35573-F1-model_v4_Repair (MUT)					2	0	3	0	12	0	0	0		
SCO2; p.Tyr127His	AF-O43819-F1-model_v4 (WT)	-1.86 (D)	-1.39 (D)	3.03 (D) (COR)	2.23 (D)	2	2	3	0	8	1	0	0	90.27	11.56
	AF-O43819-F1-model_v4 (MUT)					3	0	3	0	1	1	0	0		
	AF-O43819-F1-model_v4_Repair (WT)	-1.87 (D)	-1.39 (D)	3.03 (D) (COR)	2.24 (D)	2	2	3	0	9	0	0	0		
	AF-O43819-F1-model_v4_Repair (MUT)					3	0	3	0	1	1	0	0		
VPS13B; p.Ser918Pro	AF-A0A804HL73-F1-model_v4 (WT)	0.25 (S)	-0.51 (D)	0.29 (D) (SUR)	1.8 (D)	1	0	1	0	0	0	0	0	843.99	468.42
	AF-A0A804HL73-F1-model_v4 (MUT)					1	0	1	0	0	0	0	1		
	AF-A0A804HL73-F1-model_v4_Repair (WT)	0.24 (S)	-0.84 (D)	0.35 (D) (SUR)	2.17 (D)	1	0	2	0	0	0	0	0		
	AF-A0A804HL73-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	1	0	0	0	0	0		
UQCRC1; p.Leu120Pro	AF-P31930-F1-model_v4 (WT)	-0.35 (D)	-2.92 (D)	2.1 (D) (COR)	3.49 (D)	0	0	0	0	16	0	0	0	128.81	6.78
	AF-P31930-F1-model_v4 (MUT)					0	0	0	0	7	0	0	0		
	AF-P31930-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.34 (D)	-2.95 (D)	2.28 (D) (COR)	3.6 (D)	0	0	0	0	17	0	0	2		
	AF-P31930-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	0	0	7	0	0	0		
	AF-Q5JRX3-F1-model_v4 (WT)	-0.25 (D)	-0.65 (D)		0.97 (D)	1	0	4	0	0	0	0	2	79.9	-220.5

PITRM1; p.Ser323Cys	AF-Q5JRX3-F1-model_v4 (MUT)			0.51 (D) (SUR)		3	0	4	0	0	0	0	0		
	AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.3 (D)	-0.66 (D)	0.6 (D) (SUR)	1.15 (D)	1	0	4	0	0	0	0	1		
	AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair (MUT)					1	0	2	0	0	0	0	0		
MOSPD2; p.Val445Ile	AF-Q8NHP6-F1-model_v4 (WT)	-0.12 (D)	-0.06 (D)	-0.15 (S) (SUR)	-0.52 (S)	0	0	1	0	1	0	0	0	275.85	105.7
	AF-Q8NHP6-F1-model_v4 (MUT)					0	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair (WT)	-0.12 (D)	0.02 (S)	-0.12 (S) (SUR)	-0.55 (S)	0	0	1	0	0	0	0	0		
	AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair (MUT)					0	0	1	0	0	0	0	0		

Ek 9: Bu tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen WES analizi ile saptanan yanlış anlamlı (*missense*) varyantların 4 farklı *in-silico* yöntemle modellenmesi sonucu elde edilen Gibbs Serbest Enerji Değişim (kJ/mol) değerleri ve *wild-type* – mutant protein yapıları arasındaki polar olmayan bağların sayısı

M-16-3785, M-16-3790, M-16-3791, M-16-3619, M-16-3620, M-16-3721, M-16-3722, M-16-3793, M-15-3186, M-16-3801, M-16-3798, M-16-3799, M-16-3705, M-16-3706, M-16-3657, M-16-3560, M-16-3528, M-16-3529, M-15-3189, M-16-3794, M-16-3795, M-16-3709, M-16-3710, M-16-3841, M-16-3842, M-15-3486, M-16-3716, M-16-3826, M-14-2761, M-14-2764, M-15-3360, M-16-3803, M-15-3183, M-16-3615, M-16-3599, M-16-3600, M-16-3788, M-16-3789, M-11-1548, M-11-1551, M-11-1552, M-11-1553, M-16-3816, M-15-3025, M-11-1421, M-11-1422, M-11-1456, M-11-1457, M-11-1504, M-11-1505, M-13-2035, M-13-2044, M-11-1481, M-11-1484, M-11-1426, M-11-1427, M-11-1431, M-11-1432, M-11-1662, M-11-1663, M-14-2774, M-13-2350, M-13-2351, M-14-2920, M-14-2923, BA_DM, M-12-1725, M-12-1726, M-15-3005, M-15-3004, M-15-3222, M-14-2922, M-16-3495, M-16-3200, M-16-3366, M-14-2630, M-14-2631, M-12-1890, M-15-3437, M-16-3544, M-16-3618, M-16-3784, M-15-3126, M-14-2913, M-14-2807, M-14-2808, M-14-2809, M-11-1439, M-11-1440, M-11-1485, M-11-1486, M-13-2337, M-14-2508, M-14-2634, M-14-2636, M-14-2637, M-14-2776, M-14-2909, M-16-3802, M-15-2955, M-15-3238, M-15-3266, M-16-3648, M-17-4032, M-17-4172, M-18-4421, M-18-4460, M-18-4463, M-18-4404, M-18-4532, M-18-4537, M-18-4539, KC_DM, M-18-4627, M-18-

4628, M-18-4652, M-19-4764, M-19-4878, M-19-4873, M-19-4795, M-19-4857, M-19-4998, M-19-4997, M-19-5004, M-19-5076, M-19-5077, M-19-5078, M-20-5279, 4466447, 4587875, M-17-4173, M-17-3984, M-19-4944, M-17-4177, M-17-4247, M-20-5456, M-18-4656, M-11-1435, M-11-1436, M-11-1467, M-11-1470, M-11-1518, M-11-1519, M-11-1544, M-11-1547, M-13-2388, M-14-2565, M-14-2777, M-15-3273, M-15-3269, M-18-4446, M-18-4467, M-17-4246, M-11-1559, M-11-1562, M-11-1565, M-11-1605, M-11-1606, M-12-1978, M-12-1979, M-2008-732, M-2008-733, M-14-2613, M-14-2614, M-14-2617, M-14-2618, M-14-2622, M-14-2623, M-14-2626, M-14-2627, M-14-2682, M-14-2683, M-14-2687, M-14-2688, M-14-2702, M-14-2703, M-14-2709, M-14-2711, M-14-2735, M-14-2760, M-14-2811, M-14-2802, M-14-2803, M-14-2817, M-14-2864, M-15-3006, M-15-3007, M-15-3098, M-15-3170, M-17-4162, M-17-4164, M-17-4166, M-16-3569, M-17-3999, M-17-4291, M-18-4533, M-18-4535, M-15-3089, M-11-1443, M-11-1446, M-12-1986, M-16-3651, M-16-3652, M-20-5282, M-16-3715, M-16-3787, M-16-3832, M-16-3833, M-16-3754, M-16-3756, M-17-4247, M-15-3438

Ek 10: Bu tez çalışması kapsamında Tüm Ekzom Dizileme analizi gerçekleştirilen olguların DNA kodları

AARS2, AASS, ABAT, ABCA1, ABCA1, ABCB6, ABCB7, ABCC11, ABCC3, ABCD1, ABCD2, ABCD3, ABCD4, ABCG5, ABCG5, ABCG8, ABCG8, ABP1, ACA09, ACAA1, ACACB, ACAD8, ACAD9, ACADL, ACADM, ACADS, ACADSB, ACADVL, ACAT1, ACAT2, ACE, ACLY, ACO1, ACO2, ACOT2, ACOT8, ACOX1, ACOX2, ACOX3, ACSF3, ACSL1, ACSL3, ACSL4, ACSL5, ACSS1, ACSS1, ACSS2, ACSS2, ACSS3, ACSS3, ACY1, ADA, ADAMTS13, ADAMTS13, ADCK3, ADSL, AFG3L2, AGA, AGK, AGL, AGPS, AGT, AGTR1, AGXT, AHCY, AIFM1, AK2, AKR1C1, AKR1C2, AKR1C3, AKR1C3, AKR1C4, AKR1D1, ALAD, ALAS1, ALAS2, ALDH18A1, ALDH1B1, ALDH2, ALDH4A1, ALDH5A1, ALDH6A1, ALDH7A1, ALDH9A1, ALDOA, ALDOB, ALDOC, ALG1, ALG11, ALG12, ALG13, ALG2, ALG3, ALG6, ALG8, ALG9, ALMS1, ALMS1, AMACR, AMPD1, AMPD3, AMT, ANGPTL2, ANGPTL3, ANKK1, ANKS4B, ANPEP, ANT1, AOC2, AP1AR, AP1B1, AP1G1, AP1G2, AP1M1, AP1M2, AP1S1, AP1S2, AP1S3, AP2A1, AP2A2, AP2B1, AP2M1, AP2S1, AP3B1, AP3B2, AP3D1, AP3M1, AP3M2, AP3S1, AP3S2, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, APC, APOA1, APOA1, APOA2, APOA2, APOA4, APOA4, APOA5, APOA5, APOB, APOB, APOC1, APOC1, APOC2, APOC2, APOC3, APOC3, APOE, APOE, APRT, APTX, AQP2, AQP2, AQP7, AQP9, ARF, ARG1, ARG2, ARL6, ARSA, ARSB, ASAH1, ASL, ASPA, ASS1, ASSI, ATG7, ATIC, ATL1, ATP12, ATP13A2, ATP1F1, ATP50, ATP51, ATP5A1, ATP5B, ATP5C1, ATP5D, ATP5E, ATP5F1, ATP5G1, ATP5G2, ATP5G3, ATP5H, ATP5J, ATP5J2, ATP5S, ATP6V0A4, ATP6V0A4, ATP6V1B1, ATP6V1B1, ATP7A, ATP7B, ATP8B1, ATPAF1, ATPAF2, ATXN7, AUH, AVPR2, AVPR2, B2M, B4GALT1, BAAT, BBOX1, BBS3, BCHE, BCKDHA, BCKDHB, BCKDK, BCL2, BCL2L13, BCMO1, BCORL1, BCS1L, BCSIL, BIRC5, BIRC5, BLOC1S3, BLVRA, BOLA3, BPGM, BPIFA2, BRIP1, BRP44L, BSND, BSND, BTD, C10orf10, C10orf11, C10ORF2, C10ORF65, C10orf7, C12ORF62, C12ORF65, C14ORF2, C19ORF12, C20orf7, C2ORF25, C2ORF37, C2orf83, C3ORF60, C7orf10, C8orf38, CA12, CA2, CA2, CA5A, CABC1, CABC1, CARS2, CAV1, CAV2, CAV3, CBS, CD320, CD46, CD46, CD63, CDOG, CEDNIK, CEL, CEP89, CES1, CETP, CETP, CFH, CFH, CFHR1, CFHR1, CFHR3, CFHR3, CHAT, CHM, CISD2, CLCN7, CLCNKB, CLCNKB, CLDN16, CLDN16, CLDN19, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CLTA, CLTB, CLTC, COA5, COAS, COG1, COG4, COG5, COG6, COG7, COG8, COPA, COPB1, COPB2, COPE, COPG, COPG2, COPI, COPII, COPZ1, COPZ2, COQ10B, COQ2, COQ3, COQ4, COQ5, COQ6, COQ7, COQ8, COQ9, CORIN, COX10, COX11, COX14, COX15, COX17, COX18, COX19, COX20, COX411, COX412, COX4I2, COX581, COX581?, COX5A, COX5B, COX6A1, COX6A2, COX6B1, COX6C, COX7A1, COX7A2, COX7B, COX7B2, COX7C, COX8A, COX8C, CP, CPN1, CPOX, CPS1, CPSQ3, CPT1A, CPT1B, CPT1C, CPT2, CRAT, CRBN, CROT, CS, CTDSP2, CTH, CTNS, CTNS, CTSA, CTSD, CTSF, CTSK, CYB5A, CYB5R3, CYC1, CYCS, CYP11A1, CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2,

CYP17A1, CYP21A2, CYP24A1, CYP27A1, CYP27B1, CYP2C19, CYP39A1, CYP3A4, CYP7A1, CYP7A1, CYP7B1, D2HGDH, DAO, DARS2, DBH, DBT, DCAF17, DCI, DDC, DDO, DDOST, DECR1, DECR2, DENR, DGAT1, DGAT1, DGUOK, DHCR7, DHODH, DHRS4, DHRS7B, DHTKD1, DIABLO, DLAT, DLD, DLST, DMGDH, DMP1, DMP1, DMTF1, DNA2, DNAJC19, DNAJC5, DNM1L, DOLK, DPAGT1, DPM1, DPM3, DPYS, DYSF, EARS2, ECH1, ECHS1, ECI2, ECSIT, EFG1, EGF, EHHADH, ELAC2, ENO1, ENO2, ENO3, ENPP1, ENPP3, EPHX1, ETFA, ETFB, ETFDH, ETHE1, F2RL1, FA2H, FABP1, FABP6, FAH, FAM36A, FAR1, FAR2, FARS2, FASTKD2, FBP1, FBP2, FBXL4, FDFT1, FDFT1, FDX1, FDX1L, FECH, FEM1A, FEM1A, FGF19, FGF23, FGF23, FH, FIS1, FKRP, FKTN, FMO3, FOLR1, FOLR2, FOLR3, FOLR4, FOXRED1, FTCD, FTL, FUCA1, FUT2, FUT6, FXN, FXYD2, FXYD2, G6PC, G6PC3, G6PD, GAA, GAD1, GALC, GALK1, GALK2, GALM, GALNS, GAMT, GATM, GBA, GBA2, GBAS, GBE1, GCDH, GCH1, GCK, GCKR, GCKR, GCSH, GDAP1, GFAP, GFER, GFM1, GK, GK2, GLA, GLA, GLB1, GLDC, GLRX5, GLS2, GLUD1, GLUL, GLYCTK, GM2A, GNE, GNPAT, GNPTAB, GNPTG, GNS, GPAM, GPBAR1, GPD1, GPHN, GPI, GPIHBP1, GPIHBP1, GRN, GRPEL1, GSK3A, GSK3B, GSR, GTPBP3, GUCY1B3, GUCY1B3, GUSB, GYG1, GYG2, GYS1, GYS2, H6PD, HADH, HADHA, HADHB, HAL, HARS2, HAX1, HCCS, HCFC1, HCRT, HEBP1, HEXA, HEXB, HFE, HGD, HGSNAT, HIBCH, HK1, HK2, HK3, HLCS, HMBS, HMGCL, HMGCR, HMGCR, HMGCS2, HNF1A, HOGA1, HPD, HPDL, HPGD, HPGD, HPGDS, HPGDS, HPRT1, HPS1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, HPS7, HRSP12, HSD11B2, HSD11B2, HSD17B10, HSD17B4, HSD3B1, HSD3B1, HSD3B2, HSD3B2, HSD3B7, HSPA9, HSPD1, HSPE1, HTRA2, HTT, HYAL1, IARS2, IBA57, ID1, IDH1, IDH2, IDH38, IDH3A, IDH3B, IDH3G, IDS, IDUA, IGFALS, IGSF8, IGSF8, IIE, IL1B, IL1B, IMPA1, IMPA2, IMPAD1, INPP5J, INPP5J, ISCU, ISPD, ISYNA1, IVD, K1F1B, KARS, KCNJ1, KCNJ1, KCTD11, KCTD7, KIF1B, KIF5A, KIFSA, KIP1B, KIP5A, KLB, L1CAM, L2HGDH, LAMB2, LAMP2, LARGE, LARS, LARS2, LCAT, LCAT, LDHA, LDHB, LDLR, LDLR, LDLRAP1, LDLRAP1, LEPREL1, LIAS, LIPA, LIPC, LIPC, LIPG, LIPG, LIPT1, LMBRD1, LMF1, LMF1, LONP2, LPA, LPA, LPIN1, LPL, LPL, LRP1, LRP1, LRP2, LRP4, LRP5, LRPPRC, LRPPRC, LYRM4, LYRM7, LYST, MAGT1, MAN1A1, MAN1A2, MAN1B1, MAN1C1, MAN2B1, MANBA, MAOA, MAOB, MARS, MARS2, MAT1A, MCCC1, MCCC2, MCEE, MCM6, MCOLN1, MDH1, MDH1B, MDH2, MECP2, MFF, MFN1, MFN2, MFSD8, MGAT2, MGME1, MGST2, MGST2, MGST3, MGST3, MIOX, MIP, MLPH, MLYCD, MMAA, MMAB, MMACHC, MMADHC, MOCS1, MOCS2, MOGAT2, MOGS, MPC1, MPDU1, MPI, MPV17, MPV17L2, MRPL1, MRPL10, MRPL11, MRPL12, MRPL13, MRPL14, MRPL15, MRPL16, MRPL17, MRPL18, MRPL19, MRPL2, MRPL20, MRPL21, MRPL22, MRPL23, MRPL24, MRPL27, MRPL28, MRPL3, MRPL30,

RPL32, MRPL33, MRPL34, MRPL35, MRPL36, MRPL37, MRPL
RPL43, MRPL44, MRPL45, MRPL46, MRPL47, MRPL49, MRPL5
RPL9, MRPS10, MRPS11, MRPS12, MRPS14, MRPS15, MRPS16,
MRPS21, MRPS22, MRPS23, MRPS24, MRPS25, MRPS26, MRPS2
MRPS34, MRPS35, MRPS36, MRPS5, MRPS6, MRPS7, MRPS9, MR
T-CO3, MT-CYB, MT-CYB?, MT-N04, MT-NO1, MT-NO2, MT-NO3,
T-TA, MT-TC, MT-TD, MT-TE, MT-TF, MT-TG, MT-TH, MT-TI, MT
o, MT-TR, MT-TS1, MT-TS2, MT-TT, MT-TV, MT-TW, MT-TY, I
TPAP, MTR, MTRR, MTPP, MTPP, MUC6, MUT, MVK, MYO5A
NDUFA1, NDUFA10, NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13, NDUFA2

RMND1, RNASEL, RNMTL1, RPE, RPIA, RPS6KA3, RRM2B, RSAD1, RSPH9, SAMHD1, SAMM50, SAR1A, SAR1B, SARDH, SARS2, SC5D, SCARB1, SCARB1, SCNN1A, SCNN1A, SCNN1B, SCNN1B, SCNN1G, SCNN1G, SCO1, SCO2, SCP2, SDHA, SDHAF1, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SEC23A, SERAC1, SERPINI1, SFXN4, SGSH, SLC10A1, SLC10A2, SLC10A3, SLC10A4, SLC10A5, SLC10A6, SLC10A7, SLC12A1, SLC12A1, SLC12A3, SLC12A3, SLC16A1, SLC17A5, SLC18A1, SLC19A1, SLC19A3, SLC22A1, SLC22A12, SLC22A16, SLC22A4, SLC22A5, SLC25A1, SLC25A10, SLC25A11, SLC25A12, SLC25A13, SLC25A14, SLC25A15, SLC25A17, SLC25A18, SLC25A19, SLC25A2, SLC25A20, SLC25A21, SLC25A22, SLC25A23, SLC25A24, SLC25A25, SLC25A26, SLC25A29, SLC25A3, SLC25A30, SLC25A31, SLC25A32, SLC25A33, SLC25A34, SLC25A35, SLC25A36, SLC25A38, SLC25A39, SLC25A4, SLC25A40, SLC25A42, SLC25A43, SLC25A44, SLC25A45, SLC25A46, SLC25A5, SLC25A6, SLC27A2, SLC27A5, SLC29A4, SLC2A1, SLC2A2, SLC2A9, SLC34A1, SLC34A3, SLC34A3, SLC35A2, SLC35C1, SLC36A2, SLC37A4, SLC3A1, SLC40A1, SLC44A4, SLC46A1, SLC4A1, SLC4A1, SLC4A4, SLC4A4, SLC4A5, SLC51A, SLC51B, SLC52A1, SLC5A1, SLC5A1, SLC5A2, SLC5A2, SLC6A17, SLC6A18, SLC6A19, SLC6A20, SLC6A6, SLC6A8, SLC7A7, SLC9A6, SLCO1A2, SLCO1B1, SLCO2A1, SLCO2A1, SLCO4C1, SMPD1, SMPDL3A, SMPDL3A, SNAP25, SNAP29, SNX10, SOAT1, SOAT1, SOAT2, SOD2, SORD, SOST, SPAST, SPG20, SPG4, SPG7, SPR, SQLE, SQLE, SRD5A3, SREBF1, SREBF1, SREBF2, SREBF2, STAR, STAR, STARD3, STARD3, STS, STX10, STX11, STX12, STX16, STX17, STX18, STX19, STX1A, STX1B, STX2, STX3, STX4, STX5, STX6, STX7, STX8, STXBP1, STXBP2, STXBP3, STXBP4, STXBP5, STXBP6, SUCLA2, SUCLG1, SUCLG2, SULT2A1, SUMF1, SUOX, SURF1, SYT1, SYT10, SYT11, SYT12, SYT13, SYT14, SYT15, SYT16, SYT17, SYT2, SYT3, SYT4, SYT5, SYT6, SYT7, SYT8, SYT9, TAC01, TACO1, TALDO1, TARS2, TAT, TAZ, TCIRG1, TDO2, TEK, TEK, TF, TFAM, TFB1M, TFB2M, TGFBI, TGFBI, TH, TIMM10, TIMM13, TIMM17A, TIMM17B, TIMM22, TIMM23, TIMM44, TIMM50, TIMM8A, TIMM8B, TIMM9, TK2, TKT, TMEM126A, TMEM135, TMEM165, TMEM22, TMEM70, TMLHE, TNFRSF11A, TNFSF11, TOMM20, TOMM22, TOMM34, TOMM40, TOMM40L, TOMM7, TOMM70A, TPH1, TPH2, TPI1, TPK1, TPP1, TREX1, TRMU, tRNAs, TRNT1, TSFM, TTC19, TUFM, TYMP, UCP1, UCP2, UCP3, UGP2, UGT2B28, UMPS, UNG, UPB1, UQCC2, UQCC3, UQCR, UQCRB, UQCRC1, UQCRC2, UQCRFS1, UQCRH, UQCRQ, UROC1, UROD, UROS, USMG5, UTRN, VAMP1, VAMP2, VAMP3, VDAC1, VDAC2, VDAC3, VLDLR, VPS13A, VPS13B, VPS33B, VSIG2, WARS2, WDR45, WFS1, WNK1, WNK1, WNK4, WNK4, XDH, YARS2, YEARS2

Ek 11: Bu tez çalışması kapsamında varyant filtreleme basamaklarında kullanılan 1419 genlik metabolik ve mitokondriyal hastalık gen paneli

node1	node2	neighborhood	fusion	phylogenetic	homology	coexpression	experiment	database	text_mining	combined
GLB1	NEU1	0.059	0	0	0	0.172	0.735	0.8	0.997	0.999
NDUFA12	UQCRC1	0	0	0	0	0.328	0.999	0	0.41	0.999
NDUFA12	NDUFA4	0	0	0	0	0.895	0.736	0.944	0.745	0.999
NDUFA4	NDUFA12	0	0	0	0	0.895	0.736	0.944	0.745	0.999
NEU1	GLB1	0.059	0	0	0	0.172	0.735	0.8	0.997	0.999
PDHB	PDHX	0.095	0.028	0.492	0	0.684	0.968	0.978	0.996	0.999
PDHX	PDHB	0.095	0.028	0.492	0	0.684	0.968	0.978	0.996	0.999
UQCRC1	NDUFA12	0	0	0	0	0.328	0.999	0	0.41	0.999
VPS16	VPS33A	0	0	0	0	0.639	0.999	0.9	0.997	0.999
VPS33A	VPS16	0	0	0	0	0.639	0.999	0.9	0.997	0.999
AGL	PYGM	0.115	0	0	0	0.665	0	0.965	0.799	0.997
PYGM	AGL	0.115	0	0	0	0.665	0	0.965	0.799	0.997
CLP1	TSEN2	0	0	0	0	0	0.807	0.8	0.774	0.99
TSEN2	CLP1	0	0	0	0	0	0.807	0.8	0.774	0.99
COQ4	COQ7	0	0	0	0	0.067	0.328	0.54	0.961	0.987
COQ7	COQ4	0	0	0	0	0.067	0.328	0.54	0.961	0.987
CHCHD10	MICOS13	0	0	0	0	0.239	0	0.9	0.738	0.978
MICOS13	CHCHD10	0	0	0	0	0.239	0	0.9	0.738	0.978
ADCY5	GNAL	0	0	0	0	0.08	0.47	0.9	0.554	0.975
GNAL	ADCY5	0	0	0	0	0.08	0.47	0.9	0.554	0.975
GNPAT	GPD1	0.102	0	0	0	0	0	0.942	0.422	0.967
GPD1	GNPAT	0.102	0	0	0	0	0	0.942	0.422	0.967
FAM126A	PI4KA	0	0	0	0	0	0.891	0	0.645	0.959
PI4KA	FAM126A	0	0	0	0	0	0.891	0	0.645	0.959
RNASEH2B	SAMHD1	0	0	0	0	0.055	0	0	0.949	0.95
SAMHD1	RNASEH2B	0	0	0	0	0.055	0	0	0.949	0.95
RARS2	VAR2	0.109	0	0	0	0.421	0	0	0.884	0.935

VAR2	RARS2	0.109	0	0	0	0.421	0	0	0.884	0.935
PDHB	SUCLA2	0	0	0	0	0.723	0.091	0.176	0.665	0.921
SUCLA2	PDHB	0	0	0	0	0.723	0.091	0.176	0.665	0.921
EARS2	RARS2	0.073	0	0	0	0.255	0.253	0	0.86	0.918
RARS2	EARS2	0.073	0	0	0	0.255	0.253	0	0.86	0.918
GALC	NEU1	0	0	0	0	0.047	0	0.9	0.176	0.914
NEU1	GALC	0	0	0	0	0.047	0	0.9	0.176	0.914
ENTPD1	HPRT1	0	0	0	0	0	0	0.9	0.163	0.912
HPRT1	ENTPD1	0	0	0	0	0	0	0.9	0.163	0.912
PDHX	SUCLA2	0.079	0.006	0	0	0.686	0.146	0.352	0.431	0.892
SUCLA2	PDHX	0.079	0.006	0	0	0.686	0.146	0.352	0.431	0.892
NDUFA4	UQCRC1	0	0	0	0	0.157	0.244	0.54	0.669	0.89
UQCRC1	NDUFA4	0	0	0	0	0.157	0.244	0.54	0.669	0.89
POLG	SUCLA2	0	0	0	0	0.068	0	0	0.885	0.889
SUCLA2	POLG	0	0	0	0	0.068	0	0	0.885	0.889
EARS2	VAR2	0	0	0	0	0.208	0.092	0	0.842	0.876
VAR2	EARS2	0	0	0	0	0.208	0.092	0	0.842	0.876
EARS2	NARS1	0.046	0	0	0	0.151	0.127	0	0.844	0.875
NARS1	EARS2	0.046	0	0	0	0.151	0.127	0	0.844	0.875
AP3B2	AP4M1	0	0	0	0	0	0	0.54	0.721	0.866
AP4M1	AP3B2	0	0	0	0	0	0	0.54	0.721	0.866
CDKL5	FOXG1	0	0	0	0	0	0	0	0.866	0.866
FOXG1	CDKL5	0	0	0	0	0	0	0	0.866	0.866
CLN8	DNAJC5	0	0	0	0	0.044	0	0	0.847	0.847
DNAJC5	CLN8	0	0	0	0	0.044	0	0	0.847	0.847
NARS1	RARS2	0	0	0	0	0.206	0.127	0	0.791	0.843
RARS2	NARS1	0	0	0	0	0.206	0.127	0	0.791	0.843
PDHB	UQCRC1	0	0	0	0	0.674	0.185	0	0.398	0.826

UQCRC1	PDHB	0	0	0	0	0.674	0.185	0	0.398	0.826
GCSH	PDHX	0.079	0	0	0	0.183	0.071	0.662	0.374	0.825
PDHX	GCSH	0.079	0	0	0	0.183	0.071	0.662	0.374	0.825
GALC	GLB1	0	0	0	0	0.06	0	0	0.821	0.824
GLB1	GALC	0	0	0	0	0.06	0	0	0.821	0.824
NARS1	VAR2	0.046	0	0	0	0.209	0	0	0.759	0.803
VAR2	NARS1	0.046	0	0	0	0.209	0	0	0.759	0.803
CLN8	KCTD7	0	0	0	0	0.055	0	0	0.788	0.791
KCTD7	CLN8	0	0	0	0	0.055	0	0	0.788	0.791
DNAJC5	TPP1	0	0	0	0	0.055	0.071	0	0.778	0.788
TPP1	DNAJC5	0	0	0	0	0.055	0.071	0	0.778	0.788
FBP1	PDHB	0	0	0	0	0.101	0	0.585	0.473	0.786
PDHB	FBP1	0	0	0	0	0.101	0	0.585	0.473	0.786
FUCA1	GLB1	0.071	0	0.226	0	0.193	0	0	0.66	0.776
GLB1	FUCA1	0.071	0	0.226	0	0.193	0	0	0.66	0.776
ACADM	SUCLA2	0.042	0	0	0	0.334	0.436	0	0.398	0.755
SUCLA2	ACADM	0.042	0	0	0	0.334	0.436	0	0.398	0.755
CLN8	TPP1	0	0	0	0	0	0.104	0	0.736	0.754
TPP1	CLN8	0	0	0	0	0	0.104	0	0.736	0.754
RARS2	TSEN2	0	0	0	0	0.049	0	0	0.743	0.745
TSEN2	RARS2	0	0	0	0	0.049	0	0	0.743	0.745
CTNNB1	FOXG1	0	0	0	0	0	0.071	0	0.732	0.74
FOXG1	CTNNB1	0	0	0	0	0	0.071	0	0.732	0.74
ACADM	HIBCH	0.046	0	0	0	0.508	0.225	0.185	0.225	0.729
HIBCH	ACADM	0.046	0	0	0	0.508	0.225	0.185	0.225	0.729
ACADM	SLC25A20	0	0	0	0	0.297	0	0	0.62	0.721
SLC25A20	ACADM	0	0	0	0	0.297	0	0	0.62	0.721
IDS	NAGLU	0	0.136	0	0	0.057	0.086	0	0.663	0.716

NAGLU	IDS	0	0.136	0	0	0.057	0.086	0	0.663	0.716
DNAJC5	KCTD7	0	0	0	0	0	0	0	0.713	0.713
KCTD7	DNAJC5	0	0	0	0	0	0	0	0.713	0.713
PDHB	PLG	0	0	0	0	0	0	0	0.693	0.693
PLG	PDHB	0	0	0	0	0	0	0	0.693	0.693
ACAD9	NDUFA12	0	0	0	0	0.075	0.088	0.5	0.343	0.686
NDUFA12	ACAD9	0	0	0	0	0.075	0.088	0.5	0.343	0.686
DNM1	DYRK1A	0	0	0	0	0	0.516	0	0.351	0.672
DYRK1A	DNM1	0	0	0	0	0	0.516	0	0.351	0.672
NDUFA4	SLC25A3	0	0	0	0	0.223	0.225	0	0.494	0.668
SLC25A3	NDUFA4	0	0	0	0	0.223	0.225	0	0.494	0.668
ADCY5	ENTPD1	0	0	0	0	0.055	0	0.65	0.069	0.665
ENTPD1	ADCY5	0	0	0	0	0.055	0	0.65	0.069	0.665
CFTR	DNAJC5	0	0	0	0	0	0.516	0	0.315	0.654
DNAJC5	CFTR	0	0	0	0	0	0.516	0	0.315	0.654
GCDH	HIBCH	0.046	0	0	0	0.325	0.091	0.185	0.377	0.649
HIBCH	GCDH	0.046	0	0	0	0.325	0.091	0.185	0.377	0.649
GCSH	PDHB	0	0	0	0	0.107	0	0.5	0.276	0.648
PDHB	GCSH	0	0	0	0	0.107	0	0.5	0.276	0.648
ACAD9	HIBCH	0.046	0	0	0	0.314	0.205	0.185	0.264	0.631
HIBCH	ACAD9	0.046	0	0	0	0.314	0.205	0.185	0.264	0.631
GLB1	NAGLU	0	0.004	0	0	0.135	0	0	0.587	0.627
NAGLU	GLB1	0	0.004	0	0	0.135	0	0	0.587	0.627
DYRK1A	TSC2	0	0	0	0	0.069	0.51	0	0.245	0.625
TSC2	DYRK1A	0	0	0	0	0.069	0.51	0	0.245	0.625
OPA3	SERAC1	0	0	0	0	0.085	0	0	0.581	0.6
SERAC1	OPA3	0	0	0	0	0.085	0	0	0.581	0.6
KCTD7	TPP1	0	0	0	0	0	0	0	0.593	0.593

TPP1	KCTD7	0	0	0	0	0	0	0	0.593	0.593
FBXL4	SUCLA2	0	0	0	0	0.056	0	0	0.582	0.589
SUCLA2	FBXL4	0	0	0	0	0.056	0	0	0.582	0.589
CFTR	CTNNB1	0	0	0	0	0.046	0.062	0	0.569	0.581
CTNNB1	CFTR	0	0	0	0	0.046	0.062	0	0.569	0.581
NDUFA12	SLC25A3	0	0	0	0	0.506	0.177	0	0.05	0.58
SLC25A3	NDUFA12	0	0	0	0	0.506	0.177	0	0.05	0.58
SLC25A3	UQCRC1	0	0	0	0	0.428	0	0	0.288	0.575
UQCRC1	SLC25A3	0	0	0	0	0.428	0	0	0.288	0.575
FBXL4	POLG	0	0	0	0	0.06	0	0	0.565	0.574
POLG	FBXL4	0	0	0	0	0.06	0	0	0.565	0.574
ACADM	PDHB	0.049	0	0	0	0.142	0.074	0.265	0.346	0.57
PDHB	ACADM	0.049	0	0	0	0.142	0.074	0.265	0.346	0.57
ACADM	PDHX	0	0	0	0	0.245	0	0.218	0.328	0.569
PDHX	ACADM	0	0	0	0	0.245	0	0.218	0.328	0.569
FUCA1	NAGLU	0	0	0	0	0.139	0	0	0.5	0.551
NAGLU	FUCA1	0	0	0	0	0.139	0	0	0.5	0.551
NDUFA12	PDHB	0	0	0	0	0.457	0	0	0.202	0.549
PDHB	NDUFA12	0	0	0	0	0.457	0	0	0.202	0.549
FBP1	PYGM	0.045	0	0	0	0	0.067	0	0.519	0.534
PYGM	FBP1	0.045	0	0	0	0	0.067	0	0.519	0.534
MMAB	SUCLA2	0.054	0	0	0	0.044	0	0	0.525	0.533
SUCLA2	MMAB	0.054	0	0	0	0.044	0	0	0.525	0.533
ACAD9	ACADM	0	0	0.156	0.755	0.16	0.145	0	0.313	0.528
ACADM	ACAD9	0	0	0.156	0.755	0.16	0.145	0	0.313	0.528
NUP62	UPF3B	0	0	0	0	0.067	0	0.5	0.06	0.523
UPF3B	NUP62	0	0	0	0	0.067	0	0.5	0.06	0.523
ADA2	ENTPD1	0	0	0	0	0.097	0	0	0.49	0.52

ENTPD1	ADA2	0	0	0	0	0.097	0	0	0.49	0.52
CTNNB1	TSC2	0	0	0	0	0.049	0	0	0.513	0.517
TSC2	CTNNB1	0	0	0	0	0.049	0	0	0.513	0.517
CTNNB1	HERC2	0	0	0	0	0.049	0.51	0	0	0.514
HERC2	CTNNB1	0	0	0	0	0.049	0.51	0	0	0.514
NDUFA4	PDHB	0	0	0	0	0.279	0.161	0	0.259	0.513
PDHB	NDUFA4	0	0	0	0	0.279	0.161	0	0.259	0.513
IDS	TPP1	0	0	0	0	0.062	0.085	0	0.475	0.51
TPP1	IDS	0	0	0	0	0.062	0.085	0	0.475	0.51
PDHB	PITRM1	0	0	0	0	0.053	0.494	0	0.049	0.504
PITRM1	PDHB	0	0	0	0	0.053	0.494	0	0.049	0.504
PITRM1	RARS2	0	0	0	0	0.225	0.329	0	0.122	0.504
RARS2	PITRM1	0	0	0	0	0.225	0.329	0	0.122	0.504
ACAD9	SLC25A20	0	0	0	0	0.234	0	0	0.375	0.501
SLC25A20	ACAD9	0	0	0	0	0.234	0	0	0.375	0.501
OFD1	TRAPPC2	0	0	0	0	0.127	0	0	0.451	0.5
PDHX	UQCRC1	0	0	0	0	0.413	0.089	0	0.139	0.5
TRAPPC2	OFD1	0	0	0	0	0.127	0	0	0.451	0.5
UQCRC1	PDHX	0	0	0	0	0.413	0.089	0	0.139	0.5
ACAD9	POLG	0	0	0	0	0.237	0	0	0.37	0.499
CLP1	UPF3B	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0.499
POLG	ACAD9	0	0	0	0	0.237	0	0	0.37	0.499
UPF3B	CLP1	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0.499
NDUFA4	SCO2	0	0	0	0	0.094	0.229	0	0.337	0.497
SCO2	NDUFA4	0	0	0	0	0.094	0.229	0	0.337	0.497
ADA2	HPRT1	0	0	0	0	0	0	0.352	0.25	0.493
HPRT1	ADA2	0	0	0	0	0	0	0.352	0.25	0.493
ACAD9	ETHE1	0.053	0	0	0	0.109	0	0.106	0.404	0.491

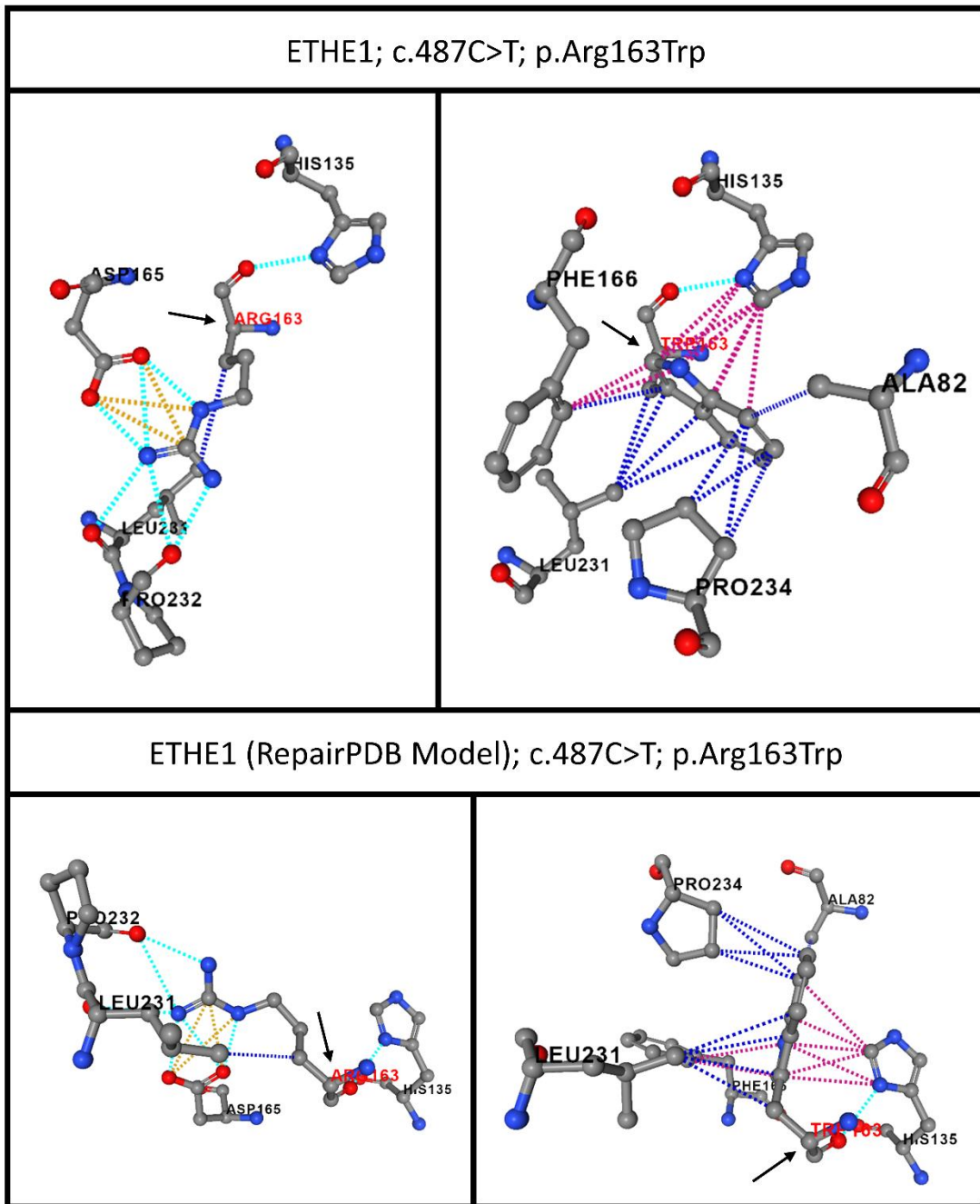
CPS1	SLC25A3	0	0	0	0	0.049	0.064	0	0.474	0.491
ETHE1	ACAD9	0.053	0	0	0	0.109	0	0.106	0.404	0.491
SLC25A3	CPS1	0	0	0	0	0.049	0.064	0	0.474	0.491
CTNNB1	HPRT1	0	0	0	0	0.071	0	0	0.472	0.489
HPRT1	CTNNB1	0	0	0	0	0.071	0	0	0.472	0.489
ALMS1	OFD1	0	0	0	0	0.116	0.06	0	0.432	0.487
OFD1	ALMS1	0	0	0	0	0.116	0.06	0	0.432	0.487
ACAD9	COQ4	0	0	0	0	0.195	0	0	0.382	0.482
COQ4	ACAD9	0	0	0	0	0.195	0	0	0.382	0.482
SERAC1	SUCLA2	0	0	0	0	0.049	0	0	0.477	0.482
SUCLA2	SERAC1	0	0	0	0	0.049	0	0	0.477	0.482
FCSK	FUCA1	0	0	0	0	0.043	0	0	0.476	0.477
FUCA1	FCSK	0	0	0	0	0.043	0	0	0.476	0.477
ACAD9	NDUFA4	0	0	0	0	0.072	0.228	0	0.323	0.473
GALC	NAGLU	0	0	0	0	0.044	0	0	0.471	0.473
NAGLU	GALC	0	0	0	0	0.044	0	0	0.471	0.473
NDUFA4	ACAD9	0	0	0	0	0.072	0.228	0	0.323	0.473
COA7	EARS2	0	0	0	0	0.444	0.09	0	0	0.472
EARS2	COA7	0	0	0	0	0.444	0.09	0	0	0.472
ACAD9	PDHX	0	0	0	0	0.119	0.095	0.218	0.251	0.471
HIBCH	PDHB	0	0	0	0	0.282	0	0	0.294	0.471
PDHB	HIBCH	0	0	0	0	0.282	0	0	0.294	0.471
PDHX	ACAD9	0	0	0	0	0.119	0.095	0.218	0.251	0.471
ACAD9	PDHB	0.049	0	0	0	0.107	0.099	0.265	0.193	0.464
PDHB	ACAD9	0.049	0	0	0	0.107	0.099	0.265	0.193	0.464
SUCLA2	UQCRC1	0	0	0	0	0.234	0.092	0	0.288	0.462
UQCRC1	SUCLA2	0	0	0	0	0.234	0.092	0	0.288	0.462
RARS2	SUCLA2	0	0	0	0	0.15	0	0	0.392	0.461

SUCLA2	RARS2	0	0	0	0	0.15	0	0	0.392	0.461
FBXL4	SERAC1	0	0	0	0	0.067	0.067	0	0.422	0.453
SERAC1	FBXL4	0	0	0	0	0.067	0.067	0	0.422	0.453
PDHX	SLC19A3	0	0	0	0	0	0	0	0.452	0.452
SLC19A3	PDHX	0	0	0	0	0	0	0	0.452	0.452
ETHE1	SCO2	0	0	0	0	0.067	0	0	0.436	0.451
FBXL4	PIGN	0	0	0	0	0.442	0.045	0	0.053	0.451
GALC	IDS	0	0	0	0	0.047	0	0	0.448	0.451
IDS	GALC	0	0	0	0	0.047	0	0	0.448	0.451
PIGN	FBXL4	0	0	0	0	0.442	0.045	0	0.053	0.451
POLG	RARS2	0.075	0	0	0	0.081	0	0	0.406	0.451
RARS2	POLG	0.075	0	0	0	0.081	0	0	0.406	0.451
SCO2	ETHE1	0	0	0	0	0.067	0	0	0.436	0.451
CTNNB1	DYRK1A	0	0	0	0	0.092	0.125	0	0.363	0.45
DYRK1A	CTNNB1	0	0	0	0	0.092	0.125	0	0.363	0.45
GLB1	TRAPPC2	0	0	0	0	0	0.447	0	0	0.447
TRAPPC2	GLB1	0	0	0	0	0	0.447	0	0	0.447
CDKL5	POLG	0	0	0	0	0	0	0	0.446	0.446
POLG	CDKL5	0	0	0	0	0	0	0	0.446	0.446
AP4M1	CYP2U1	0	0	0	0	0	0	0	0.445	0.445
CYP2U1	AP4M1	0	0	0	0	0	0	0	0.445	0.445
FOXG1	TSC2	0	0	0	0	0	0	0	0.445	0.445
TSC2	FOXG1	0	0	0	0	0	0	0	0.445	0.445
ADCY5	TSC2	0	0	0	0	0	0.068	0	0.428	0.444
TSC2	ADCY5	0	0	0	0	0	0.068	0	0.428	0.444
SLC19A3	SLC25A20	0	0	0	0	0.045	0	0	0.435	0.438
SLC25A20	SLC19A3	0	0	0	0	0.045	0	0	0.435	0.438
GPD1	PYGM	0.057	0	0	0	0.117	0.058	0	0.367	0.437

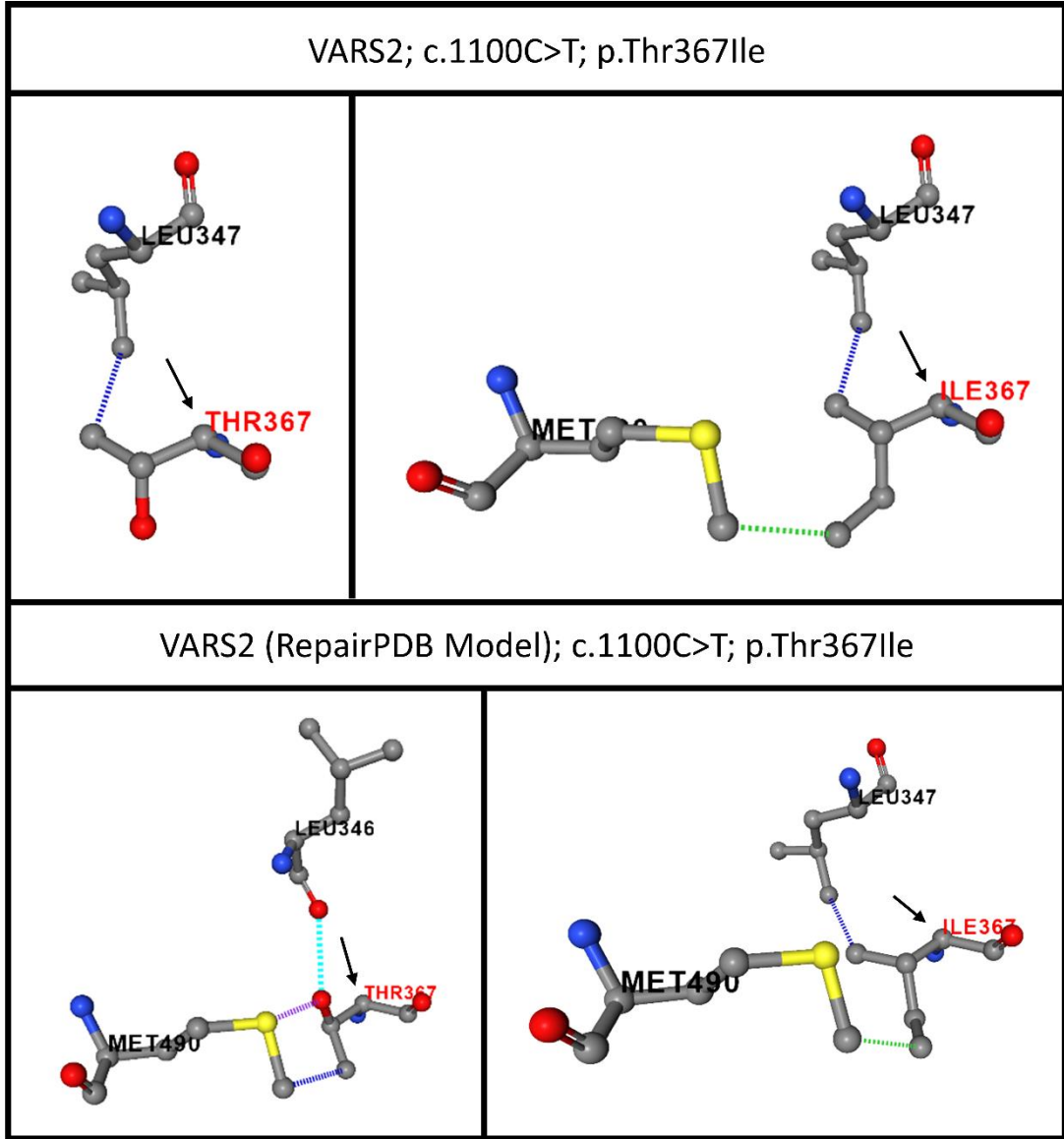
HIBCH	PDHX	0	0	0	0	0.225	0	0	0.303	0.437
PDHX	HIBCH	0	0	0	0	0.225	0	0	0.303	0.437
PYGM	GPD1	0.057	0	0	0	0.117	0.058	0	0.367	0.437
PDHB	SLC25A3	0	0	0	0	0.322	0	0	0.202	0.436
SLC25A3	PDHB	0	0	0	0	0.322	0	0	0.202	0.436
CDKL5	KCNB1	0	0	0	0	0.185	0	0	0.336	0.435
KCNB1	CDKL5	0	0	0	0	0.185	0	0	0.336	0.435
AASS	CPS1	0	0	0	0	0.106	0	0.154	0.311	0.434
ACAD9	GCDH	0	0	0.099	0.684	0.186	0.095	0	0.248	0.434
CPS1	AASS	0	0	0	0	0.106	0	0.154	0.311	0.434
GCDH	ACAD9	0	0	0.099	0.684	0.186	0.095	0	0.248	0.434
PI4KA	VAC14	0	0	0	0	0.107	0	0	0.389	0.431
VAC14	PI4KA	0	0	0	0	0.107	0	0	0.389	0.431
GCDH	PDHB	0.049	0	0	0	0.077	0.053	0.265	0.208	0.429
PDHB	GCDH	0.049	0	0	0	0.077	0.053	0.265	0.208	0.429
ACADM	FUCA1	0	0	0	0	0.049	0	0	0.424	0.428
FCSK	VAC14	0	0	0	0	0.067	0	0	0.412	0.428
FUCA1	ACADM	0	0	0	0	0.049	0	0	0.424	0.428
HIBCH	SUCLA2	0	0	0	0	0.193	0.052	0	0.312	0.428
SUCLA2	HIBCH	0	0	0	0	0.193	0.052	0	0.312	0.428
VAC14	FCSK	0	0	0	0	0.067	0	0	0.412	0.428
CTNNB1	FBP1	0	0	0	0	0.108	0.066	0	0.364	0.424
FBP1	CTNNB1	0	0	0	0	0.108	0.066	0	0.364	0.424
PDHX	PITRM1	0	0	0	0	0.054	0.414	0	0	0.421
PITRM1	PDHX	0	0	0	0	0.054	0.414	0	0	0.421
ADA2	SAMHD1	0	0	0	0	0.2	0	0	0.305	0.42
SAMHD1	ADA2	0	0	0	0	0.2	0	0	0.305	0.42
AGL	GPD1	0	0.309	0	0	0.078	0	0	0.16	0.418

GPD1	AGL	0	0.309	0	0	0.078	0	0	0.16	0.418
OPA3	POLG	0	0	0	0	0	0	0	0.418	0.418
POLG	OPA3	0	0	0	0	0	0	0	0.418	0.418
CTNNB1	FAM126A	0	0	0	0	0.042	0	0	0.411	0.411
FAM126A	CTNNB1	0	0	0	0	0.042	0	0	0.411	0.411
CHCHD10	UQCRC1	0	0	0	0	0.305	0	0	0.186	0.41
POLG	SCO2	0.095	0	0	0	0	0	0	0.375	0.41
SCO2	POLG	0.095	0	0	0	0	0	0	0.375	0.41
UQCRC1	CHCHD10	0	0	0	0	0.305	0	0	0.186	0.41
GCDH	PDHX	0	0	0	0	0.085	0	0.218	0.24	0.409
GLB1	TPP1	0	0	0	0	0.221	0.098	0	0.226	0.409
PDHX	GCDH	0	0	0	0	0.085	0	0.218	0.24	0.409
TPP1	GLB1	0	0	0	0	0.221	0.098	0	0.226	0.409
ACAD9	SCO2	0	0	0	0	0.088	0	0	0.377	0.408
SCO2	ACAD9	0	0	0	0	0.088	0	0	0.377	0.408
SLC25A20	SLC25A3	0	0	0	0.638	0.082	0.209	0	0.249	0.407
SLC25A3	SLC25A20	0	0	0	0.638	0.082	0.209	0	0.249	0.407
PITRM1	UQCRC1	0	0	0	0	0.105	0.171	0	0.263	0.406
UQCRC1	PITRM1	0	0	0	0	0.105	0.171	0	0.263	0.406
AP4M1	KIF1C	0	0	0	0	0.049	0	0	0.4	0.405
KIF1C	AP4M1	0	0	0	0	0.049	0	0	0.4	0.405
FUCA1	NEU1	0.042	0	0	0	0.079	0	0	0.376	0.402
NEU1	FUCA1	0.042	0	0	0	0.079	0	0	0.376	0.402
CDKL5	DNM1	0	0	0	0	0.081	0	0	0.375	0.401
DNM1	CDKL5	0	0	0	0	0.081	0	0	0.375	0.401

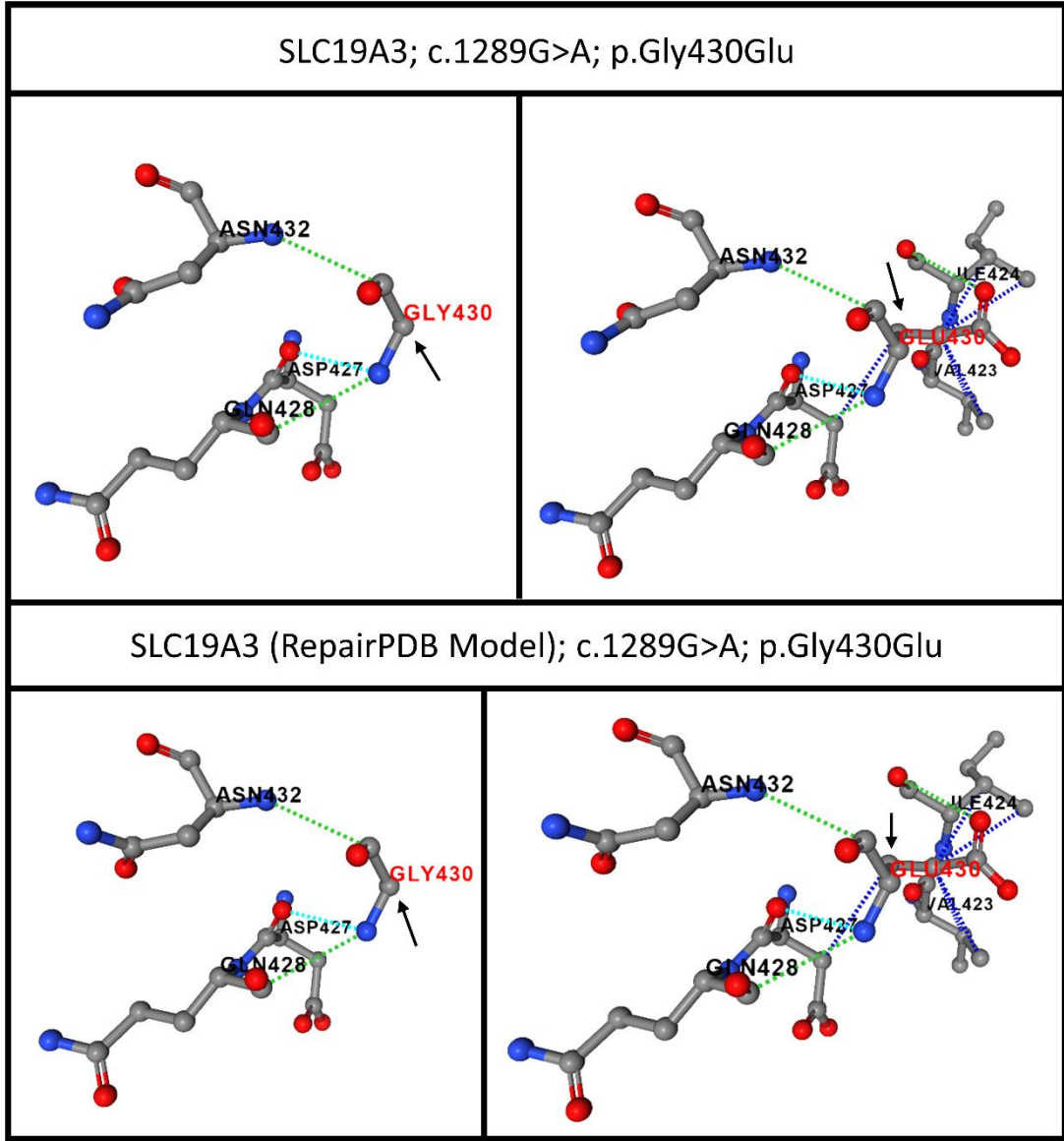
Ek 12: Bu tez çalışması kapsamında STRING programı ile gerçekleştirilen bağlantı analizi sonrası saptanan moleküller arasındaki ilişkiler ve hesaplanan skorlar



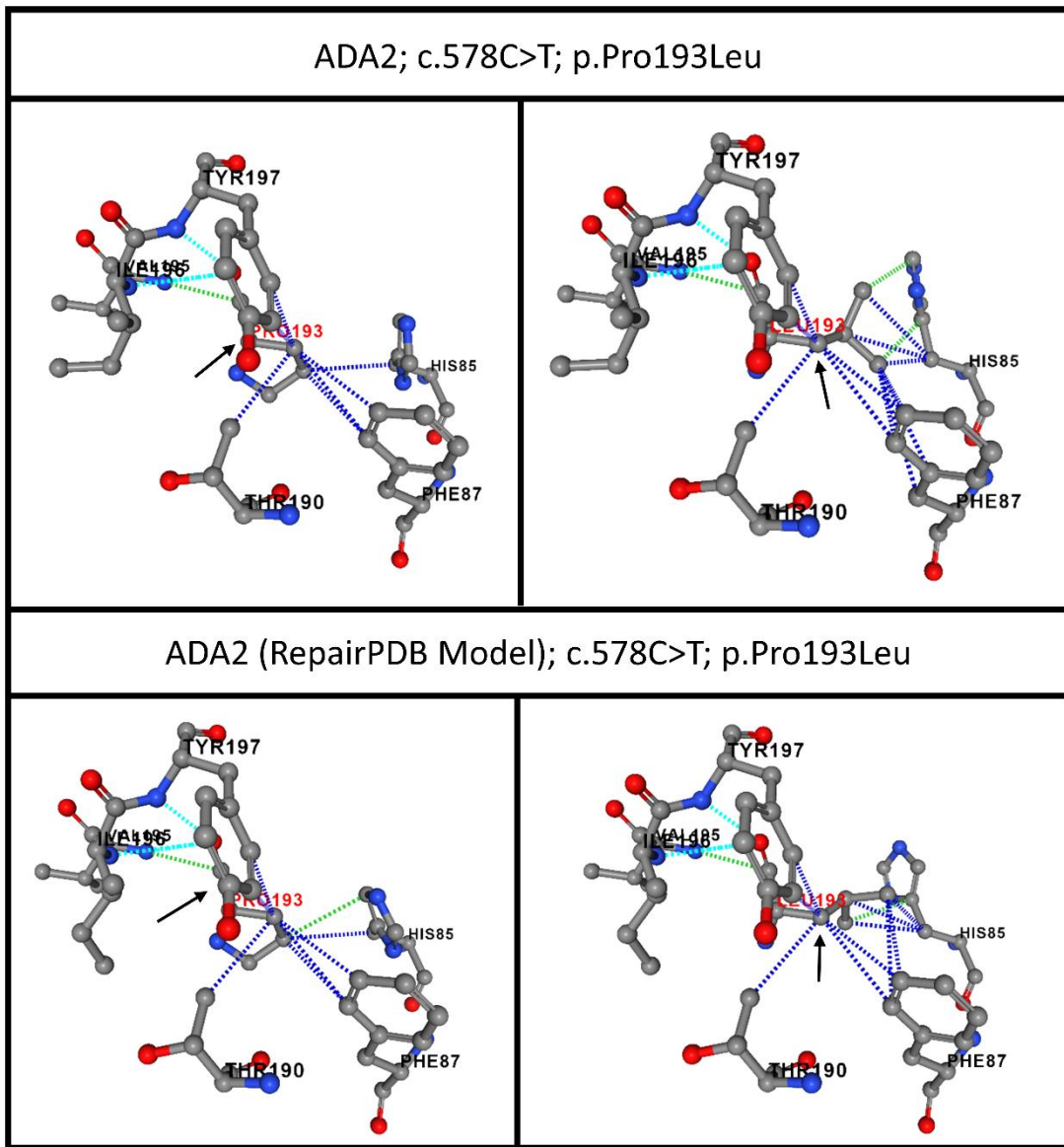
Ek 13: ETHE1 proteininin doğal (AF-O95571-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95571-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg163 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg163Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



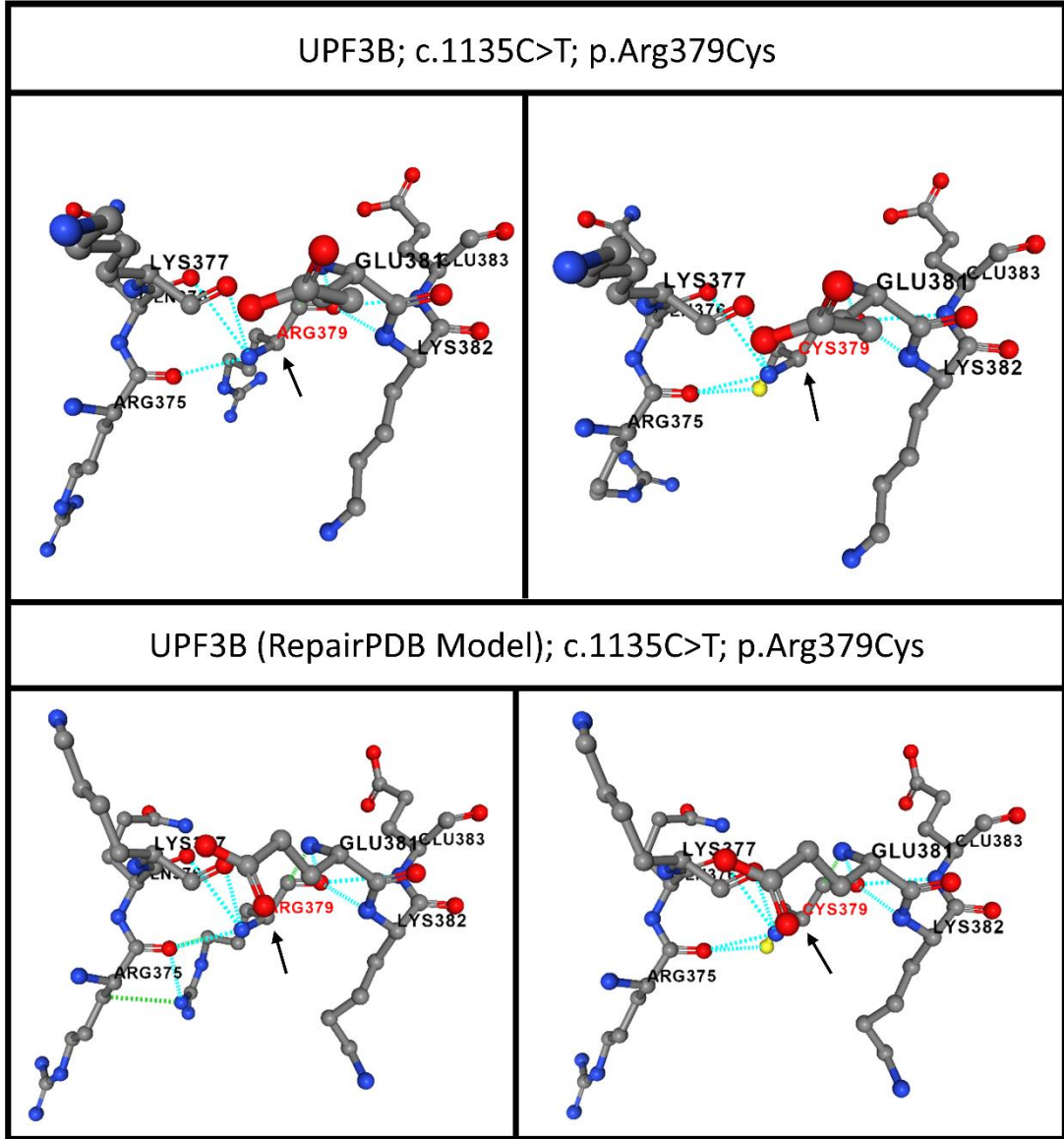
Ek 14: VARs2 proteininin doğal (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-A0A0G2JL52-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr367 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr367Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



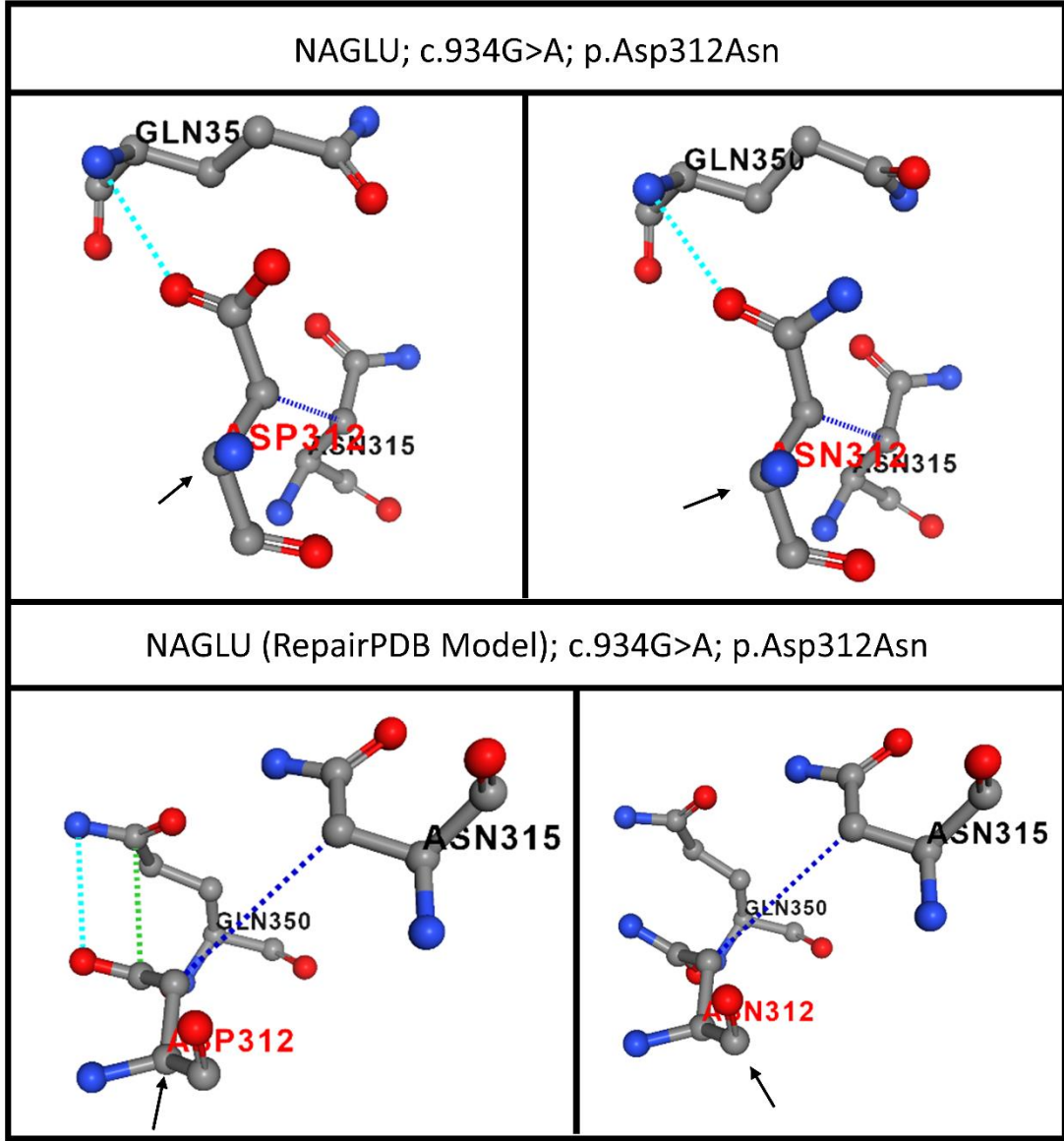
Ek 15: SLC19A3 proteininin doğal (AF-Q9BZV2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZV2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly430 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly430Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



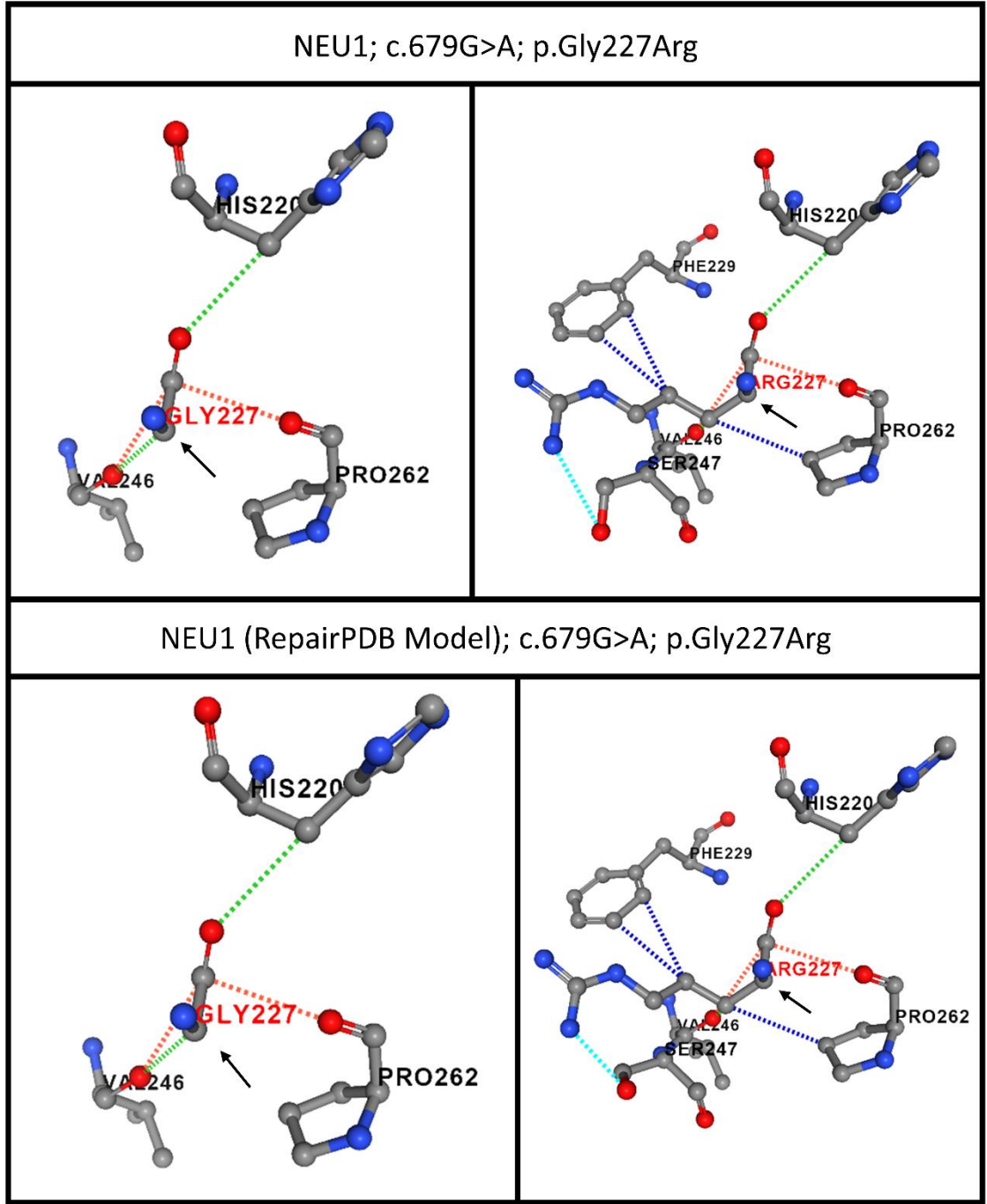
Ek 16: ADA2 proteininin doğal (AF-Q9NZK5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NZK5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro193 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro193Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



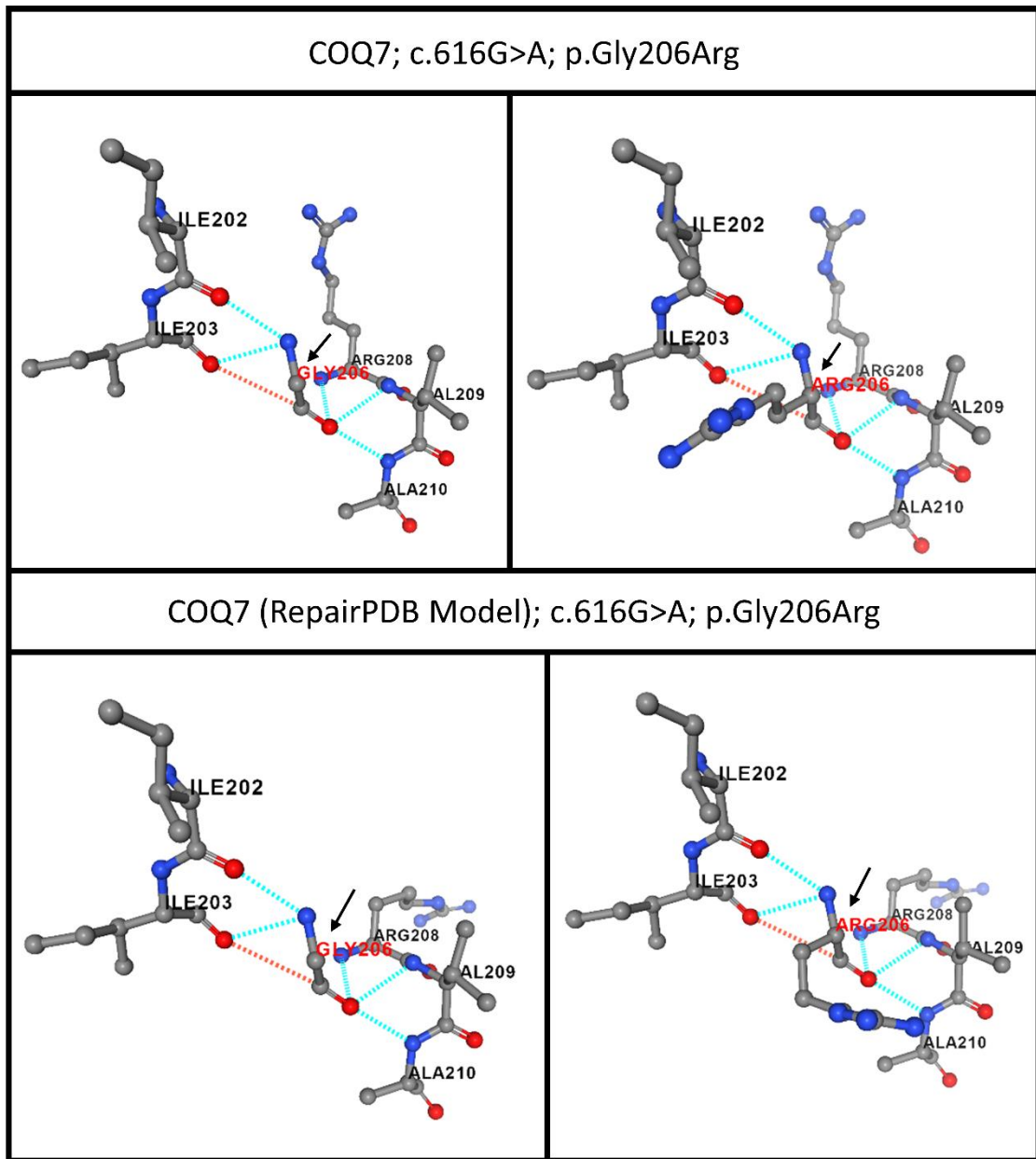
Ek 17: UPF3B proteininin doğal (AF-Q9BZI7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BZI7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg379 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg379Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



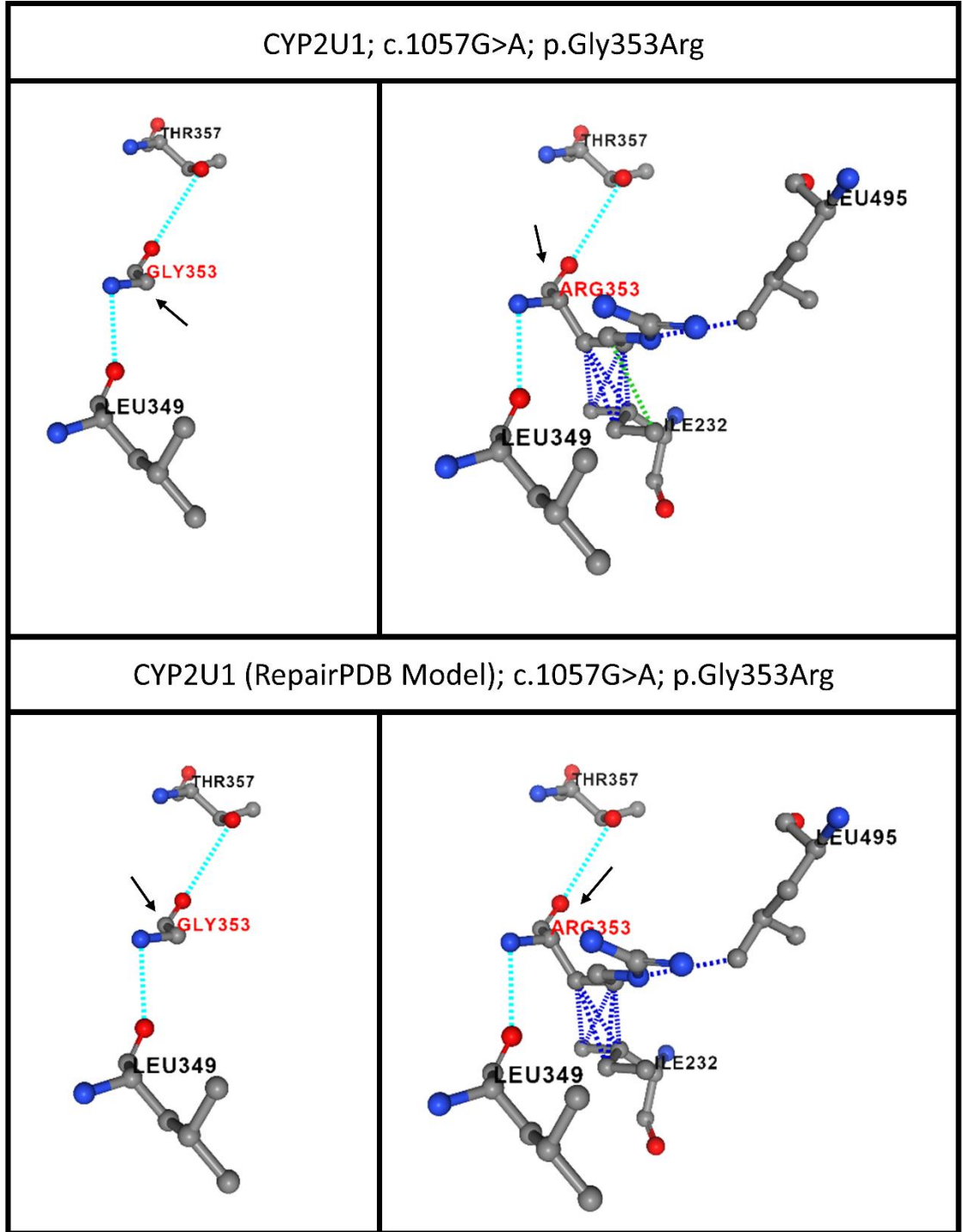
Ek 18: NAGLU proteininin doğal (AF-P54802-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P54802-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp312 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp312Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



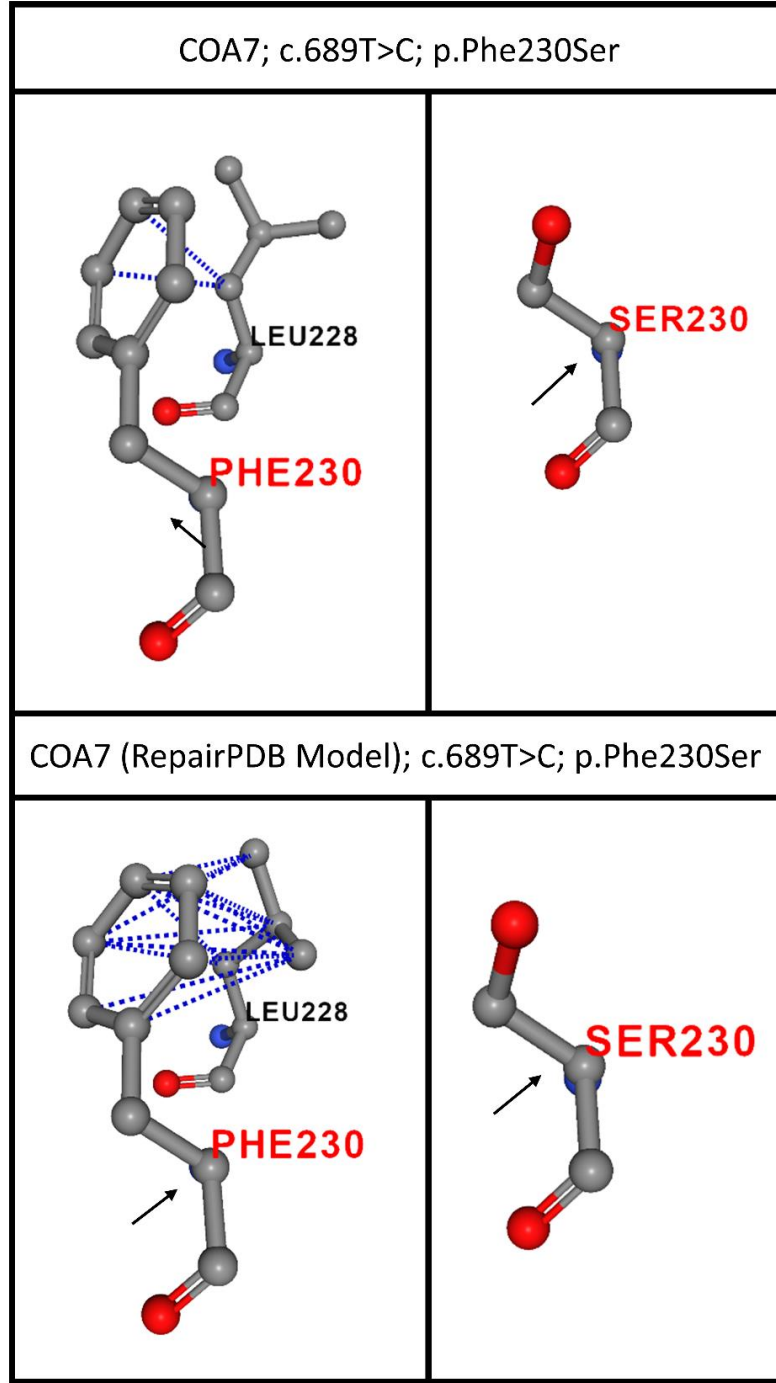
Ek 19: NEU1 proteininin doğal (AF-Q99519-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99519-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly227 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly227Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



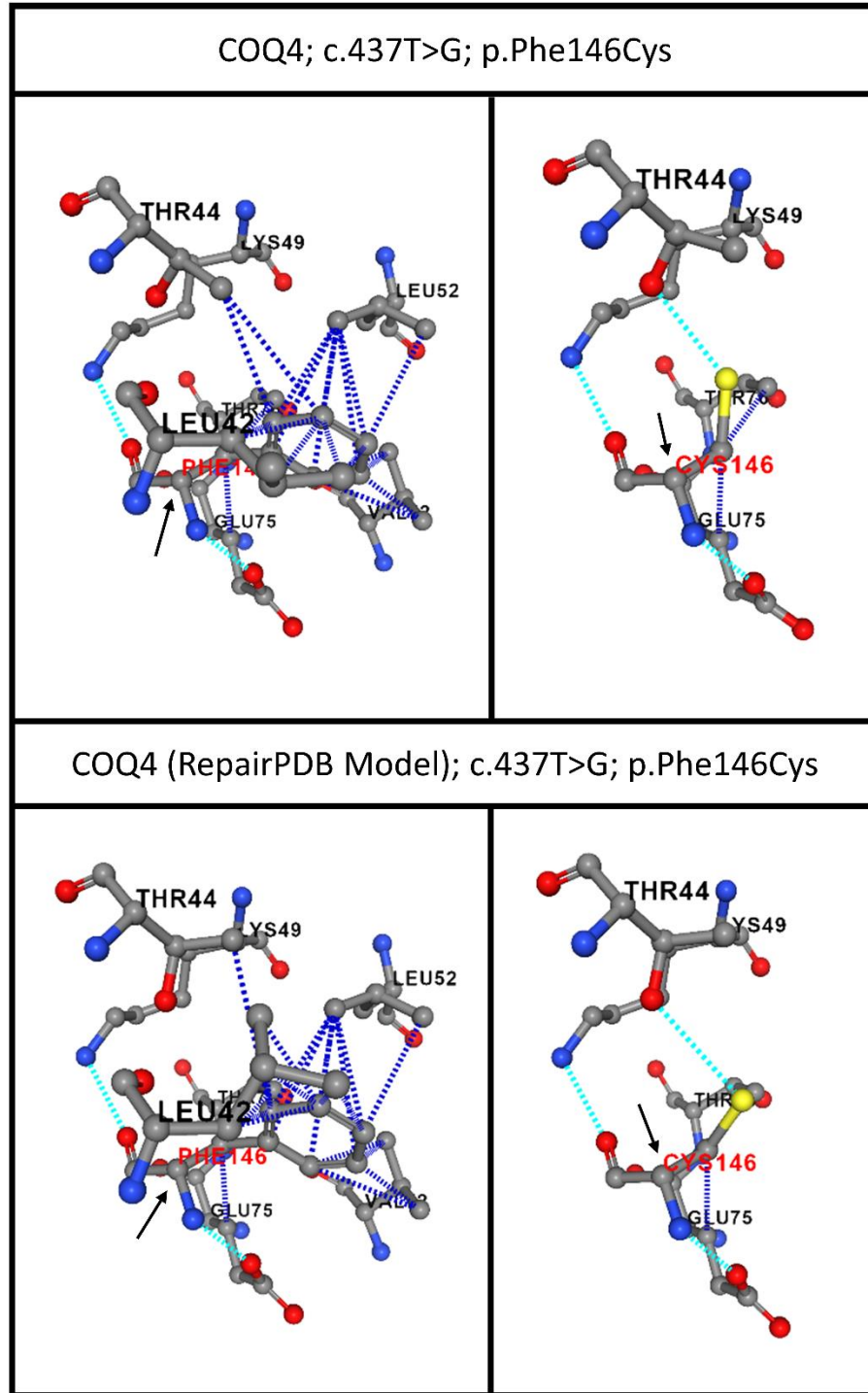
Ek 20: COQ7 proteininin doğal (AF-Q99807-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99807-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly206 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly206Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



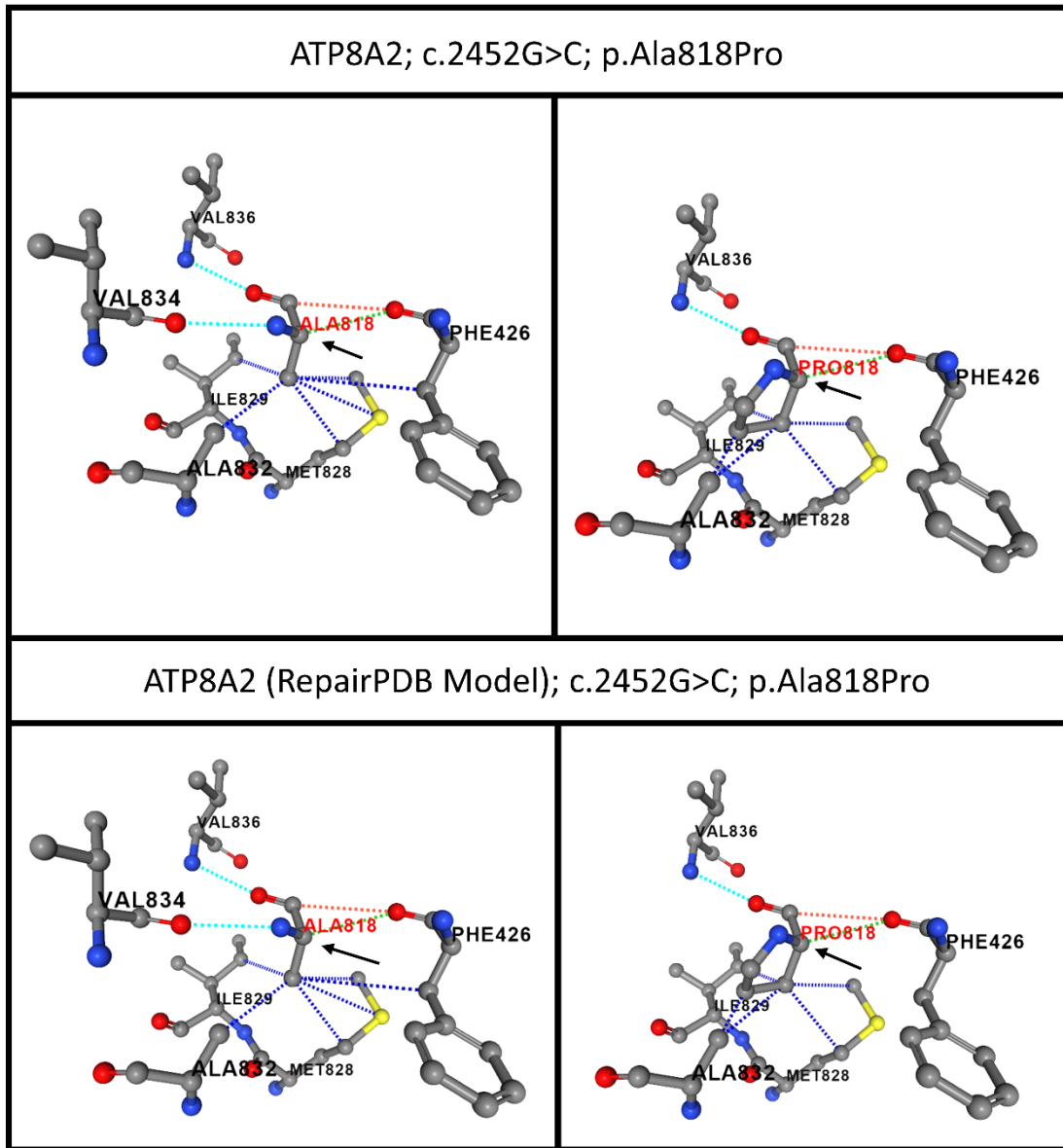
Ek 21: CYP2U1 proteininin doğal (AF-Q7Z449-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q7Z449-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly353 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly353Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



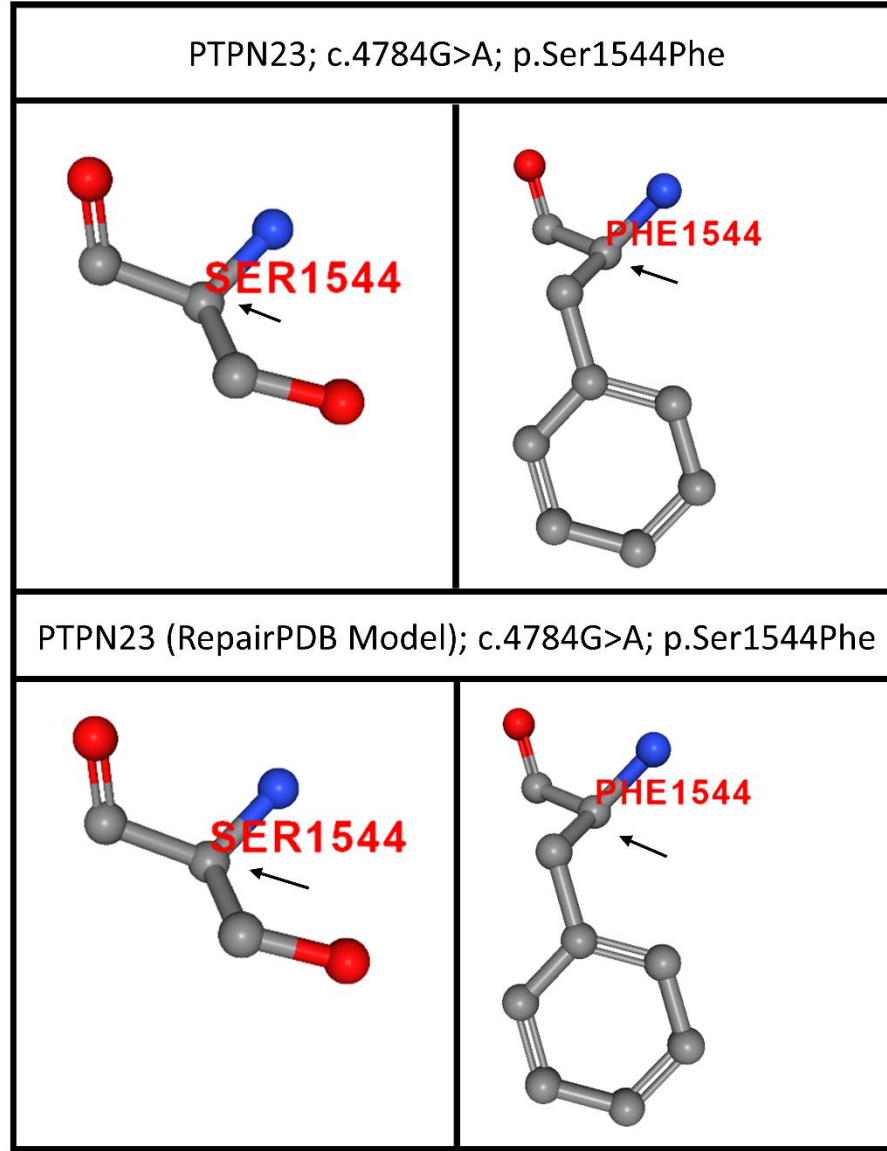
Ek 22: COA7 proteininin doğal (AF-Q96BR5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96BR5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe230 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe230Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



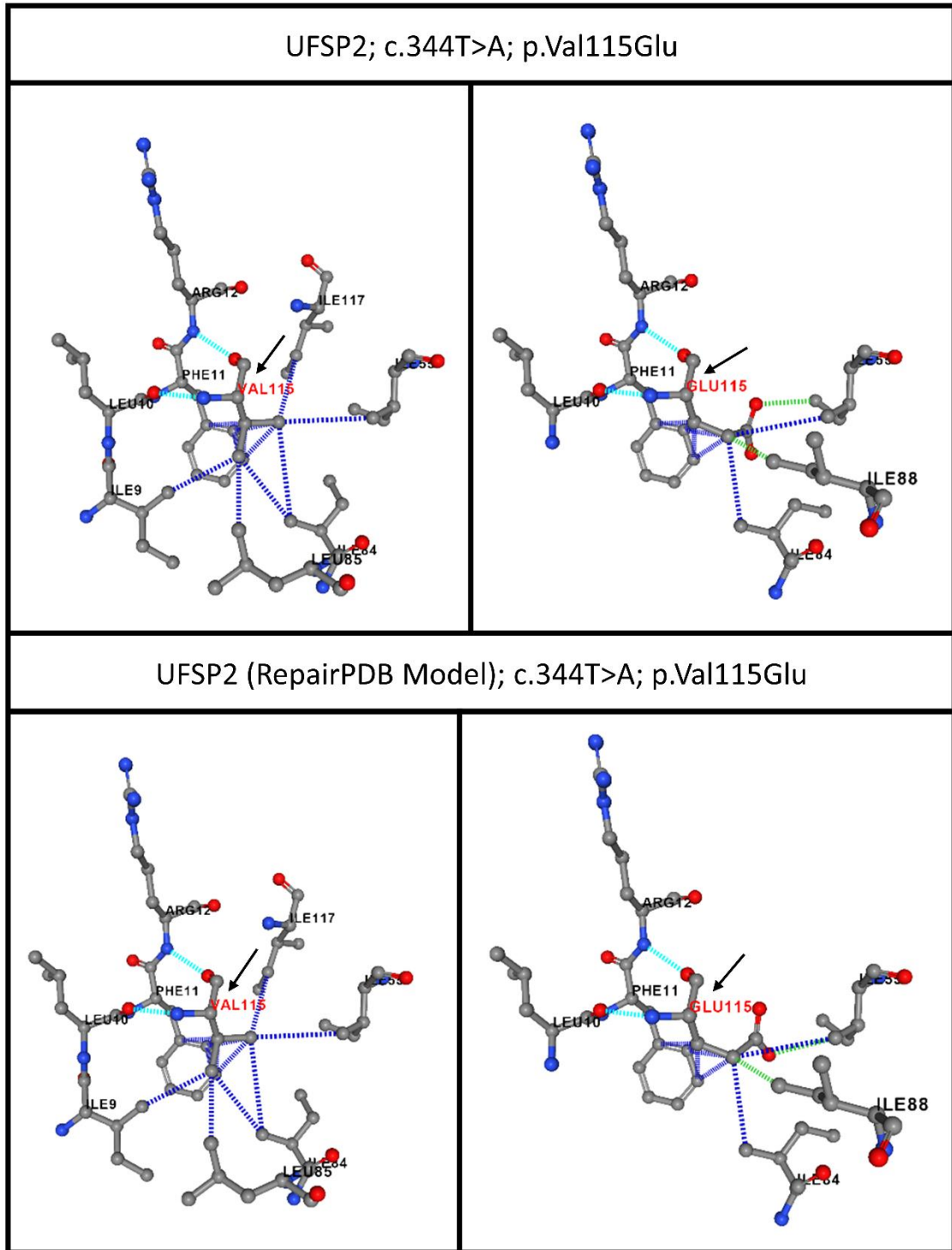
Ek 23: COQ4 proteininin doğal (AF-Q9Y3A0-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9Y3A0-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe146 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe146Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



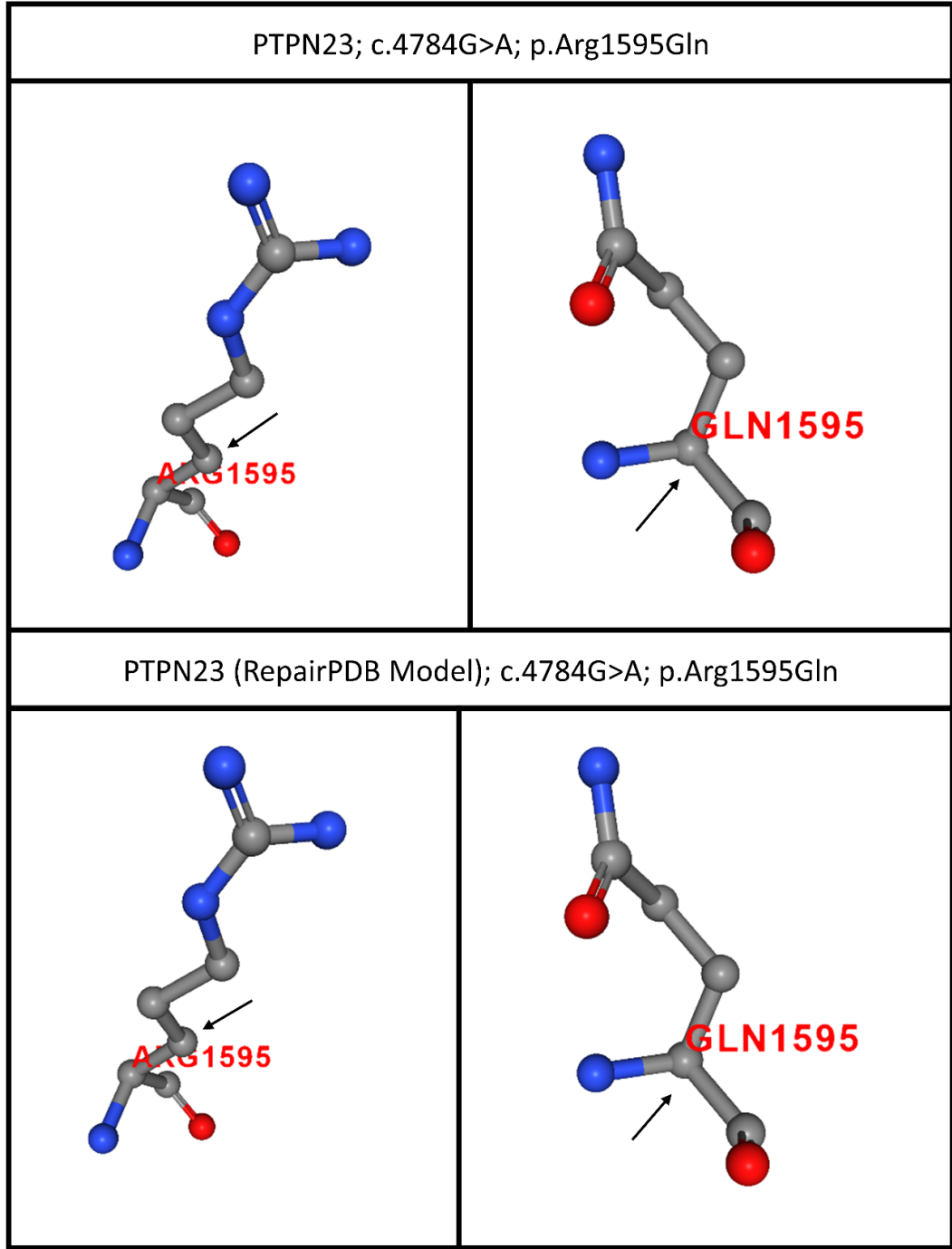
Ek 24: ATP8A2 proteininin doğal (AF-Q9NTI2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NTI2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ala818 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ala818Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



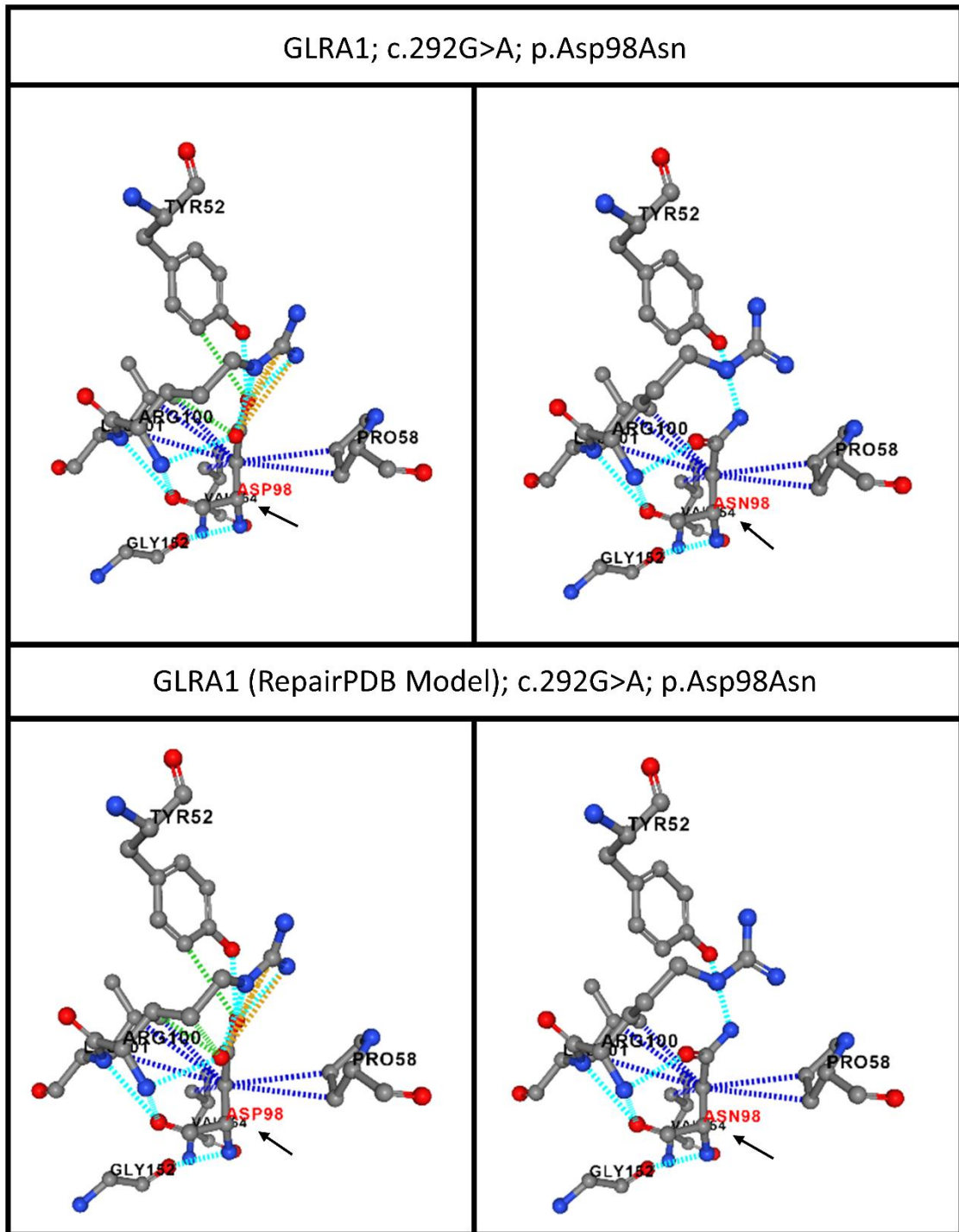
Ek 25: PTPN23 proteininin doğal (AF-Q9H3S7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser1544 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser1544Phe varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



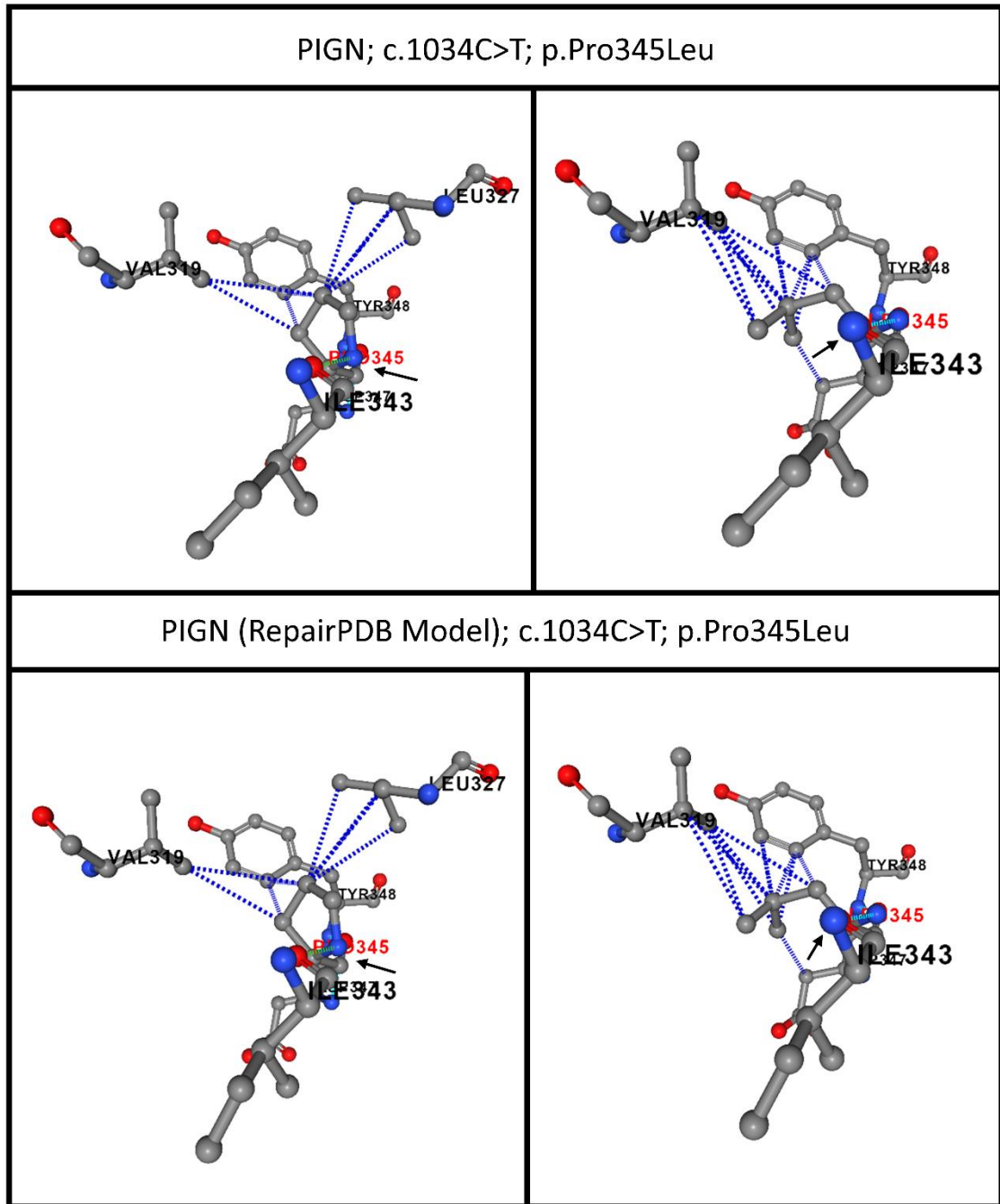
Ek 26: UFSP2 proteininin doğal (AF-Q9NUQ7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9NUQ7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val115 amino asit etkileşimlerinin ve p.Val115Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



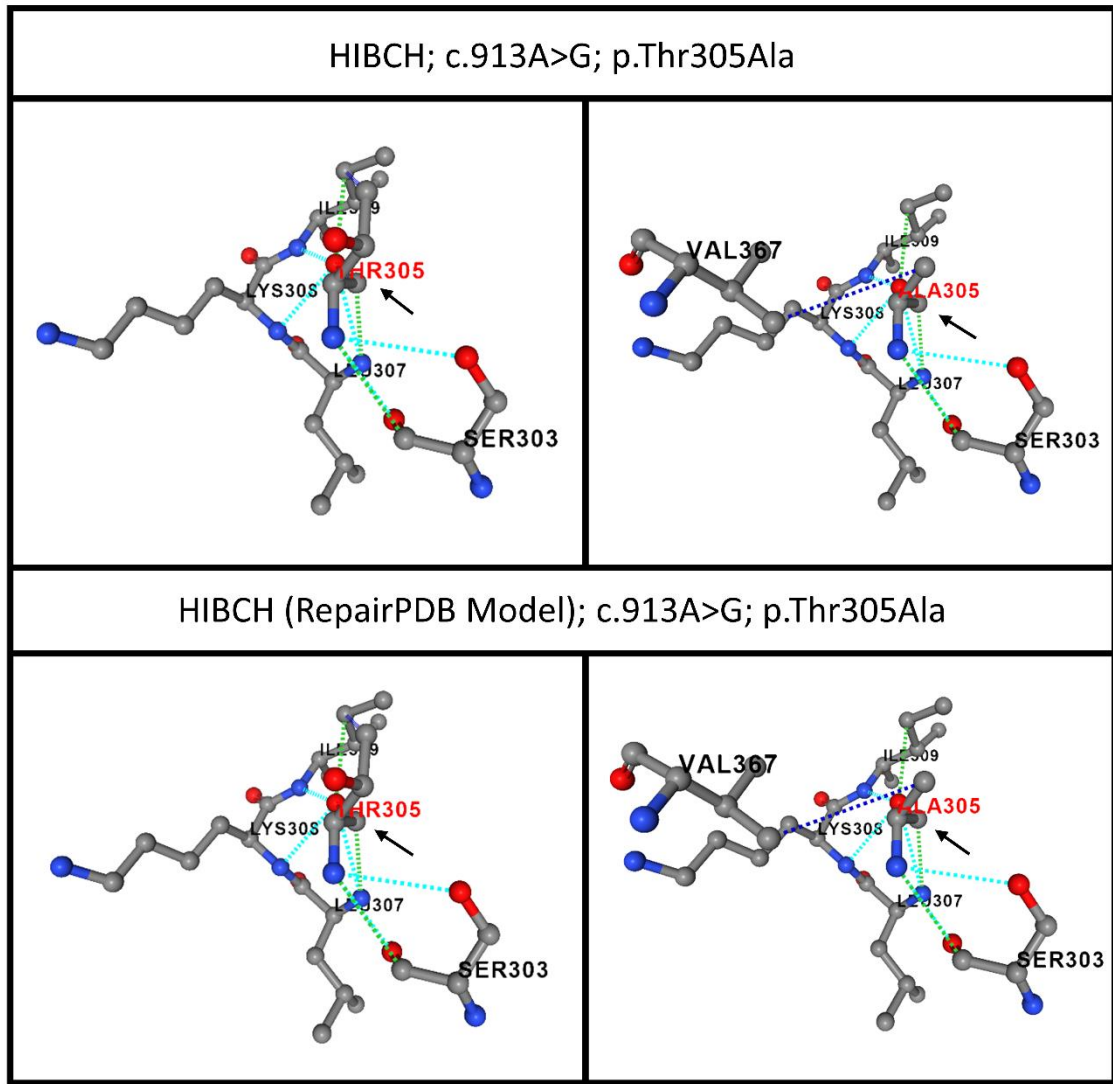
Ek 27: PTPN23 proteininin doğal (AF-Q9H3S7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H3S7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg1595 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg1595Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



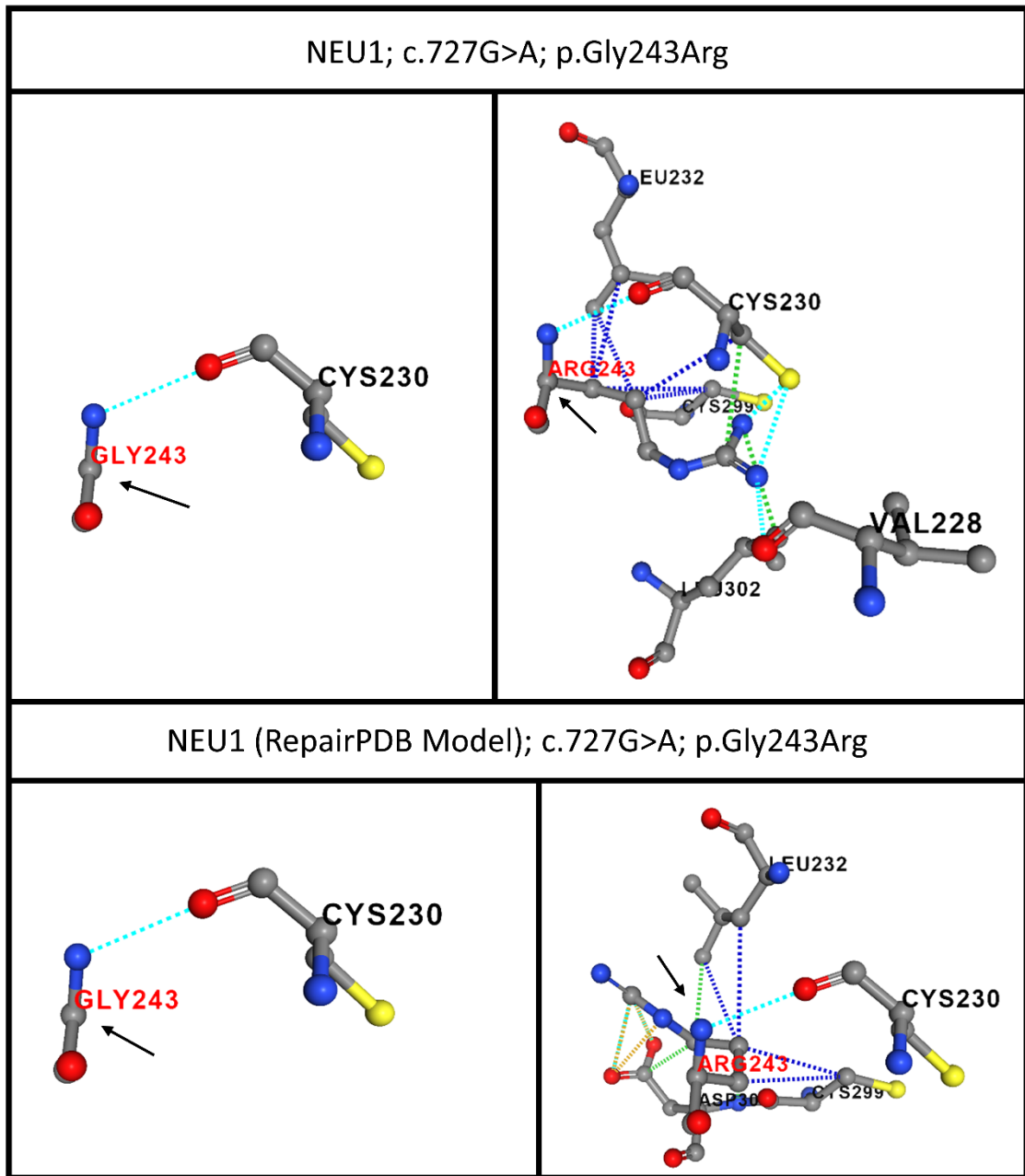
Ek 28: GLRA1 proteininin doğal (AF-P23415-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23415-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp98 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp98Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



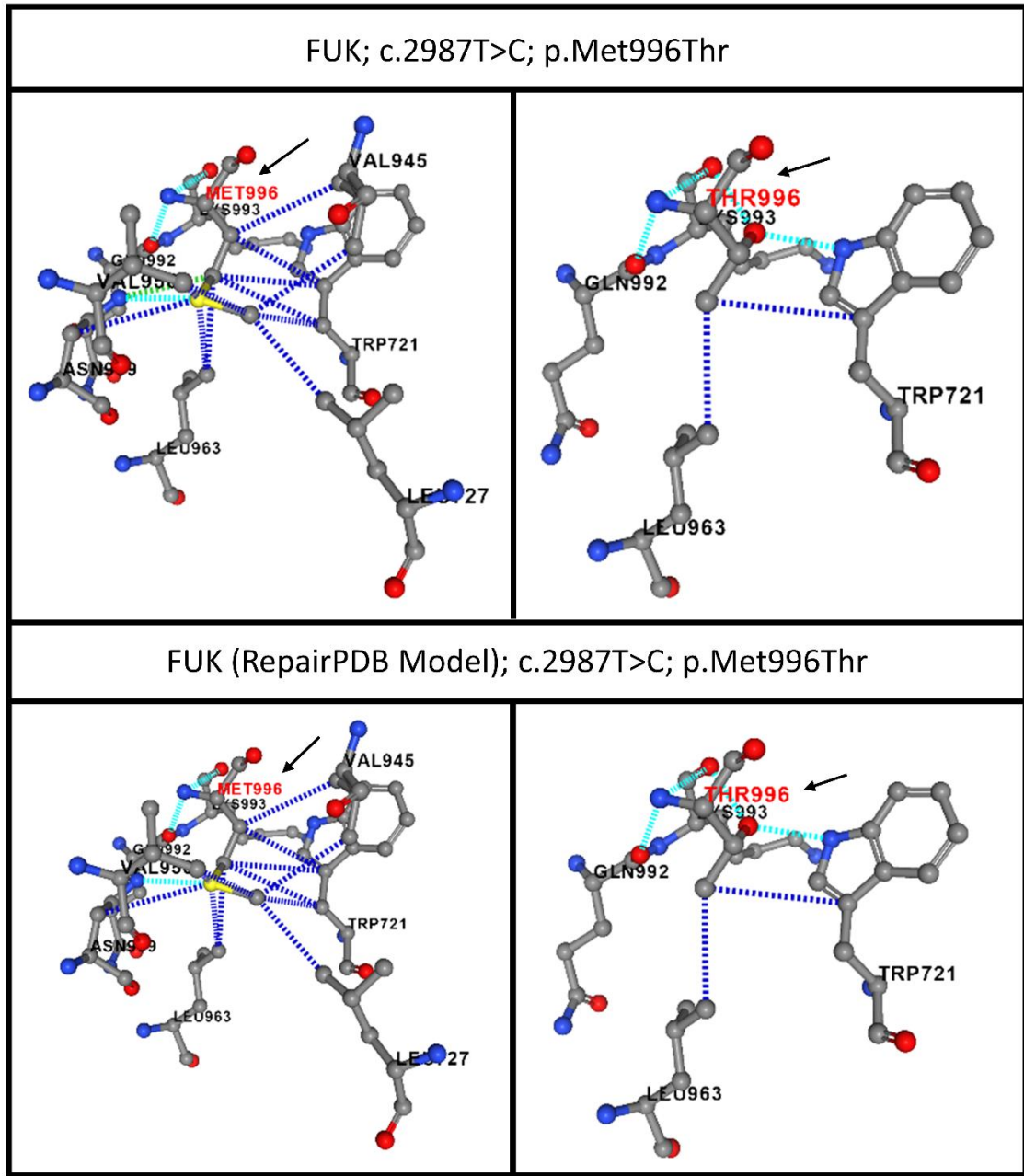
Ek 29: PIGN proteininin doğal (AF-O95427-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95427-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro345 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro345Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



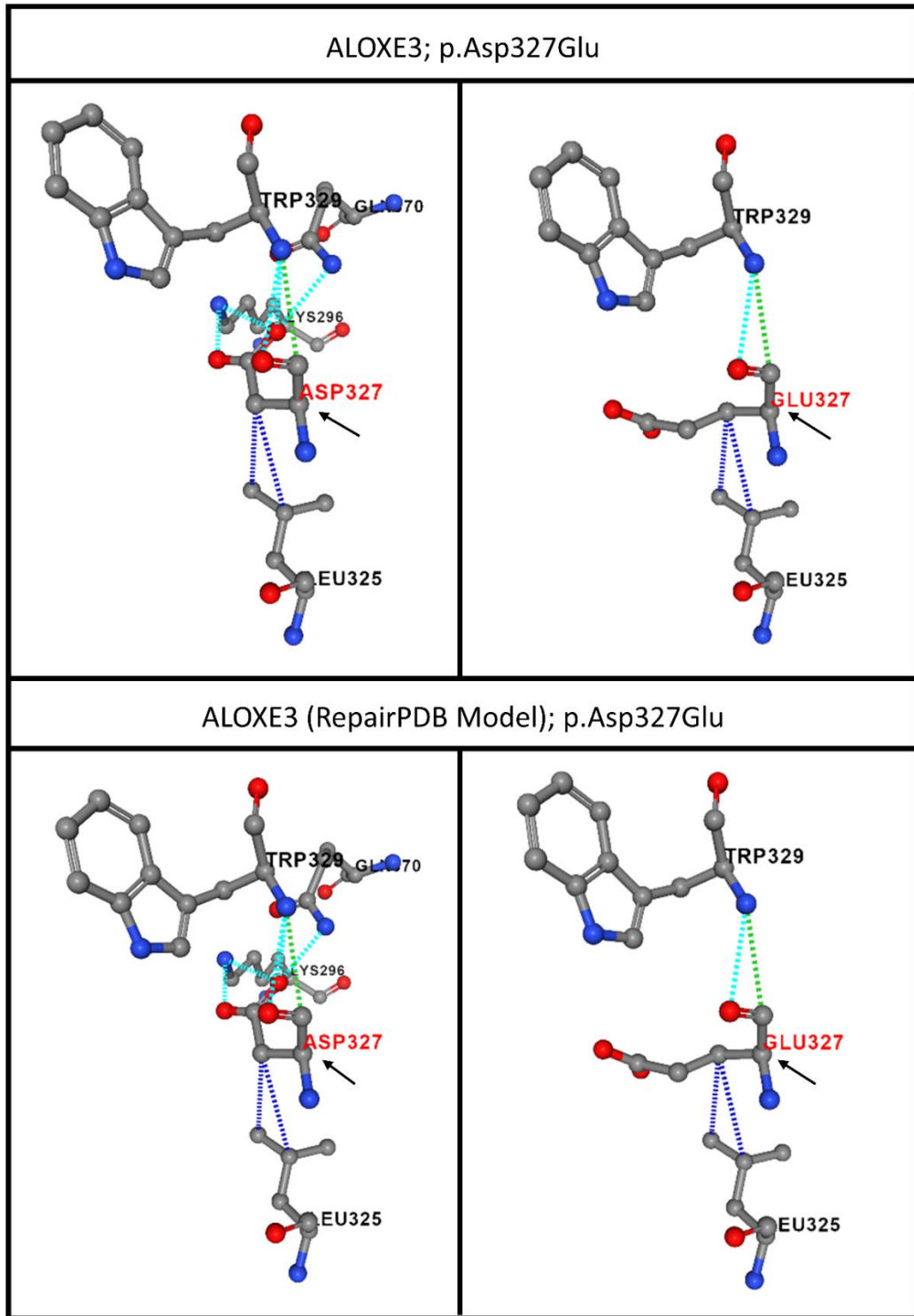
Ek 30: HIBCH proteininin doğal (AF-Q6NVY1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q6NVY1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr305 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr305Ala varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



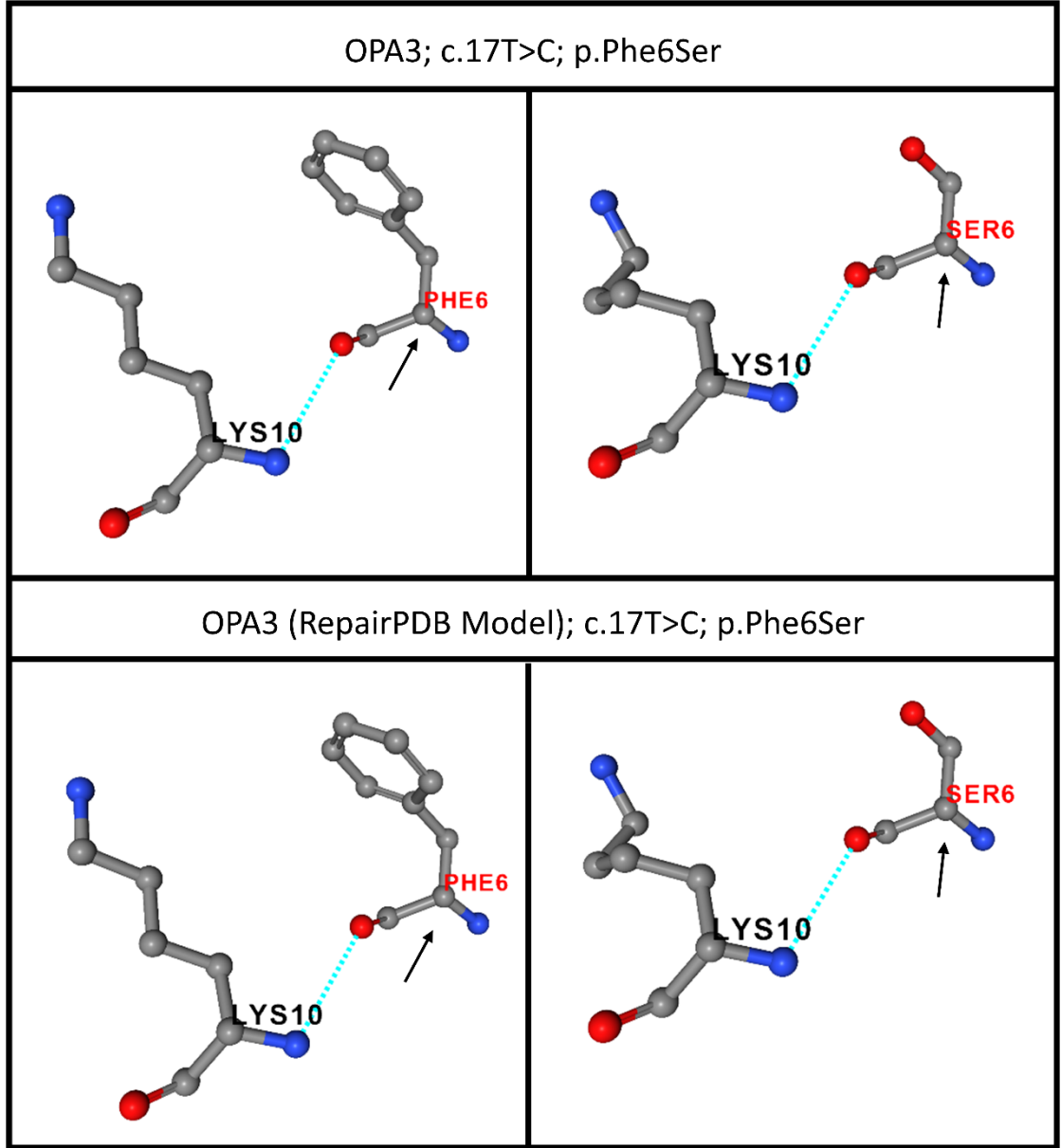
Ek 31: NEU1 proteininin doğal (AF-Q99519-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q99519-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly243 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly243Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



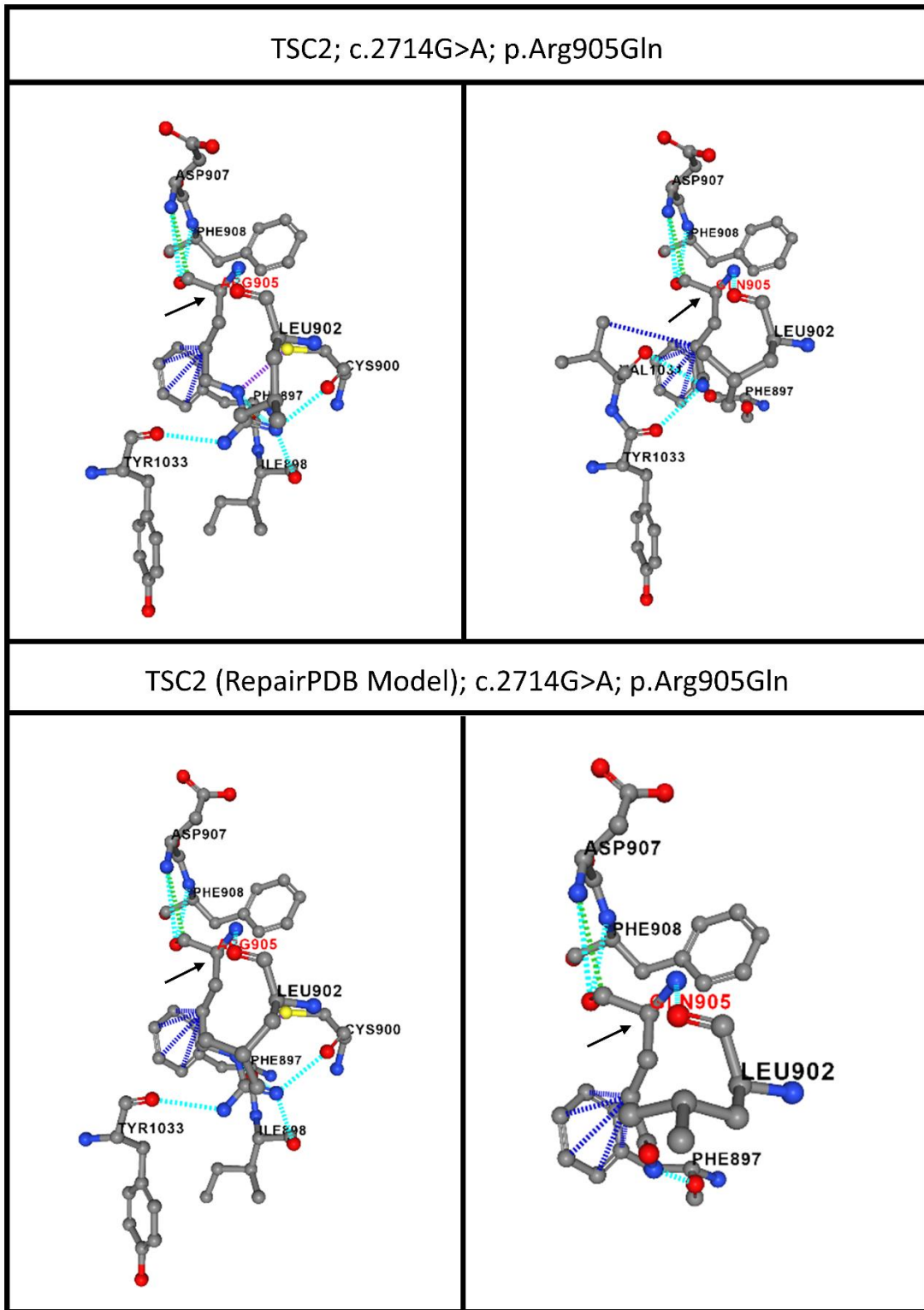
Ek 32: FUK proteininin doğal (AF-Q8N0W3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8N0W3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Met996 amino asit etkileşimlerinin ve p.Met996Thr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



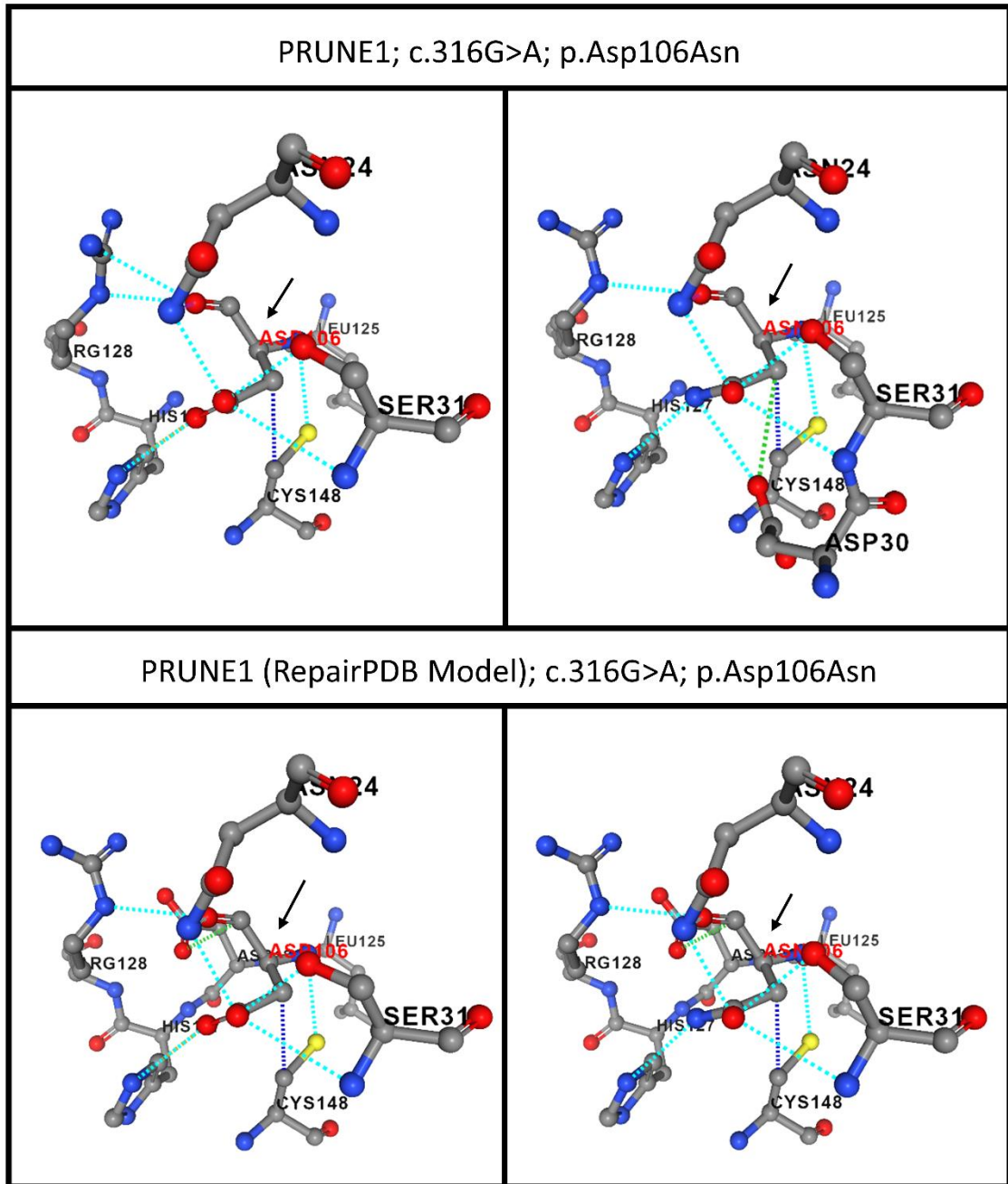
Ek 33: ALOXE3 proteininin doğal (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BYJ1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp327 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp327Glu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



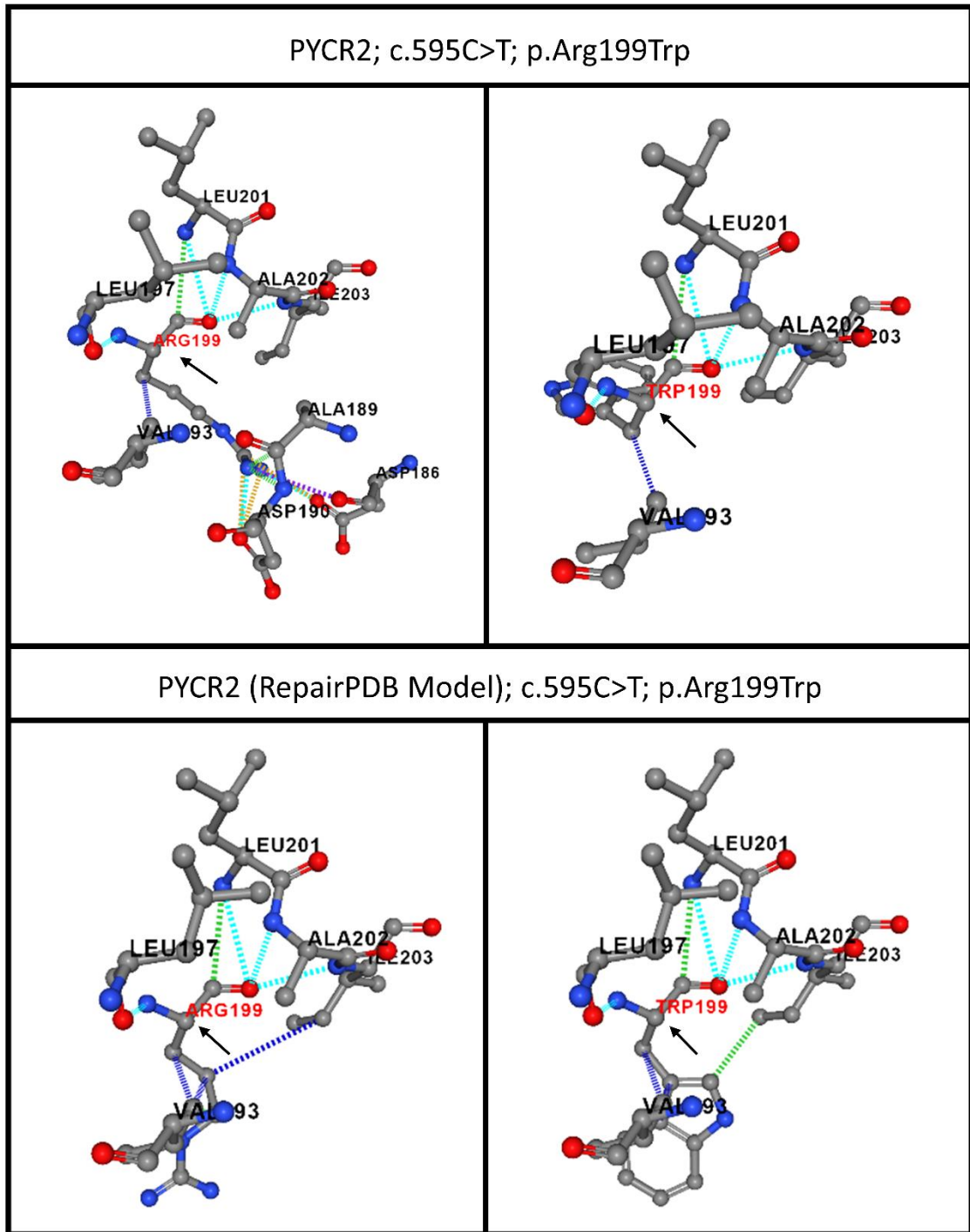
Ek 34: OPA3 proteininin doğal (AF-Q9H6K4-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H6K4-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Phe6 amino asit etkileşimlerinin ve p.Phe6Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



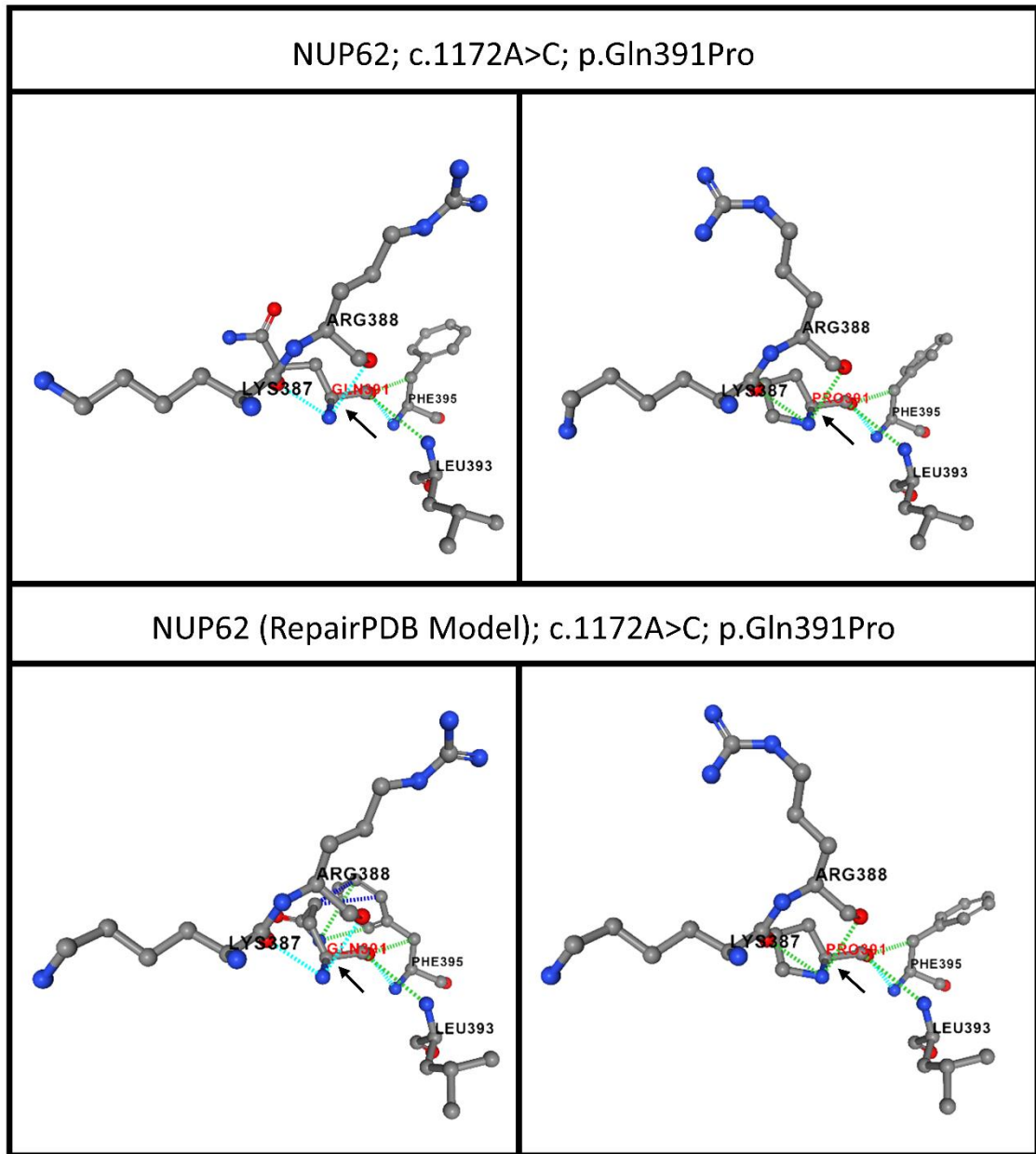
Ek 35: TSC2 proteininin doğal (AF-P49815-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P49815-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg905 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg905Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



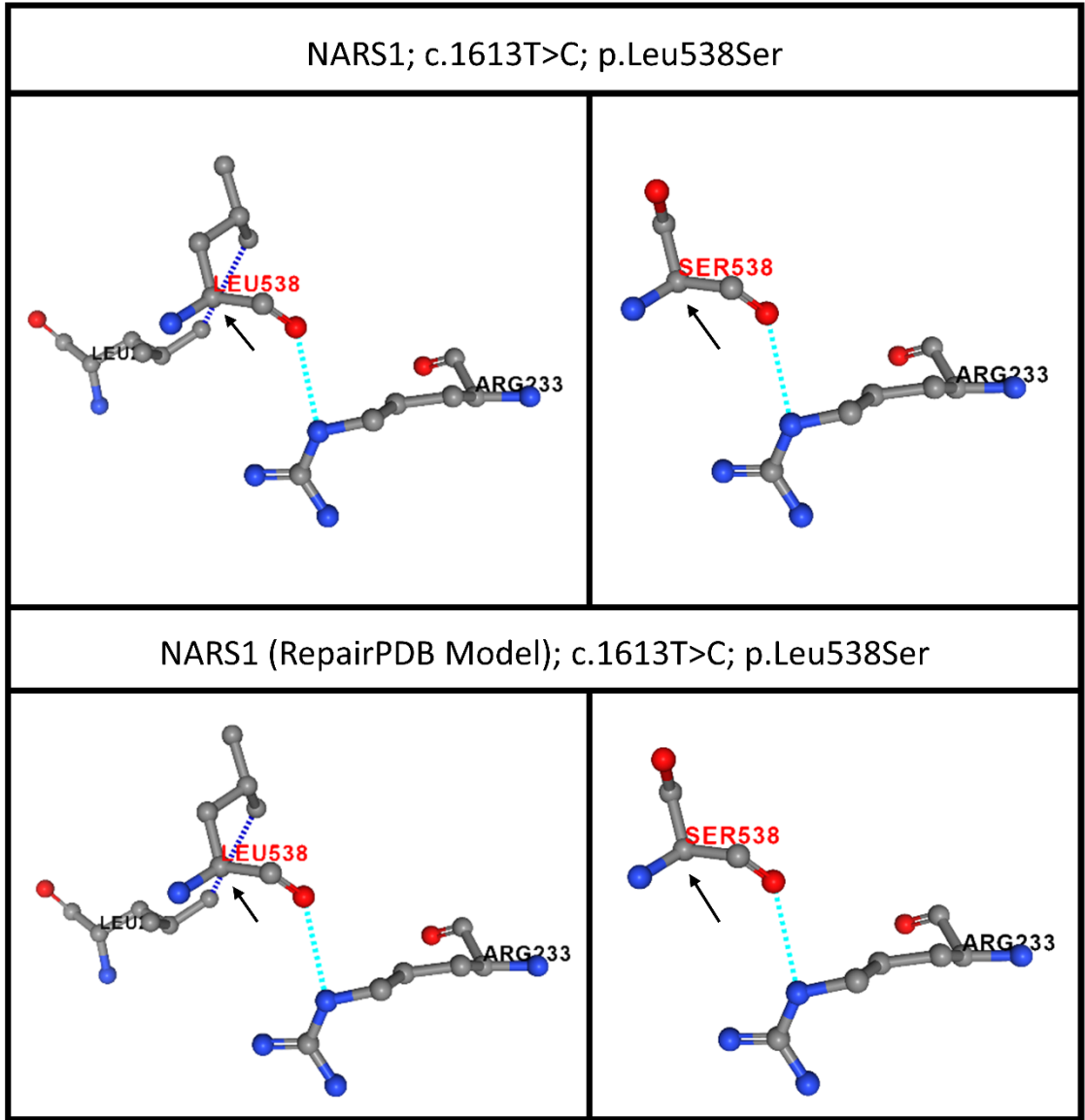
Ek 36: PRUNE1 proteininin doğal (AF-Q86TP1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q86TP1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asp106 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asp106Asn varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



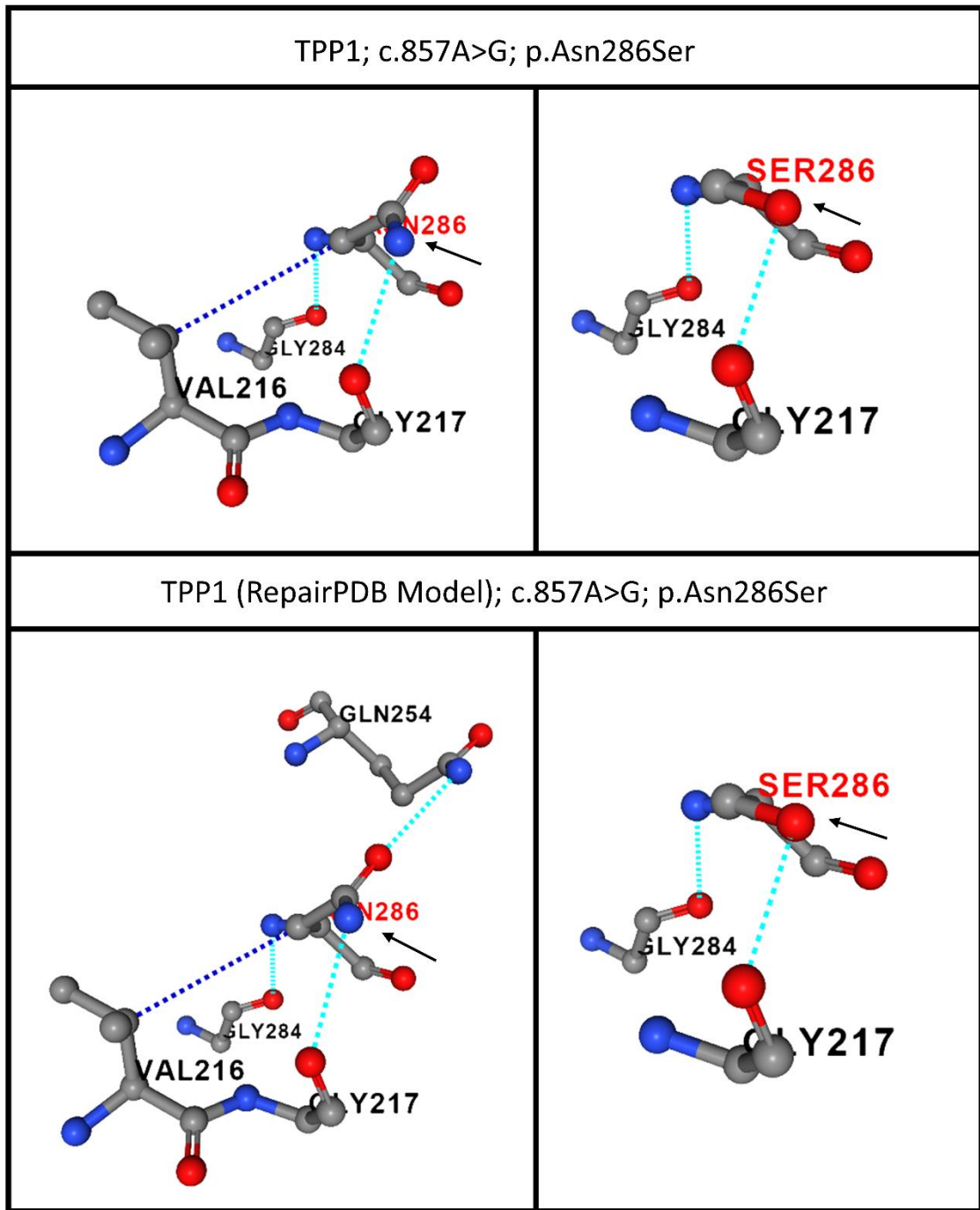
Ek 37: PYCR2 proteininin doğal (AF-Q96C36-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96C36-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg199 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg199Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



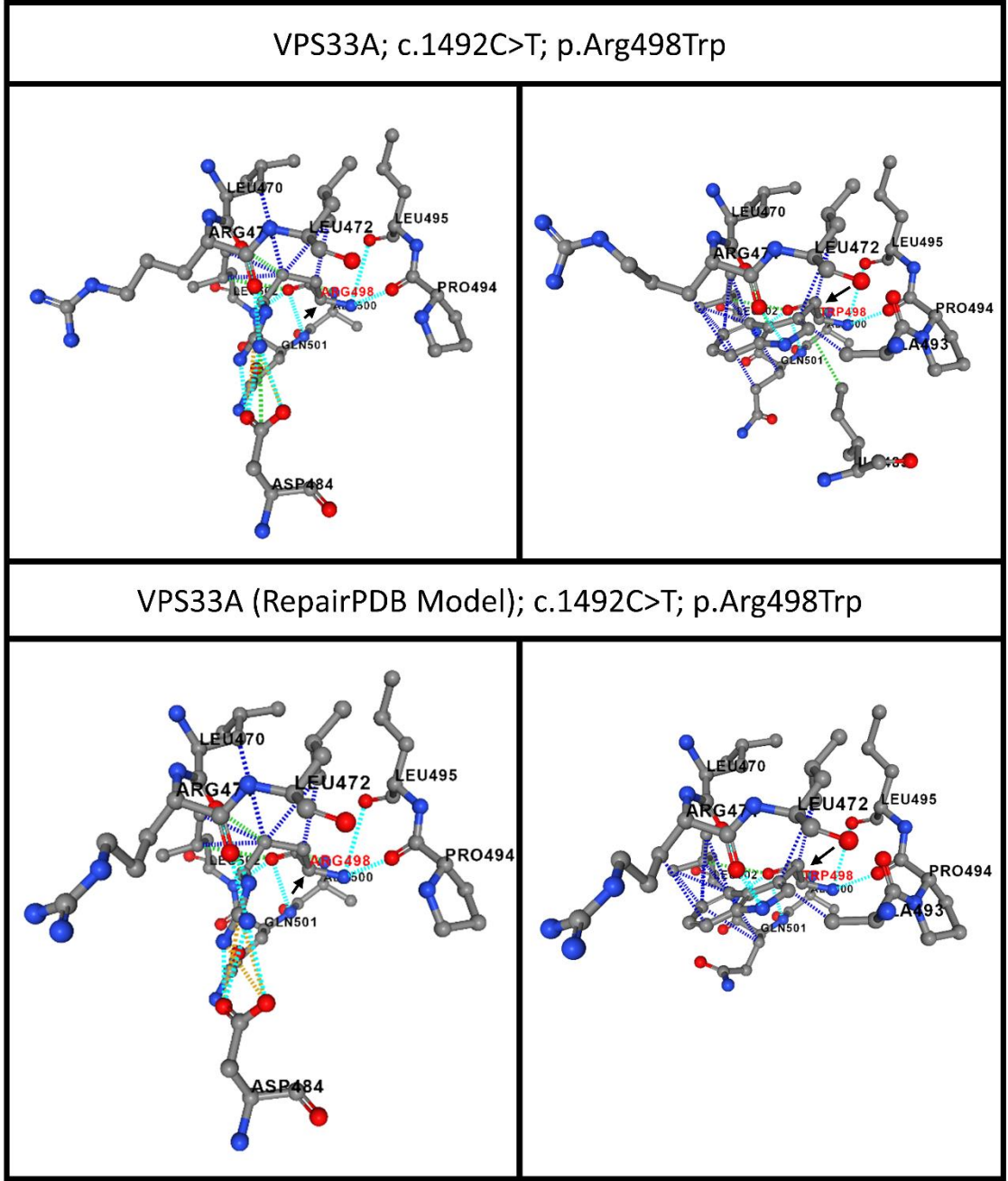
Ek 38: NUP62 proteininin doğal (AF-P37198-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P37198-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gln391 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gln391Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



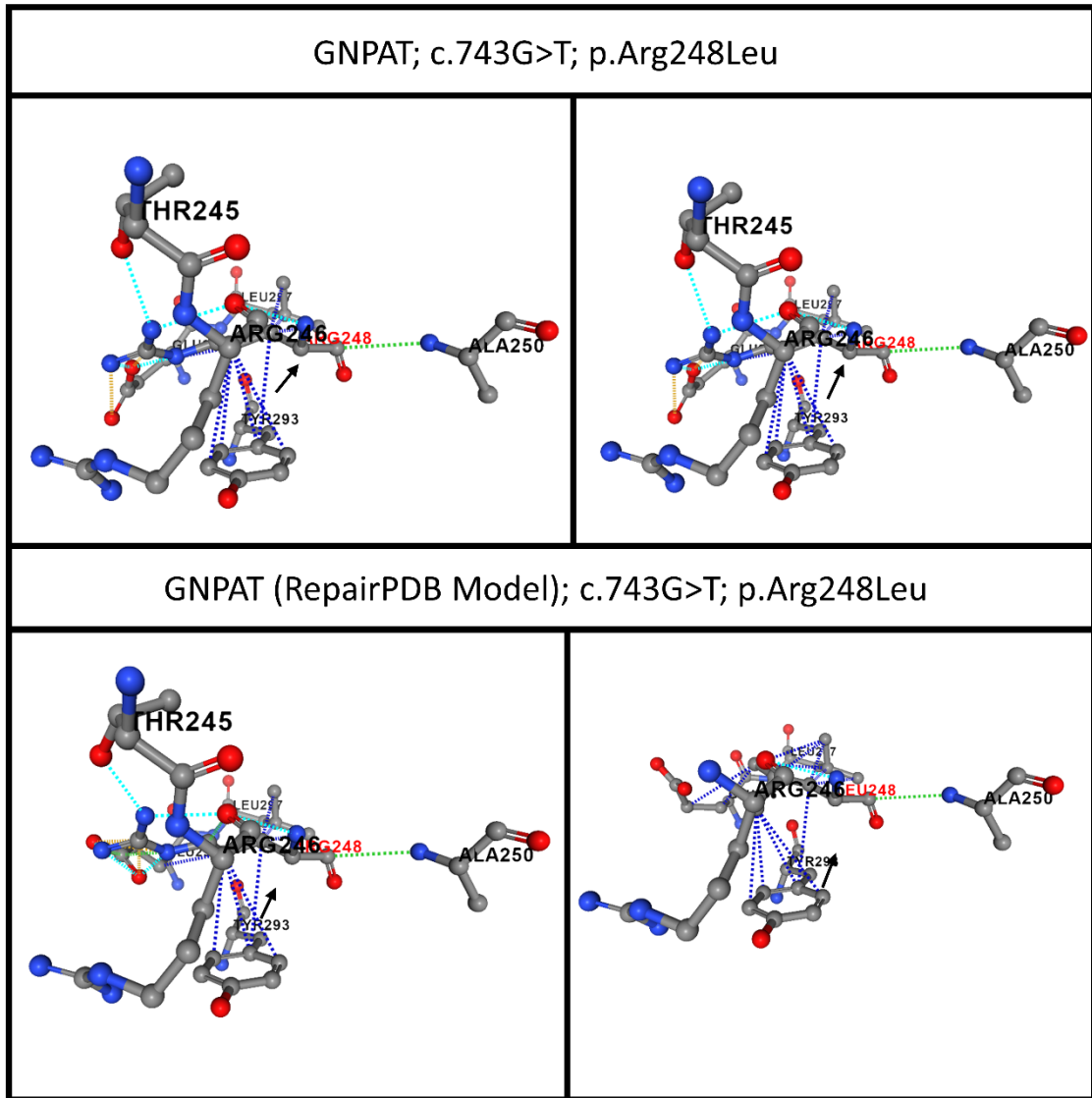
Ek 39: NARS1 proteininin doğal (AF-O43776-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43776-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu538 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu538Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



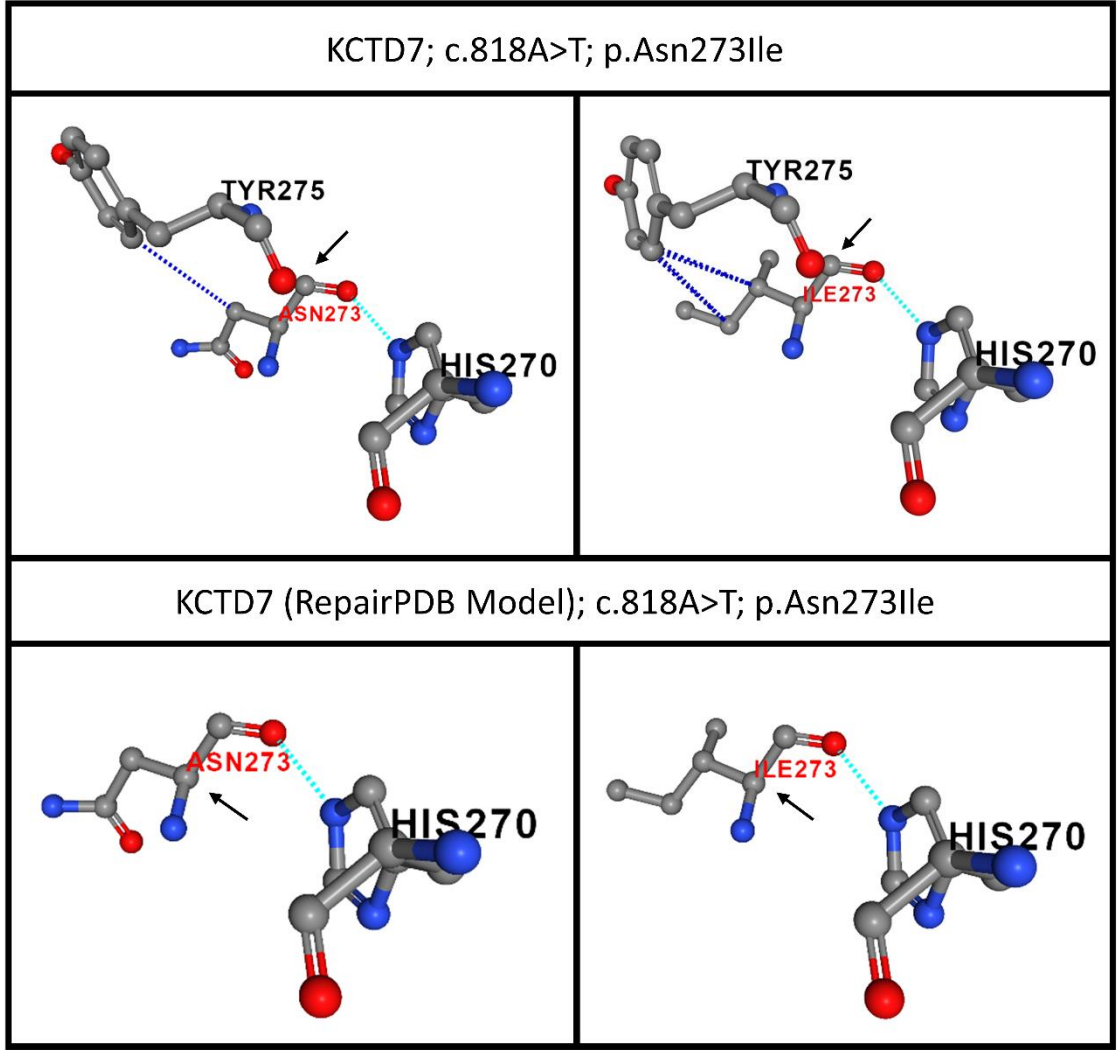
Ek 40: TPP1 proteininin doğal (AF-O14773-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O14773-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asn286 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn286Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



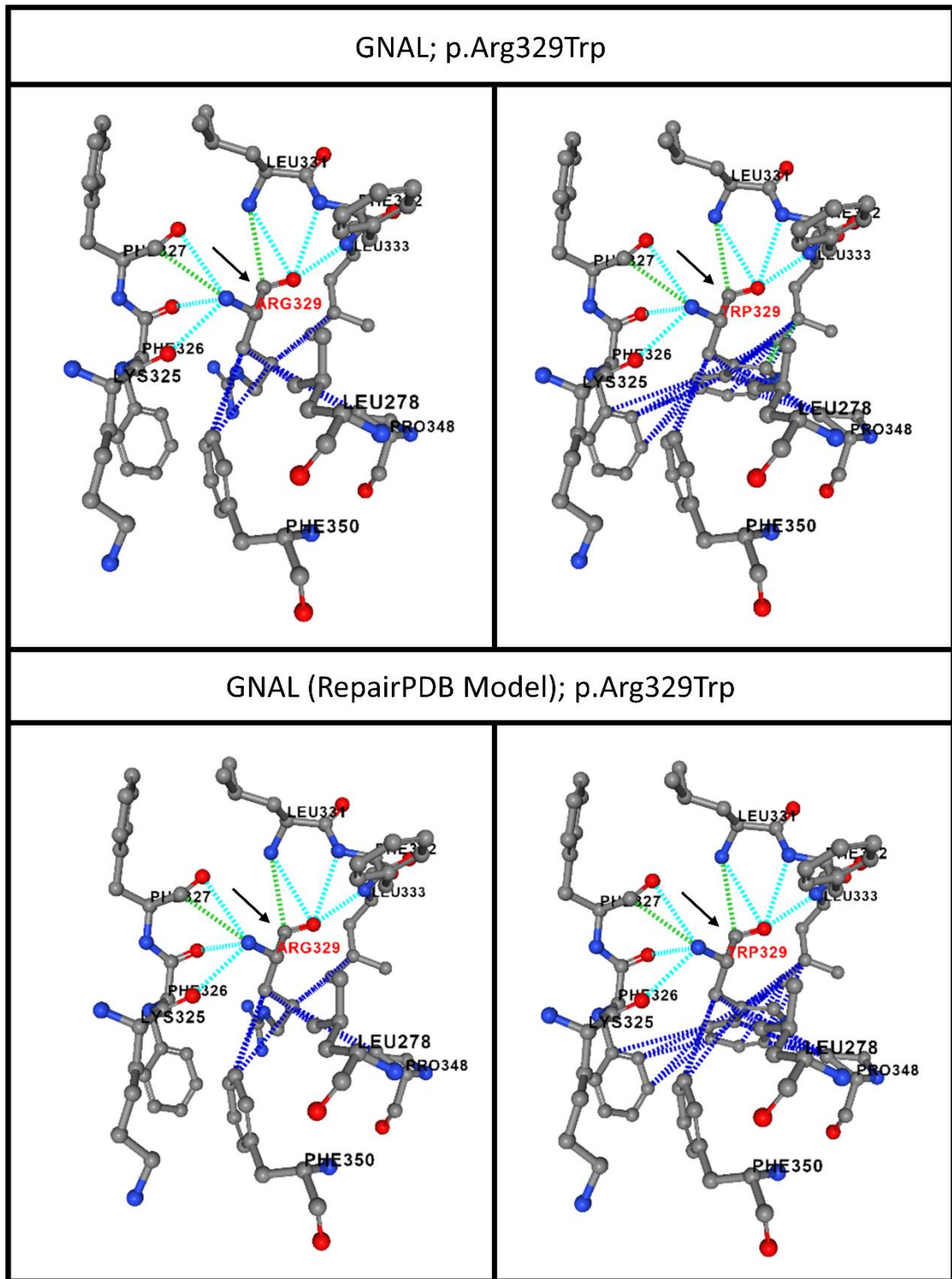
Ek 41: VPS33A proteininin doğal (AF-Q96AX1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96AX1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg498 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg498Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



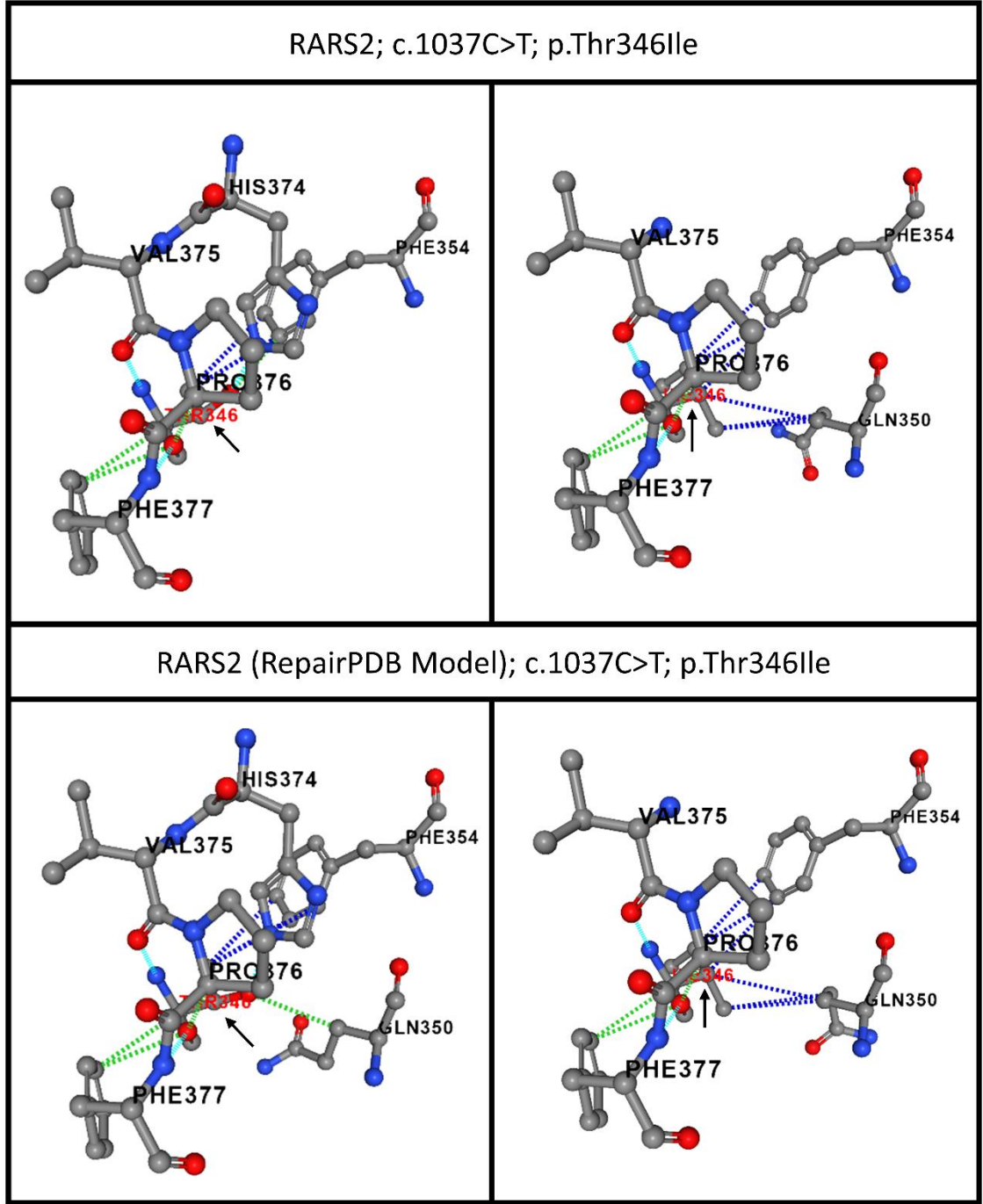
Ek 42: GNPAT proteininin doğal (AF-O15228-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O15228-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg248 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg248Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



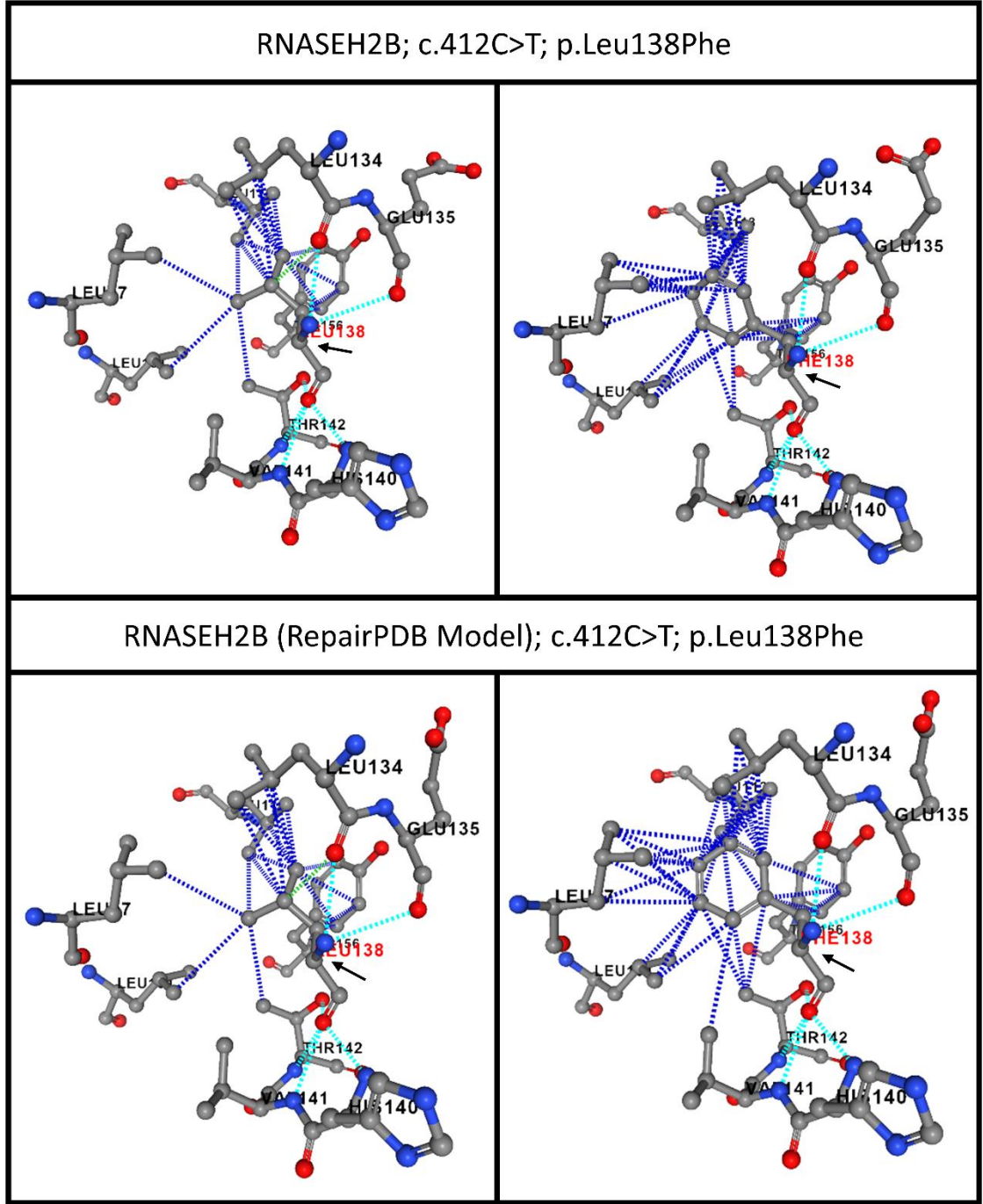
Ek 43: KCTD7 proteininin doğal (AF-Q96MP8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96MP8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asn273 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn273Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



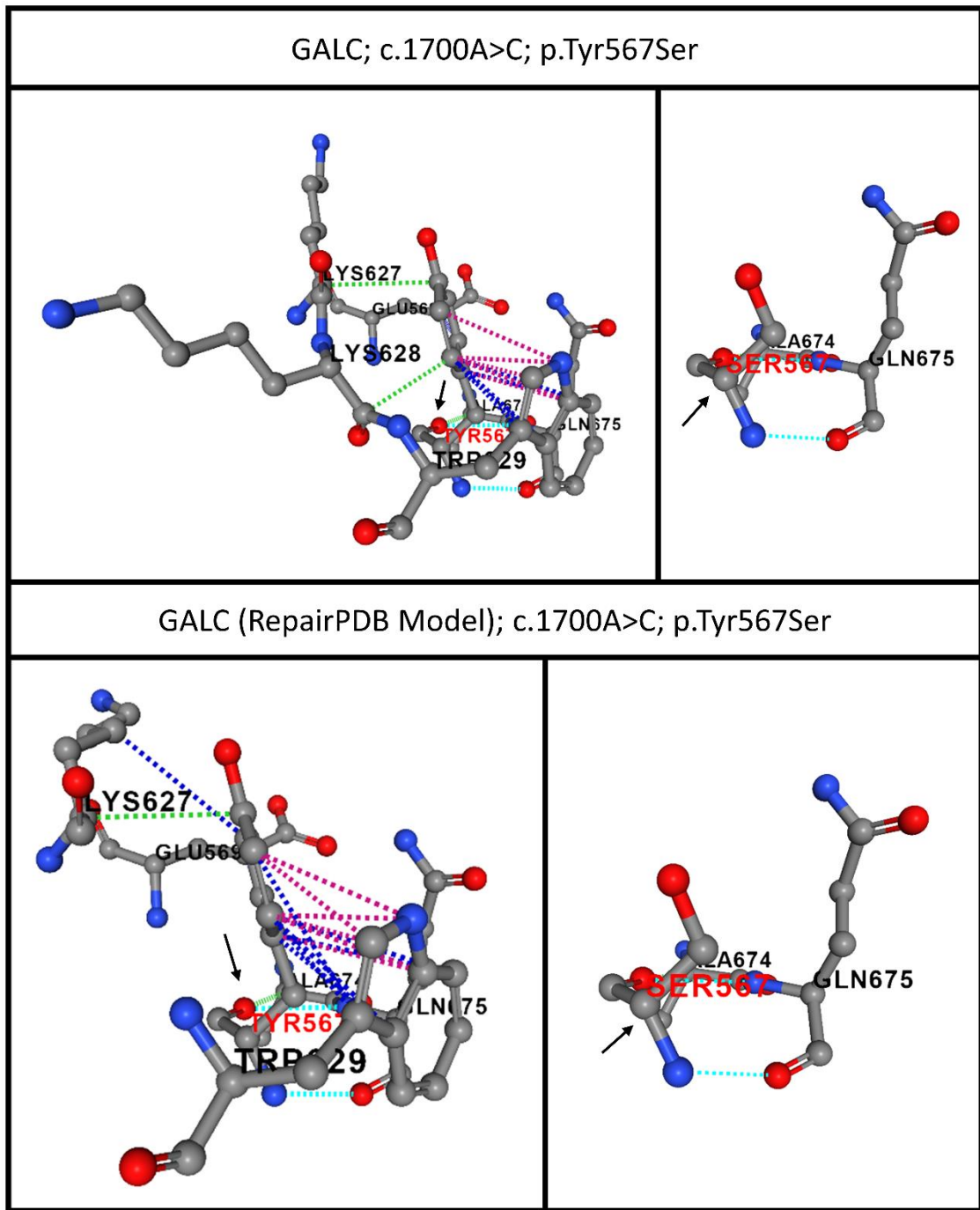
Ek 44: GNAL proteininin doğal (AF-P38405-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P38405-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg329 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg329Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



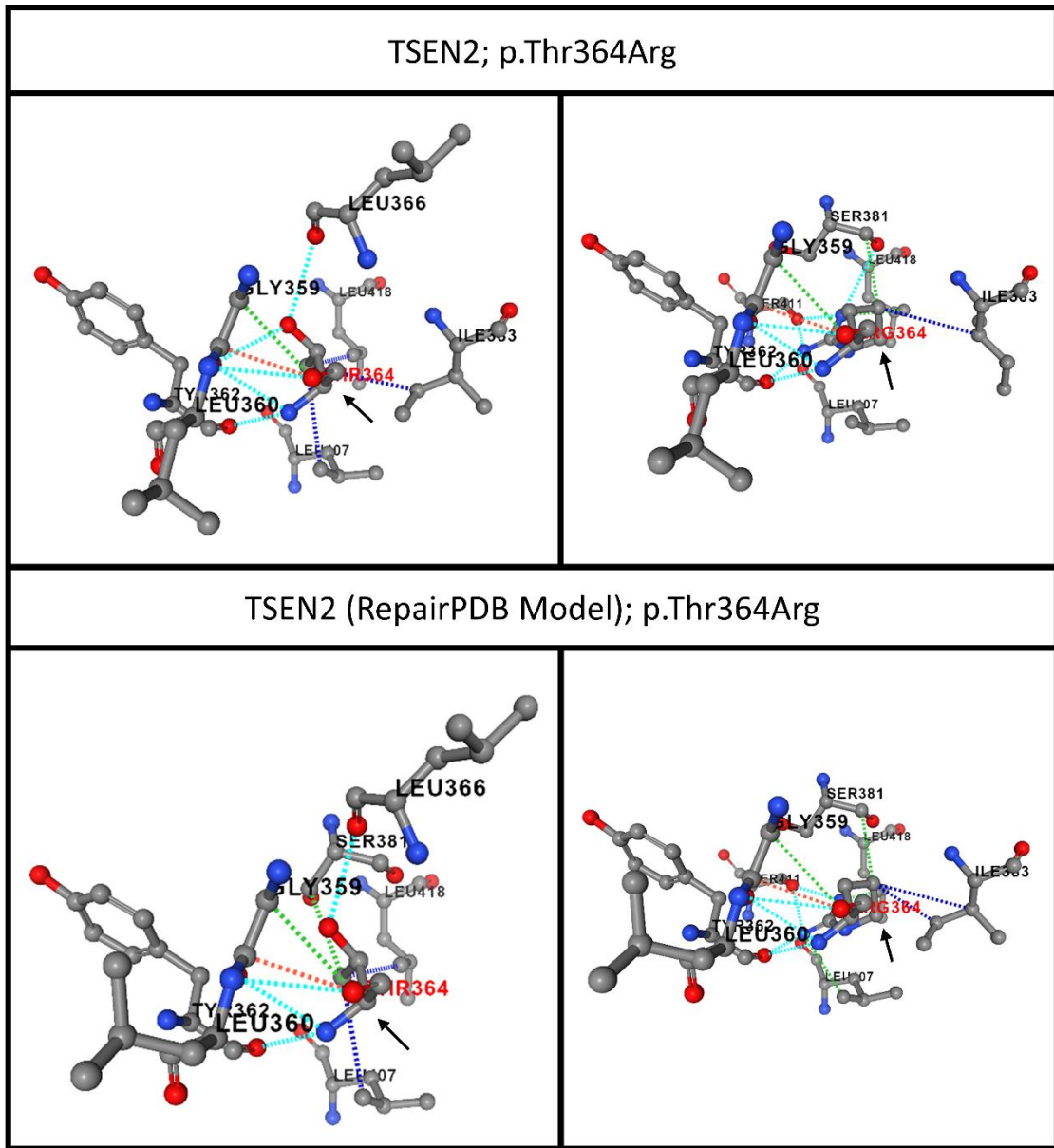
Ek 45: RARS2 proteininin doğal (AF-Q5T160-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5T160-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr346 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr346Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



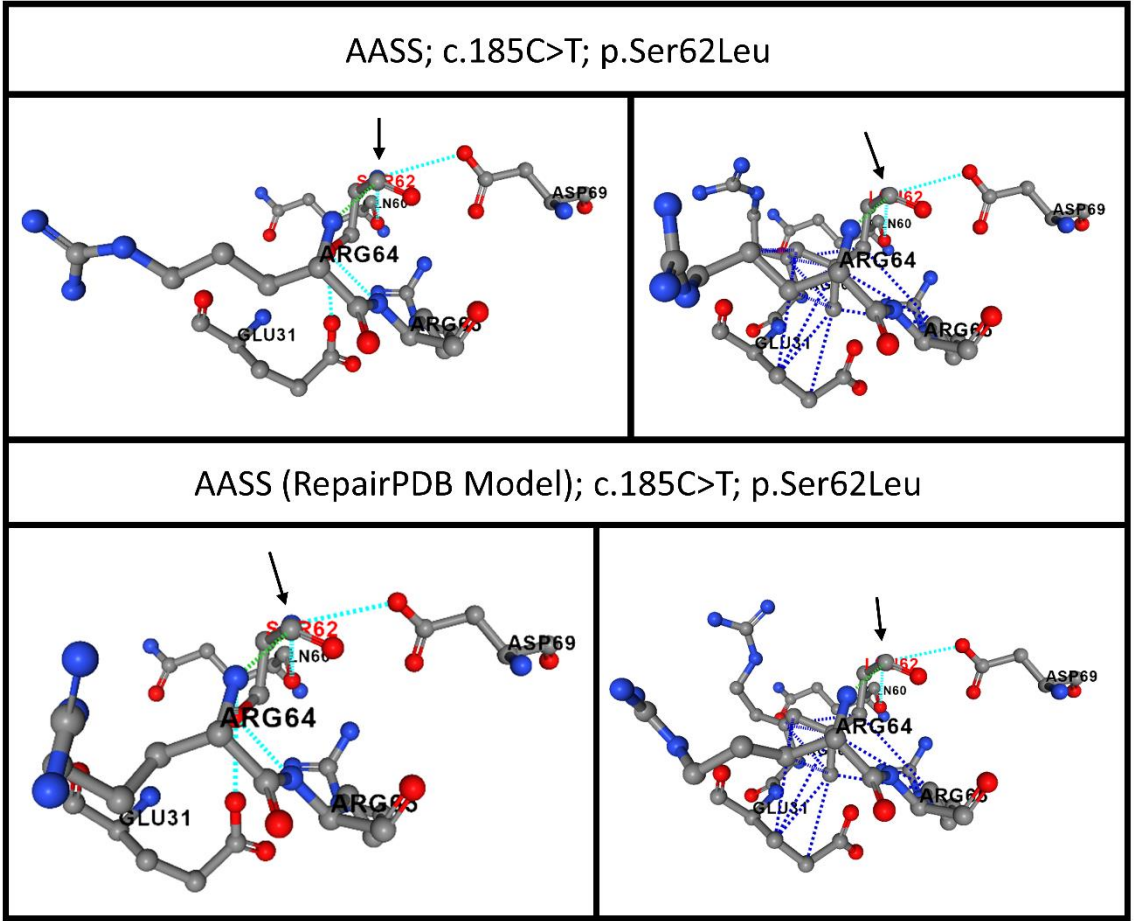
Ek 46: RNASEH2B proteininin doğal (AF-Q5TBB1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5TBB1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu138 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu138Phe varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



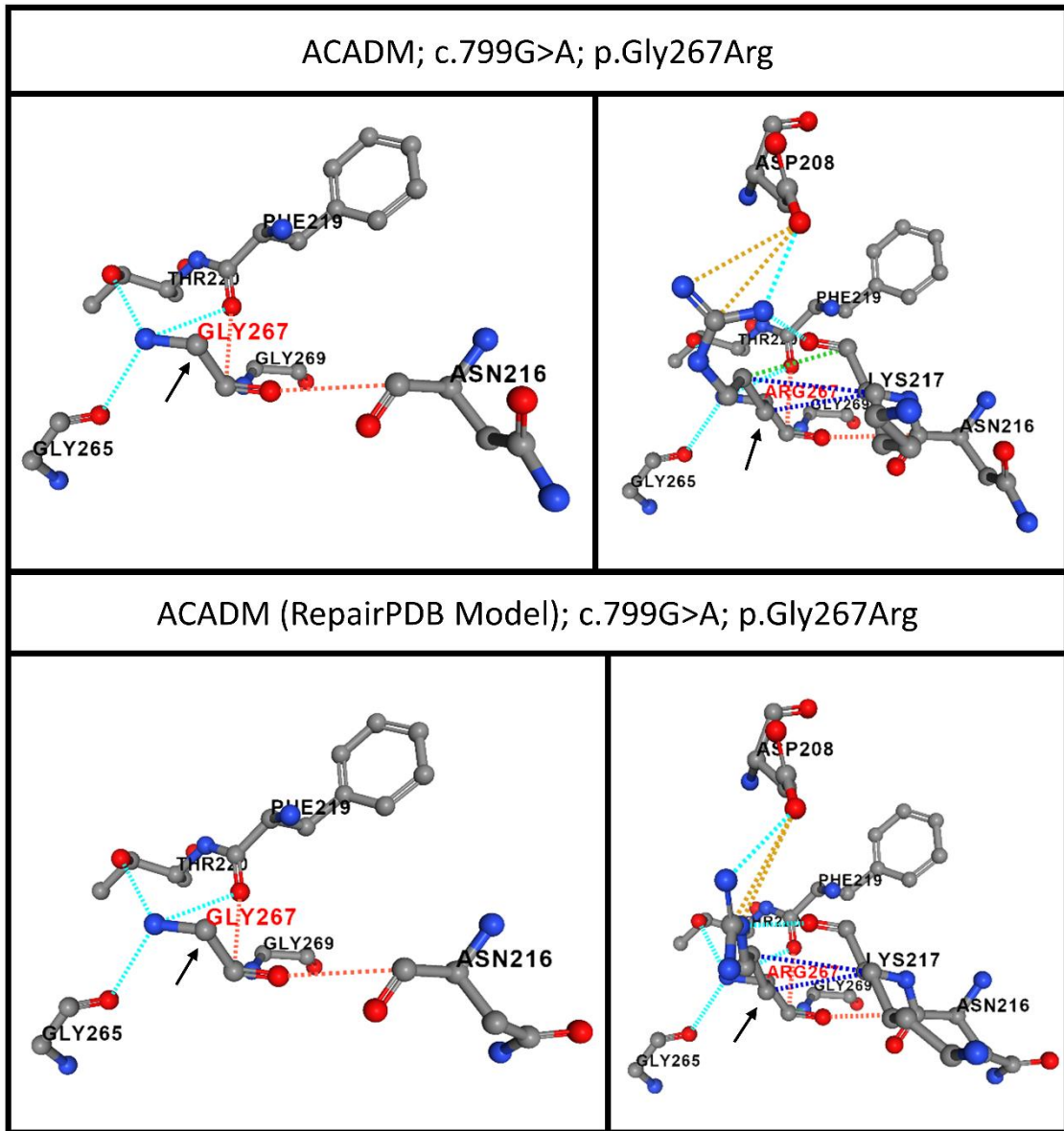
Ek 47: GALC proteininin doğal (AF-P54803-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P54803-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Tyr567 amino asit etkileşimlerinin ve p.Tyr567Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



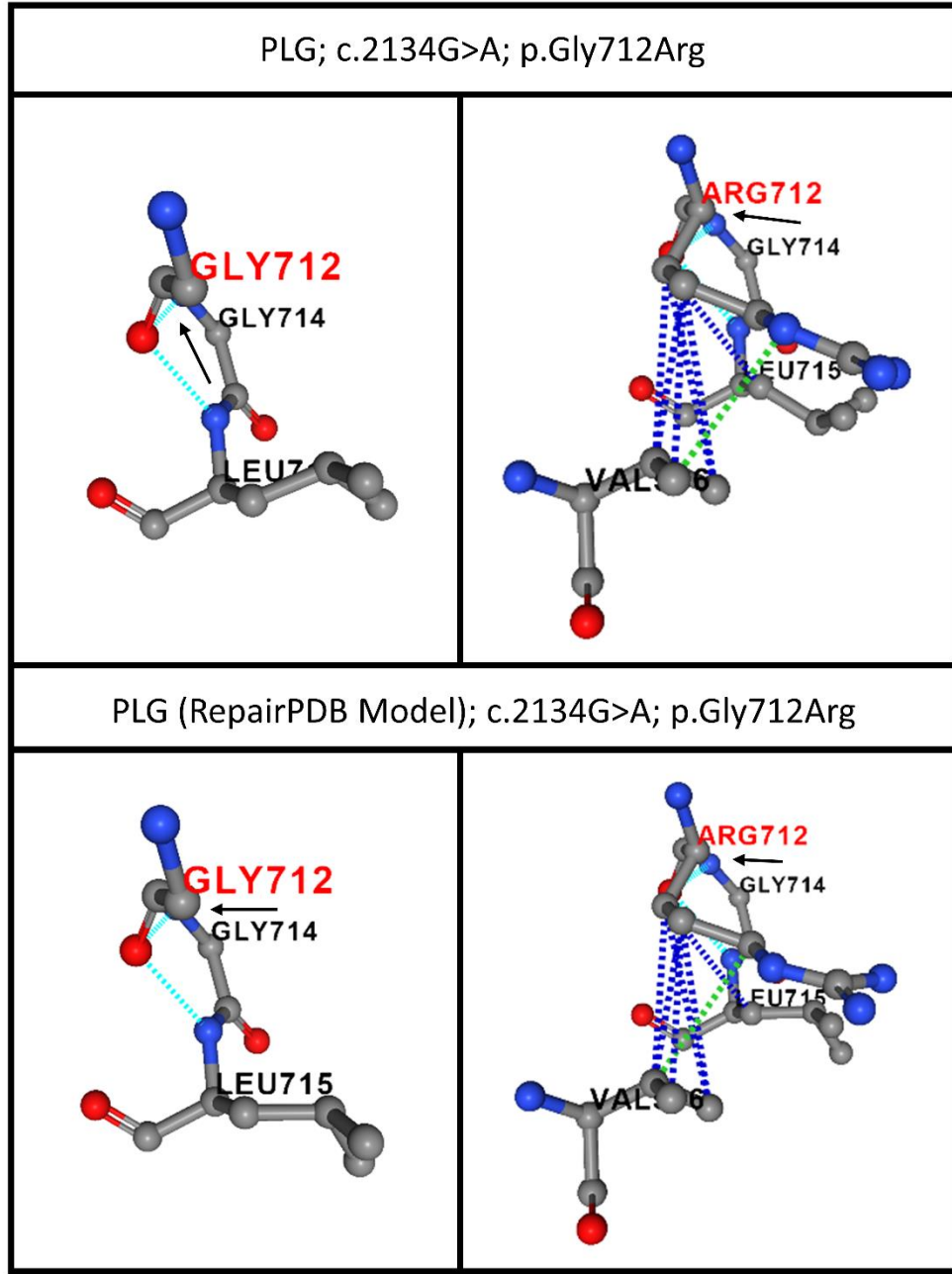
Ek 48: TSEN2 proteininin doğal (AF-Q8NCE0-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NCE0-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr364 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr364Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



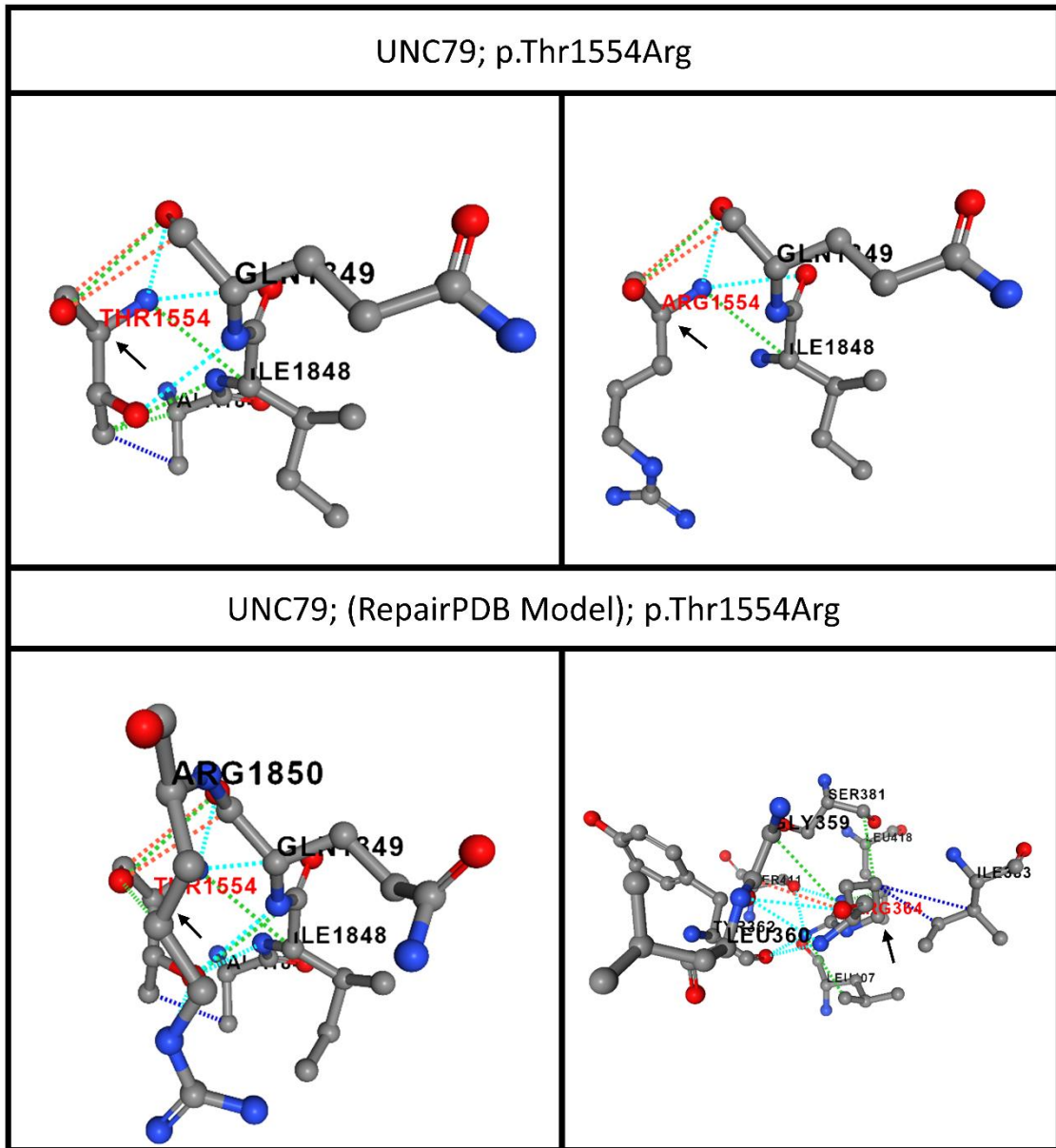
Ek 49: AASS proteininin doğal (AF-Q9UDR5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UDR5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser62 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser62Leu varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



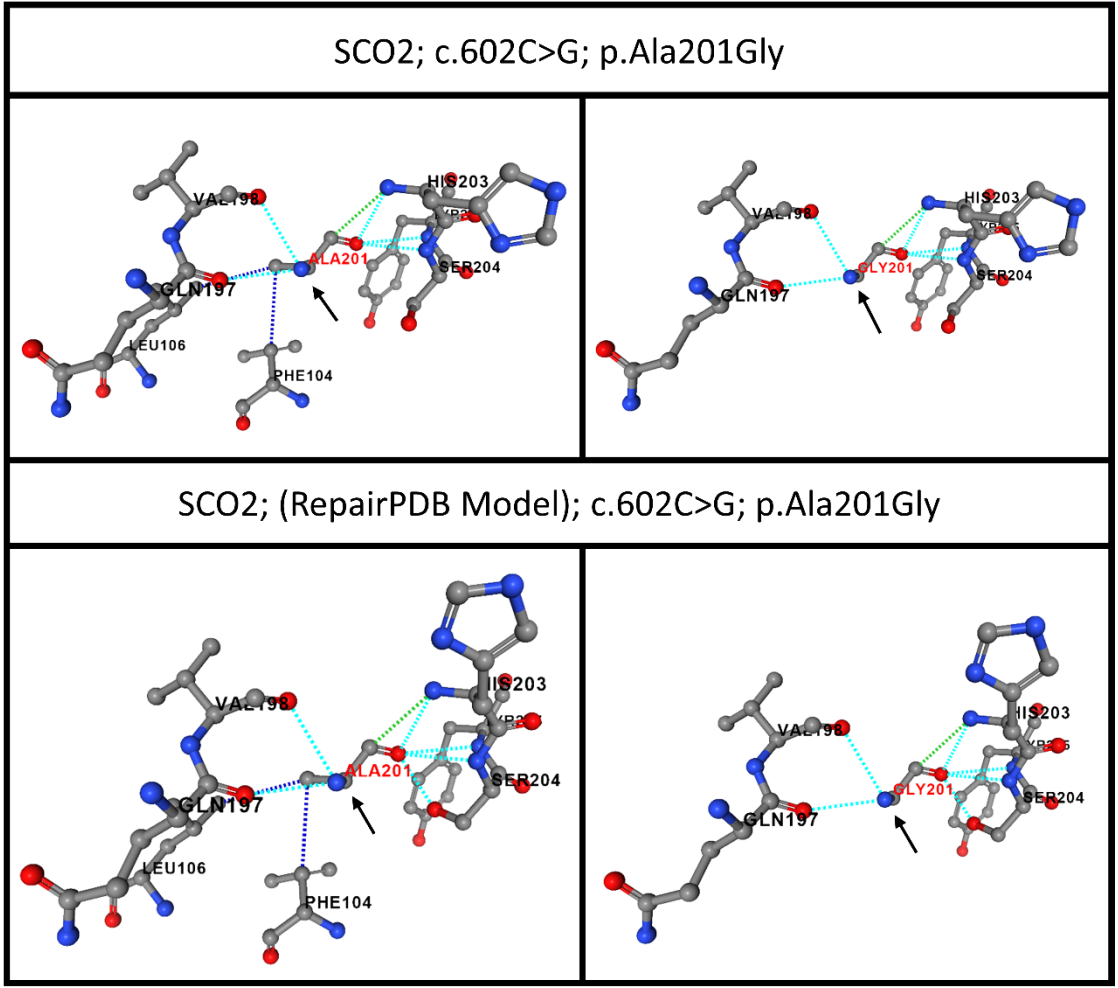
Ek 50: ACADM proteininin doğal (AF-P11310-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P11310-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly267 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly267Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



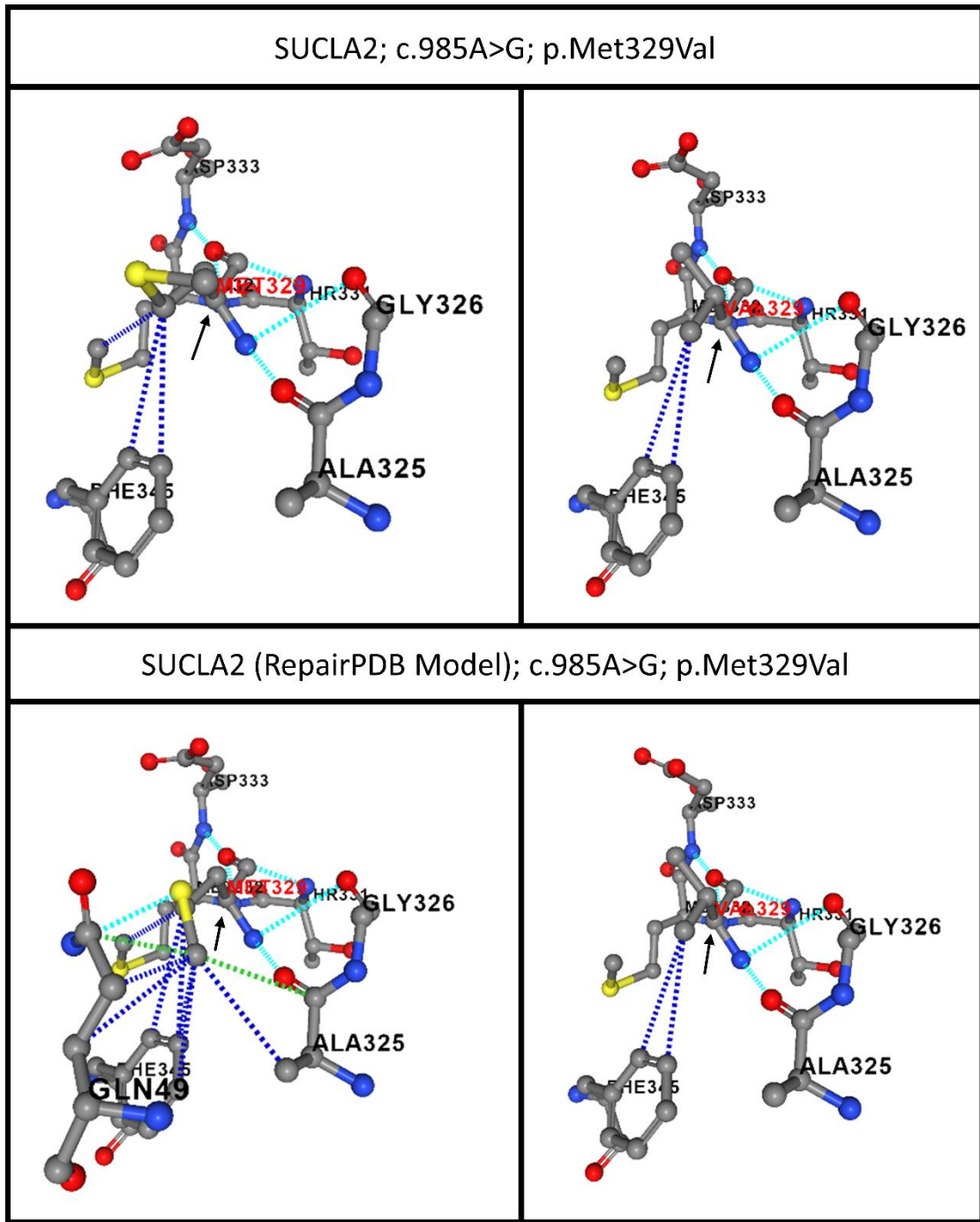
Ek 51: PLG proteininin doğal (AF-P00747-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P00747-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly712 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly712Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



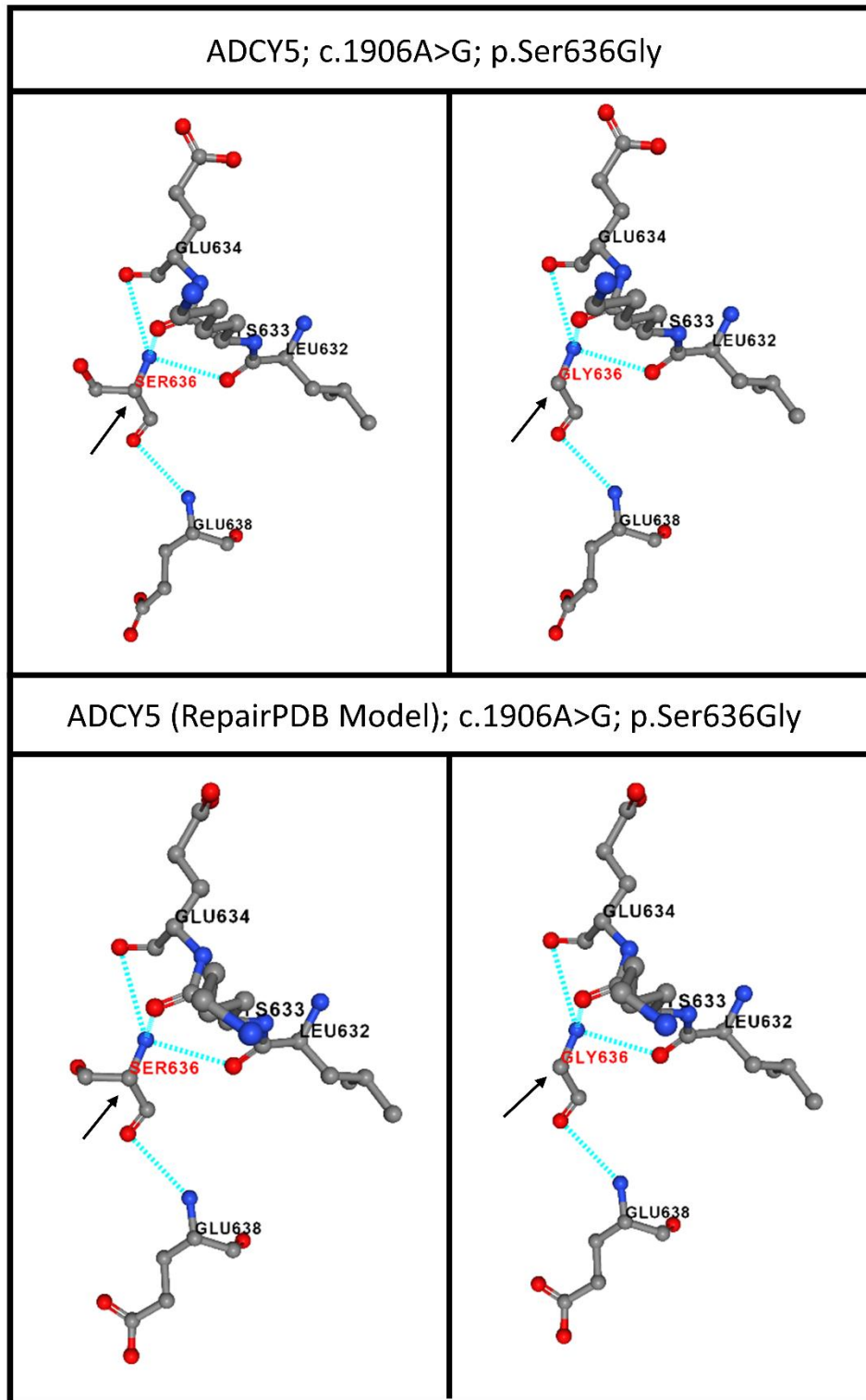
Ek 52: UNC79 proteininin doğal (AF-Q9P2D8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P2D8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr1554 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr1554Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



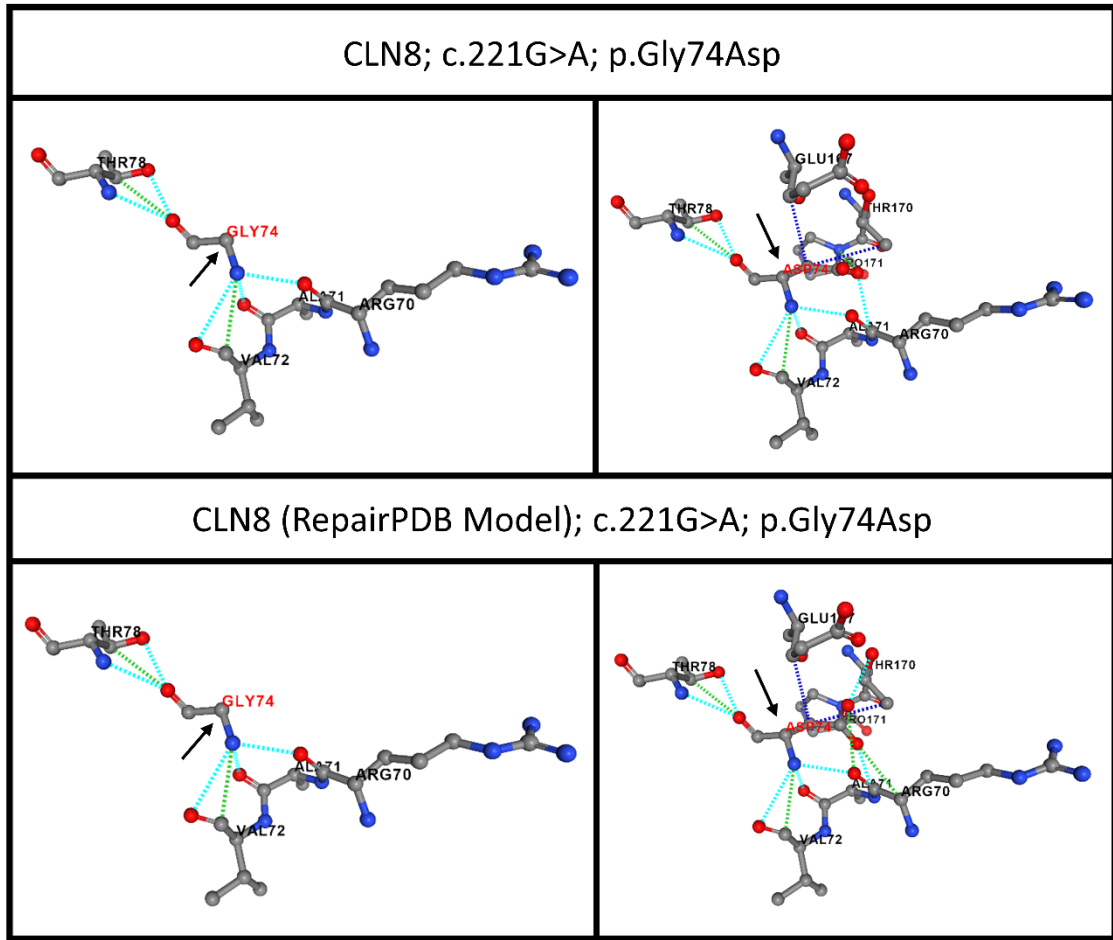
Ek 53: SCO2 proteininin doğal (AF-O43819-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43819-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ala201 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ala201Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



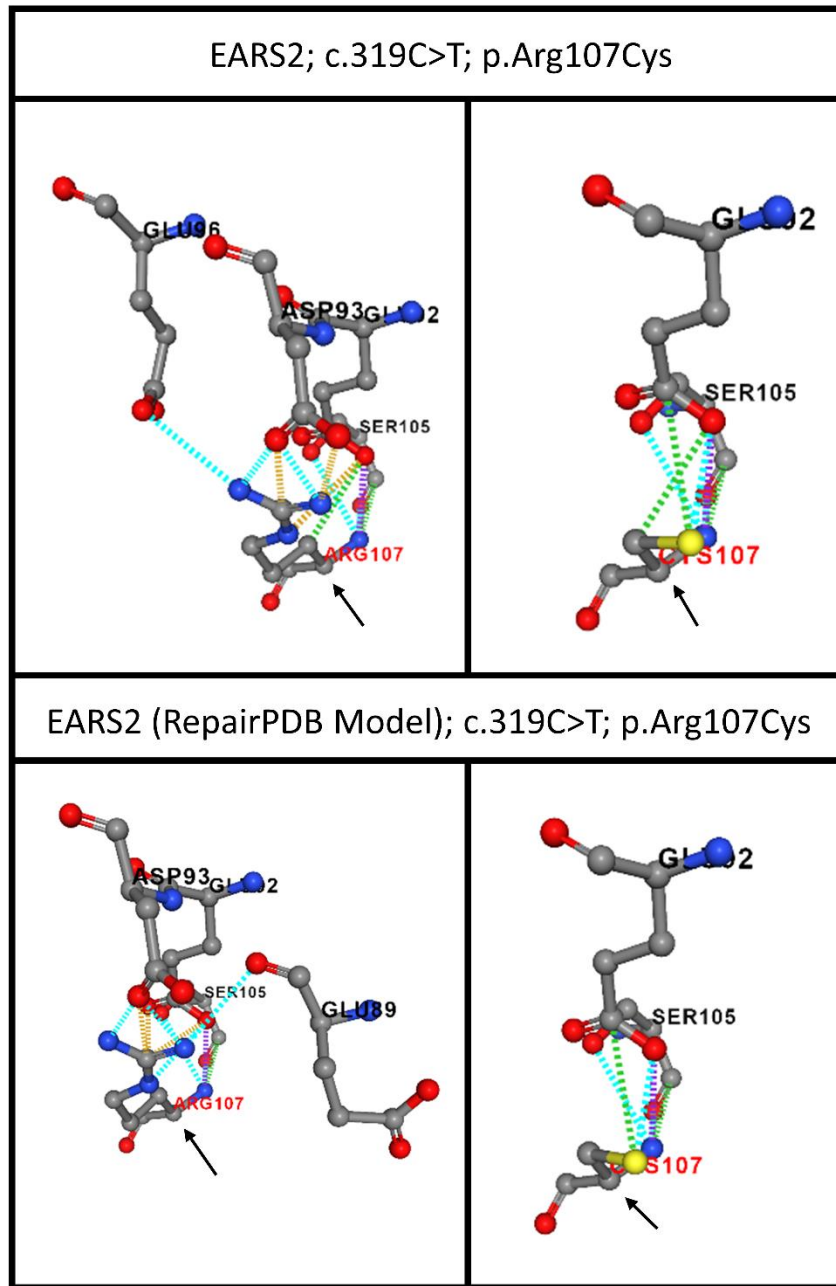
Ek 54: SUCLA2 proteininin doğal (AF-Q9P2R7-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P2R7-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Met329 amino asit etkileşimlerinin ve p.Met329Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



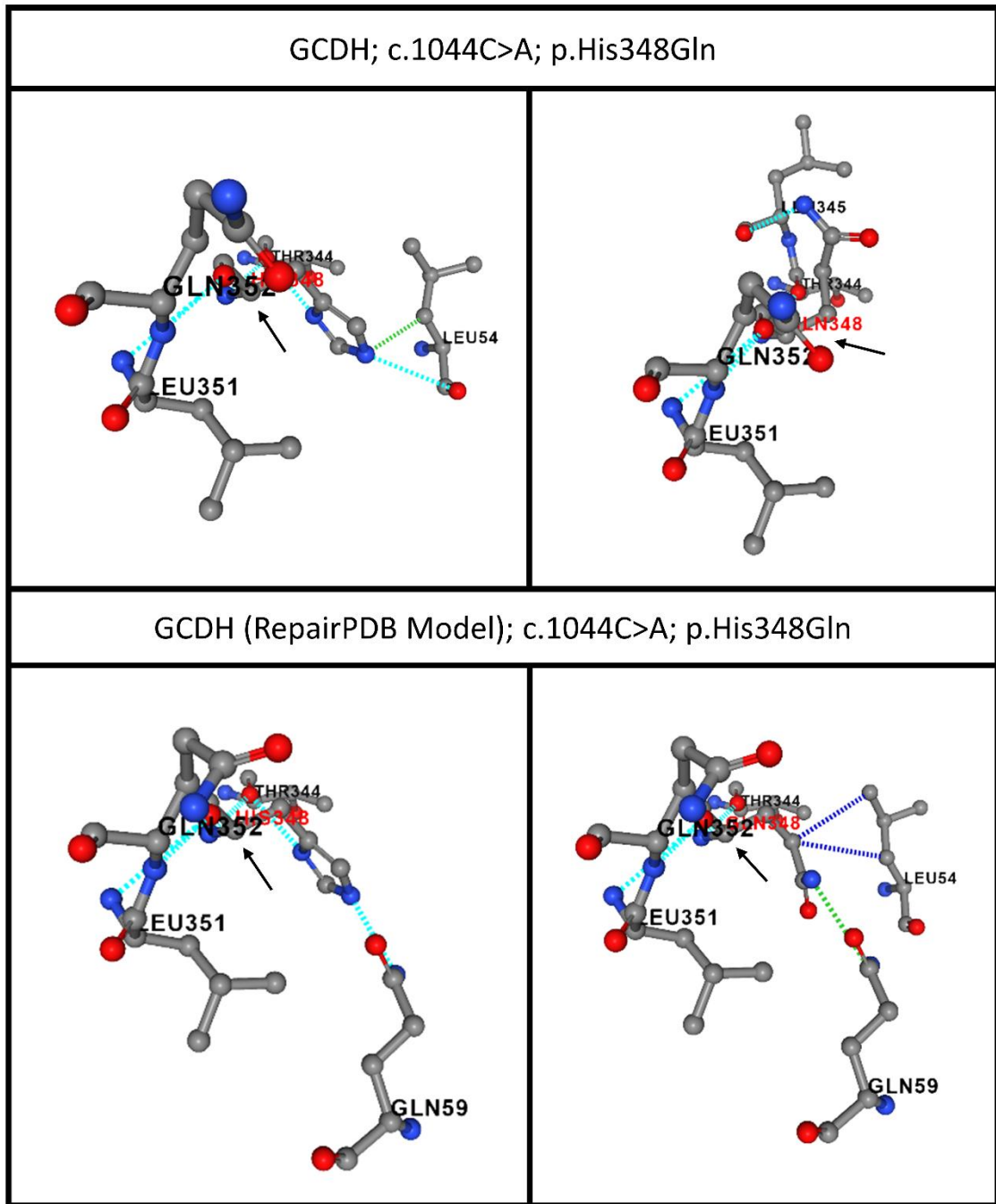
Ek 55: ADCY5 proteininin doğal (AF-O95622-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O95622-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser636 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser636Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



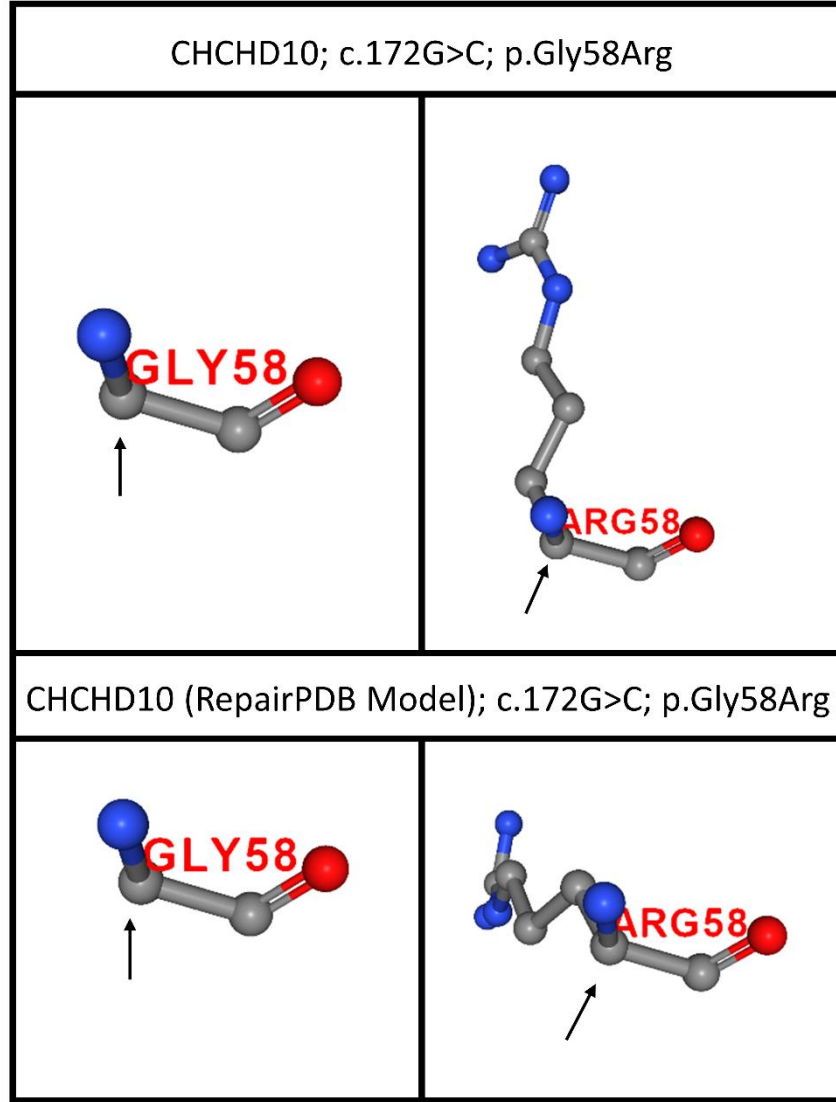
Ek 56: CLN8 proteininin doğal (AF-Q9UBY8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UBY8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly74 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly74Asp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



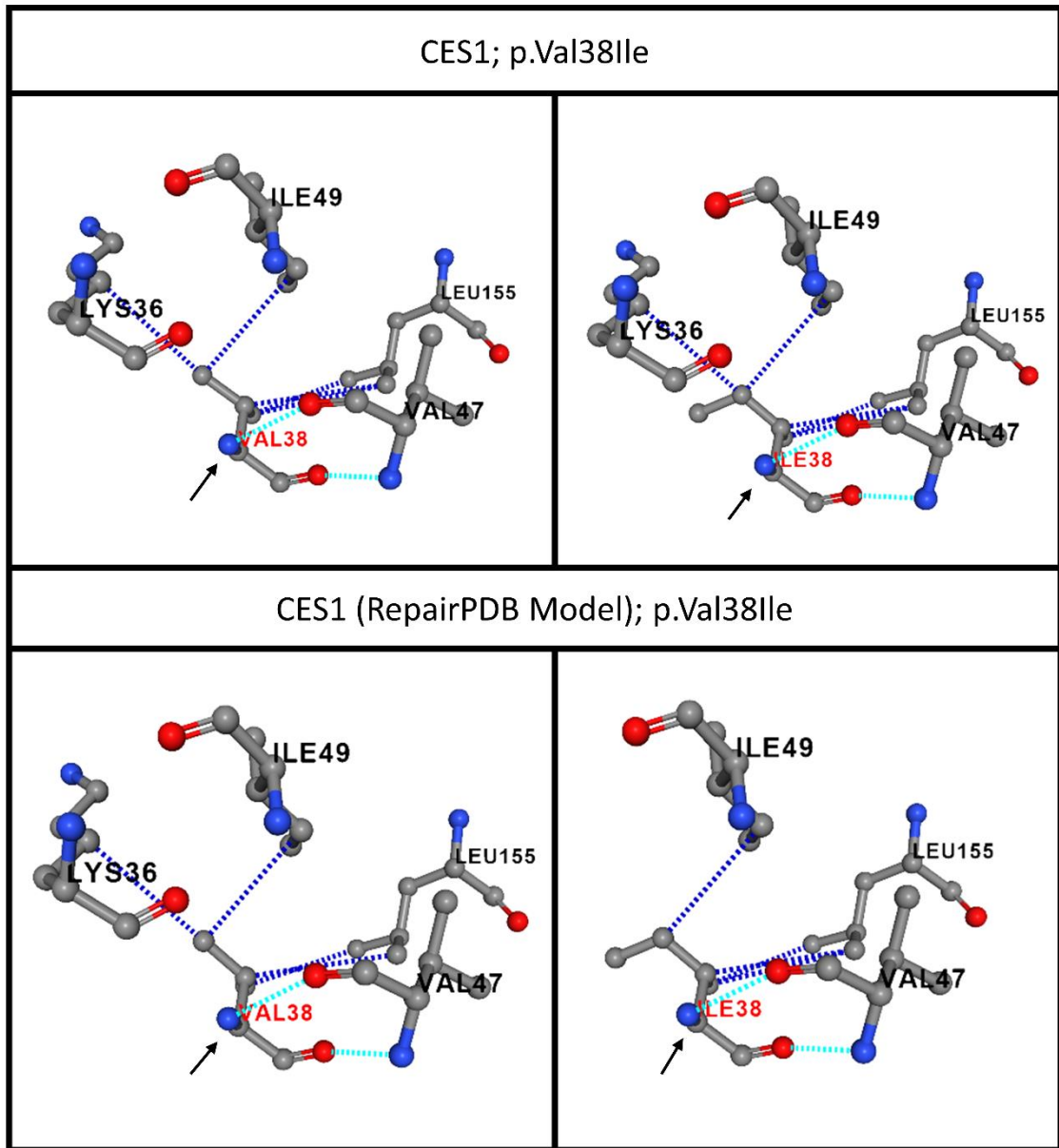
Ek 57: EARS2 proteininin doğal (AF-Q5JPH6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5JPH6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg107 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg107Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



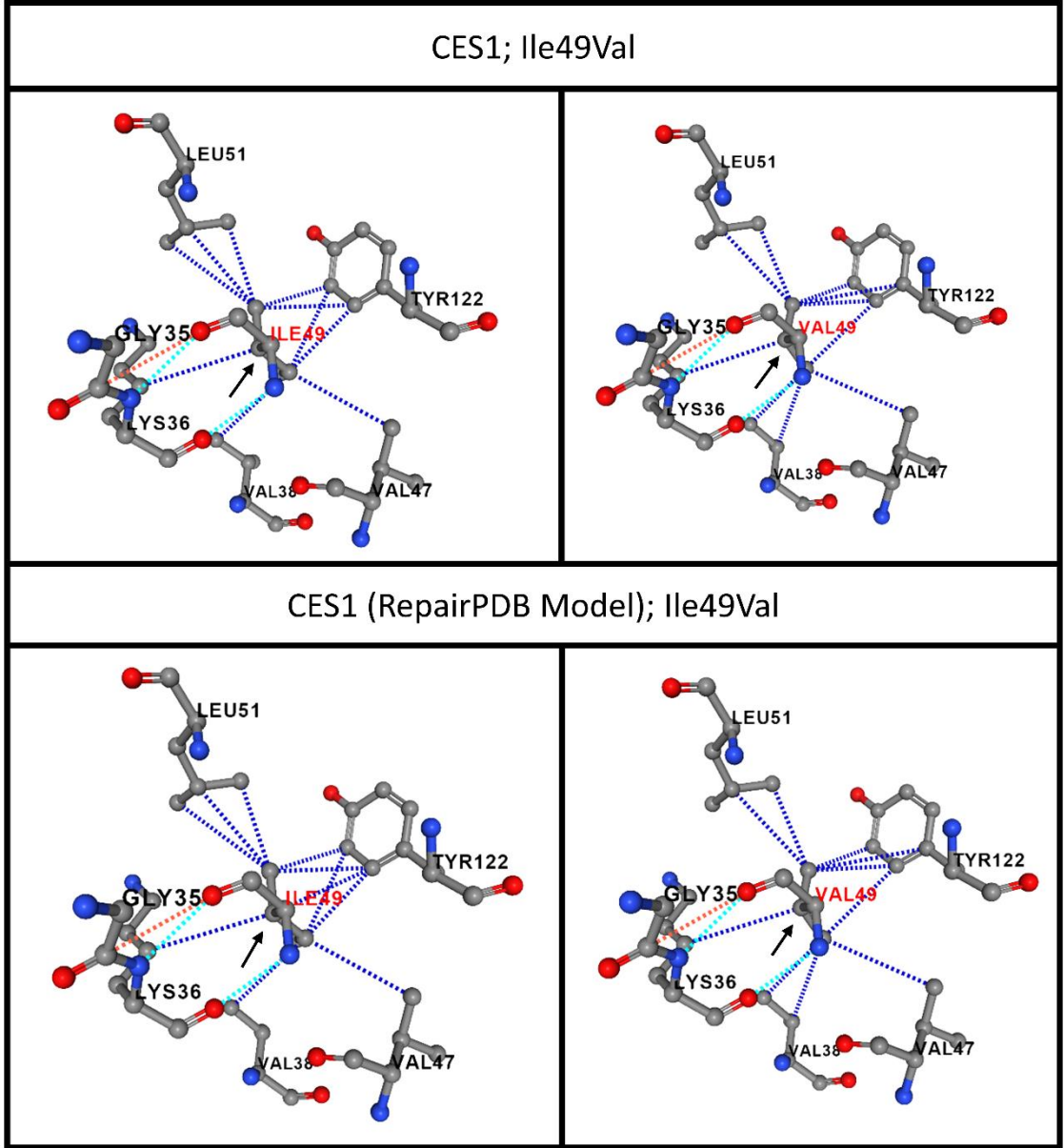
Ek 58: GCDH proteininin doğal (AF-Q92947-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q92947-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda His348 amino asit etkileşimlerinin ve p.His348Gln varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



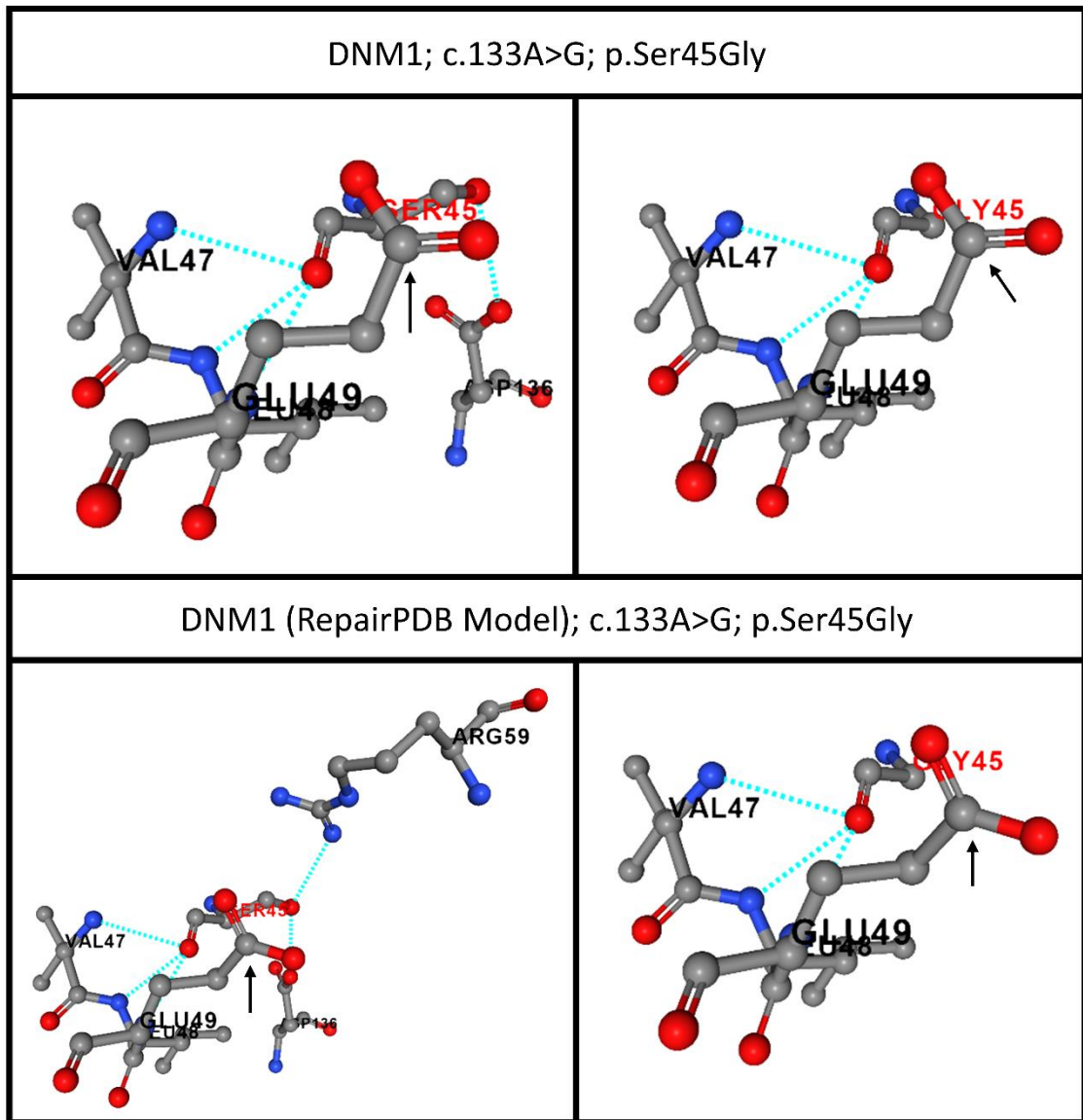
Ek 59: CHCHD10 proteininin doğal (AF-Q8WYQ3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8WYQ3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly58 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly58Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



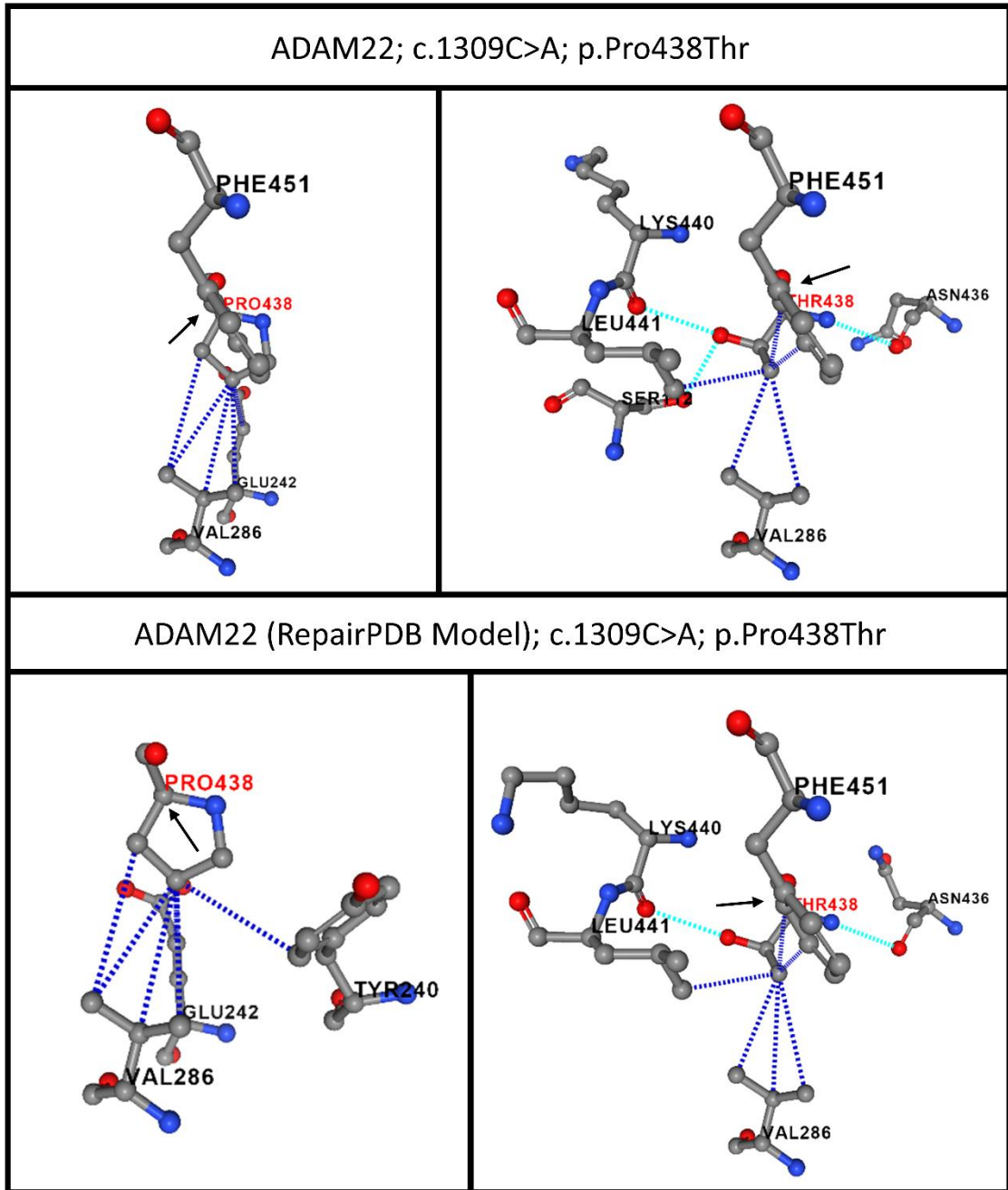
Ek 60: CES1 proteininin doğal (AF-P23141-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23141-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val38 amino asit etkileşimlerinin ve p.Val38Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



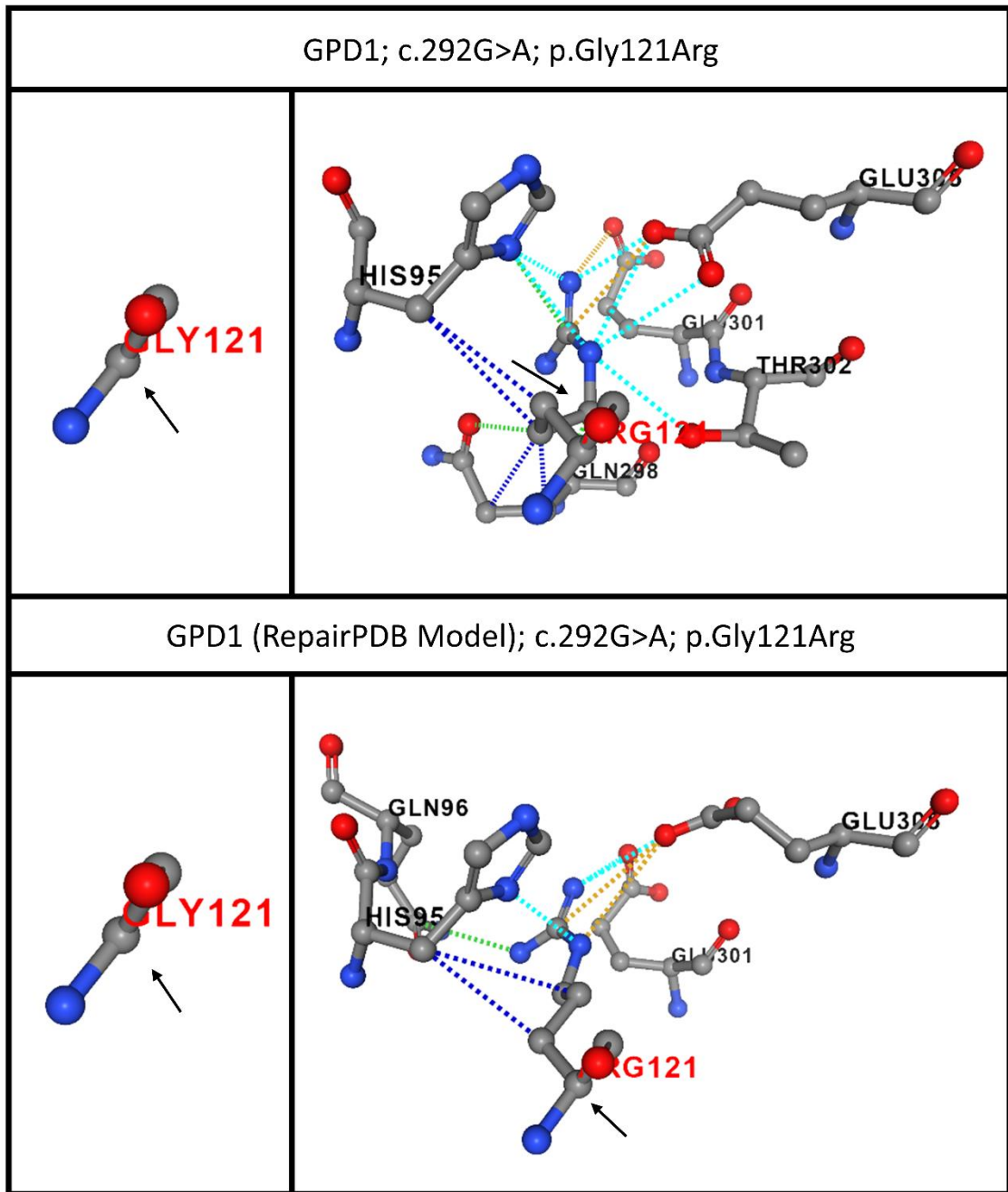
Ek 61: CES1 proteininin doğal (AF-P23141-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P23141-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile49 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ile49Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



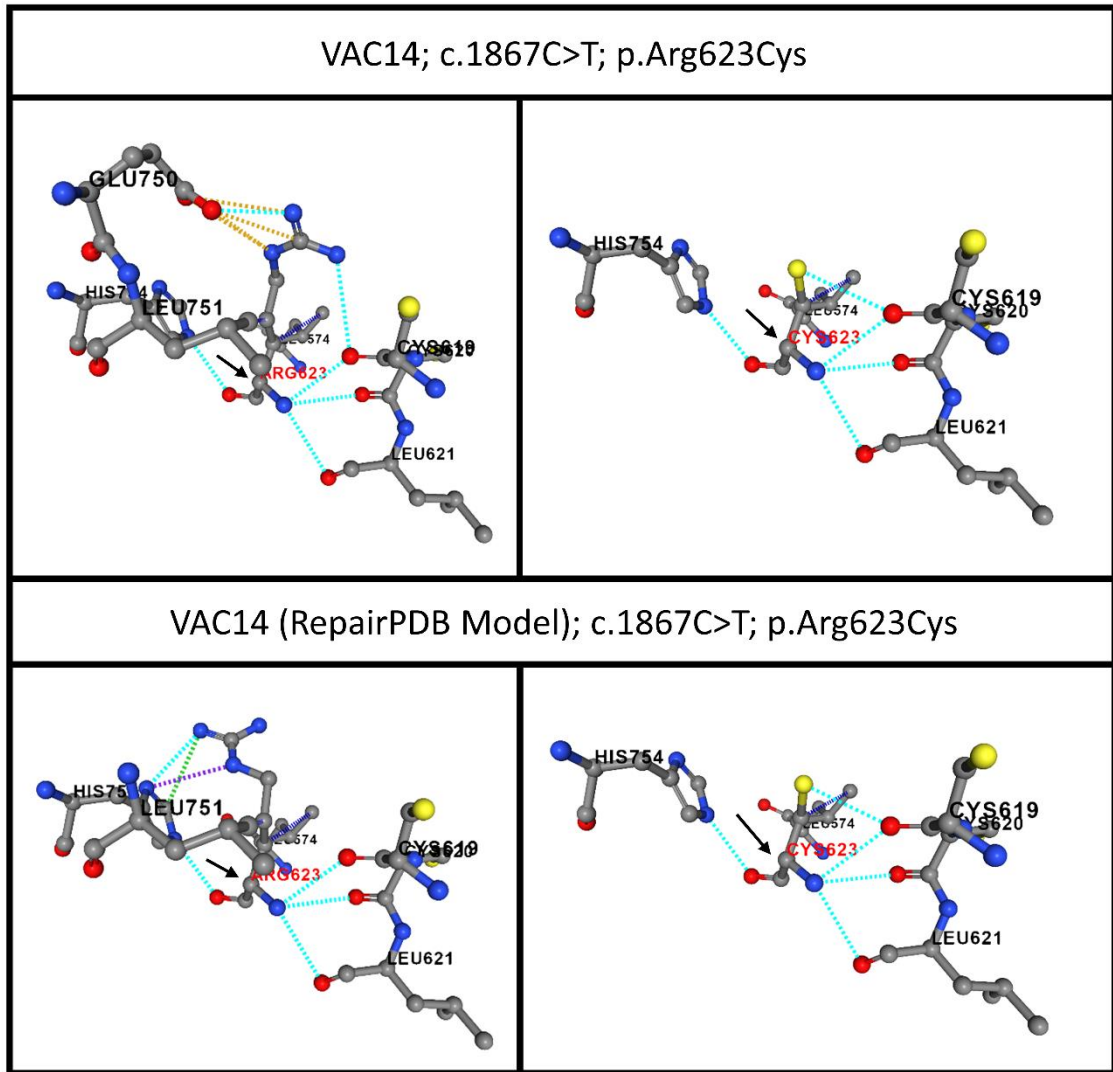
Ek 62: DNM1 proteininin doğal (AF-Q05193-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q05193-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser45 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser45Gly varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



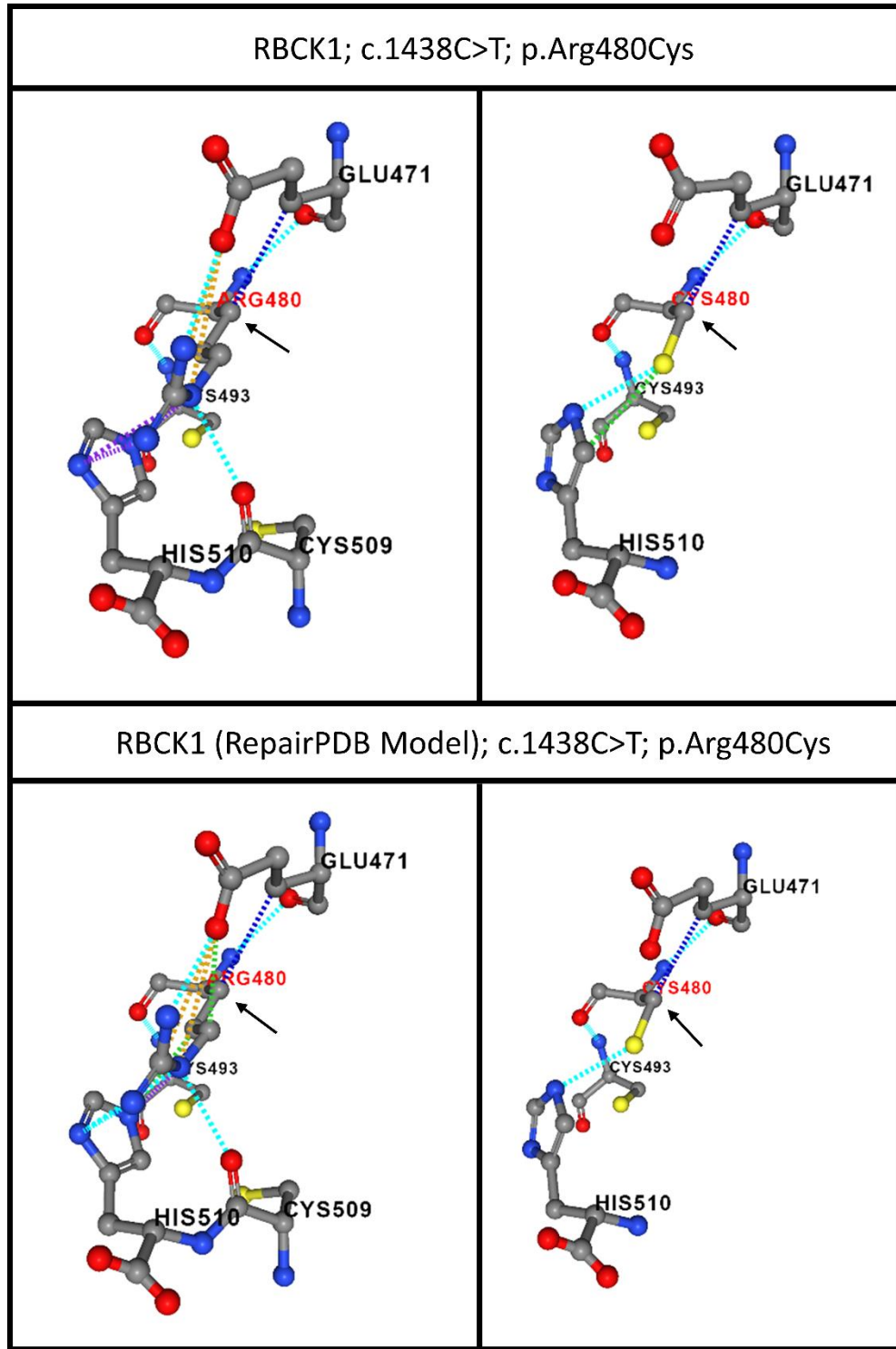
Ek 63: ADAM22 proteininin doğal (AF-Q9P0K1-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9P0K1-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Pro438 amino asit etkileşimlerinin ve p.Pro438Thr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



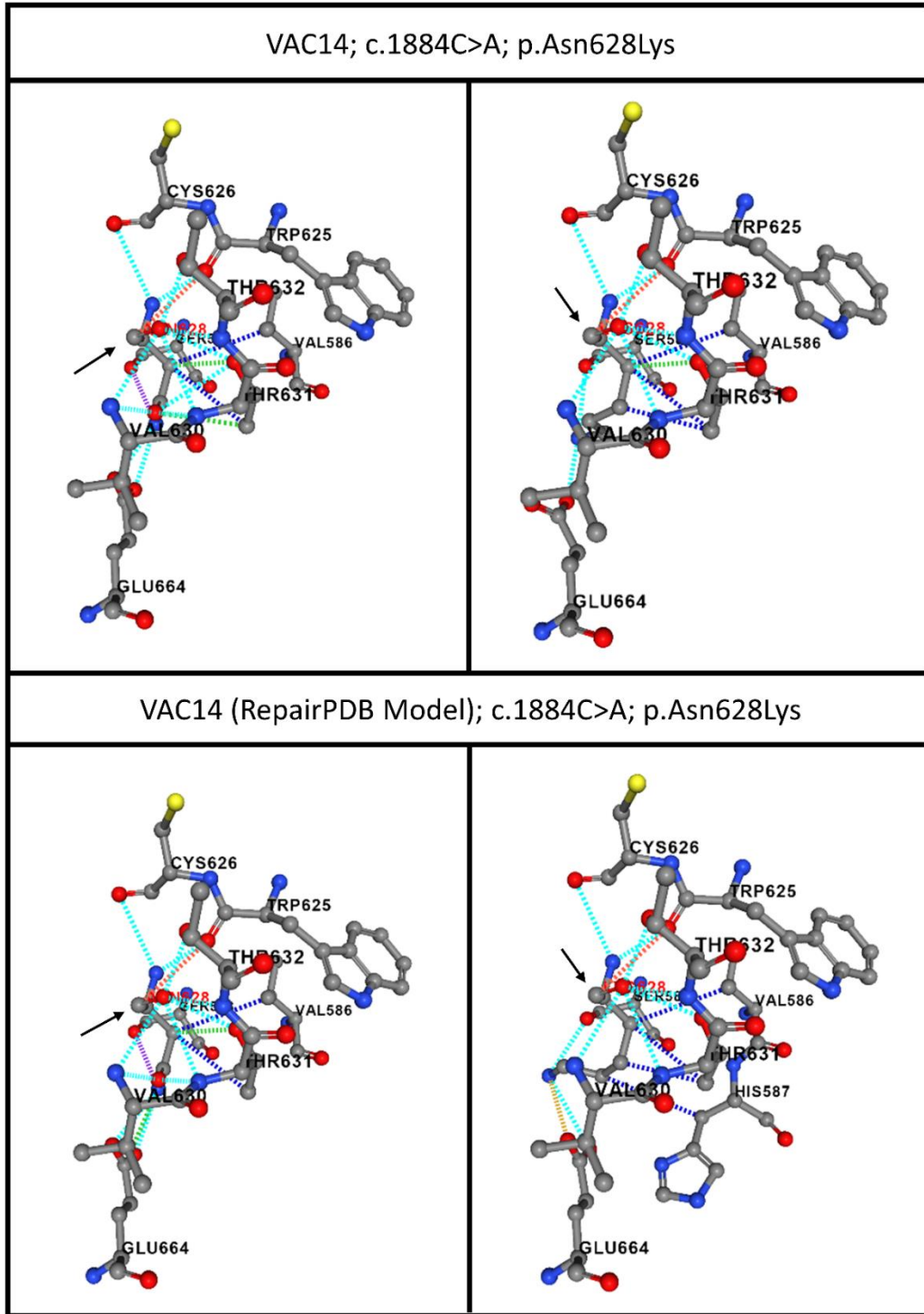
Ek 64: GPD1 proteininin doğal (AF-P21695-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P21695-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Gly121 amino asit etkileşimlerinin ve p.Gly121Arg varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



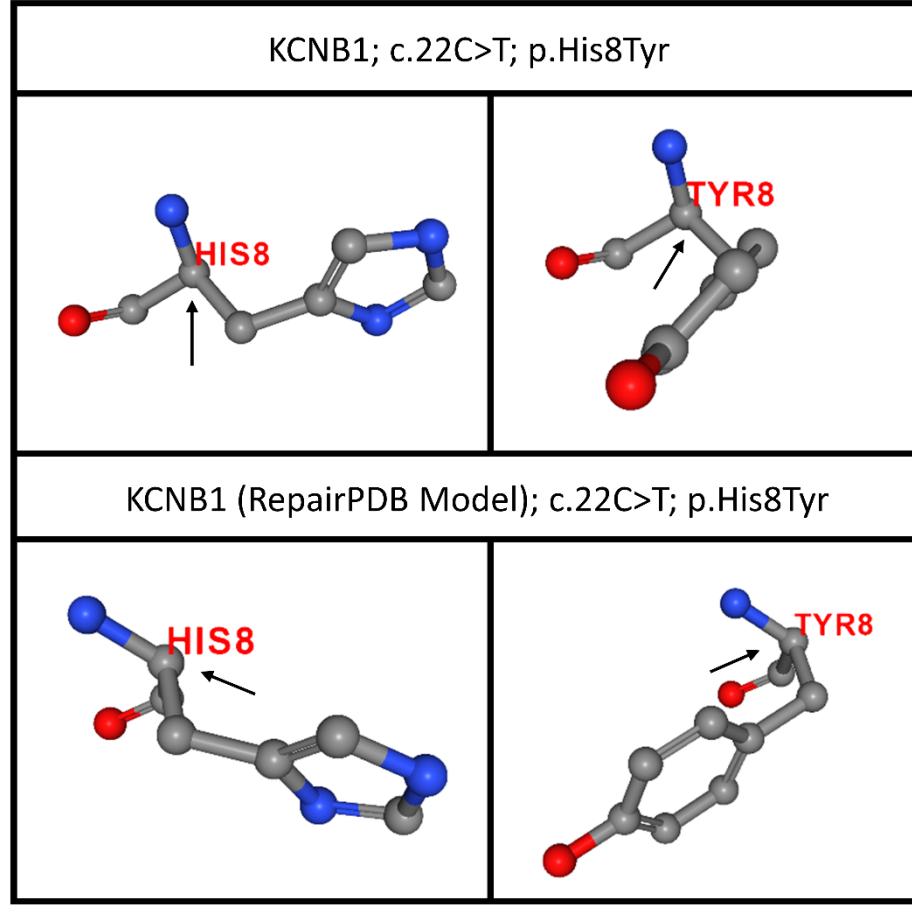
Ek 65: VAC14 proteininin doğal (AF-Q08AM6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg623 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg623Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



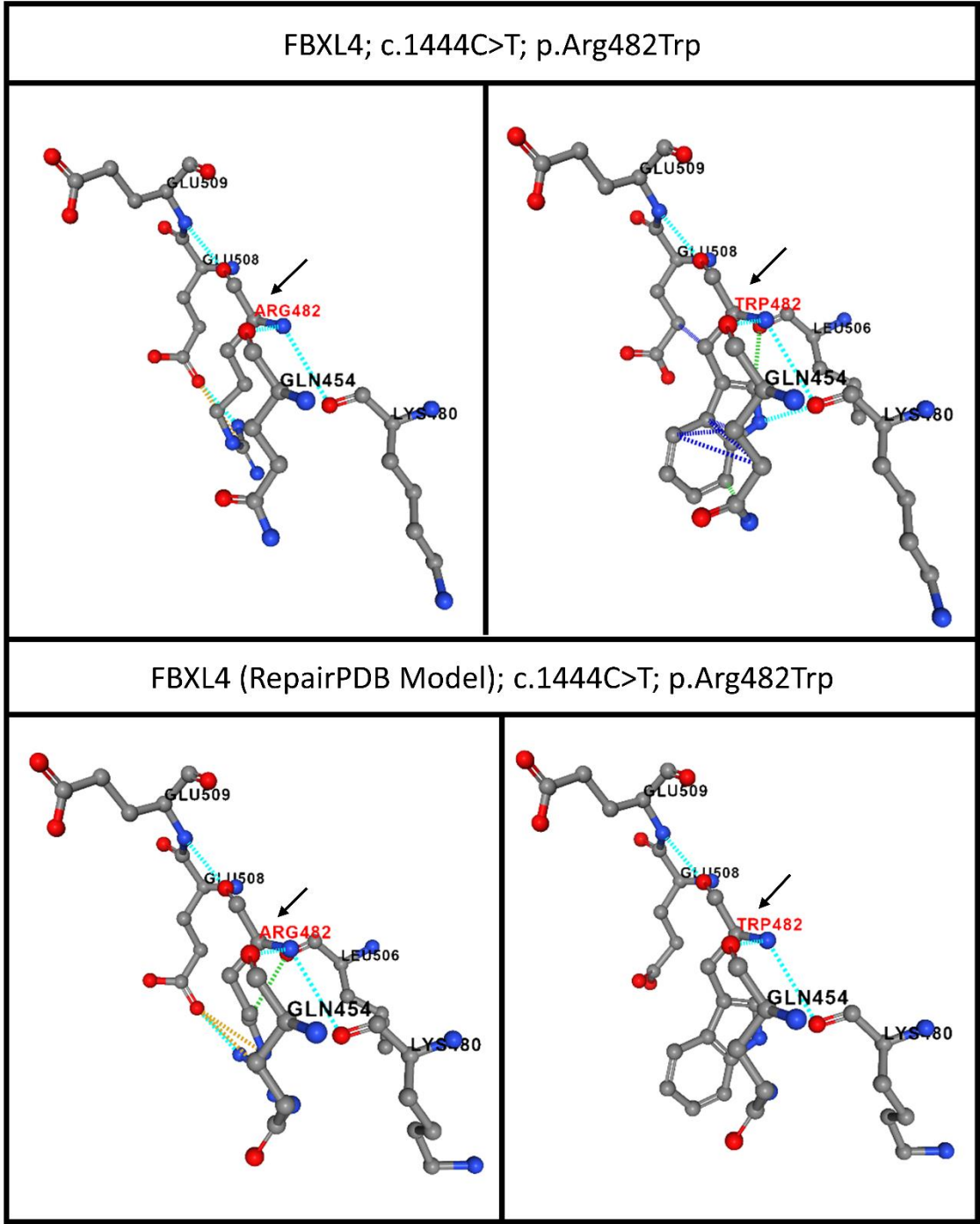
Ek 66: RBCK1 proteininin doğal (AF-Q9BYM8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9BYM8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg480 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg480Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



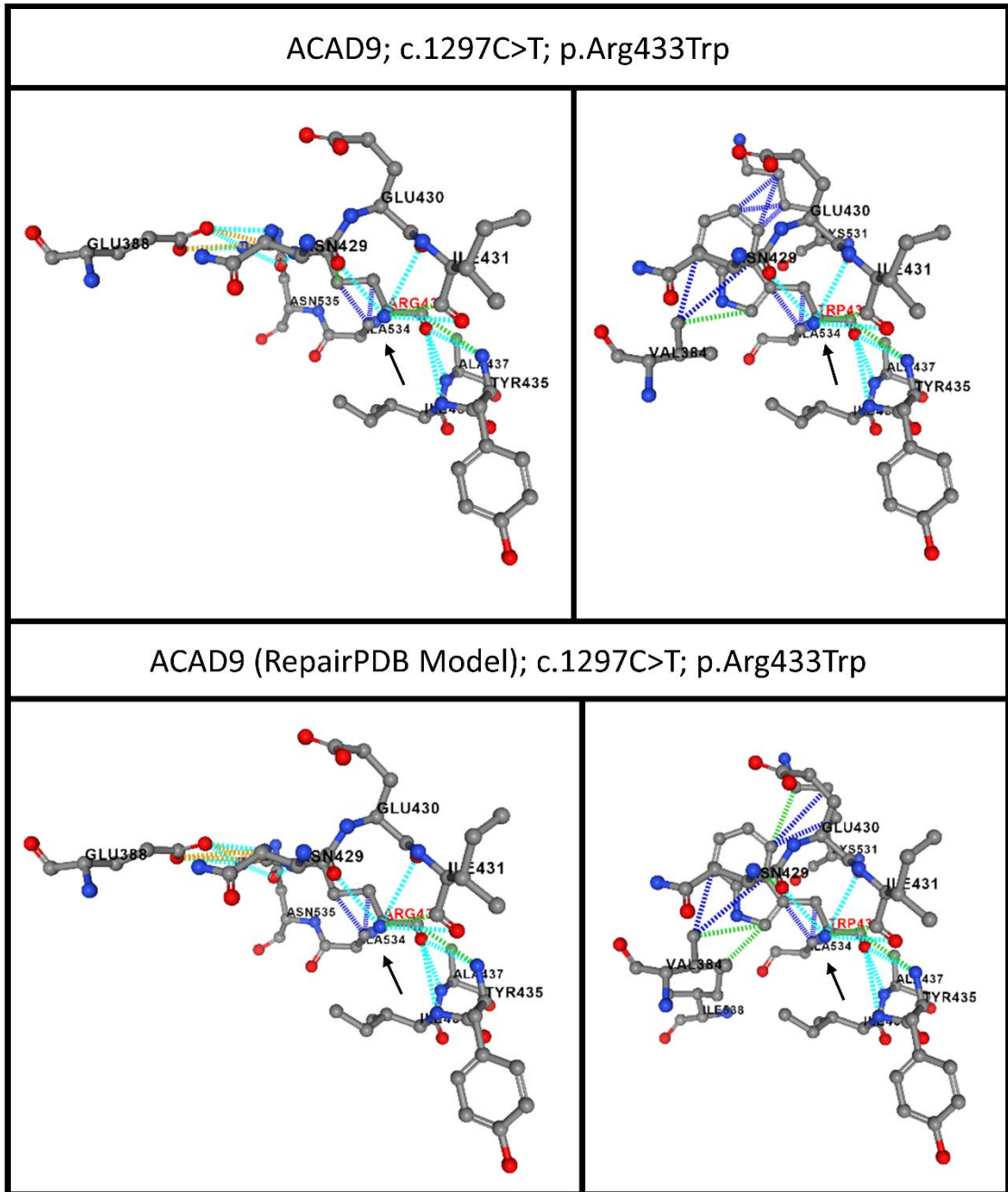
Ek 67: VAC14 proteininin doğal (AF-Q08AM6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q08AM6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Asn628 amino asit etkileşimlerinin ve p.Asn628Lys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



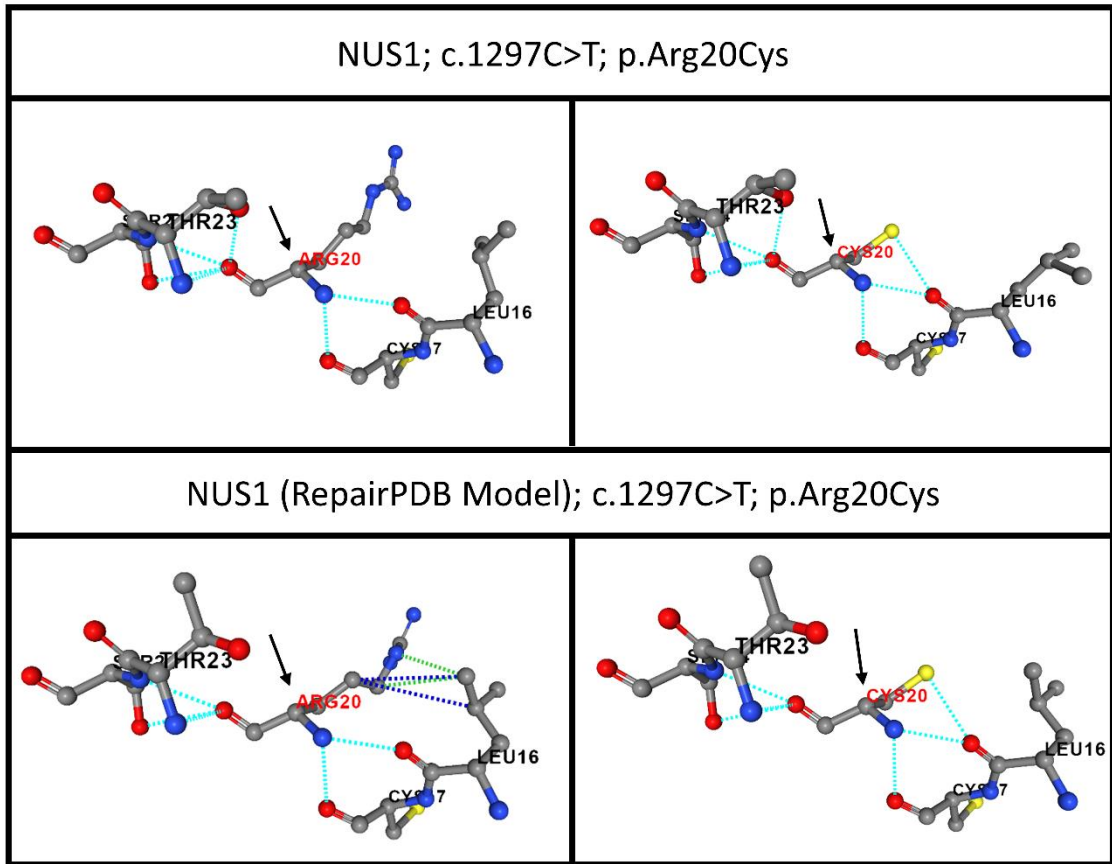
Ek 68: KCNB1 proteininin doğal (AF-Q14721-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q14721-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda His8 amino asit etkileşimlerinin ve p.His8Tyr varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



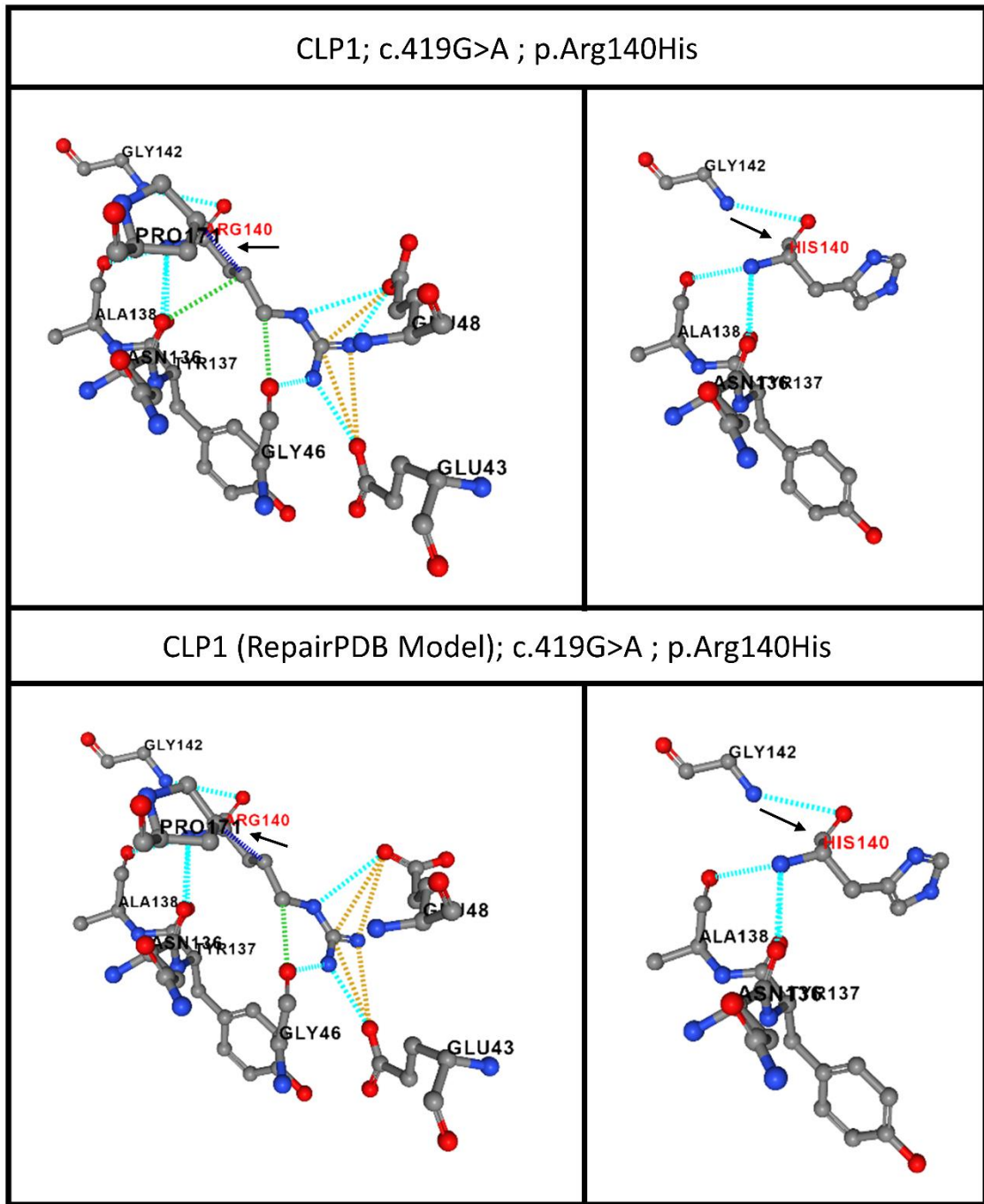
Ek 69: FBXL4 proteininin doğal (AF-Q9UKA2-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9UKA2-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg482 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg482Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



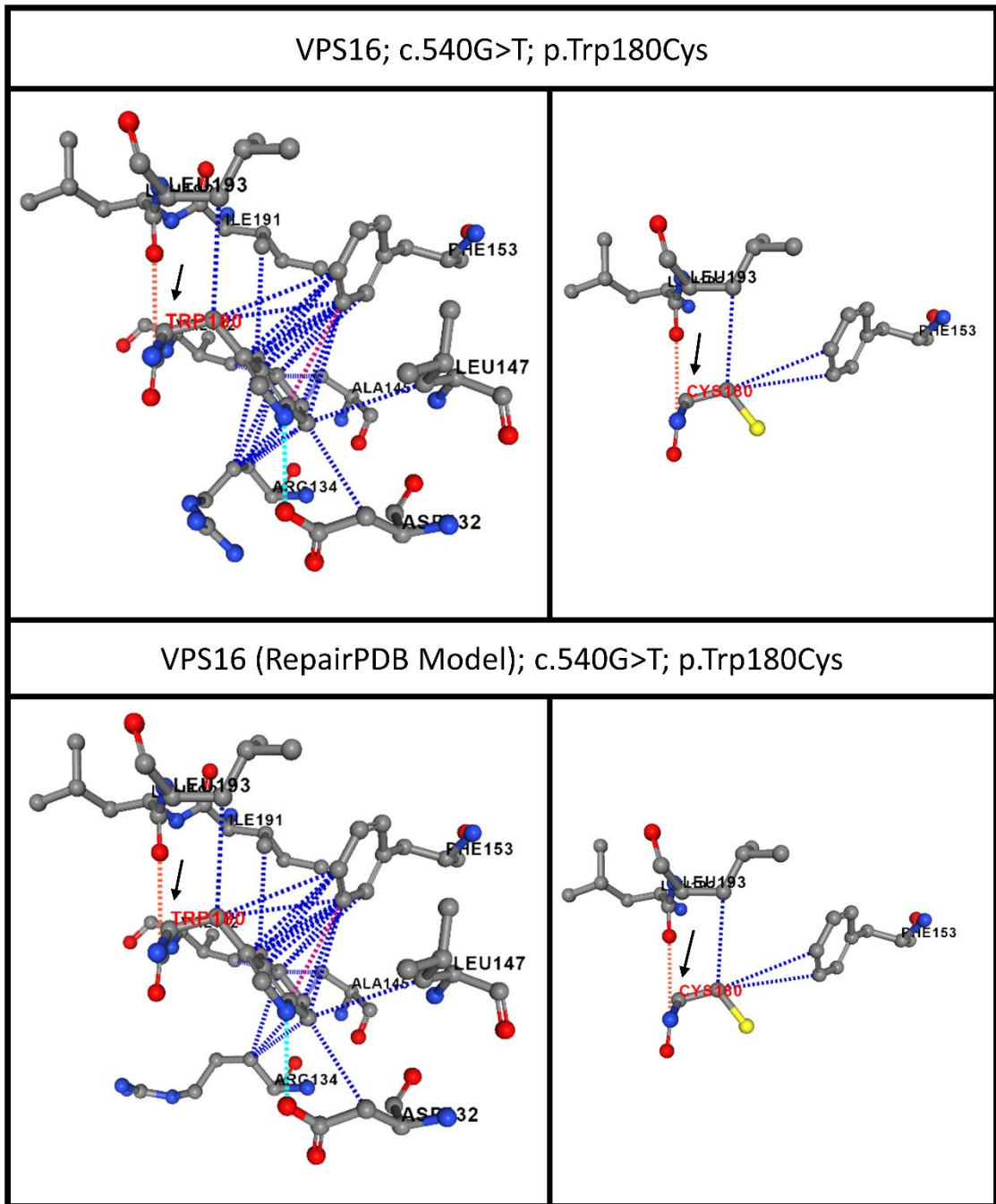
Ek 70: ACAD9 proteininin doğal (AF-Q9H845-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H845-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg433 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg433Trp varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



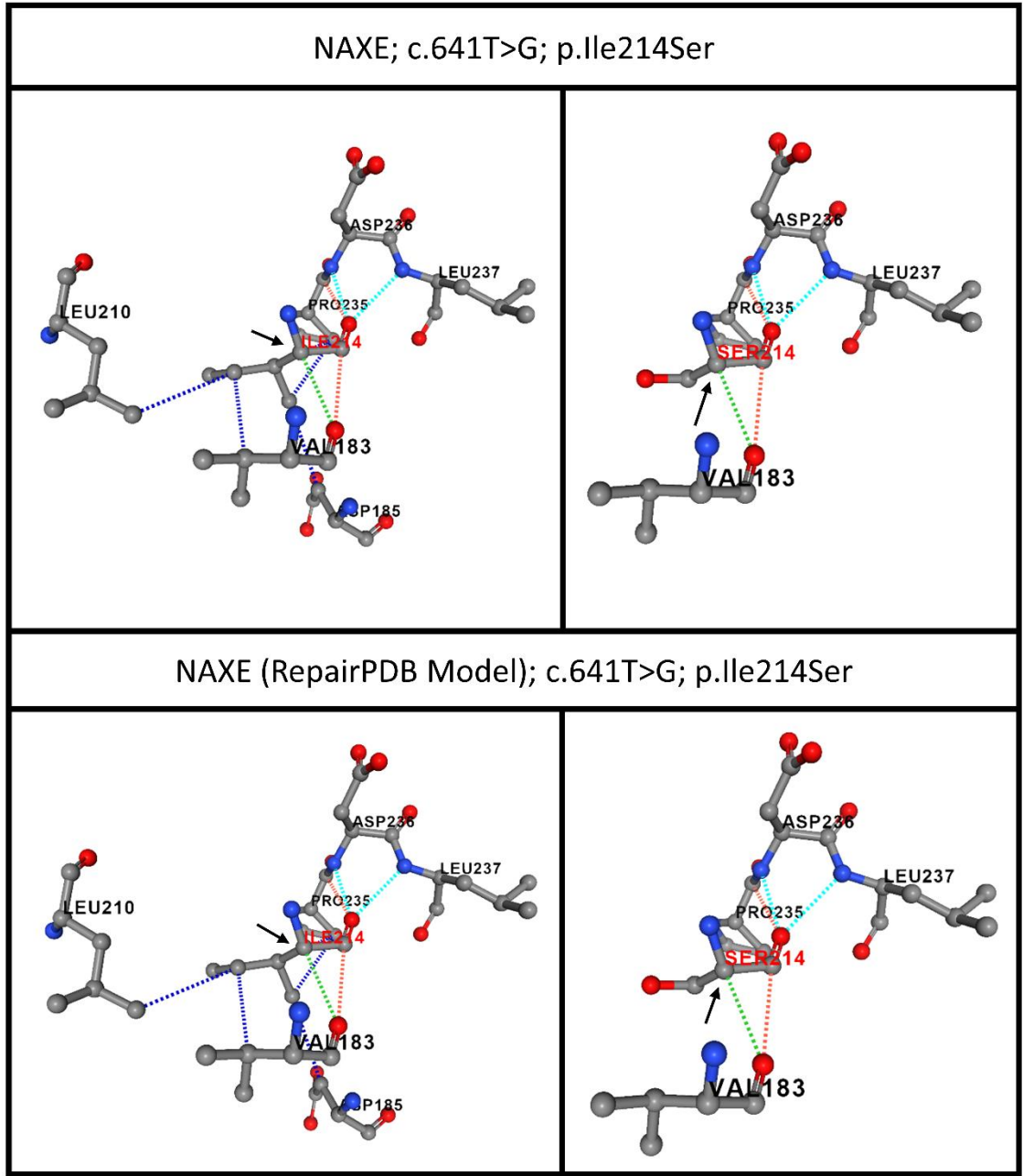
Ek 71: NUS1 proteininin doğal (AF-Q96E22-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96E22-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg20 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg20Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



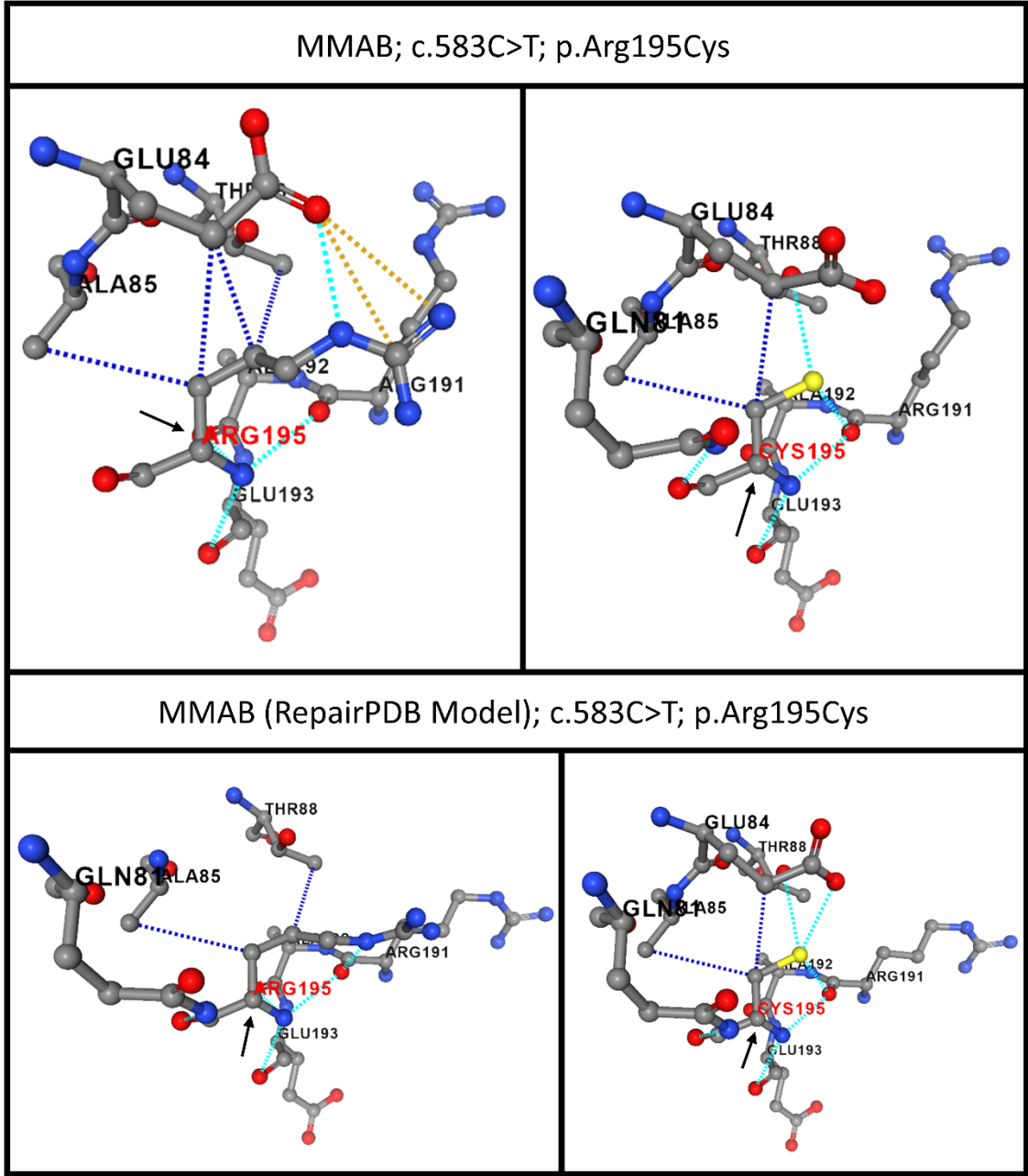
Ek 72: CLP1 proteininin doğal (AF-Q92989-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q92989-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg140 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg140His varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



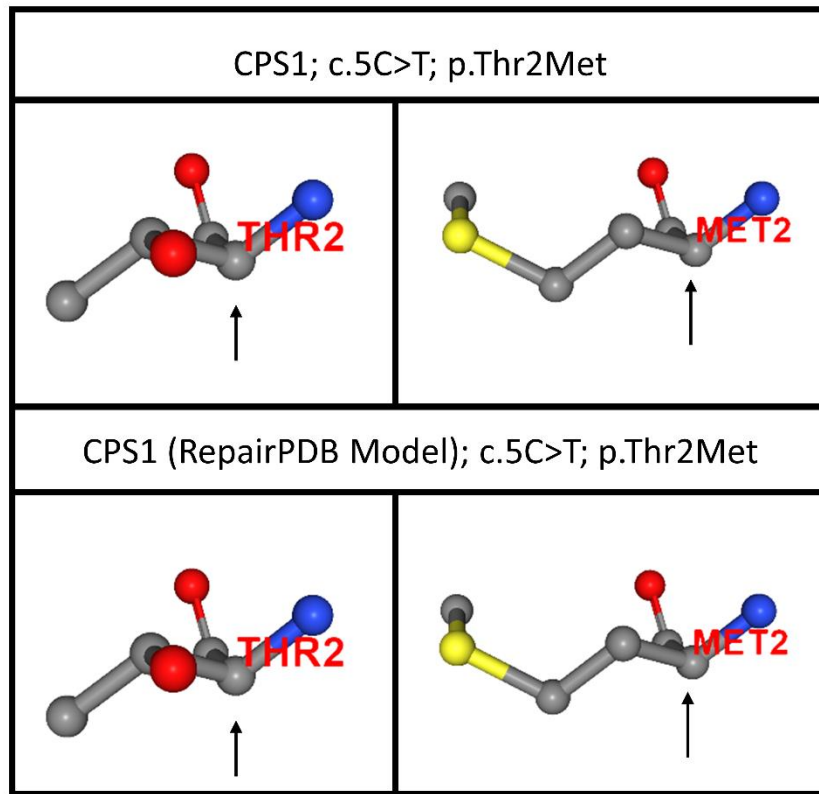
Ek 73: VPS16 proteininin doğal (AF-Q9H269-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q9H269-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Trp180 amino asit etkileşimlerinin ve p.Trp180Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



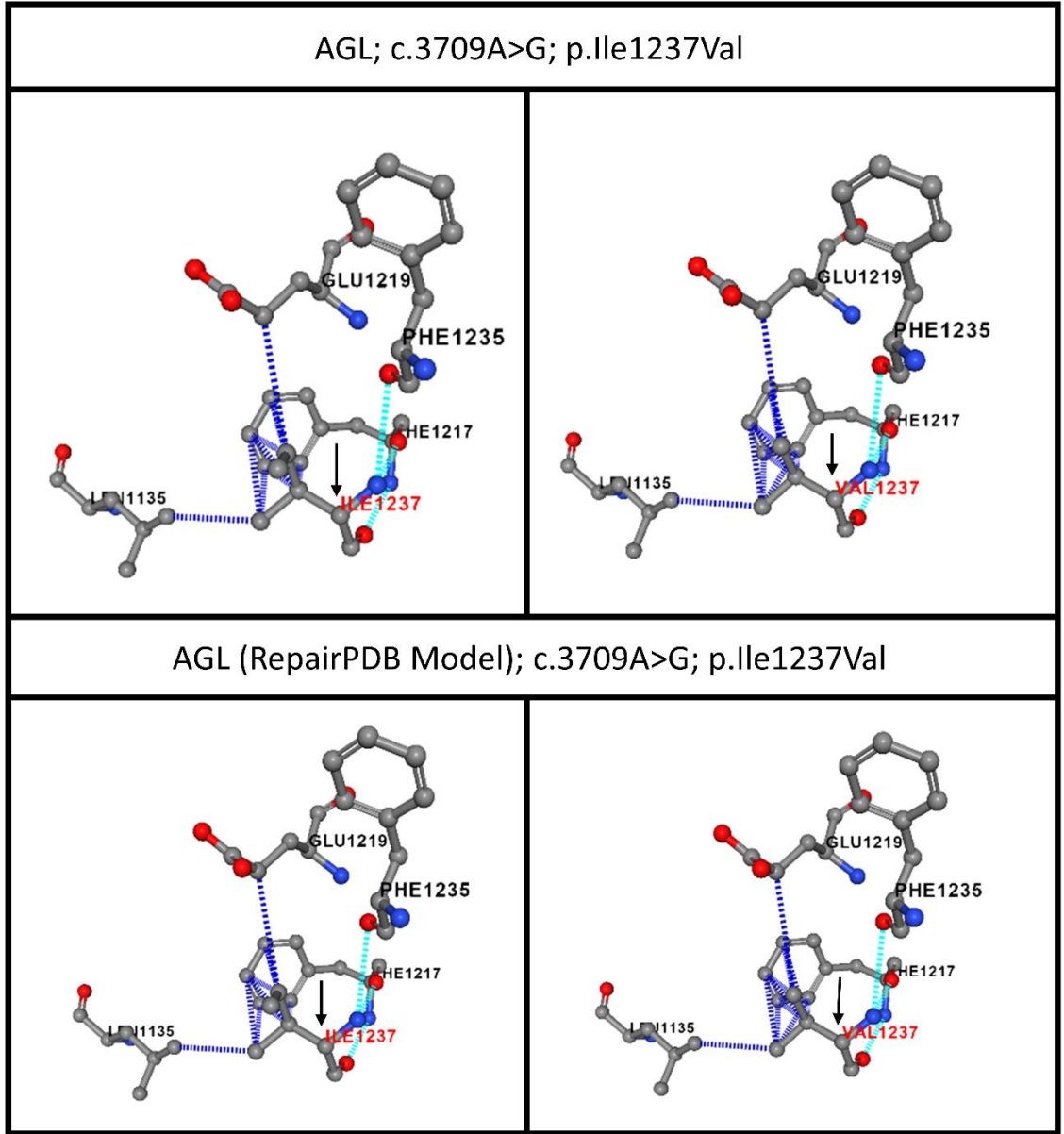
Ek 74: NAXE proteininin doğal (AF-Q8NCW5-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NCW5-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile214 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ile214Ser varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



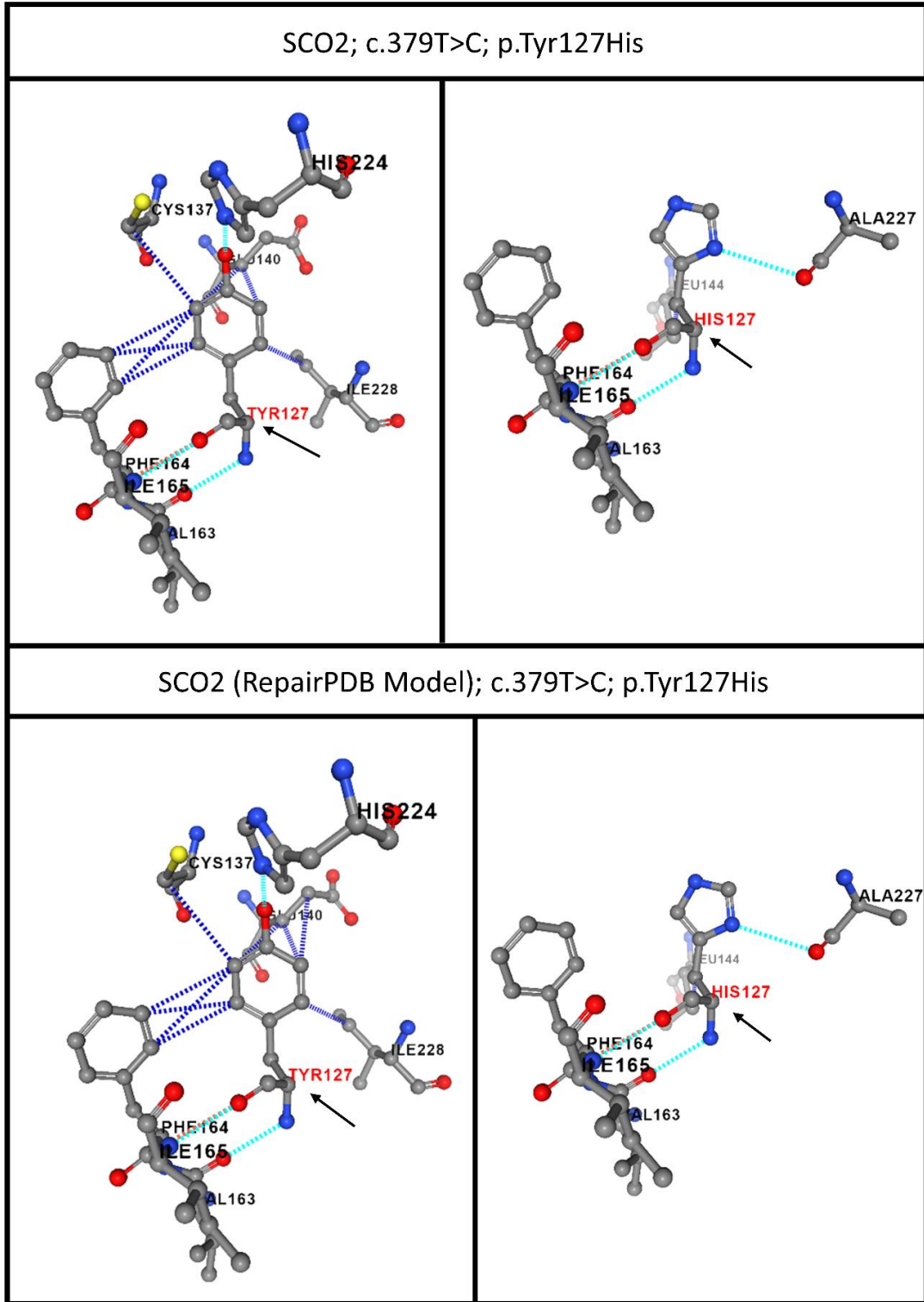
Ek 75: MMAB proteininin doğal (AF-Q96EY8-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q96EY8-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Arg195 amino asit etkileşimlerinin ve p.Arg195Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



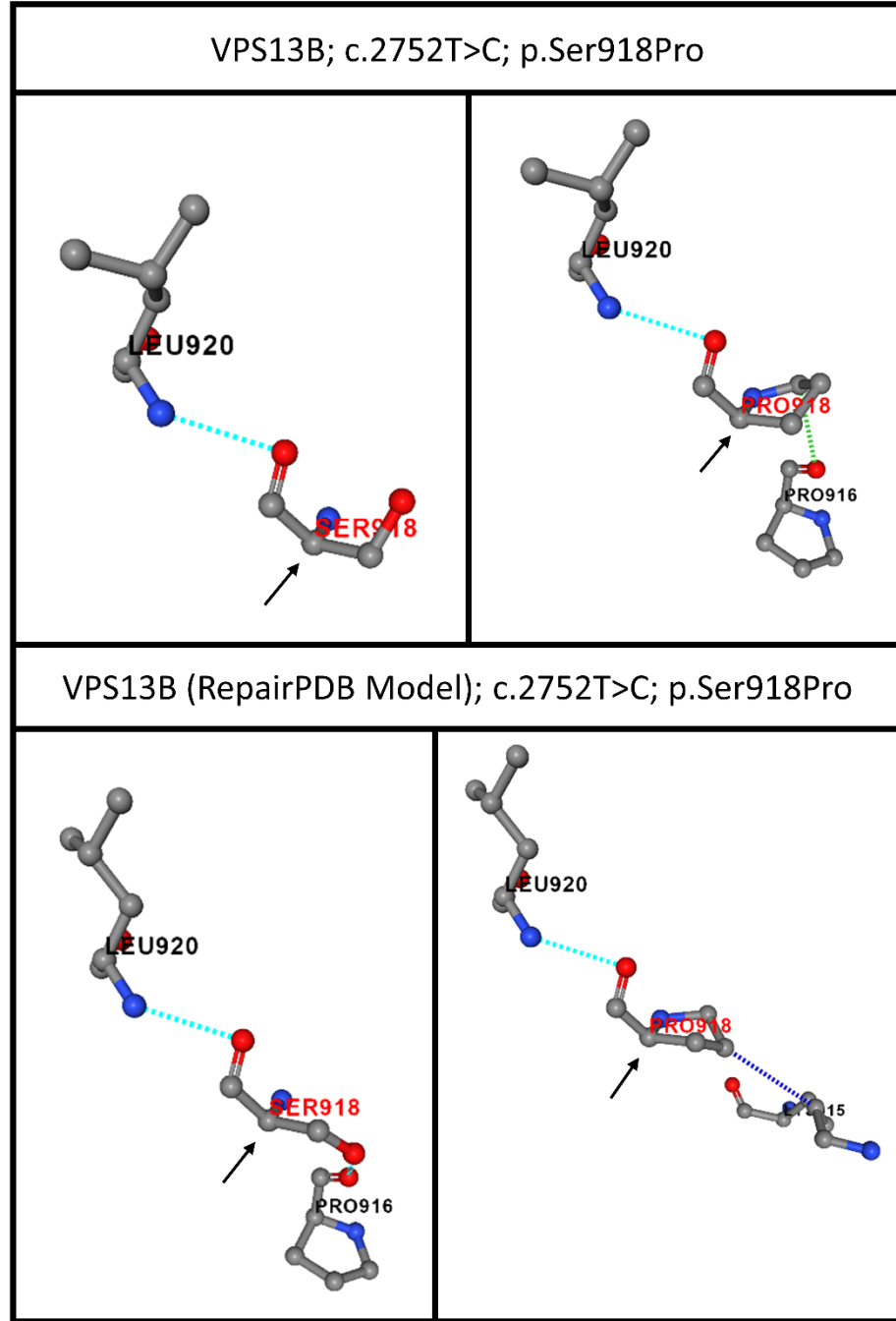
Ek 76: CPS1 proteininin doğal (AF-P31327-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P31327-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Thr2 amino asit etkileşimlerinin ve p.Thr2Met varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



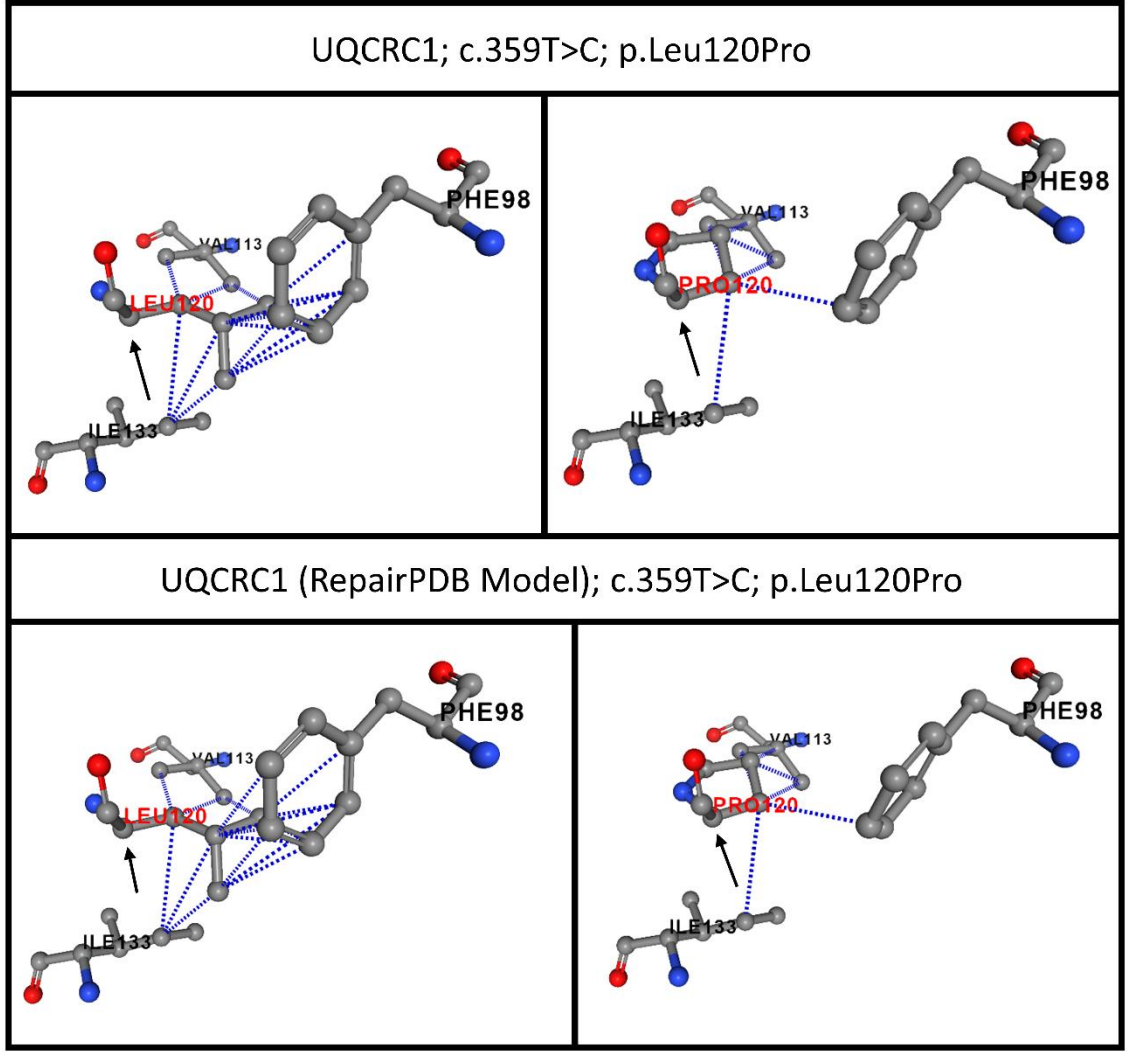
Ek 77: AGL proteininin doğal (AF-P35573-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P35573-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ile1237 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ile1237Val varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



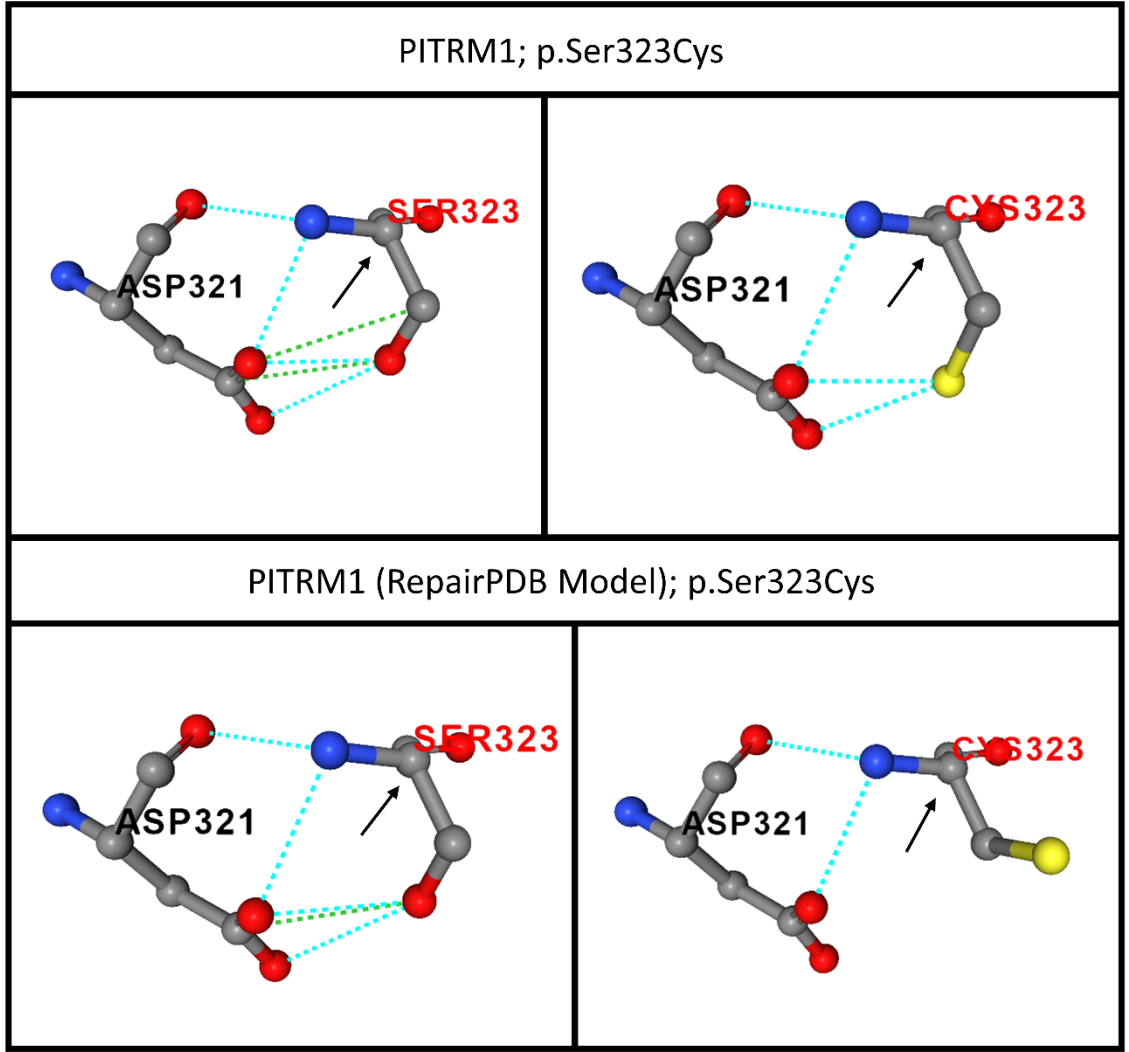
Ek 78: SCO2 proteininin doğal (AF-O43819-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-O43819-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Tyr127 amino asit etkileşimlerinin ve p.Tyr127His varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



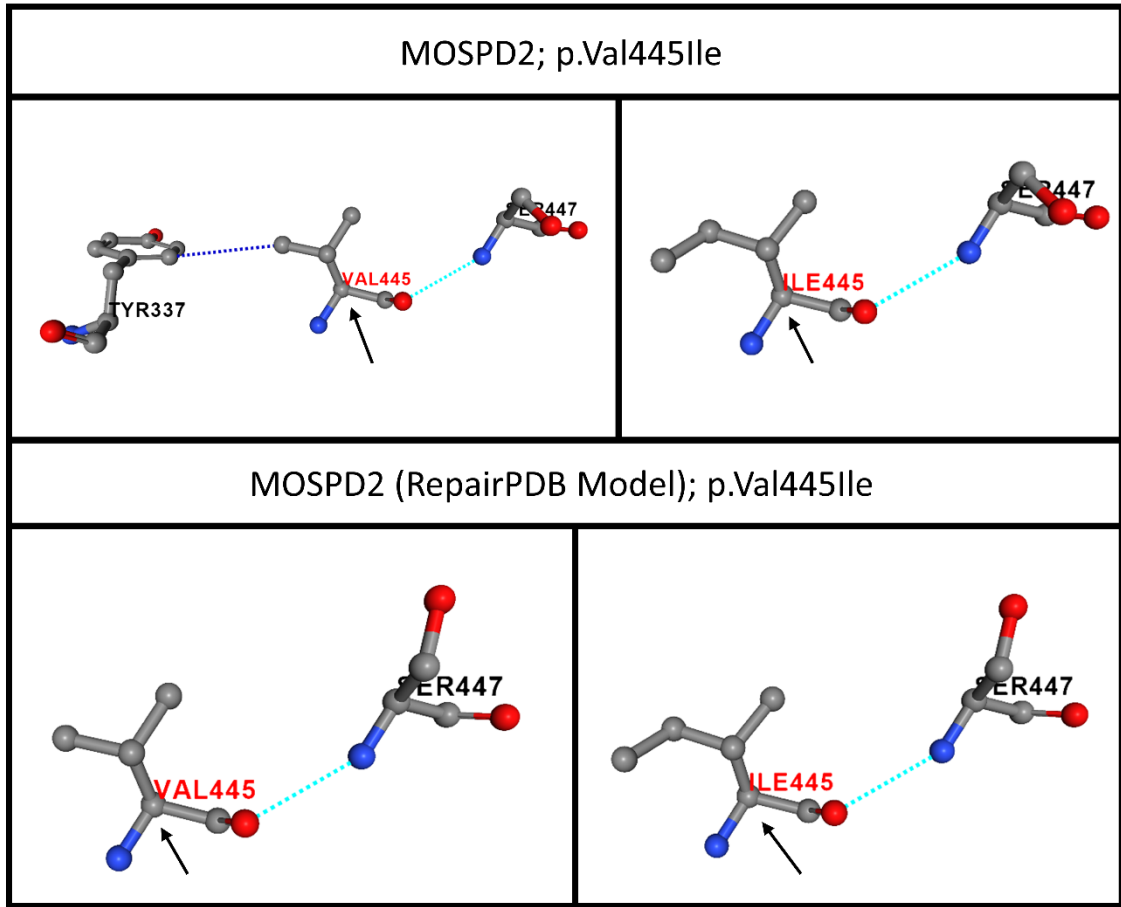
Ek 79: VPS13B proteininin doğal (AF-A0A804HL73-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-A0A804HL73-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser918 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser918Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



Ek 80: UQCRC1 proteininin doğal (AF-P31930-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-P31930-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Leu120 amino asit etkileşimlerinin ve p.Leu120Pro varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



Ek 81: PITRM1 proteininin doğal (AF-Q5JRX3-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q5JRX3-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Ser323 amino asit etkileşimlerinin ve p.Ser323Cys varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli



Ek 82: MOSPD2 proteininin doğal (AF-Q8NHP6-F1-model_v4) ve FoldX yazılımı ile düzenlenmiş (AF-Q8NHP6-F1-model_v4_Repair) konformasyonunda Val445 amino asit etkileşimlerinin ve p.Val445Ile varyantı sonrasındaki polar olmayan bağların görseli

Hidrojen
Bağları



Aromatik
Bağlar



Polar
Etkileşimler



Van der Waals
Etkileşimleri



Hidrofobik
Etkileşimler



Karbonil Grubu
Etkileşimleri



İyonik
Bağlar



9. ÖZGEÇMİŞ

