

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SEKSÜEL VE APOMİKT *BOECHERA* TÜRLERİNDE
PARENTAL ETİKETLİ BAZI GENLERİN
MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Ashhan ÖZBİLEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 27/06/2013

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

ASLIHAN ÖZBİLEN tarafından DOÇ. DR. KEMAL MELİK TAŞKIN yönetiminde hazırlanan “SEKSÜEL VE APOMİKT *BOECHERA* TÜRLERİNDE PARENTAL ETİKETLİ BAZI GENLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

Danışman

Prof. Dr. Hülya SİVAS

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Cüneyt AKI

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 27/06/2013

Doç. Dr. Zeki KARACA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Aslıhan ÖZBİLEN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca; bilgi ve tecrübesi ile yolumu aydınlatan, olumsuzlukları aşmamda hoşgörüsünü, sabrını ve yardımlarını esirgemeyen, önerileriyle yol gösteren saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN'a bilimin asıl anlamını kavramam konusunda sağladığı destek ve bana ayırmış olduğu değerli zamanı için çok teşekkür ederim.

Çalışmamın hem teorik hem de deneysel aşamasında sonsuz sabrı, bilgi birikimi ve ileriye yönelik yönlendirmeleriyle bana her zaman yardımcı olan, aynı laboratuvarı paylaştığım arkadaşım Fatih SEZER'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince; varlığı ile moral bulduğum, her türlü yardımı ve desteği ile yanımda olan arkadaşım Didem TÜRE'ye ve her zaman her konuda birçok şey paylaştığım Şebnem GÜNEŞ'e desteğinden dolayı çok teşekkür ederim.

Bu süreçte gerek yardımlarını gerekse manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Arş. Gör. Nihan AKINCI, Arş. Gör. Özlem KIPRAK, Arş. Gör. Selin ERTÜRK, Didar GÜZEY, Deniz ÇAKMAK, Gülrü YÜCEL, Merve BALLI ve Melik GÜNAY'a teşekkür ederim.

Ayrıca desteklerini hep yanımda hissettiğim hocalarım Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR ve Arş. Gör. Dr. Tülay BİCAN SÜERDEM'e teşekkür ederim.

Hayatımın hiçbir döneminde emeklerini ve desteklerini esirgemeyen, daima bana inanan, güvenen ve yol gösteren canım annem Belma ÖZBİLEN'e, canım babam Mehmet A. ÖZBİLEN'e ve canımın içi kardeşim Damla ÖZBİLEN'e çok teşekkür ederim.

Son olarak da; bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde, Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı kapsamında maddi olarak verdikleri desteklerden dolayı Yükseköğretim Kurulu'na ve akademik bilgi ve birikimlerini paylaşmaktan kaçınmayan Prof. Dr. Timothy F. Sharbel'e teşekkür ederim.

Aslıhan ÖZBİLEN

SİMGELER VE KISALTMALAR

MEG	Anne alelleri ifade olan etiketli genler
PEG	Baba alelleri ifade olan etiketli genler
PRC2	Polycomb Repressive Complex 2
MET1	DNA Metiltransferaz 1
DME	Demeter
DMR	Farklı Metilli Bölge
FIE	Fertilization Independent Endosperm
FIS2	Fertilization Independent Seed 2
PHE1	Pheres1
MEA	Medea
MEG1	Maternally Expressed Gene 1
CLF	Curly Leaf
SWN	Swinger
MSI1	Multicopysupressor
EMF2	Embriyonic Flower 2
VRN2	Vernalization 2
FH5	<i>Arabidopsis</i> Formin Homologue 5
MPC	Maternally Expressed PAB C-Terminal
HDG3	Homeodomain Glabrous 3
SUVH7	SU(VAR)3-9 Homologue 7
SUVH9	SU(VAR)3-9 Homologue 9
AGL92	Agamous-Like 92
VIM1	Variation In Methylation 1
VIM5	Variation In Methylation 5
VIM6	Variation In Methylation 6
YUC10	Yucca 10
MEE1	Maternally Expressed In Embryo 1
G	Genomik

aa	Aminoasit
CpG	Sitozin ve Guanin bazlarından zengin diziler
TE	Yer değiştiren elemanlar
°C	Santigrat derece
RT-PCR	Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
cDNA	Komplementer DNA
H3K27	Histon 3 Lizin 27
WT	Yabanıl Tip
TAIR	The <i>Arabidopsis</i> Information Resource
NCBI	National Center for Biotechnology Information
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
SRA	Sequence Read Archive
dk	Dakika
DAP	Döllenmeden sonraki gün
mg	Miligram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
TAE	Tris-Asetat-EDTA
kb	Kilobaz
dH ₂ O	Distile su
g	Gram
L	Litre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar
µg	Mikrogram
bç	Baz çifti
pmol	Pikomol
T _m	DNA erime sıcaklığı
%	Yüzde oran
cm	Santimetre

ÖZET

SEKSÜEL VE APOMİKT *BOECHERA* TÜRLERİNDE PARENTAL ETİKETLİ BAZI GENLERİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Aslıhan ÖZBİLEN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

27/06/2013, 100

Bu çalışmada; epigenetik süreçlerle düzenlenen genomik etiketlemenin, *Boechea* türlerinde tohum gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Boechea* türlerinde genomik etiketlemeye uğrayan genler literatürde bulunmadığı için, yakın akrabası *Arabidopsis thaliana* L. türüne ait genler seçilmiştir. Bu genler arasından, paternal ifadeye sahip etiketli genlerin genomik dizileri, veritabanlarından FASTA formatında elde edilmiş ve bu genlerin seksüel ve apomikt *Boechea* türlerindeki varlıkları SRA veritabanında ilk kez biyoinformatik yöntemler kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. Bu yöntemle apomikt ve seksüel *Boechea* türlerinde uzunlukları 636 ile 5414 bp arasında değişen 8 adet aday gen tesbit edilmiştir. Aday genlerin yapısı biyoinformatik araçlarla diğer türlerde bilinen benzerleri ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Çalışmada *Boechea* genom ve transkript dizileri kullanılarak *SUVH7* ve *YUC10* genleri için primerler seçilmiştir. Bu primerler sayesinde diploid apomikt *Boechea divaricarpa* türünde çiçek ve bakla dokularının farklı gelişim aşamalarında, genlerin anlatımları RT-PCR yöntemiyle incelenmiştir. Bu dokularda ayrıca genomik etiketlemede rol alan *FIE* geninin anlatımı belirlenmiştir. Çalışmada, *SUVH7* ve *FIE* genlerinin çiçek ve bakla dokularında anlatıma uğradığı belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Genomik Etiketleme, Apomiksi, Epigenetik, *Boechea*.

ABSTRACT

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME PARENTALLY IMPRINTED GENES IN SEXUAL AND APOMICT *BOECHERA* SPECIES

Aslıhan ÖZBİLEN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biological Science

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

27/06/2013, 100

In this study, it is aimed to determine the effects of genomic imprinting, which was regulated by epigenetic processes, on seed development of *Boechnera* species. Because of the imprinted genes of *Boechnera* species were not reported in literature, the genes which are regulated by genomic imprinting in *Arabidopsis thaliana* L., a close relative, were selected. Among these genes, the genomic sequences of paternally expressed imprinted genes in FASTA format were obtained from databases and existence of these genes in the SRA databases for *Boechnera* species was revealed by using bioinformatic methods. 8 candidate genes were detected, whose length vary 636 and 5414 bp, in apomict and sexual *Boechnera* species with this method. Structure of the candidate genes were examined with bioinformatic tools by comparing their similar ones in other species. In the study, primers were chosen for *SUVH7* and *YUC10* genes using *Boechnera* genome and transcript sequences. Through this primers, expression of the genes were examined with RT-PCR method in different development stages of flower and silique tissues in diploid apomict *Boechnera divaricarpa*. Moreover, expression of *FIE* gene, which has a role in genomic imprinting, was determined in these tissues. In study, it was determined that *SUVH7* and *FIE* genes have expression in flower and silique tissues.

Keywords: Genomic Imprinting, Apomixis, Epigenetic, *Boechnera*.

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
BÖLÜM 1-GİRİŞ	1
1.1. Çiçekli Bitkilerde Tohum Gelişimi	1
1.2 Çiçekli Bitkilerde Genomik Etiketleme	2
1.3. Apomiksi	12
BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	15
BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Doğal Apomikt ve Seksüel <i>Boechera</i> Türleri Genomlarında PEG Benzeri Dizilerin Biyoinformatik Çalışmalarla Belirlenmesi.....	25
3.1.1. Genlerin <i>A. thaliana</i> bitkisindeki dizilerinin eldesi.....	26
3.1.2. BLAST analizi	27
3.1.3. Filtreleme.....	28
3.1.4. Birleştirme	29
3.1.5. Genlerin <i>Boechera holboellii</i> ve <i>Boechera stricta</i> bitkilerindeki olası genomik dizilerinin eldesi.....	30
3.2. Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi	30
3.3 <i>Boechera</i> Türlerine Ait Tahmini cDNA Dizilerinin Eldesi	31
3.4 Primerlerin Seçilmesi	32
3.5 Kendileme	32
3.6 RNA İzolasyonu	33
3.7 cDNA Sentezi	34
3.8 Gradyent RT-PCR	35
3.9 RNA ve cDNA Jel Elektroforezi	37
BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39
4.1 Doğal Apomikt ve Seksüel <i>Boechera</i> Türleri Genomlarında PEG Benzeri Dizilerin Biyoinformatik Çalışmalarla Belirlenmesi.....	39
4.1.1 <i>AT1G31640 (AGL92)</i>	39
4.1.2. <i>AT2G21930</i>	44
4.1.3. <i>AT2G36560</i>	49

4.1.4. <i>AT5G63740</i>	54
4.1.5. <i>AT2G32370 (HDG3)</i>	58
4.1.6. <i>AT1G17770 (SUVH7)</i>	64
4.1.7. <i>AT1G57820 (VIM1)</i>	69
4.1.8. <i>AT1G48910 (YUC10)</i>	74
4.2 Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi	79
4.3 Kendileme	80
4.4 RNA Jel Elektroforezi	81
4.5 Gradyent RT-PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezi	82
4.5.1 <i>FIE</i> geni	82
4.5.2 <i>SUVH7</i> geni	86
4.5.3. <i>YUC10</i> geni	88
BÖLÜM 5-SONUÇ VE ÖNERİLER	91
KAYNAKLAR	94
Ekler	I
Çizelgeler	XXVI
Şekiller	XXIX
Özgeçmiş	XXXI

Endosperm gelişiminin maternal (ana) ve paternal (baba) genomların miktarından (dozaj) etkilendiği ve çifte döllenme sonucunda, endospermdeki ebeveyn genom oranının (2m:1p) tohum gelişiminin düzenlenmesinde önemli rollere sahip olduğu bildirilmiştir (Scott ve ark., 1998).

Arabidopsis thaliana L. bitkisi ve mısırdaki yapılan incelemeler, endospermde 2m:1p oranından sapmaların tohum gelişimi açısından ciddi sorunlar doğurduğunu ortaya koymuştur (Lin, 1984; Scott ve ark., 1998; Sokolov, 2006). Atasal genom miktarlarındaki bu sapmalar, embriyoyu besleyen endospermin gelişimini etkiler ve tohum oluşumu baskılanır.

Çiçekli bitkilerde yukarıda açıklanan tohum gelişimi ile ilgili olayların, epigenetik süreçlerle düzenlendiği bildirilmiştir (Gehring ve ark., 2009). Epigenetik, DNA modifikasyonları, kromatin modifikasyonları veya posttranskripsiyonel mekanizmalar ile, gen anlatımının DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmaksızın düzenlenmesidir. Epigenetik süreçler arasında genomik etiketleme, anne ya da babadan geçen alellerde, gen anlatımlarının epigenetik işaretlere bağlı olarak, alele özgü bir şekilde baskılanması olarak tanımlanmıştır (Ward, 2002; Ikeda, 2012).

1.2 Çiçekli Bitkilerde Genomik Etiketleme

Genomik etiketleme, hem memelilerde hem de çiçekli bitkilerde üreme sırasında görülmüş ve ilk olarak 1970’te mısır bitkisi endospermde pigmentasyondan sorumlu *R* geninde, normalde beklenmeyen ve sadece annesel (maternal) alele ait etkilerin ortaya çıkmasıyla keşfedilmiştir (Kermicle, 1970).

Genomik etiketleme, bitki ve memelilerde, embriyonun büyümesini destekleyen organlarda, bitkilerde embriyonun besin kaynağı olan endosperm ve memelilerde ise de endospermin analogu olan plasentada, görülür. Genomik etiketleme, çiçekli bitkilerde normal gelişim için gereken birçok geni de regüle etmektedir (Gehring ve ark., 2006). Yeni tanımlanan etiketli genlerin fonksiyonları çeşitlidir ve direkt olarak büyüme ve gelişmeyle bağlantılıdır (Gehring ve ark., 2011; Hsieh ve ark., 2011).

Embriyo ve endosperm genetik olarak özdeşdir. Tek farkları embriyonun bir maternal bir paternal olan diploid kromozom seti taşıması, endospermin ise iki maternal bir paternal triploid kromozom seti taşımasıdır. Buna rağmen gelişim aşamaları oldukça farklıdır. Birçok türde genomik etiketleme endospermin gelişimini etkilerken, embriyoyu etkilemez. Bitkilerdeki genomik etiketleme de, embriyonik büyümeyi destekleyen ve tohum

gelişimiyle ilgili olan endospermle sınırlıdır. Embriyo üzerinde etkisi varsa bile bu dolaylı yoldan, yani endospermin etiketlenmesi sebebiyle olur (Vinkenoog ve ark., 2002).

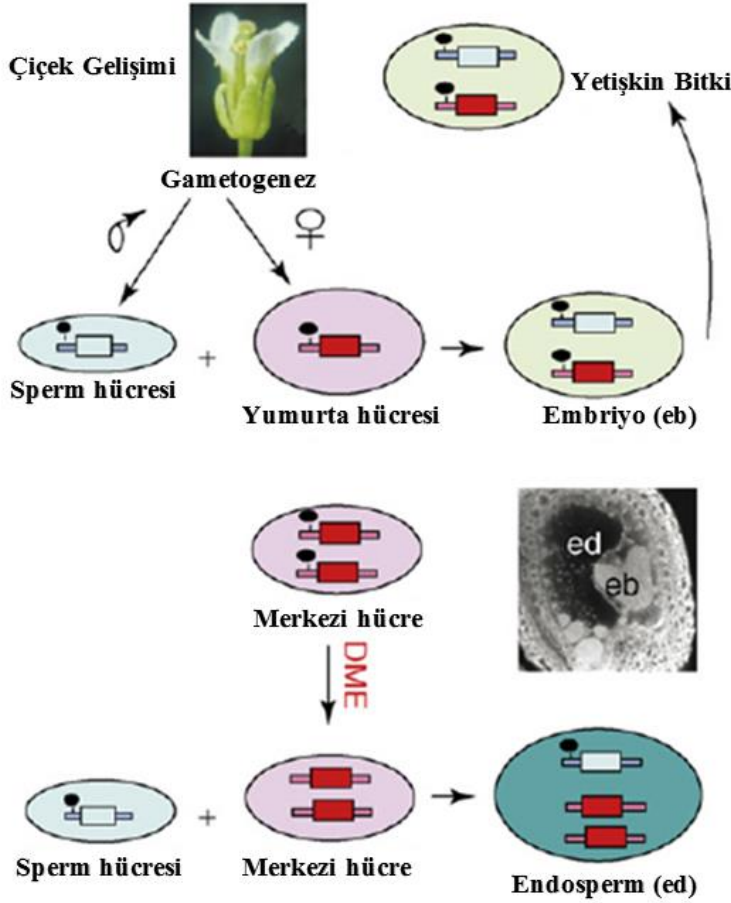
Etiketleme, endosperm gen ifadesini etkileyen temel bir epigenetik süreçtir (Hsieh ve ark., 2011). Bitkilerde genomik etiketlemenin varlığını düzenleyen iki farklı epigenetik mekanizma bilinmektedir: (i) DNA demetilasyonu ve (ii) PRC2 (*Polycomb Repressive Complex 2*) tarafından düzenlenen histon metilasyonu. Bilinen tüm bitki genlerinin etiketli ifadeleri, DNA metilasyonuna, PRC2'ye veya her ikisine de bağlıdır (Hsieh ve ark., 2011).

Son zamanlardaki tüm genom analizleri, etiketli genlerin, DNA metilasyonu ve PRC2 tarafından yapılan çoklu kontrol mekanizmalarını anlamamıza yardımcı olmuştur.

Sitozin DNA metilasyonu bitkilerde ve memelilerde gen etiketlenmesi için gereken epigenetik bir modifikasyondur. Somatik hücrelerde ve sperm hücrelerinde, *MET1* (DNA methyltransferase1; DNA metiltransferaz1), CpG (birbirini takip eden sitozin ve guanin bazlarından zengin diziler) bölgelerinden DNA metilasyonu yapar. Metilasyona uğrayan genlerin veya alellerin ifadeleri baskılanmıştır, yani etiketlenmiştir.

DME (5-methylcytosine DNA glycosylaz *DEMETER*) ise metillenmiş bölgelerden metil gruplarını uzaklaştırarak (demetilleyerek), susturulmuş olan ifadenin aktivasyonunu sağlar. *DME* merkezi hücre oluşurken fazlaca ifade olurken, sperm hücreleri veya döllenmiş hücrelerde ifade olmaz (Ikeda, 2012).

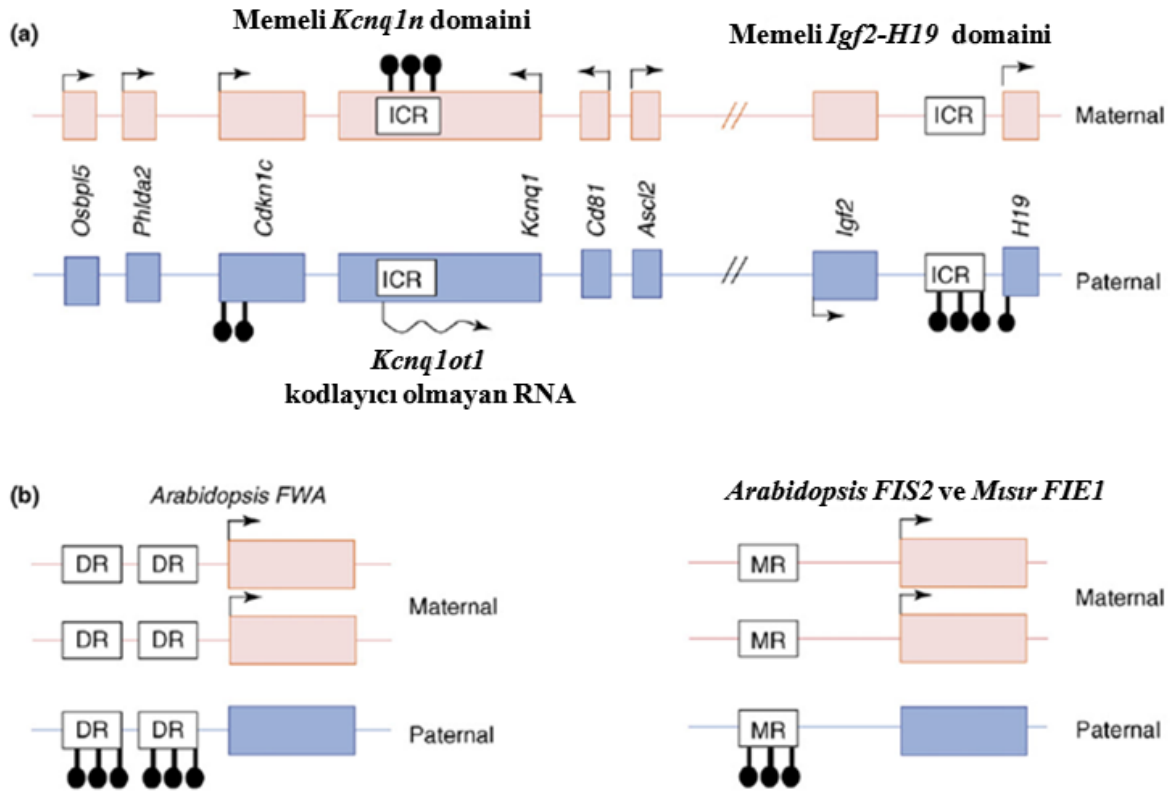
A. thaliana endospermünde etiketlemenin kurulması kısmen, endospermin atası olan dişi gametofitin merkezi hücresinde DNA'nın *DME* tarafından demetilasyonuna bağlıdır. *A. thaliana* bitkisinde *DME* merkezi hücredeki etiketli genlerin maternal alellerini döllenmeden önce demetiller. Böylece embriyo ve endosperm arasında metilasyon asimetrisi oluşur (Şekil 2). Bu asimetri, eş zamanlı döllen ve aynı tohum içinde bulunan embriyo ve endospermin genomlarındaki DNA metilasyonlarını tanımlayabilmeyi de mümkün kılar (Gehring ve ark., 2009).



Şekil 2. Embriyo ve endosperm arasındaki metilasyon asimetrisi (Feil ve Berger, 2007; Robert Feil'in izniyle).

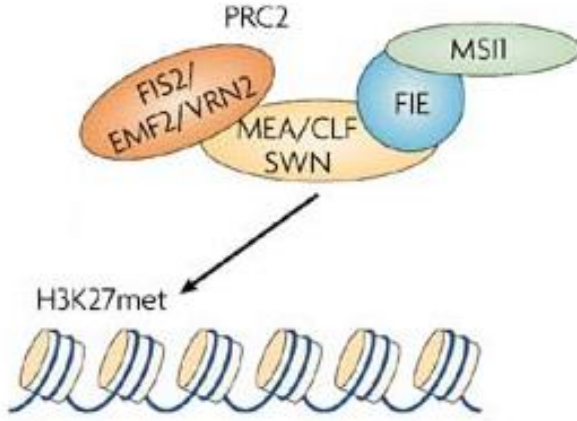
Alele özgü metilasyon gametogenez sırasında yapılandırılır. Erkek sperm hücreleri yüksek oranda metilliyken, dişi merkezi hücresi evrensel olarak demetillidir. Döllenme, endospermdeki erkek ve dişi genomları arasında metilasyon dengesizliği yaratır, bu da genomik etiketleme için potansiyel bir temeldir. Deneysel olarak maternal genomdaki DNA metilasyon kaybı sebebiyle, endospermde DNA metilasyonu az ölçülür. Embriyoda gözlenen yüksek DNA metilasyonu, dengesiz DNA metilasyonunun endosperm dokusuyla sınırlı olduğunun bir kanıtıdır. (Wollman ve Berger, 2012).

Memelilerde her yeni jenerasyonda metilasyon silinip yeniden yapılandırılır (reprogramming), ancak çiçekli bitkilerde tam aksine gen ifadesinin epigenetik durumu jenerasyonlar boyunca genellikle değişmeden kalıtılır (Surani, 2001; Kinoshita ve ark., 2004). Ayrıca memelilerde etiketli genler kromozomal kümeler halinde bulunurken, bitkilerde genelde tekil olarak bulunmaktadır (Feil ve Berger, 2007; Wolff ve ark., 2011) (Şekil 3).



Şekil 3. Memeli(a) ve bitkilerde(b) etiketli genlerin genom üzerinde lokalizasyonu (Feil ve Berger, 2007; Robert Feil'in izniyle).

PRC2 ise, histon 3'ün Lizin 27 trimetilasyonundan sorumludur. Bu durumdaki bir kromatin suskun hale gelir. PRC2'de MEDEA (MEA), CURLY LEAF (CLF) ve SWINGER (SWN veya EZA1) olmak üzere üç tane SET domain proteini, MULTICOPYSUPPRESSOR (MSI1), FERTILIZATION INDEPENDENT ENDOSPERM (FIE) ve üç tane VEFS-box proteini olan FERTILIZATION INDEPENDENT SEED 2 (FIS2), EMBRYONIC FLOWER 2 (EMF2), VERNALIZATION 2 (VRN2) bulunmaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. PRC2 (Scheres, 2007).

Mendel kanunlarına göre, anne ve baba genomlarının embriyoya katkısı eşittir. Ancak önceden belirtildiği gibi, çiçekli bitkiler ve memelilerde bazı genlerin anlatımı yalnızca maternal veya paternal aleller ile yapılmaktadır (Feil ve Berger, 2007). Gen anlatımının maternal alel ile yapıldığı ve paternal alelin etiketlenip suskun hale geçtiği genler MEG'ler (Maternally Expressed Genes; Anne alelleri ifade olan etiketli genler) olarak, gen anlatımının paternal alel ile yapıldığı ve maternal alelin etiketlenip suskun hale geçtiği genler ise PEG'ler (Paternally Expressed Genes; Baba alelleri ifade olan etiketli genler) olarak tanımlanmıştır.

A. thaliana türünde genetik çalışmalar sonucunda genomik etiketleme ile idare edilen çok sayıda gen bildirilmiştir. Bunlar; *MEDEA*(*MEA*), *FWA*, *FERTILIZATION INDEPENDENT SEED2* (*FIS2*), *ARABIDOPSIS FORMIN HOMOLOGUE 5* (*FH5*) ve *MATERNALLY EXPRESSED PAB C-TERMINAL* (*MPC*) olup, bu genler MEG'ler olarak bildirilmiştir (Kinoshita ve ark., 1999; Kinoshita ve ark., 2004; Jullien ve ark., 2006a; Tiwari ve ark., 2008; Fitz Gerald ve ark., 2009).

Çiçekli bitkilerde dişi gametofit hem embriyonun hem de endospermin atasıdır. Bu sebeple embriyo ve endosperm gelişiminde genelde paternal alel etiketlidir. MEG olarak bilinen *A. thaliana* *MEA*, *FIS2* ve *FWA*'nın ifadesi, her bir genin yakın bölgesindeki DMR (*Differentially Methylated Region*; *Farklı Metilli Bölge*)'lerin metilasyon durumuyla ilgilidir ve bu genler transkripsiyon düzenleyicileridir (Kinoshita ve ark., 2004; Gehring ve ark., 2006; Jullien ve ark., 2006b; Tiwari ve ark., 2008). Merkezi hücrede ve sperm hücresinde DMR'lerin farklı metilasyon durumları jenerasyonlarda kalıtılır ve bu kalıtım sebebiyle genlerin endospermdeki ifadesi yine etiketli olur.

Çiçekli bitkilerdeki etiketlenen genlerin 1970’te ortaya çıkmasına rağmen 2005 yılına kadar çiçekli bitkilerde paternal ifadeye uğrayan etiketli gen bilinmemekteydi. Ancak 2005 yılında, *A. thaliana* türünde paternal aleli ifade olurken maternal alelin suskun olduğu bilinen tek gen Tip I MADS-box geni *PHERES1* (*PHE1*) olarak bildirilmiştir (Köhler ve ark., 2005). Bu gen ise bir PEG olarak tanımlanmıştır (Çizelge 1).

Son birkaç yılda tüm-genom transkriptom analizleri, *A. thaliana* bitkisinde birçok PEG daha olduğunu ve diğer bitkilerde de PEG’ler bulunduğunu ortaya koymuştur. Bunlar; *A.thaliana* türünde *HOMEODOMAIN GLABROUS 3* (*HDG3*), *SU(VAR)3-9 HOMOLOGUE 7* (*SUVH7*), *SU(VAR)3-9 HOMOLOGUE 9* (*SUVH9*), *AGAMOUS-LIKE 92* (*AGL92*), *VARIATION IN METHYLATION 1* (*VIM1*), *VARIATION IN METHYLATION 6* (*VIM6*), *AT1G60410*, *AT2G21930*, *AT2G36560*, *AT4G11940*, *AT5G62110*, *AT5G63740*, *A. thaliana*, *Oryza sativa* (çeltik) ve *Zea mays* (mısır) bitkilerinde *VARIATION IN METHYLATION 5* (*VIM5*) ve *YUCCA10* (*YUC10*) genleridir (Gehring ve ark., 2009; Gehring ve ark., 2011; Hsieh ve ark., 2011; Luo ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2011; Ikeda 2012) (Çizelge 1).

Çizelge 1. *A. thaliana* türünde paternal ifadeye uğradığı bilinen bazı etiketli genler (G:Genomik; aa:aminoasit; www.arabidopsis.org)

Gen Adı	Lokus	G. DNA Uzunluğu	mRNA Uzunluğu	aa Uzunluğu	Molekül Ağırlığı	İzoelektrik Noktası
AGAMOUS-LIKE 92 (AGL92)	AT1G31640	1485	1395	464	52211.4	6.1891
AT1G60410	AT1G60410	1734	1460	406	46184.9	4.9582
AT2G21930	AT2G21930	1488	1488	335	38129.7	8.2635
AT2G36560	AT2G36560	3305	1775	574	61191.0	10.2284
AT4G11940	AT4G11940	795	795	264	29901.2	4.4561
AT5G62110	AT5G62110	3913	2192	673	74748.8	3.8893
AT5G63740	AT5G63740	681	681	226	26050.0	3.3893
HOMEODOMAIN GLABROUS 3 (HDG3)	AT2G32370	5409	2863	725	80069.8	6.5098
PHERES 1 (PHE1)	AT1G65330	801	801	279	31953.2	5.0952

Çizelge 1. *A. thaliana* türünde paternal ifadeye uğradığı bilinen bazı etiketli genler (www.arabidopsis.org) (devam)

Gen Adı	Lokus	G. DNA Uzunluğu	mRNA Uzunluğu	aa Uzunluğu	Molekül Ağırlığı	İzoelektrik Noktası
SU(VAR)3-9 HOMOLOG 7 (SUVH7)	AT1G17770	2082	2082	693	77631.3	6.0518
SU(VAR)3-9 HOMOLOG 9 (SUVH9)	AT4G13460	2927	2534	650	72173.6	4.9079
VARIATION IN METHYLATION 1 (VIM1)	AT1G57820	3777	2154	645	71466.5	8.0534
VARIATION IN METHYLATION 5 (VIM5)	AT1G57800	3661	2107	660	73363.0	7.553
VARIATION IN METHYLATION 6 (VIM6)	AT4G08590	2787	1634	465	52307.0	4.9011
YUCCA 10 (YUC10)	AT1G48910	2094	1152	383	42386.3	7.2178

PEG'lerin maternal alellerini PRC2 kompleksi etkin bir şekilde sustururken, MEG'lerin paternal alellerini PRC2 kompleksi veya DNA metilasyonu susturur. Aslında PRC2 kompleksi esas olarak çoğu MEG'in maternal alelinin ifade olmasını sağlar (Wolff ve ark., 2011).

DNA metilasyon hedef bölgelerinin lokalizasyonu, MEG'ler ve PEG'ler arasında farklıdır (Wolff ve ark., 2011). MEG'lerin DNA metilasyon hedef bölgeleri PEG'lere göre, transkripsiyonel başlama ve sonlanma bölgelerine daha yakındır. PEG'lerin CG metilasyon bölgeleri, kodlama bölgesinin yaklaşık 700 baz çifti upstream (5' uca yakın bölge) veya downstream (3' uca yakın bölge)'inde bulunmaktadır (Wolff ve ark., 2011).

PEG'lerin daha uzaktaki bu metilasyon bölgeleri çoğunlukla metilasyondan yoksundur. Bu durum, paternal olarak kalıtıldığı zaman PEG'lerin transkripsiyonel olarak aktif olmasını sağlar. Dolayısı ile PEG'lerin maternal alellerini susturma konusunda DNA metilasyonunun sorumlu olmaması doğaldır.

Transkripsiyonel başlama ve sonlanma bölgelerinin DNA metilasyon hedef bölgeleriyle olan uzaklığı, genin MEG olarak mı PEG olarak mı ifade olacağına karar verilebilmesini sağlar (Gehring ve ark., 2009; Wolff ve ark., 2011).

Transposable elemanların (Genomda Yer Değiştirebilen Elemanlar; TE), diğer genlerle karşılaştırıldığında, PEG ve MEG'lerin yakınlarında daha fazla bulunduğu ve bu sebeple etiketli gen ifadesinin oluşması için tetikleyici güç olabileceği bildirilmiştir (Gehring ve ark., 2009; Hsieh ve ark., 2011; Wolff ve ark., 2011). TE insersiyonları ve bunu takiben TE'lerin susturulması, endospermde etiketli genlerin oluşumunu tetikleyebilir.(Wollmann ve Berger, 2012).

TE bölgeleri endospermde çoğunlukla demetillidir. Bu demetilasyona uğramış bölgeleri analiz ederek yeni etiketli genler keşfeden Gehring ve ark. (2009), genlerin yakınlarına TE insersiyonu olması ve bunun metilasyonun bir hedefi olmasının bitkilerde etiketlemenin evrimine yol açmış olabileceğini belirtmişlerdir.

Diğer genlerle karşılaştırıldığında etiketli genlerin çoğunun yakın homologlara sahip oldukları gözlenmiştir. Bu sonuca göre *A. thaliana* bitkisinde lokal duplikasyonların etiketli genlerin oluşması için zemin sağlayabileceği de vurgulanmıştır. (Wolff ve ark., 2011). Ancak, Wollmann ve Berger (2012), etiketli bir lokusun pozitif seçiminin belirsiz olduğunu ve ileriki araştırmalar için anahtar bir soru olacağını belirtmişlerdir.

Bunlara ek olarak, genomik etiketlemenin akrabalık teorisi, genomik etiketlenmeyi açıklayan bir teori olarak ortaya atılmıştır ve daha çok atasal anlaşmazlık teorisi olarak

bilinir (Wilkins ve Haig, 2003). Atasal anlaşmazlık teorisine göre; diploid bir lokusta iki alelin optimal ifade seviyesi atasal kökene bağlı olarak farklı olursa, etiketlenen genin ifade olmaması evrimsel bir sonuç olarak karşımıza çıkar (Haig, 2000).

Genomik etiketlemenin, paternal ve maternal kökenli alellerin farklı genetik istekleri sonucunda, doğal seçim sonucu oluştuğu düşünülmektedir çünkü maternal ve paternal alellerin bu istekleri simetrik değildir. (Haig, 2002). Etiketleme modelinde bu atasal anlaşmazlığın, köken alınan ataya özgü gen ifadesinin, yani etiketlemenin, itici gücü olduğu belirtilmiştir. Çiçekli bitkilerdeki parental (atasal) genomik etiketleme, döllenmeden sonra endospermdeki metillenmiş erkek ve demetillenmiş dişi genomundaki dengesizlikten kaynaklanır (Wollmann ve Berger, 2012).

Atasal anlaşmazlık teorisine göre, dişi birden fazla erkek tarafından döllendiği zaman, erkekler kendi yavru döllerine maksimum kaynak aktarımı yapan genlerin ifadesini desteklerken, dişi yavru döllerin tamamına eşit kaynak aktaracak genleri destekler (Gehring ve ark., 2004; Feil ve Berger, 2007). Bu hipoteze göre anne kaynaklarını tüm yavrularına eşit olarak paylaştırır; ancak baba, kendi yavruları diğer babaların yavrularıyla rekabet edebilsin diye, besin kaynağını olabildiğince kendi yavrularına dağıtır. Böylece embriyo gelişiminde, paternal genom kendi yavru döllerini desteklemek için büyümeyi artırırken, maternal genom tüm yavru döllere kaynağın eşit olarak dağıtılması için büyümeyi baskılar. Örneğin maternal genomun miktarı artarsa, endosperm büyümesi ve tohum boyutu azalır (Wilkins ve Haig, 2003; Feil ve Berger, 2007). Endosperm embriyonun besin kaynağıdır, dolayısı ile bu dokuda kaynak dağıtımı için anlaşmazlığın ve etiketlemenin ortaya çıkması doğaldır (Gehring ve ark., 2004; Hsieh ve ark., 2011).

Grossniklaus ve ark. (1998), birçok *A. thaliana* MEG'inin endosperm gelişimini baskılar durumda olduğunu bildirmesine karşın, son yıllarda yapılan bir çalışmaya göre mısırdaki *MEG1 (Maternally Expressed Gene 1)* geni besin dağıtımını destekleyicidir (Costa ve ark., 2012). Bu sonuç atasal anlaşmazlıkla tutumlu değildir. Bu sebeple, etiketlemenin evriminin atasal anlaşmazlıkla ilgisinin hala kesin olmadığı ve tartışmaya açık olduğu belirtilmektedir (Ikeda, 2012).

Bununla beraber, bitkilerde etiketlemenin sadece endospermle sınırlı olduğu ve bir sonraki jenerasyona aktarılamayacağı düşüncesi, son zamanlardaki araştırmalarla çürütülmüştür. Mısırdaki bulunan *maternally expressed in embryo 1 (mee1)*'in hem endospermde hem de embriyonun erken gelişim aşamalarında gözlenmiş olması sonucunda, etiketlemenin sonraki döllere aktarılabilirliğini savunulmuştur (Jahnke ve

Scholten, 2009). Ayrıca Luo ve ark. (2011), çeltikte bulunan *Os10g05750* geninin endosperm dışında embriyo dokusunda da genomik etiketlemeye uğrayan tek gen olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, araştırmacılar bu genin maternal transkriptlerinin tohum gelişimi sırasında embriyoda kısa süreli ve geçici olarak belirlendiğini belirtmişlerdir. Embriyoda tespit edilen bu iki etiketli gen dışında, çiçekli bitkilerde genomik etiketleme endosperm dokusuyla sınırlıdır.

Tüm bu bulgulara rağmen bitkilerde endospermdeki etiketlemenin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır ve daha fazla araştırma gerektirmektedir (Ikeda, 2012).

1.3. Apomiksi

Angiospermilerin bir kısmında ise apomiktik üreme görülmektedir. Apomiksi, genotip olarak anneyle eş embriyolar üreten, yaklaşık 400'den fazla bitki türünde gözlenen bir aseksüel tohum oluşum şeklidir (Asker ve Jerling, 1992; Carman, 1997). Apomiktik süreç ve seksüel üreme arasında 3 önemli fark vardır. Bunlar sırası ile (i) kromozom sayısı $2n$ olan embriyo kesesi oluşumu (apomayoz), (ii) döllenme olmaksızın embriyo gelişimi (partenogenez) ve (iii) merkezi hücrelerin ya kendiliğinden (otonom) ya da döllenme ile (pseudogami) endosperm oluşturmalarıdır (Koltunow ve ark., 1993).

Apomikside erkek gametofitin embriyoya katkısı olmaz. Böylece yavru genotipi anne genomuyla sınırlı kalır. Apomikside embriyo oluşması için mayoz gerekli olmadığından, belirli bir genotip sabitlenir (Koltunow ve ark., 1995). Bu sebeple hibrit tohum teknolojisinde istenen bir özelliktir.

Apomiksinin tarımsal önemi olan bitkilerde gerçekleştirilmesi; hibrit tohumların genotiplerinin sabitlenmesini sağlayacaktır (Hanna ve Bashaw, 1987). Ancak bu, yalnızca apomiksi mekanizmasının moleküler seviyede anlaşılması ile mümkündür (Koltunow ve ark., 1995).

Son zamanlarda *A.thaliana* L. bitkisinde mutasyonlar yoluyla, apomiksi süreçlerinden apomayoz ve partenogenez elde edilmiş olmasına rağmen, bu çalışmalarda tam olarak apomikt bir bitki elde edilememiştir (Ravi ve ark., 2008; d'Erfurth ve ark., 2009; Marimuthu ve ark., 2011). Bu sebeple, doğal apomikt türlerdeki apomikt üremenin altında yatan genetik mekanizmanın anlaşılması gerekmektedir (Hojsgaard ve ark., 2011).

Bugüne dek, apomiksinin genetik idaresi üzerinde epigenetik düzenlenmenin etkileri, birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda, türlerarası hibridizasyon ve poliploidizasyon gibi epigenetik değişiklikler sonucu apomiktik yolların

ortaya çıkabileceği, küçük RNA moleküllerinin apomiksi-benzeri özellikler kazandırabildiği ve DNA metil transferazlar ile hiperasetilazlar gibi epigenetik düzenleyicilerin apomiksida rol oynayabileceği bildirilmiştir (Carman, 1997; Olmedo-Morfil ve ark., 2010; Garcia-Aguilar ve ark., 2010). Buna rağmen, apomikt üreme sürecinde rol alan epigenetik faktörler tam olarak açıklanamamıştır.

Bu çalışmada doğal apomikt diploid *Boechera divaricarpa* bitkisi kullanılmıştır. *B. divaricarpa*, *Boechera holboellii* ve *Boechera stricta* bitkilerinin hibritidir (Koch ve ark., 2003).

B. divaricarpa fakültatif pseudogamik apomikt bir bitkidir (Schranz ve ark., 2005; Sharbel ve ark., 2009). Pseudogamik apomikt bitkilerde embriyo kendiliğinden döllenme olmaksızın gelişirken, endosperm ancak apomayoz ürünü, mayoz geçirmemiş polar çekirdeklerin, döllenmesi sonucunda gelişebilir (Aliyu ve ark., 2010). *B. divaricarpa* polen gelişimi sitolojik olarak öncesinde incelenmiş ve anterlerde hem mayoz (kromozom sayısı n) hem de apomayoz (kromozom sayısı $2n$) gametler oluşturduğu bildirilmiştir (Schranz ve ark., 2005; Taşkın ve ark., 2009). Dolayısı ile *B. divaricarpa* bitkisinde mayoz geçirmemiş iki polar çekirdek ($4m$) ile mayoz geçirmiş bir sperm çekirdeği ($1p$) birleşerek, pentaploid endosperm ($4m:1p$) meydana gelmektedir (Vinkenoog ve Scott, 2001). Endospermde bu genom oranı çoğu bitki için lethaldır (Grossniklaus ve ark., 2001). Apomikt bitkiler dolayısı ile parental genom dengesizliğiyle başa çıkmak zorundadırlar. Endospermdeki genom oranı $4m:1p$ olan bitkiler etiketleme sistemlerini değiştirirler (Spielman ve ark., 2003), ancak bunun mekanizması ve altında yatan sebepler hala belirsizdir (Vinkenoog ve Scott, 2001; Sokolov, 2006). Seksüel bitkilerde de pseudogamik apomiktlerde de, endosperm gelişimi için endospermi destekleyen genler paternal kökenlidir. Otonom apomiktlerin ise bu sorunu aşmak için maternal genomdaki etiketlemeleri kaldırdıkları varsayılmıştır (Vinkenoog ve Scott, 2001).

Boechera cinsi, bitkilerdeki moleküler biyoloji çalışmalarının model organizması olan *A. thaliana* bitkisini de içine alan *Arabidopsis* cinsi ile yakın akraba olup; $n=7$ sayıda kromozoma sahip, *Brassicaceae* familyasına ait çok yıllık bir bitkidir (Koch ve ark., 2001; Al-Sehehbaz, 2003). *Boechera* cinsine ait türlerin hem diploid hem de triploid formları olduğu gibi, seksüel ve apomikt üreyen formları da vardır.

Arabidopsis ve *Boechera* cinslerinin yetiştirme şartları benzerdir ve genom düzenleri karşılaştırılabilir durumdadır (Windsor ve ark., 2006). *Boechera* cinsi oldukça fazla ekolojik ve genetik çeşitlilik içerir. *Boechera* türlerini, filogenisinin neredeyse

tamamlanmış olması, moleküler biyoloji araçlarının mevcut ve kullanılabilir olması ve üretken mutant hatların varlığı sebebiyle laboratuvarında çalışmak avantajlıdır (Naumova ve ark., 2001; Lovell, 2011).

Bu çalışmada; seksüel türlerde tohum gelişimini kontrol eden epigenetik düzenlemelerin, apomikt üremedeki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, yukarıda genetik etiketlemeye uğradığı bildirilen bazı PEG'lerin seksüel ve apomikt *Boechera* türlerine ait mevcut veritabanları kullanılarak dizileri ilk kez biyoinformatik yöntemler kullanılarak belirlenmiş ve bu genler arasından seçilen *SUVH7* ve *YUC10* moleküler biyoloji yöntemleri ile karakterize edilmiştir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Angiospermelerde apomiksi kavramı, tohum ile aseksüel üreme anlamına gelir ve ilk kez Winkler (1908) tarafından tanımlanmıştır. Apomikt bitkilerde endosperm gelişiminde ya yumurta hücresi partenogenetik olarak gelişirken polar çekirdek döllenir, ya da hem yumurta hücresi hem de polar çekirdek döllenmeden bağımsız olarak gelişirler (Nogler, 1984). Buna rağmen, her iki durumda da embriyo anne bitkinin bir klonudur. Apomiksi obligat veya fakültatif olarak oluşabilir. Fakültatif apomiksi daha yaygındır (Asker ve Jerling, 1992).

Seksüel üremeden apomikt üremeye geçiş, genelde poliploidi veya türlerarası hibridizasyon gibi gen etkileşimlerini veya ifadesini değiştirebilen durumlar sonucunda ortaya çıkar (Hofmann, 2010). Schranz ve ark. (2005), *Boechera* cinsinde hibritleşme kapasitesinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir ve bu durumun türün yaygınlaşmasında önemli bir faktör olduğunu söylemişlerdir. Araştırmacılar *B. stricta* türü ile farklı 18 adet *Boechera* türünü başarı ile melezlemişlerdir.

Sharbel ve ark. (2010), seksüel ve apomikt *Boechera* türlerinde ovüllerin ifade durumlarını incelemişlerdir. Dört farklı gelişim aşaması inceleyen araştırmacılar tüm aşamalarda hem seksüel hem de apomikt bitkilerde ovüllerin değişik ifade profilleri sergilediklerini belirtmişlerdir. Ayrıca transkripsiyon faktör aktivitesinin yoğun olmasının apomiksiye özgü gen ifadesini tetiklediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar buna ek olarak, megaspor ana hücre aşamasında görülen azalan ifadeyi apomayozla ilişkilendirmişlerdir.

Boechera türlerine ait, seksüel veya apomikt üremeye alakalı birçok sitolojik, genetik, moleküler biyolojik araştırmalar yapılmış olmasına rağmen, şu anda genomik etiketleme ile ilgili herhangi bir literatür bilgisi bulunmamaktadır.

Etiketleme terimi ilk kez 1960'ta koyu-kanatlı bir mantar sineğinde (*Sciara coprophila*) spermatogenez sırasında babaya ait (paternal) kromozomların eliminasyonunu tanımlamak için kullanılmıştır (Crouse, 1960). Bugün ise genomik etiketleme hem memelilerde hem de çiçekli bitkilerde gözlenen, bazı genlerin anlatımının, köken aldığı ebeveyne bağlı olarak değişmesi olarak bilinmektedir.

Kermicle (1970), genomik etiketlenmeyi ilk olarak mısır endospermünde gözlemiştir. Mısır tohumunun endospermünde, renklenmeden sorumlu *R* geninde, normalde beklenmeyen ve sadece maternal alele ait etkilerin ortaya çıktığını bildirmiştir. Araştırmacı, erkek benekli mısır ile renksiz dişi mısırı çaprazlamış ve F₁ dölünde

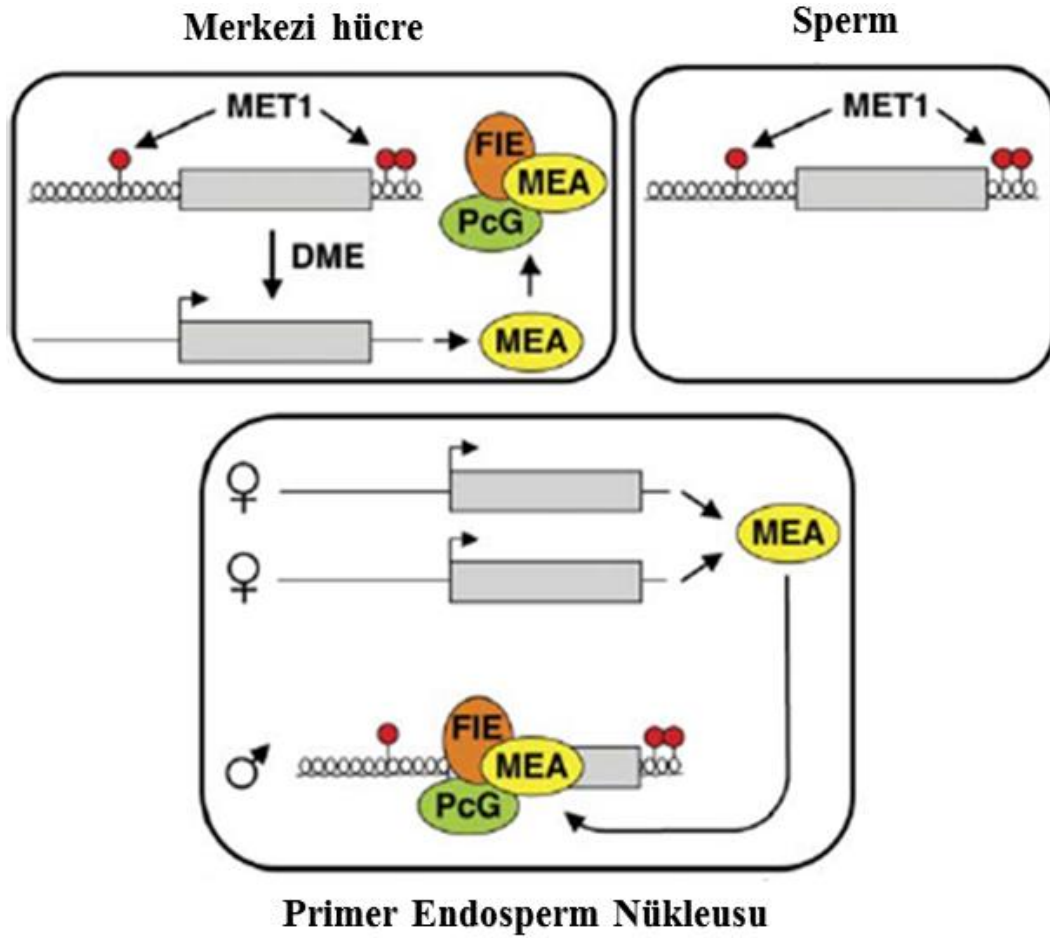
neredeyse tamamen renksiz mısırlar elde etmiştir. Benekli dişi mısır ile renksiz erkek mısırı çaprazladığında ise F₁ dölünde nerdeyse tamamı benekli mısır elde etmiştir. Bu deney sonucunda *R* geninin ifadesinde yalnızca anneden kalıtılan alellerin anlatıma uğradığını bildirmiştir.

Grossniklaus ve ark. (1998), *MEDEA* (*MEA*, PRC2'nin bir bileşeni olarak tohum gelişimini kontrol eder) geninin maternal ifadeye sahip etiketli bir gen olduğunu ilk kez bildirmişlerdir. Mutant *mea* genine sahip yumurtalardan embriyo gelişemediğini ve embriyo gelişiminin paternal genomun katkısından bağımsız geliştiğini belirtmişlerdir.

Kinoshita ve ark. (1999), *A. thaliana* bitkisinde *MEA* geninin anneye ve babaya özgü mRNA miktarını ölçmüşlerdir. RT-PCR (Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu) sonucunda agaroz jel elektroforezinde maternal alelin paternal alelden daha fazla ifade edildiğini gözlemişlerdir. Tohum gelişimi sırasında iki alelin de ifade olduğunu, ancak çifte döllenmeden sonra embriyoda iki alel de ifade olurken endospermde çoğunlukla maternal alelin ifade edildiği belirlenmiştir. Böylece, paternal *MEA* alelinin büyük oranda endospermde baskılandığı belirtilmiştir.

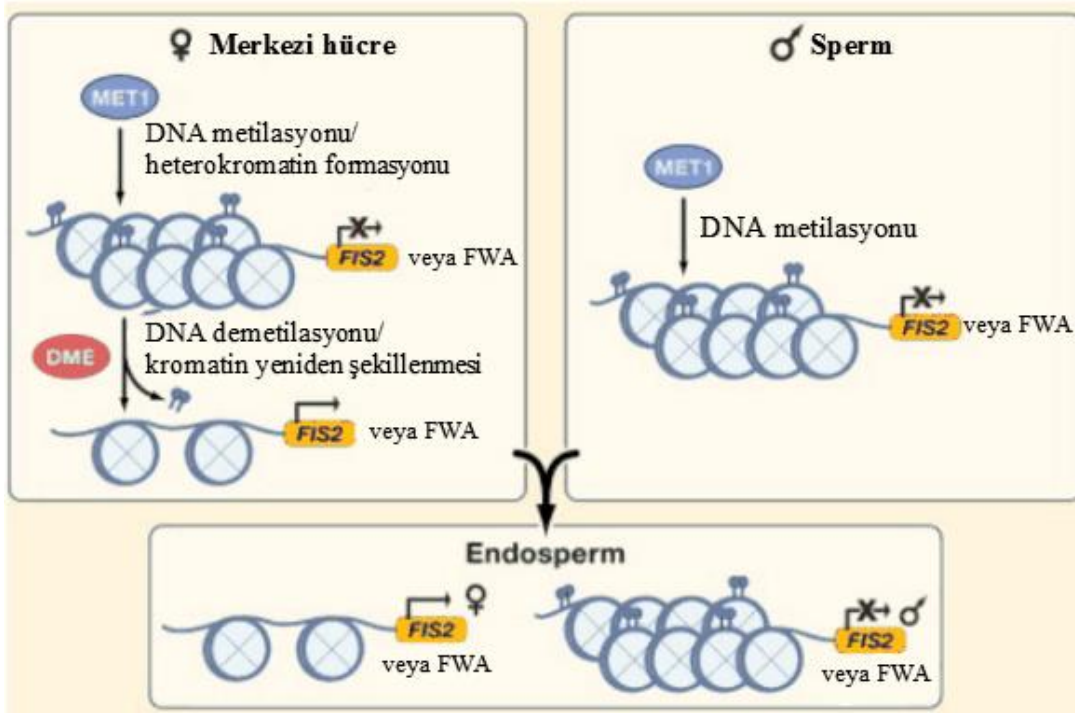
Maternal ifadeli bir *A. thaliana* geni olan *MEA*'nın etiketleme mekanizmasının DNA metilasyonuna dayanmadığı, bunun yerine paternal *MEA* suskunluğunu, *MEA* da dahil olmak üzere maternal genomdan ifade olan polycomb grubu proteinlerin kontrol ettiği bildirilmiştir (Gehring ve ark., 2006). Bunun yanı sıra, merkezi hücrede etiketli olan *MEA*'nın ifadesi için DME gereklidir. DME merkezi hücrede ifade olarak maternal alel üzerindeki metilasyonu kaldırır. Ancak, DME'nin endospermde ektopik ifadesi, normalde suskun olan paternal *MEA* alelini aktive eder (Choi ve ark., 2002).

Döllenme öncesinde *MEA* aleli dişi gametofit hücrelerinde de, sperm hücrelerinde de metilli durumdadır. Ancak, dişi gametofitte DME aktivitesi ile *MEA* aleli üzerindeki metilasyon kaldırılır ve *MEA* proteini sentezlenmeye başlar. Döllenmeden sonra endosperm dokusunda ise, *MEA* proteini anne alelleri ile sentezlenmeye devam eder. *MEA* proteini PRC2'nin de bir bileşeni olarak bu yapıya katılır ve PRC2 baba aleli üzerindeki metilasyonun devamını sağlayarak baba alelini etiketler. Bir başka deyişle *MEA* geni kendi etiketleme mekanizmasında kendisi görev alır (Şekil 5).



Şekil 5. MEA'nın etiketleme mekanizması (Gehring ve ark., 2006; Robert Fischer'in izniyle).

FIS2 (*FERTILIZATION INDEPENDENT SEED2*) ilk kez Luo ve ark. (1999), tarafından transkripsiyon faktörü kodlayan bir gen olarak bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar 1 yıl sonra endospermde *FIS2* geninin maternal ifadesine dayanarak bu genin bir MEG olabileceğini bildirmişlerdir (Luo ve ark., 2000). Ancak bu genle ilgili deneysel kanıt ilk kez Jullien ve ark. (2006b) tarafından ortaya çıkarılmıştır. Araştırmacılara göre, *FIS2*'nin etiketleme mekanizması, genin upstream bölgesinde bulunan küçük bir yeri hedef alan DNA metilasyonu sayesinde olmaktadır (Şekil 6).



Şekil 6. *FIS2* ve *FWA* genlerinin etiketlenme mekanizması (Huh ve ark., 2008; Robert Fischer'in izniyle).

Jullien ve ark. (2006b), *A. thaliana* *FIS2* sekansındaki polimorfizmleri kullanmışlardır. Tohumlardan elde edilen mRNA'lara RT-PCR uygulanmıştır. Sonuçta endosperm dokusunda sadece maternal *FIS2* alelinin ifade olduğunu bildirmişlerdir.

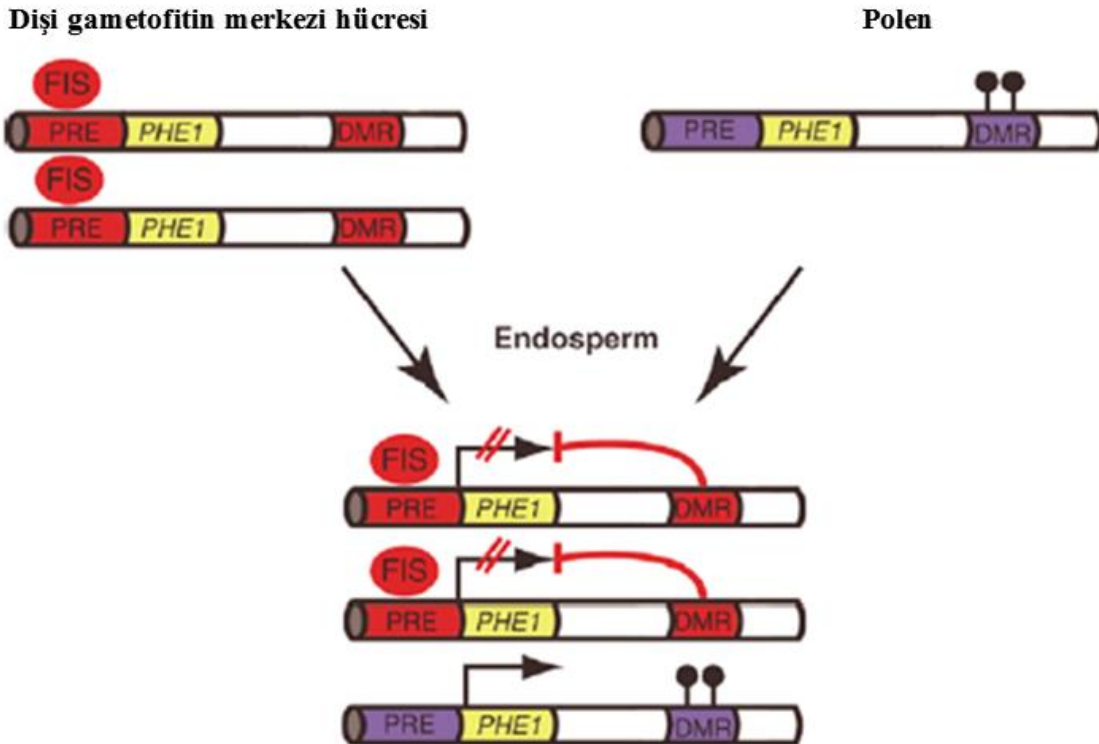
Bir çiçeklenme geni olan *FWA*'nın etiketlenmesi de MET1 sayesinde olmaktadır. *FWA*'nın ifadesi *DME*'nin anneye özgü aktivasyonuna bağlıdır. Dişi gametofitte *DME* anne alelini metilsiz bırakırken, sperm hücrelerinde baba alelinin metilasyonu devam eder. Döllenme sonrasında ise *FIS2* ve *FWA* endosperm dokusunda yalnızca anne alelinde ifade olurlar (Şekil 6). *DME* tarafından ifadenin kontrol edilmesi *MEA* ve *FWA*'da korunmuş durumdadır. Fakat *MEA* için MET1 ve *DME* antagonistik olarak çalışmaktadır. Oysaki *FWA*'nın demetilasyonu tek yönlüdür, geri döndürülmez. Bununla birlikte, endosperm dokusunda genetik ve epigenetik bilgi gelecek nesillere aktarılmadığı için, geri döndürülemeyen bu durum kritik bir süreç teşkil etmez (Kinoshita ve ark., 2004; Gehring ve ark., 2004).

Kinoshita ve ark. (2004), *A. thaliana* bitkisinde maternal ve paternal *FWA* alellerinin transkriptlerini incelemişlerdir. Endospermde sadece anneye ait alelin tespit edilmesi üzerine, *FWA* geninin *A. thaliana* endospermde maternal ifadeye sahip etiketli bir gen olduğunu bildirmişlerdir.

Hsieh ve ark. (2011) ise, endospermdeki *fie* mutantlarında *FWA*'nın paternal alelinin ifadesi değişmezken, maternal alelinin ifadesinin arttığını gözlemişlerdir. Bu sonuca göre araştırmacılar, *FWA*'nın maternal alelinin aktivasyonu için DNA demetilasyonu gerekirken, aktif alelin ifade seviyesinin de PRC2 tarafından düzenlendiğini kanıtlamışlardır.

Köhler ve ark. (2005), PRC2'nin bir elemanı olan MEA'nın bir MADS-box geni olan *PHERES1* (*PHE1*)'in ifadesini düzenlediğini belirtmişlerdir. Yaptıkları deneyler sonucunda *PHE1*'in babasal ifadeye sahip etiketli bir gen olduğu bildiren araştırmacılar, MEA yokluğunda maternal alelin de ifade edildiğini rapor etmişlerdir.

Dişi gametofitin merkezi hücresinde PRC2, *PHE1*'in promotor bölgesindeki polycomb gen kompleksinin bağlanabildiği polycomb response element (PRE)'e bağlanır. *PHE1*'in yakınındaki DMR bölgesi merkezi hücrede metilli değildir. Bu demetilasyon ile PRC2 kompleksi birlikte maternal *PHE1* alelin transkripsiyonunu baskırlar (Makarevich ve ark., 2008). Polenin ise PRC2'den yoksun olması ve erkek gametofitte DMR bölgesinin metilli olması baskılama mekanizmasını engeller. Böylece *PHE1*'in paternal aleli endospermde aktiftir (Şekil 7).



Şekil 7. *PHE1* geninin ifade mekanizması (Makarevich ve ark., 2008; Claudia Köhler'in izniyle)

Bu sonuçlara dayanarak, endospermde etiketli ifadesi olan genlerin, vejetatif dokularda metilli olmaları PRC2 tarafından hedef alınmalarını önlemektedir ve DNA'nın demetilasyonu da PRC2 tarafından H3K27 modifikasyonuna olanak tanır diye önerilmiştir (Weinhofer ve ark., 2010). Eğer polende *met1* mutanı varsa DMR bölgesi metilsizdir ve *PHE1* ifadesini engelleyebilir.

Daha önce yapılan bir çalışmada *PHE1*'in etiketli ifadesi için gerekli olan tekrar bölgelerinin gene uzak bir yerde bulunduğunu destekler şekilde sonuçlar elde edilmiştir (Villar ve ark., 2009).

Cam ve Taşkın (2009), *A. thaliana* bitkisinde paternal olarak ifade olduğu ancak maternal olarak susturulduğu *PHE1* geninin apomikt *Boechera holboellii* türündeki ortologlarını araştırmışlardır. RT-PCR uygulaması yapan araştırmacılar, jelde yürüttükleri cDNA'ları geri kazanıp daha sonra dizilemeye göndermişlerdir. Bunun sonucunda elde edilen veri ile genin filogenetik analizini yapmışlardır. Sonuçta *B. holboellii* bitkisinde araştırılan *PHE1* ile *A. thaliana* bitkisinde varolan *PHE1*'in homoloji gösterdiğini rapor etmişlerdir. Wolff ve ark. (2011) ise *fis2* mutantlarında da *PHE1* geninin maternal alelinin fonksiyon kazandığını belirtmişlerdir.

A. thaliana bitkisinde büyüyen baklalardan RNA izole eden Tiwari ve ark. (2008), tohumları embriyo ve endosperm+tohum kabuğu olarak ayırmışlardır. Mikroarray analizi ile, mRNA stabilitesi ve translasyonda rol oynayan poly(A) bağlayan proteinlerin (PABPs) C-terminal domainlerini kodlayan *MATERNALLY EXPRESSED PAB C-TERMINAL(MPC)* lokusunda polimorfizm belirlemişlerdir. Bu lokusun cDNA'larını dizilemişlerdir. Sonuç olarak embriyoda hem maternal hem paternal ifade gözlenirken, endospermde sadece maternal ifade gözlenmiştir. *MPC* MET1 tarafından metillenmekte ve maternal aleli DME tarafından demetillenmektedir. *met1* mutantlarında paternal alelin de endospermde aktif olduğu gözlenmiştir. Böylece *MPC*'yi *A. thaliana* bitkisinde yeni maternal etiketli gen olarak rapor etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *MPC*'nin PABP aracılığıyla translasyonu düzenleyebileceğini önermişlerdir.

Fitz Gerald ve ark. (2009), *A. thaliana* bitkisinde *ARABIDOPSIS FORMIN HOMOLOGUE 5(AtFH5)* geninin anlatımının PRC2 tarafından düzenlendiğini, PRC2 aktivitesinin paternal aleli susturduğunu ve endospermde ifadenin yalnızca maternal alel ile yapıldığını, bu sebeple *FH5*'in yeni bir MEG olduğunu bildirmişlerdir. Bu etiketlemeden, PRC2 tarafından hedef alınan bir cis elemanın sorumlu olduğu ortaya çıkarılmıştır.

AGAMOUS-LIKE 92 (AGL92); *A. thaliana* bitkisinin 1 numaralı kromozomu üzerinde bulunan, Tip-I MADS-box transkripsiyon faktörü kodlayan bir genidir. Bemer ve ark. (2010), *A. thaliana* bitkisi ile yaptıkları çalışmada, döllenmeyi takip eden ilk günlerde yabanıl tip (Wild Type; WT) bitkilerin bakla, pistil ve yaprak dokularından elde edilen cDNA kalıplarının kullanıldığı kantitatif RT-PCR sonucunda, bu dokularda *AGL92* geninin anlatımının olmadığını göstermişlerdir. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar, bu genin dişi gametofit ve gelişmekte olan tohumlarda anlatımının olmadığını vurgulamışlardır. Walia ve ark. (2009) da benzer sonuçları rapor ettikleri için, Bemer ve ark. (2010), bu genin suskun olduğunu ve pseudogen olarak nitelendirilebileceğini belirtmişlerdir.

Hsieh ve ark. ise, 2011 yılında yaptıkları çalışmalarında, *A. thaliana* bitkisinin endosperm dokularında, *AGL92*'nin de dahil olduğu 9 adet genin, paternal ifadeye sahip olduğunu bildirmişlerdir. *AGL92* maternal *fie* mutantlarında bialelik ifade özelliği göstermiştir. Buna göre araştırmacılar, bu genin maternal alelinin WT bitkilerde PRC2 kompleksi tarafından susturulduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, maternal *dme* mutantlarında paternal anlatımın devam ettiği gözlenmiştir. Paternal *met1* mutantlarında ise, paternal alelin ifade seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Buna göre Hsieh ve ark. (2011), WT bir bitkide paternal alel ifadesi için metilasyonun şart olduğunu ve bu metilasyonun PRC2 kompleksinin paternal aleli susturmasını önlediğini bildirmişlerdir.

AT2G21930 *A. thaliana* bitkisinin 2 numaralı kromozomu üzerinde bulunan, F-box proteini kodlayan, babasal ifadeli etiketli bir genidir. F-box proteinleri, proteozom tarafından degrade edilecek proteinin ubiquinasyonunda, sinyal iletiminde ve hücre döngüsünde görev alırlar (Craig ve Tyers, 1999). Hsieh ve ark. (2011), *AT2G21930* üzerine yaptıkları çalışmalarında maternal *fie* mutantlarının bialelik anlatım gösterdiğini saptamışlardır. Buna göre araştırmacılar, WT bitkilerde bu genin maternal alelinin PRC2 kompleksi tarafından susturulduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, maternal *dme* mutantlarında paternal ifadenin devam ettiği gözlenmiştir. Paternal *met1* mutantlarında ise, paternal alelin ifade seviyesinin azaldığı gözlenmiştir. Buna göre Hsieh ve ark. (2011), WT bir bitkide paternal alel ifadesi için metilasyonun şart olduğunu ve bu metilasyon sayesinde, PRC2 kompleksinin paternal aleli susturmasının önlendiğini rapor etmişlerdir.

AT2G36560; *A. thaliana* bitkisinin 2 numaralı kromozomu üzerinde bulunan, babasal ifadeli etiketli bir genidir. *AT2G36560* ile yapılan çalışmalarda maternal *fie* ve *dme* mutantında bu genin bialelik ifade özelliği gösterdiği, yani normalde ifade olmayan

maternal alelin de ifade olduğu ve paternal *met1* mutantlarında paternal alelin ifade seviyesinin azaldığı gözlenmiştir (Hsieh ve ark., 2011).

AT5G63740; *A. thaliana* bitkisinin 5 numaralı kromozomu üzerinde bulunan, babasal ifadeli etiketli bir genidir. Hsieh ve ark. (2011), *AT5G63740* ile yaptıkları çalışmalarda, maternal *fie* mutantlarında, hem maternal hem de paternal alellerin ifade seviyelerini normalin çok üzerinde tespit etmişlerdir. Bu genin maternal alelinin PRC2 kompleksi tarafından susturulduğunu belirten araştırmacılar maternal *dme* mutantlarının da bialelik ifade özelliği gösterdiğin bildirmişlerdir.

HDG3, (*HOMEODOMAIN GLABROUS 3*; *AT2G32370*) 16 üyeye sahip, maternal ifadeli etiketli genler olan *FWA*, *HDG8* ve *HDG9*'un da dahil olduğu, ‘‘Class IV Homeodomain-Leucine Zipper’’ Transkripsiyon (HD-ZIP) Faktörü Gen Ailesi’ne dahildir (Nakamura 2006, Gehring 2009). Gehring ve ark. (2009), *A. thaliana* bitkisinin *Col* ve *Ler* ekotiplerini karşılıklı çaprazlamışlar ve endosperm dokusundan RNA izole etmişlerdir. Olası etiketli genlerin, köken alınan ataya özgü ifadelerine bakmak için RT-PCR yapmışlardır. RT-PCR ile alele özgü ifade analizi yapan araştırmacılar, her iki çaprazlamada da *HDG3*'ün maternal aleline endospermde rastlamamışlar ve *HDG3* genini yeni bir paternal etiketli gen olarak tespit etmişlerdir.

Gehring ve ark. (2009), bir PEG olan *HDG3*'ün 5' uç bölgesinde helitron (bir çeşit TE) varlığını bildirmişlerdir. Wolff ve ark. (2011) da etiketli genlerin etrafında lokalize olan özellikle belirli bir TE alt sınıfı olup olmadığını araştırmışlar ve bunun sonucunda özellikle PEG'lerin yakınlarında RC/helitronları saptamışlardır. MEG'lerin yakınlarında saptanan RC/helitronlarının ise istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirtilmiştir.

Hsieh ve ark. (2011) da, *A. thaliana Col* ve *Ler* ekotipleriyle yaptıkları karşılıklı çaprazlamalarda *HDG3*'ün babasal ifadeli etiketli bir gen olduğunu doğrulamışlardır.

Kawanabe ve ark. (2012) ise; aralarında *HDG3*, *HDG8*, *HDG9* ve *FIS2* genlerinin *A. thaliana* bitkisinin yakın akrabası olan *Arabidopsis lyrata* bitkisinde var olup olmadığını belirlemek için, bu iki tür arasında etiketli genlerin DNA metilasyon durumunu incelemişler ve *HDG8* hariç bu etiketli genlerin etiketlenme metilasyon durumlarının vejetatif dokularda korunduğunu bildirmişlerdir.

SUVH7, CG metilasyonunun devamı için gerekli, histon H3 lizin 9 (H3K9) metiltransferazlara bağlı bir SET domain proteini kodlar. SET domain proteinleri gen ifadesinin epigenetik kontrolünde görev alırlar ve histon metiltransferazlar gibi davranırlar. Korunmuş bir SRA domainine de sahip olan *SUVH7*, bir MEG olan *SUVH8*'in de en yakın

homoloğudur (Baumbusch ve ark., 2001).

Hsieh ve ark. (2011), *A. thaliana* endosperm dokusu ve tohumlarında yaptıkları çalışmalar sonucu, histon metiltransferaz genleri olan *SUVH7* ve *SUVH9*'un paternal etiketli olduğunu rapor etmişlerdir.

A. thaliana bitkisinde *fie* ve *dme* mutantlarında bialelik ifadeye ve *met1* mutantlarında az ifade olan paternal alele rastlanmıştır (Hsieh ve ark., 2011; Gehring ve ark., 2011). Ayrıca araştırmacılar, WT paternal alel ifadesi için DNA metilasyonunun gerekli olduğunu ve PRC2'nin paternal aleli baskılamasının engellenmesini sağladığını söylemişlerdir.

Sentromerik heterokromatinizasyon için gereken CG metilasyonunun devamını sağlamada görevli bir protein kodlayan *VIM1* (Woo ve ark., 2007), yaprak ve çiçeklerde ifade olur (Woo ve ark., 2008). Bir PHD, bir SRA, iki de RING finger domainine sahip 645 aa'lık bir protein kodlar. Endosperm dokusunda ise embriyodan daha fazla ifade olduğu gözlenmiş ve *VIM1* geni over-exprese olduğu zaman çiçeklenmenin geciktiği gözlenmiştir (Woo ve ark., 2008). Ayrıca, *VIM1* geninin fonksiyonunu kaybetmesi de hipmetilasyona sebep olmuştur (Woo ve ark., 2007). *VIM1*, Gehring ve ark. (2011) tarafından PEG olarak bildirilmiştir.

YUC10, oksin sentezleyen monooksijenaz enzimlerin homoloğu olan bir protein kodlar. Hidrojen peroksit katabolik yolunda ve oksidasyon-redüksiyon yolunda görev alır. Bitki sperm hücrelerinde ifade olur. Hsieh ve ark., (2011) *YUC10*'un paternal etiketli bir gen olması sebebiyle, hormon aktivitesinin atasal anlaşmazlıkta rolü olabileceğini belirtmişlerdir.

Hsieh ve ark., (2011) *A. thaliana* bitkisinde *YUC10* ve *HDG3* genlerindeki paternal ifadenin, *met1* (cytosine-DNA-methyltransferase) mutantı polenle döllendiğinde azaldığını görmüşlerdir. WT paternal alel ifadesi için DNA metilasyonunun gerekli olduğunu ve PRC2'nin paternal aleli baskılamasının engellenmesini sağladığını belirtmişlerdir.

Zhang ve ark., (2011) *VIM5* ve *YUC10*'un hem *A. thaliana* hem çeltik hem de mısırdaki korunmuş olduğunu bildirmişlerdir. Bu genin PRC2 tarafından düzenlendiği bilinmektedir (Hsieh ve ark., 2011) Buradan yola çıkarak Zhang ve ark. (2011), her üç bitkide de genetik etiketlenmenin PRC2'ye dayalı düzenlenmesinin monokotiledonlar ve dikotiledonlar arasında korunduğunu belirtmişlerdir.

Veritabanlarını karşılaştırarak 165 aday etiketli gen elde eden Luo ve ark., (2011) *A. thaliana* bitkisinde paternal etiketli *VIM5*'in ve *YUC10*'un homologlarını çeltik

endosperminde bulmuşlardır. Araştırmacılar, *A. thaliana* ve çeltikte homolog genlerin bulunmasının, etiketlenme mekanizmasının iki türün de endosperminde benzer şekilde olabileceğini belirtmişlerdir.

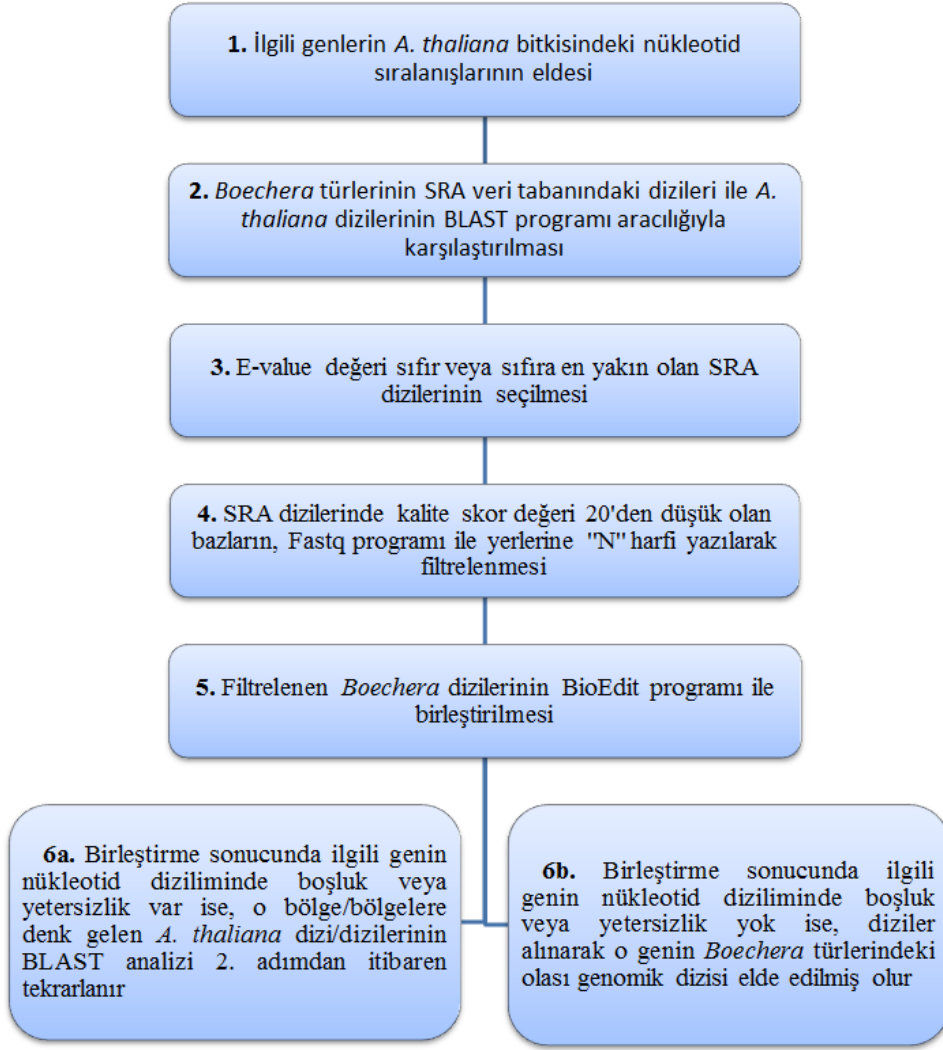
BÖLÜM 3**MATERYAL VE YÖNTEM**

Bu çalışmada; *A. thaliana* bitkisinde genomik etiketlemeye uğradığı bildirilen bazı PEG'lerin genomik dizilerini ilk defa ortaya çıkarmak amacı ile, seksüel *B. stricta* ve apomikt *B. holboellii* türlerine ait mevcut veri tabanları kullanılarak biyoinformatik analizler yapılmış ve doğal apomikt diploid *B. divaricarpa* bitkisi bu genlerden *SUVH7* ve *YUC10*'un ifade profillerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.1. Doğal Apomikt ve Seksüel Boechera Türleri Genomlarında PEG Benzeri Dizilerin Biyoinformatik Çalışmalarla Belirlenmesi

Genetik çalışmalar sonucunda; *A. thaliana* türünde, genomik etiketleme ile kontrol edilen çok sayıda gen bildirilmiş olup, PEG'lerden bazıları *AGL92*, *AT2G21930*, *AT2G36560*, *AT5G63740*, *SUVH7*, *YUC10* (Hsieh ve ark., 2011), *VIM1*, (Gehring ve ark., 2011) ve *HDG3* (Gehring ve ark., 2009)'tür.

Bu tezde paternal ifadeye uğrayan bu 8 adet genin, *Boechera* cinsine ait seksüel *Boechera stricta* ve apomikt *Boechera holboellii* türlerindeki benzerleri biyoinformatik analiz yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır. Bu genlerin *Boechera* türlerinin genomlarındaki varlıkları şekil 8'de belirtilen adımlar izlenerek araştırılmıştır.



Şekil 8. Genlerin biyoinformatik analizinde izlenen adımlar.

3.1.1. Genlerin *A. thaliana* bitkisindeki dizilerinin eldesi

İlgili genlerin genomlarına ait nükleotid dizileri, TAIR (The Arabidopsis Information Resource) web sayfası (www.arabidopsis.org) kullanılarak elde edilmiştir. Bunun için TAIR web sayfasındaki arama motoruna ilgili genin bilinen adı veya lokus numarası yazılmış ve nükleotid dizisi başlığı altındaki genomik dizisi kaydedilmiştir (Ek 1.1, 1.2). Bu genomik diziler daha sonra NCBI (National Center for Biotechnology Information) web sayfasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) programında kullanılacağı için fasta formatına çevrilmiştir (Ek 1.3). FASTA formatı; “>” sembolü ile başlayan bir açıklamayı takiben, nükleotid veya aminoasitlerin tek harfle kodlandığı nükleotid veya peptid dizilerinin bulunduğu metin-tabanlı bir formattır. Bu

genlerin kodladığı proteinlerin korunmuş domainleri de ayrıca kaydedilmiştir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

3.1.2. BLAST analizi

FASTA formatındaki diziler, NCBI web sayfasındaki SRA veritabanında bulunan BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool nucleotide) programı kullanılarak incelenmiştir. SRA BLASTn programı kullanılırken nükleotid dizileri FASTA formatında programa verilmiş, veritabanı olarak WGS (Whole Genome Sequences) işaretlenmiş ve SRA Boechera seçilmiştir. Bu durumda iken program triploid apomikt *B. holboellii* ve diploid seksüel *B. stricta* olmak üzere iki strain önermiştir. Son olarak, BLASTn programı çalıştırılırken “Somewhat similar sequences” algoritması seçilmiştir. BLASTn programı bu strainlerin her biri için ayrı ayrı çalıştırılmış ve *B. holboellii* ve *B. stricta* genomik dizilerine karşı ayrı ayrı incelenmiştir (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra/sra.cgi?view=search_blast) (Şekil 9) (Ek 1.4, 1.5).

Şekil 9. SRA BLASTn programı.

Blastn sonucunda e-value değeri sıfır veya sıfıra en yakın olan diziler kalite skorları (Quality Score) ile birlikte kaydedilmiştir (Şekil 10) (Ek 1.6, 1.7). Kalite skoru, o bazın dizilenme kalitesini ifade eder. Bu formatta, okunan bazlar 0 ile 40 arasında kalite skorlarına sahiptirler. En iyi okuma skoru 40 olarak belirlenmiştir.

A:40	G:40	A:40	A:40	C:40	G:40	A:38	T:38	A:38	C:40	G:40	C:40	A:40	T:40	C:40	C:40
G:40	C:40	A:40	A:40	T:40	T:40	G:40	A:40	A:40	G:40	C:40	A:40	G:40	G:40	A:40	A:40
G:40	C:40	G:40	G:40	A:40	G:39	G:39	G:39	A:40	G:37	A:38	G:38	A:38	A:38	G:40	A:40
A:40	G:40	A:40	A:40	G:40	A:39	C:38	T:38	C:37	A:38	C:36	C:33	A:28	T:16	T:16	T:16
T:16	C:22	T:17	G:26	T:25	A:26	A:26	T:33	A:26	A:26	A:32	T:21	T:21	T:20	G:35	A:35
T:38	C:36	C:30	T:28	G:22	G:22	A:22	A:22	T:28	T:28	A:38	A:38	G:38	C:38	T:40	G:40
A:40	T:40	T:40	G:40	A:40	T:40	A:40	T:40	A:40	G:40	T:40	G:40	A:40	T:40	C:38	A:38
A:38	T:40	A:40	T:38	G:38	A:38	G:36	A:36	A:36	C:38	T:22	T:22	A:17	A:17	A:17	T:21
C:22	T:33	T:35	G:39	A:39	A:38	G:38	G:38	T:40	C:39	C:39	C:39	T:40	T:40	G:40	G:40
A:40	T:40	C:40	A:40	T:40	A:40	A:40	G:40	G:40	A:39	T:38	G:38	C:38	T:40	C:40	A:40
C:39	T:38	C:38	A:38	T:40	C:40	T:40	T:40	G:40	C:40	C:40	T:40	T:40	C:40	G:40	A:28
G:23	A:23	C:23	A:35	A:36	T:38	C:35	G:35	A:32	A:32	C:34	A:27	T:21	A:16	A:16	A:16
T:20	T:20	G:32	T:27	C:25	T:19	A:19	A:19	G:21	C:32	T:38	G:38	A:35	G:35	G:35	C:35
T:38	C:39	T:39	C:39	G:40	G:40	T:40	T:40	C:40	T:39	C:39	A:38	T:35	C:35	A:35	C:35
A:37	C:37	A:35	G:32	C:32	C:32	T:32	C:35	T:32	T:32	C:32	A:35	C:35	T:38	T:38	A:38
C:35	T:32	C:30	T:30	T:30	G:38	T:36	C:34	C:34	T:21	T:20	T:20	G:26	G:26	T:20	G:25
A:26	T:30	T:36	C:34	T:33	C:33	T:33	G:35	C:34	T:38	G:38	C:32	A:22	A:22	A:22	A:22
A:22	G:28	G:28	T:28	C:32	T:35	C:35	A:37	T:32	G:32	G:32	T:38	C:38	C:38	A:40	T:40
C:37	A:37	T:32	A:28	T:28	T:28	C:28	T:32	T:38	G:35	G:35	A:32	A:32	C:32	G:32	T:32
T:37	C:35	T:35	G:35	T:35	C:35	A:35	C:35	C:37	G:40	G:37	C:32	A:31	A:31	C:30	T:30
C:36	C:36	A:36	T:36	A:26	A:24	A:19	C:15	T:15	T:15	T:15	G:26	A:26	A:26	A:22	C:23
C:23	A:17	C:21	C:21	T:32	C:30	T:20	T:20	C:20	A:26	A:34	C:30	G:26	C:25	C:25	T:36
T:36	C:34	G:36	G:36	C:36	C:36	T:30	G:26	A:20	G:20	A:20	C:20	T:29	G:29	C:23	C:23
A:23	A:19	G:23	G:23	C:25	A:18	C:15	A:15	C:11	A:11	G:11	G:11	G:11	G:11	A:11	T:17
A:14	G:19	G:19	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0	N:0

Şekil 10. SRA veritabanında bazları ve kalite skorlarını gösteren bir genomik dizi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.1.3. Filtreleme

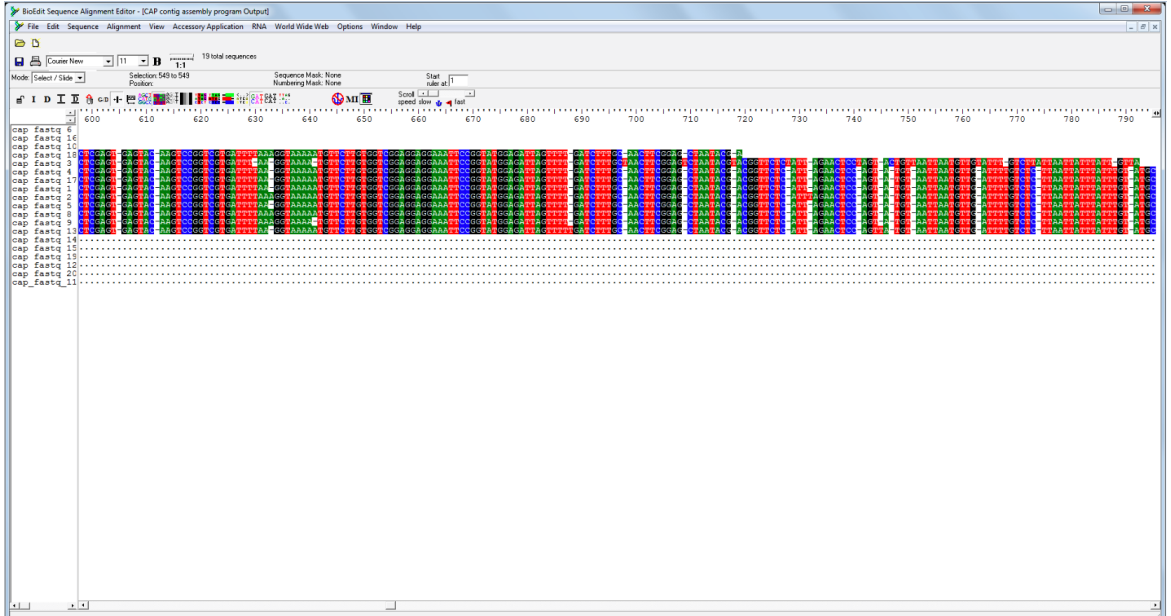
BLASTn programı ile elde edilen dizilerdeki okuma kalitesi düşük bölgeler ‘N’ harfi ile simgelenmiştir. Kalite skoru sıfır olan bu bazlar, eğer SRA *B. holboellii* ve *B. stricta* strainlerine ait dizilerin sonunda yer alıyorsa direkt olarak silinerek kırpılmıştır. Şekil 10’da kırılan bazlar kırmızı renk ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada eşik değer 20 olarak belirlenmiş olup (NGS QC Toolkit v2.3; Patel ve Jain, 2012); SRA BLAST sonucunda elde edilen dizilerde kalite skoru 20’den düşük olan bazlar, dizilerin güvenilirliğini arttırmak amacıyla, Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir (Ek 1.8). Filtrelenen diziler ile orijinal diziler kaydedilmiştir (Ek 1.9). Şekil 10’da filtrelenen bazlara örnek bazlar sarı renk ile, kalite skoru 20’den yüksek olan ve filtrelenmeden alınan bazlar ise yeşil renk ile gösterilmiştir.

Fastq programı baz ve kalite skor değerine sahip bir SRA dizisinde bulunan bazıları, kendisine tanıtılan eşik değere göre filtreleyen ve filtreleme sonucunda o eşik değerden düşük kalite skoruna sahip bazıları ‘N’ harfi ile değiştiren bir filtreleme programdır (Fastq programı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi FS tarafından yazılmıştır).

3.1.4. Birleştirme

Çalışmada kontiglerin birleştirilmesi, BioEdit v7.2.0 programı ile yapılmıştır (Ek 1.10). Bu program, parçalar halindeki DNA dizilerini birleştirmede hizalamada ve düzenlemede kullanılan bir DNA dizi analizi yazılımıdır. Filtrelenen diziler, ilgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi referans olarak kullanılarak, bu referans dizi altında BioEdit programı ile birleştirilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. BioEdit programı ile birleştirilmiş SRA dizileri.

Birleştirme sonucunda üst üste binen *B. holboellii* genom okumalarında boşluk bölgesi/bölgeleri varsa veya okumalar belirli bölgelerde bir veya iki okuma ile sınırlıysa, sonuçların daha sağlıklı olabilmesi için bu bölgelere karşılık gelen *A.thaliana* dizileri yeniden SRA BLAST programı ile araştırılmıştır. Bunun sonucunda, problemlili bölgeye yönelik spesifik diziler elde edilerek birleştirme işlemi tamamlanmıştır.

3.1.5. Genlerin *Boechea holboellii* ve *Boechea stricta* bitkilerindeki olası genomik dizilerinin eldesi

BioEdit programıyla; referans *A. thaliana* dizisi ve SRA BLAST sonucu elde edilen *Boechea* türlerine ait okumalar; güvenilirliği arttırmak amacıyla, bir bölgede en az iki veya üç okuma olması şartıyla birleştirilmiştir. Bu birleştirme işlemi *Boechea* cinsinin farklı türlerinde her bir gen için tekrar edilmiştir. Birleştirme sonucunda, ilgili genlerin *Boechea* türlerindeki genomik dizileri elde edilmiştir. Ayrıca bu genlerin olası proteinlerinin korunmuş domainleri de belirlenmiştir. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

3.2. Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Bu çalışmada, *Brassicaceae* familyasından *Boechea* cinsine ait diploid apomikt *B. divaricarpa* türü kullanılmıştır. Bitkilere ait tohumlar Prof. Dr. Rod J. Scott (Bath Üniversitesi, İngiltere) ve M.Eric Schranz (Wageningen Üniversitesi, Hollanda)'dan temin edilmiş ve Schranz ve ark. (2005) tarafından önerilen yöntemle göre yetiştirilmiştir.

Boechea tohumları öncelikle % 6' lık sodyum hipoklorit içerisinde 8 dk bekletilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş ve sonrasında 3-5 kez steril distile su ile durulanmıştır. Ardından tohumlar, aseptik koşullar altında bir miktar steril distile su ile karıştırılarak, 121°C' de 15 dk süre ile otoklavlanmış petri kaplarında steril kurutma kağıtları üzerine yerleştirilmiştir. Petri içerisinde tohumların ayrı ayrı yayılması sağlanmış ve petrilerin kapakları kapatılmıştır. Petri kapaklarının kenarları kontaminasyonu ve kurumayı önlemek amacıyla streç film ile sıkıca sarılmıştır. Bu işlemden sonra petriler dormansiye kırmak amacıyla +4°C'de karanlıkta 21 gün süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra petriler doğrudan 21°C sıcaklıktaki fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabinine yerleştirilmiştir.

Fideler, kökleri geliştikten sonra 121°C' de 15 dk süre ile steril edilmiş torf: perlit (4:1) karışımı içeren saksılara aktarılmış ve sıcaklığı 21°C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabinine yerleştirilmiştir. Bitkiler bu ortamda 29 hafta bekletilmiş ve 15 günde bir beslenme solüsyonu (NPK 4:2:2) ile sulanmıştır. Ardından çiçeklenmeyi teşvik etmek için, 3 hafta boyunca sıcaklığı 10°C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabininde vernalize edilmiştir. Üçüncü haftanın sonunda bitkiler tekrar sıcaklığı 21°C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabinine alınarak çiçeklenmeleri sağlanmıştır.

3.3 Boechera Türlerine Ait Tahmini cDNA Dizilerinin Eldesi

Çoklu dizi hizalama programlarından biri olan ‘‘ClustalW2’’ (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>) ile, ilgili genlerin *A. thaliana* bitkisindeki cDNA dizileri ile *Boechera* türleri için elde edilen genomik diziler hizalanmıştır (Şekil 12). Bu hizalama sonucunda *A. thaliana* cDNA dizilerine karşılık gelen *Boechera* dizileri, yani bir başka deyişle gendeki muhtemel exon bölgeleri ayrı bir dosya içine kopyalanarak, *Boechera* türlerine ait olası cDNA dizileri elde edilmiştir (Ek 3.1, 3.2, 3.3, 3.4).

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

yuc10-b.holboellii-genomik      CACACCAGAGAGAATTCCGACAGNNNNNNNNNCACACCAGAGAGAATCTA 50
yuc10-a.thaliana-cdna          -----

yuc10-b.holboellii-genomik      TCAAACNNNNCACAAGATATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGG 100
yuc10-a.thaliana-cdna          -----ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGG 32
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      ACCGGCCGGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAAACCAACACTCCATTCCAA 150
yuc10-a.thaliana-cdna          ACCGGCCGGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAAACCAACACTCAATCCCAA 82
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      ACGTGATTCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCACTATGGAAGAAACGA 200
yuc10-a.thaliana-cdna          ACGTGATCCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCCCTTTGGAAGAAACGA 132
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      GCCTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTGCGAGCTACC 250
yuc10-a.thaliana-cdna          GCGTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTGCCAGCTTCC 182
                                   ** *****

yuc10-b.holboellii-genomik      TTTCATGCCACATGGTCTGATGTACCAACCTTTATGTCCAAAGAGCTTT 300
yuc10-a.thaliana-cdna          TTTCATGCCACACGGTCGTGAGGTTCACCTTTATGTCCAAAGAGCTTT 232
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      TCGTCAACTACCTTGACGCTTACGTTGCCCGNTTCGACATANNNNNTAGG 350
yuc10-a.thaliana-cdna          TCGTCAACTACCTTGACGCTTACGTTGCCCGTTTCGACATCAACCCTAGG 282
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      TACAACGNGNNCCGTGNANGTCTCAACGTTCAATGAGTCCAATAACAAGT 400
yuc10-a.thaliana-cdna          TACAAC-CGTACCGTGAAGTCTCTCAACGTTGATGAGTCCAATAACAAGT 331
                                   *****

yuc10-b.holboellii-genomik      GGAGGGTCGAGGCGGAAAACACGGTGACCGGAGATACCGAGGTGTATTGG 450
yuc10-a.thaliana-cdna          GGAGGGTCGTGCGCGAAAACACGGTAACCGGAGAAACCGAGGTGTATTGG 381
                                   *****

```

Şekil 12. Clustal W2 ile hizalanmış *YUC10* geni dizisi.

3.4 Primerlerin Seçilmesi

Boeclera türlerine ait tahmini cDNA dizileri kullanılarak, NCBI web sayfasında bulunan Primer-BLAST programı aracılığıyla *SUVH7* ve *YUC10* genlerine uygun primerler elde edilmiştir.

Primerler seçilirken; bağlanma özgüllüğünü arttırmak amacıyla GC oranı ve Tm dereceleri yüksek tutulmaya çalışılmış, ayrıca aynı gene ait primer çiftinin Tm sıcaklıkları birbirine yakın seçilmiş, primer çiftlerinin kendi üzerlerine katlanmaması veya birbiriyle dimer yapmamasına dikkat edilmiş ve seçilen primer çiftlerinin spesifik olmayan ürün oluşturmamalarına özen gösterilmiştir.

3.5 Kendileme

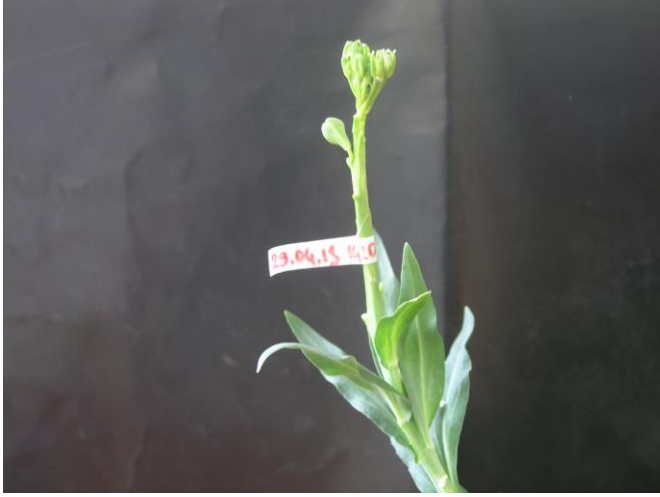
Çalışmada, yukarıda anlatılan biyoinformatik süreçlerle genomik ve cDNA dizileri ortaya çıkarılan etiketli genlerin, diploid apomikt *B. divaricarpa* türünde anlatımlarının belirlenmesi için kendileme yapılmıştır. Kendilenen bitkilerde döllenme sonrası gelişimlerinin 1. günü ile 5. günü arasında olan baklalarda ve tüm çiçek dokusunda genlerin anlatımları incelenmiştir.

Kendileme için henüz polenleri dışarı çıkmamış çiçeklerden 100 adet döllenmemiş pistil seçilmiştir. Çiçeklerden anterler mekanik olarak uzaklaştırılmış ve bir büyüteç altında aynı türe ait başka bir bitkiden alınan polenler pistillerin üzerlerine serpilmiştir. Sonrasında, bu pistillere 101'den 200'e kadar numara verilmiştir (Şekil 13).



Şekil 13. Kendileme sonrası iklim kabinindeki *B. divaricarpa* bitkileri.

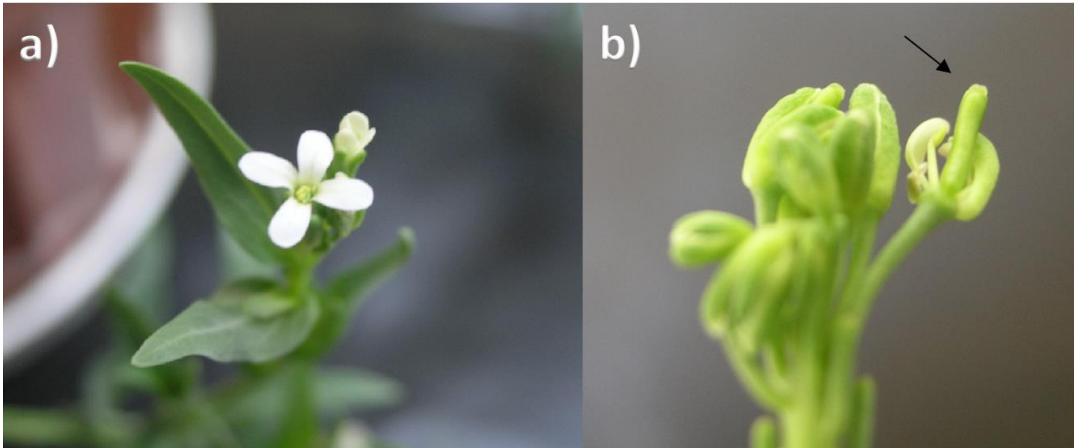
Kendilemeden sonraki 5 gün boyunca, melezleme ile aynı saatte, 10'ar adet döllenmiş pistil dokusu (bakla) steril bistüri yardımı ile kesilerek mikrosantrifüj tüplerine konulmuş ve RNA degradasyonunu engellemek amacıyla zaman geçirmeden sıvı azot içinde dondurulmuş ve kullanılıncaya dek -86°C'de depolanmıştır (Şekil 14).



Şekil 14. Kendileme sonrası *B. divaricarpa* pistil dokuları.

3.6 RNA İzolasyonu

Çalışmada RNA izolasyonu, çiçek ve baklalardan yapılmıştır (Şekil 15). Kendileme sonrası pistil dokularından gelişen baklalardan, döllenmeyi takip eden 5 gün boyunca örnekler toplanmıştır. Döllenmeden sonraki ilk gün 1DAP (1 Day After Pollination, Döllenmeden sonra 1. gün), 2. gün 2DAP, 3. gün 3DAP, 4. gün 4DAP ve 5. gün 5DAP olarak adlandırılmıştır.



Şekil 15. *B. divaricarpa* Çiçek dokusu (a) ve döllendikten sonra (3DAP) uzamaya başlayan pistil dokusu (b).

RNA izolasyonu için öncelikle 100 mg çiçek dokusu ve kendilemeden sonraki 5 gün boyunca her gün için alınan 10'ar adet bakla (yaklaşık 20 µg), 120°C'de 15 dk süre ile steril edilmiş pestil ve sıvı azot yardımıyla mikrosantrifüj tüplerinin içerisinde toz haline gelene kadar ezilmiştir.

Daha sonra Fermentas GeneJET™ Plant RNA Purification Mini Kit kullanılarak dokulardan total RNA izolasyonu yapılmıştır. Bunun için toz haline getirilen dokuların üzerine lizis solüsyonu eklenmiş, 56°C'de 3 dk inkübe edilmiş ve 5 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant yeni bir tüpe alınmış ve üzerine 250 µl saf etanol eklenmiştir. Bu karışım içinde filtreli kolon bulunan bir tüpe aktarılmış ve tekrar santrifüj edilmiştir. Tüpe geçen sıvı kısım atılmış ve filtreli kolon ile tüp yeniden birleştirilmiştir. Filtreli kolon, yıkama tamponlarıyla yıkandıktan sonra RNAaz bulundurmeyen bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine nükleaz bulundurmeyen saf su eklenmiştir. Santrifüj sonrasında filtreli kolon atılmış ve su içerisinde çözünmüş izole RNA elde edilmiştir.

RNA'ların kalitesi %1'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiş ve miktarları Qubit 2.0 Florometre cihazı ile belirlenmiştir. RNA'lar izolasyonun ardından kullanılıncaya kadar -86°C'de depolanmıştır.

3.7 cDNA Sentezi

Çalışmada, cDNA sentezi Fermentas First Strand cDNA Synthesis Kit ile yapılmıştır. Reaksiyon bileşenleri ve kullanılan miktarlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. cDNA reaksiyonu bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşen	Miktar (µl)	Final Konsantrasyon
5X Reaksiyon tamponu	4	1X
10 mM dNTP karışımı	2	1 mM
100 µM Oligo-dT primer	1	5 µM
20 u/µl Ribolock™ RNase inhibitör	1	1 unit
200 u/µl Revers Transkriptaz	1	10 unit
RNase-free su	10	
Kalıp RNA	1	1 µg
Toplam	20 µl	

Reaksiyon kurulurken steril pipet uçları (RNase-DNase-free) ve ince cidarlı (200 µl) PCR (Polymerase Chain Reaction; Polimeraz Zincir Reaksiyonu) tüpleri kullanılmıştır. Tüpler, 42°C’de 60 dakika süreye ayarlı termal döngü cihazında (BIO-RAD) inkübe edilmiştir. Elde edilen cDNA’lar kullanılmaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

3.8 Gradyent RT-PCR

Çalışmada, genomik etiketleme ile gen ifadesini düzenleyen *FIE* ve paternal ifadeye uğrayan etiketli genler *SUVH7* ile *YUC10* genleri anlatımlarının çalışılması için seçilen primerlerin optimum bağlanma sıcaklıkları Gradyent RT-PCR ile belirlenmiştir. RT-PCR, RNA’dan ters transkripsiyon ile elde edilen cDNA kalıplarının kullanıldığı, RNA ifade seviyelerini belirlemeye yarayan bir PCR reaksiyonudur. Çalışmada kalıp olarak kullanılan cDNA’ların kalitesini kontrol etmek amacı ile bitkilerde tüm dokularda sürekli ifade olduğu bilinen *ACTIN2* genine ait primerler ile de reaksiyon kurulmuştur.

Gradyent RT-PCR reaksiyonu 6 farklı bitki dokusu için 52-60°C aralığında farklı sıcaklıklarda kurulmuştur (Çizelge 3). Farklı sıcaklıklar termal döngü cihazında (BIO-RAD) bulunan toplamda 12 kolondan seçilen 6 tanesinde uygulanmıştır.

Çizelge 3. RT-PCR reaksiyonunda uygulanan sıcaklık ve kullanılan örnekler

Sıcaklık Kolonları	Sıcaklık (°C)	Bitki Doku Örnekleri
1	52	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP
4	53.3	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP
6	55.5	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP
7	56.8	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP
9	58.8	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP
12	60	Çiçek, 1DAP, 2DAP, 3DAP, 4DAP, 5DAP

Reaksiyon kurulurken steril pipet uçları (RNase-DNase-free) ve ince cidarlı (200 µl) PCR tüpleri kullanılmıştır ve tüm işlemler buz üzerinde gerçekleştirilmiştir. Enzim olarak Taq DNA Polymerase Recombinant (Invitrogen, 11615-010) kullanılmıştır. Gradyent RT-PCR reaksiyon bileşenleri Çizelge 4’te gösterilmiştir.

Çizelge 4. Gradiyent RT-PCR bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşen	Miktar (µl)	Final Konsantrasyon
10X High Fidelity PCR tamponu	2,5	1X
50 mM MgCl ₂ solüsyonu	2	4 mM
10 mM dNTP karışımı	0,5	0,2 mM
10 pmol/µl reverse primer	1	0,4 pmol
10 pmol/µl forward primer	1	0,4 pmol
Kalıp cDNA	0,5	0,5 µg
Nuclease-free su	17,25	
Taq DNA Polimeraz	0,25	2,5 unit
Toplam hacim	25 µl	

Gradiyent RT-PCR reaksiyonunda kullanılan primer dizileri Çizelge 5’te gösterilmiştir.

Çizelge 5. Gradiyent RT-PCR’da kullanılan primerlerin baz dizilişleri

Primer	Baz dizilişi
<i>FIE</i> Forward	5’TTGTGGGTCATGGAGATTTCAG3’
<i>FIE</i> Reverse	5’CCCACAACAGGATCTCGT3’
<i>SUVH7</i> Forward	5’GTGCTTAGTCGGGCTTCACA3’
<i>SUVH7</i> Reverse	5’GACAATTCTGGCATCCAAGTGA3’
<i>YUC10</i> Forward	5’ACCGTAGTGGTGATTGTGGG3’
<i>YUC10</i> Reverse	5’GAGAGGTCTCCGTACACAAGT3’
<i>ACTIN2</i> Forward	5’TGGTGAAGGCTGGATTTGC3’
<i>ACTIN2</i> Reverse	5’TCGGTAAGAAGAACAGGGTGC3’

Gradyent RT-PCR için kullanılan PCR programları Çizelge 6 ve 7’de gösterilmiştir.

Çizelge 6. *FIE*, *FIS2*, *SUVH7* ve *YUC10* için kullanılan gradiyent RT-PCR programı

Segment	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	Döngü sayısı
İlk Denatürasyon	94	3	1
Denatürasyon	95	1	
Primerlerin Bağlanması	52-60	1.5	36
Uzama	72	3	
Final Uzama	72	10	1

Çizelge 7. *ACTIN2* için kullanılan PCR programı

Segment	Sıcaklık (°C)	Süre (dk.)	Döngü sayısı
İlk Denatürasyon	94	3	1
Denatürasyon	95	1	
Primerlerin Bağlanması	59	1.5	35
Uzama	72	3	
Final Uzama	72	10	1

RT-PCR termal döngü cihazında gerçekleştirilmiş ve reaksiyon sonuçlarını görmek amacıyla jel elektroforezi yapılmıştır.

3.9 RNA ve cDNA Jel Elektroforezi

Elektroforezde Kullanılan Tamponların Hazırlanması:

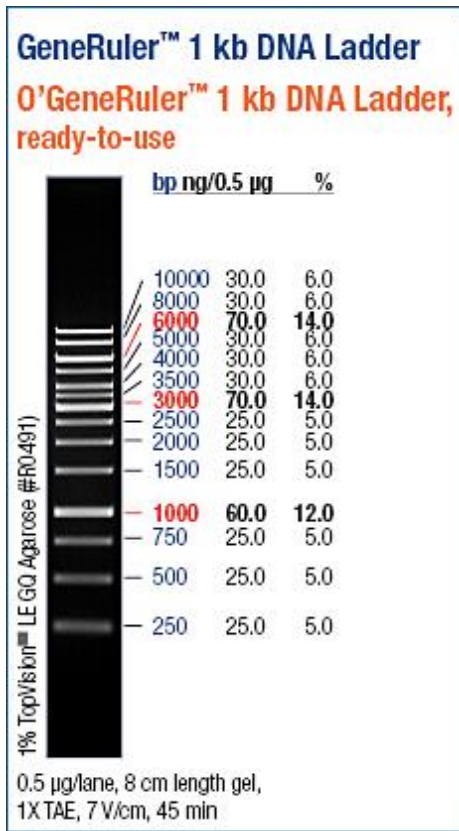
10XTAE tamponu: 48,44 g tris base ile 3,72 g EDTA 900 ml dH₂O içinde çözdürülmüş ve tamponun pH’ı asetik asit (~12 ml) ile 8,0’e ayarlanmıştır. Tamponun son hacmi dH₂O ile 1 L’ye tamamlanmış ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

Etidyum bromür stok çözeltisi: 0,1 g etidyum bromür 10 ml dH₂O içinde karıştırılarak çözdürülmüştür. Şişenin etrafı alüminyum folyo ile kaplanıp karanlıkta oda sıcaklığında saklanmıştır.

1XTAE tamponu: 100 ml 10X TAE tamponu 900 ml dH₂O ile 1 L’ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında saklanmıştır.

Elektroforez için, 2 g agaroz (Sigma; A9539), 200 ml 1X TAE (Tris-Asetat-EDTA; etilendiamintetraasetik asit) tamponu içinde 120°C’de eritilmiş ve 55°C’ye ulaşınca

kadar soğutulmuştur. Ardından, içine 10 mg/ml Etidyum Bromür stok çözeltisinden 10 µl eklenmiş ve homojen olarak karışması sağlanmıştır. Daha sonra, içerisine tarak yerleştirilmiş olan jel tepsisine dökülmüş ve jelin katılaşması için 30 dk beklenmiştir. Süre sonunda tarak çıkartılmış ve jel 1X TAE tampon bulunan elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jelin üzerini 1 cm kadar kaplayacak şekilde tanka 1X TAE tamponu eklenmiştir. Örnekler ve marker (Fermentas GeneRuler™ 1kb DNA ladder #SM0311) 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak tarakla açılan kuyucuklara yüklenmiş ve elektriksel alanda yürütülmüştür. Elektroforezde kullanılan markerın haritası Şekil 16’da verilmiştir. Ayrılan PCR ürünlerinin resimleri Quantum ST4 jel görüntüleme sistemi ile görüntülenmiştir.



Şekil 16. Çalışmada kullanılan marker haritası.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Doğal Apomikt ve Seksüel Boechera Türleri Genomlarında PEG Benzeri Dizilerin Biyoinformatik Çalışmalarla Belirlenmesi

NCBI, EBI (European Bioinformatics Institute) ve DDBJ (DNA Data Bank of Japan); araştırma gruplarının ihtiyaçları doğrultusunda, INSDC (International Nucleotide Sequence Database Collaboration; Uluslararası Nükleotid Dizi Veritabanı İşbirliği) gözetiminde olmak koşuluyla, The Sequence Read Archive (SRA) veri depolama sistemini geliştirmişlerdir.

SRA, Roche 454 GS System®, Illumina Genome Analyzer®, Applied Biosystems SOLiD® System, Helicos Heliscope®, Complete Genomics® ve Pacific Biosciences SMRT® gibi yeni nesil dizileme platformlarıyla dizilenen ham dizi verilerinin saklandığı, araştırmacıların kısa okuma verilerini depolayabildikleri ve var olan verilere kolayca ulaşabildikleri bir veritabanıdır. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) SRA günümüzde yaklaşık 100 terabayt (~100,000 gigabayt) kısa okuma verisi depolamaktadır ve gün geçtikçe bu rakam artmaya devam etmektedir.

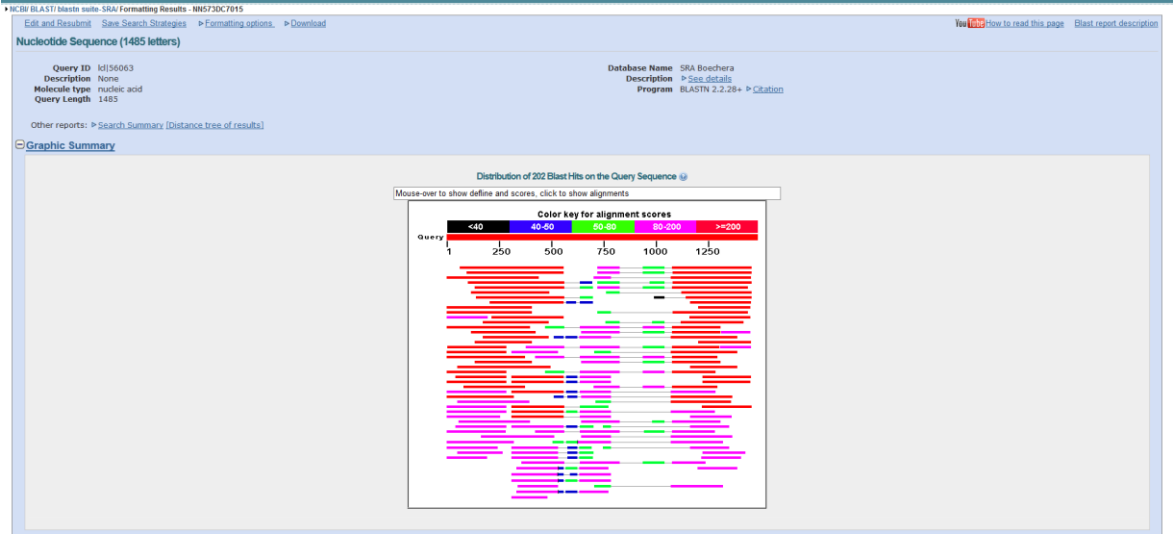
Yeni nesil dizileme teknikleriyle, *A. thaliana* bitkisinde genomik etiketleme ile kontrol edildiği bildirilen PEG’lerden *AGL92*, *AT2G21930*, *AT2G36560*, *AT5G63740*, *HDG3*, *SUVH7*, *VIM1* ve *YUC10* genlerinin, *Boechera holboellii* ve *Boechera stricta* türlerindeki benzerleri SRA veri tabanında biyoinformatik analiz yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve genomik dizileri ilk kez ortaya çıkarılmıştır.

4.1.1 AT1G31640 (AGL92)

AT1G31640 geni, *A. thaliana* bitkisinin 1 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 1485 bazdan oluşmaktadır. Bu gen 2 exon 1 intron bölgesi içermektedir. Bu genin proteini korunmuş bir MADS_SRF_benzeri domaini içermektedir ([cd00266](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>). Bu domainde protein etkileşim bölgesi, dimerizasyon arayüzü, varsayılan bir fosforilasyon bölgesi ve DNA bağlama bölgesi vardır.

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan

ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 17).



Şekil 17. *B. holboellii* AGL92 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G31640* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 8’de gösterilmiştir.

Çizelge 8. BLAST sonucunda kaydedilen AGL92 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.617778.2	511	-
SRR090303.386074.2	512	-
SRR090303.178097.2	524	-
SRR090302.175548.2	499	1
SRR090302.52628.2	495	-
SRR090303.1103418.2	482	-
SRR090303.983585.2	483	-
SRR090304.57895.2	487	-
SRR090302.224745.2	478	2
SRR090303.791051.2	471	1
SRR090303.441562.2	480	-
SRR090302.685320.2	511	2

SRR090304.913524.2	511	-
SRR090303.951678.2	526	-
SRR090302.7506.2	470	-
SRR090305.354812.2	518	-
SRR090302.1006913.2	514	-
SRR090311.332766.4	387	4
SRR090305.681224.2	529	-
SRR090303.457439.2	517	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 1007. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 3 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 9).

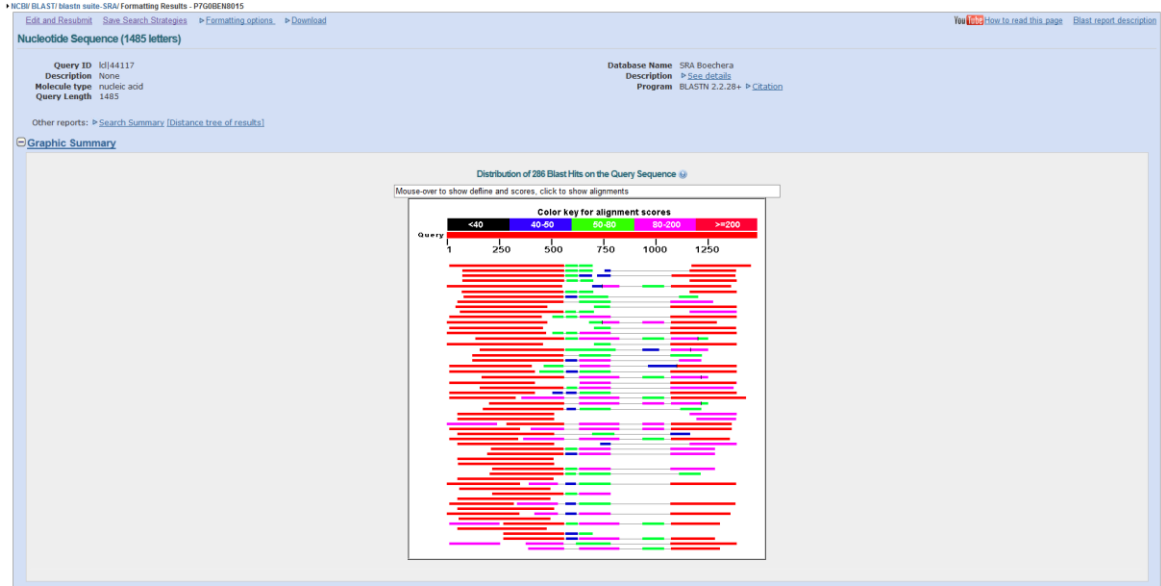
Çizelge 9. BLAST sonucunda kaydedilen AGL92 SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.983585.2	483	-
SRR090303.1103418.2	482	-
SRR090303.441562.2	480	-

Toplamda elde edilen bu 23 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine "N" harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT1G31640 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik

dizisi 1509 bç olarak elde edilmiştir ve korunmuş domain içermemektedir (Ek 2.1).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 18).



Şekil 18. *B. stricta* AGL92 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G31640* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 10'da gösterilmiştir.

Çizelge 10. BLAST sonucunda kaydedilen AGL92 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.1505298.2	676	5
SRR329602.391288.2	542	8
SRR329605.74099.2	541	4
SRR329605.74099.2	541	4
SRR329604.1505298.2	676	5
SRR329605.1246073.2	965	-
SRR329605.270693.2	618	7
SRR329606.63495.2	559	28

SRR329602.628837.2	887	-
SRR329602.1074462.2	791	9
SRR329606.9506.2	521	13
SRR329602.142759.2	579	13
SRR329604.1322112.2	707	7
SRR329605.288261.2	699	5
SRR329605.201572.2	652	18
SRR329602.529453.2	610	5
SRR329605.223740.2	638	9
SRR329602.878781.2	643	8
SRR329602.329883.2	695	9
SRR329606.771981.2	599	12

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 908. ile 1485. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 8 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 11).

Çizelge 11. BLAST sonucunda kaydedilen AGL92 SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

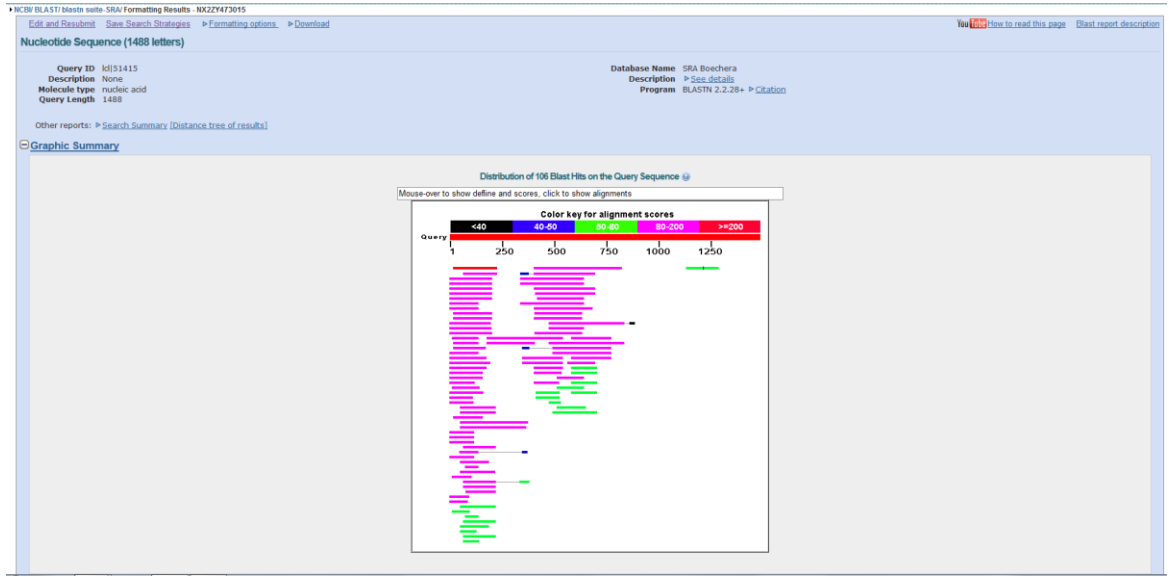
Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.996371.2	710	14
SRR329603.165439.2	656	7
SRR329602.1205988.2	694	11
SRR329604.731100.2	894	22
SRR329602.1205988.2	694	11
SRR329603.686224.2	1154	-
SRR329603.165439.2	656	7
SRR329605.1194019.2	655	7

Toplamda elde edilen bu 28 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. stricta* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve *AT1G31640* geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 1472 bp olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş bir MADS_SRF_benzeri domain ([cd00266](#)) içermektedir (Ek 2.2).

4.1.2. AT2G21930

AT2G21930 geni *A.thaliana* bitkisinin 2 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 1488 bazdan oluşmaktadır. Bu gen tek bir exondan oluşmakta ve intron bölgesi içermemektedir. Bu genin proteini korunmuş bir F-box domaini ([pfam00646](#)), F-box ile ilişkili bir FBA_3 domaini ([pfam08268](#)) ve bir F-box protein etkileşim domaini olan F-box_assoc_1 ([TIGR01640](#)) içermektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechea* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 19).



Şekil 19. *B. holboellii* AT2G21930 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G21930 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 12’de gösterilmiştir.

Çizelge 12. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G21930 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.395156.2	543	-
SRR090306.302686.2	220	-
SRR090305.640589.2	506	-
SRR090305.613930.2	499	2
SRR090303.1014352.2	583	-
SRR090303.1023685.2	537	-
SRR090307.229176.2	298	-
SRR090303.1218870.2	562	-
SRR090302.868860.2	557	-
SRR090310.837961.2	399	-
SRR090309.559713.2	398	-
SRR090306.630622.2	582	-

SRR090304.673442.2	535	-
SRR090303.669457.2	575	-
SRR090303.636727.2	568	-
SRR090308.536459.2	249	-
SRR090302.961866.2	500	1
SRR090306.543518.4	251	1
SRR090302.275056.2	523	2
SRR090310.786239.2	297	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 911. ile 1488. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 2 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 13).

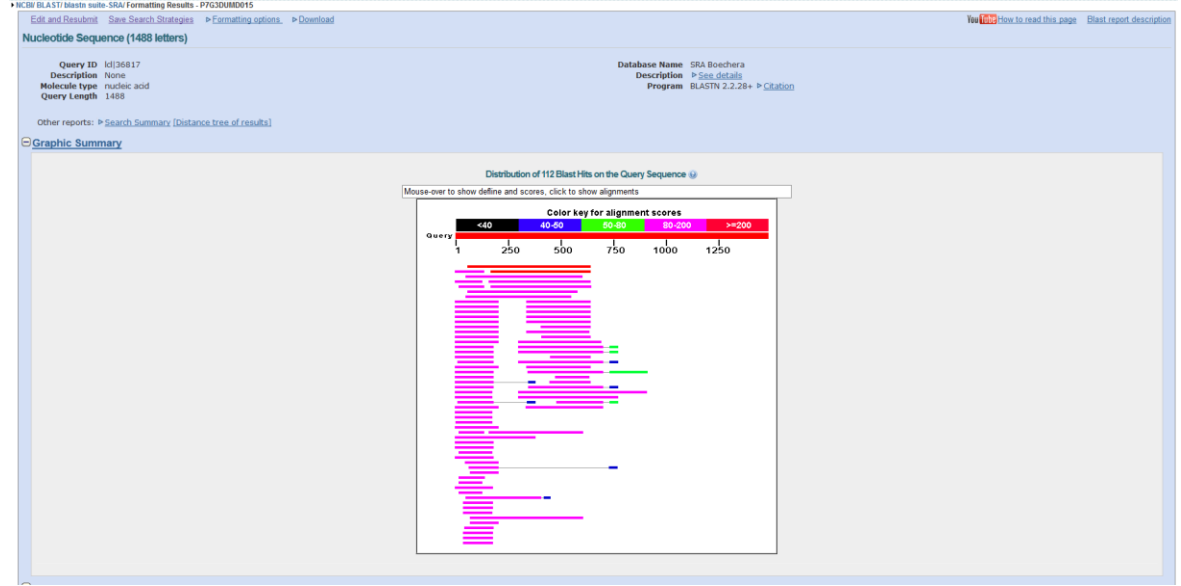
Çizelge 13. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G21930 SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.223125.2	526	-
SRR090307.673065.4	342	4

Toplamda elde edilen bu 22 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, halen boş kalan bir bölge vardır. Bu bölge 1229. baz ile 1488. baz arasında kalan kısımdır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G21930 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi elde edilmiştir. Bu dizi 1235 bp'den

oluşmaktadır ve proteini korunmuş iki adet F-box_assoc_1 (TIGR01640) domaini içermektedir (Ek 2.3).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 20).



Şekil 20. *B. stricta* AT2G21930 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G21930 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 14’te gösterilmiştir.

Çizelge 14. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G21930 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329602.177687.2	650	11
SRR329606.567803.2	708	22
SRR329606.77903.2	589	15
SRR329605.873653.2	586	3
SRR329604.1264848.2	707	9
SRR329604.1026997.2	544	4
SRR329604.511960.2	766	13

SRR329603.875193.2	648	19
SRR329605.1170029.2	809	15
SRR329605.543423.2	947	-
SRR329603.1370360.2	1074	-
SRR329602.78778.2	504	4
SRR329604.522775.2	619	7
SRR329605.1215563.2	816	2
SRR329603.522710.2	683	9
SRR329602.111134.2	595	5
SRR329602.432464.2	798	10
SRR329606.345371.2	680	32
SRR329605.973707.2	611	13
SRR329605.619127.2	899	47

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 985. ile 1488. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 2 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 15).

Çizelge 15. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G21930 SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329602.78778.2	504	4
SRR329604.123586.2	573	13

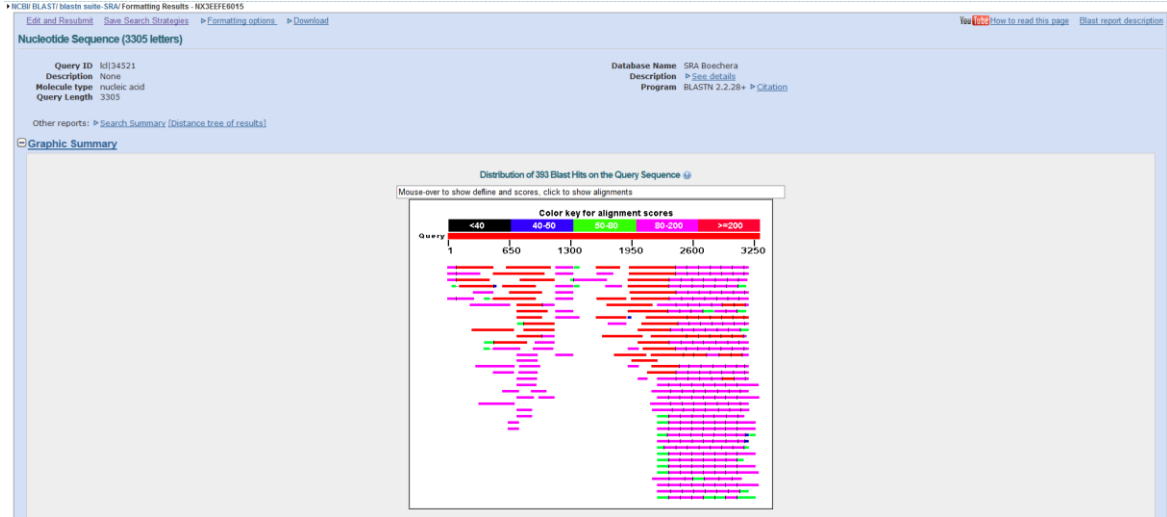
Toplamda elde edilen bu 22 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde aynı bölgenin yine boş kaldığı tespit edilmiştir. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz

anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G21930 geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi kısmen elde edilmiştir. Bu dizi 511 bç uzunluğundadır ve proteini korunmuş bir F-box domaini ([pfam00646](#)) içerir (Ek 2.4).

4.1.3. AT2G36560

AT2G36560 geni *A.thaliana* bitkisinin 2 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 3305 bazdan oluşmaktadır. Bu gen 5 exon 4 intron bölgesi içermektedir. Bu genin proteini korunmuş bir Caprin-1_C domaini ([cl13691](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen bir DUF296 domaini ([cd11378](#)) içermektedir ([cd00266](#)) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 21).



Şekil 21. *B. holboellii* AT2G36560 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G36560 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırpılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 16’da gösterilmiştir.

Çizelge 16. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G36560 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.1029080.2	512	-
SRR090302.848064.2	520	-
SRR090303.85403.2	500	-
SRR090302.919745.2	505	1
SRR090302.848064.2	520	-
SRR090303.791437.2	525	-
SRR090309.464709.4	426	-
SRR090303.913236.2	531	-
SRR090303.253712.2	629	-
SRR090302.1046538.2	572	-
SRR090308.239748.4	466	-
SRR090303.111847.2	542	-
SRR090303.264953.2	539	-
SRR090304.1076701.2	613	8
SRR090303.1225037.2	520	-
SRR090304.1040641.2	610	-
SRR090304.1146886.2	549	-
SRR090303.572240.2	587	-
SRR090302.681930.2	599	-
SRR090309.418059.2	348	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 354. baz arası, 1267. ile 1402. baz arası ve 2697. ile 3305. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeleri kapsayan 21 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 17).

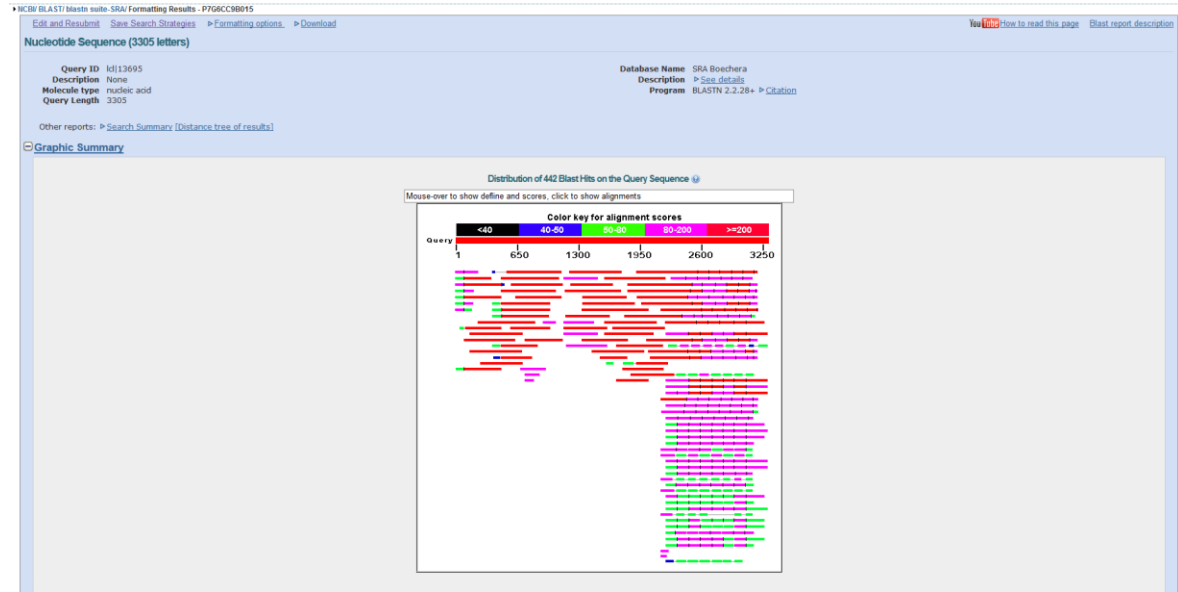
Çizelge 17. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G36560 SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.807131.2	541	4
SRR090304.1146317.2	602	-
SRR090303.339635.2	573	-
SRR090302.673175.2	552	1
SRR090304.184189.2	612	-
SRR090303.811823.2	583	-
SRR090304.258559.2	663	-
SRR090302.223188.2	648	-
SRR090303.568200.2	592	-
SRR090302.424344.2	568	-
SRR090303.1026107.2	540	-
SRR090303.1261446.2	596	-
SRR090303.1135614.2	576	-
SRR090303.1313094.2	545	-
SRR090308.239748.4	466	-
SRR090306.422718.2	370	-
SRR090312.77682.2	235	-
SRR090302.652243.2	663	-
SRR090302.968720.2	554	-
SRR090312.188523.2	235	-
SRR090305.250380.2	517	-

Toplamda elde edilen bu 41 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları

filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G36560 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 3208 bç olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş domain içermemektedir (Ek 2.5).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 22).



Şekil 22. *B. stricta* AT2G36560 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G36560 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 18’de gösterilmiştir.

Çizelge 18. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G36560 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329605.211044.2	704	18
SRR329605.414071.2	747	21
SRR329605.770236.2	738	10
SRR329605.821654.2	733	26
SRR329602.1212830.2	837	26
SRR329604.572732.2	894	17

SRR329604.260330.2	581	10
SRR329602.1007392.2	667	10
SRR329606.425140.2	755	27
SRR329604.1485270.2	826	20
SRR329604.1404601.2	728	7
SRR329605.263772.2	623	-
SRR329604.33109.2	609	1
SRR329602.816191.2	755	14
SRR329602.1327255.2	909	13
SRR329605.635694.2	835	25
SRR329604.1485270.2	826	20
SRR329605.1079922.2	746	18
SRR329604.466714.2	652	6
SRR329603.306127.2	699	31

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 158. baz arası ve 2824. ile 3305. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 17 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 19).

Çizelge 19. BLAST sonucunda kaydedilen AT2G36560 SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Accession Number	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.403819.2	728	20
SRR329606.587076.2	642	17
SRR329603.944972.2	594	37
SRR329605.211044.2	704	18
SRR329606.696288.2	956	45
SRR329603.1115532.2	593	37

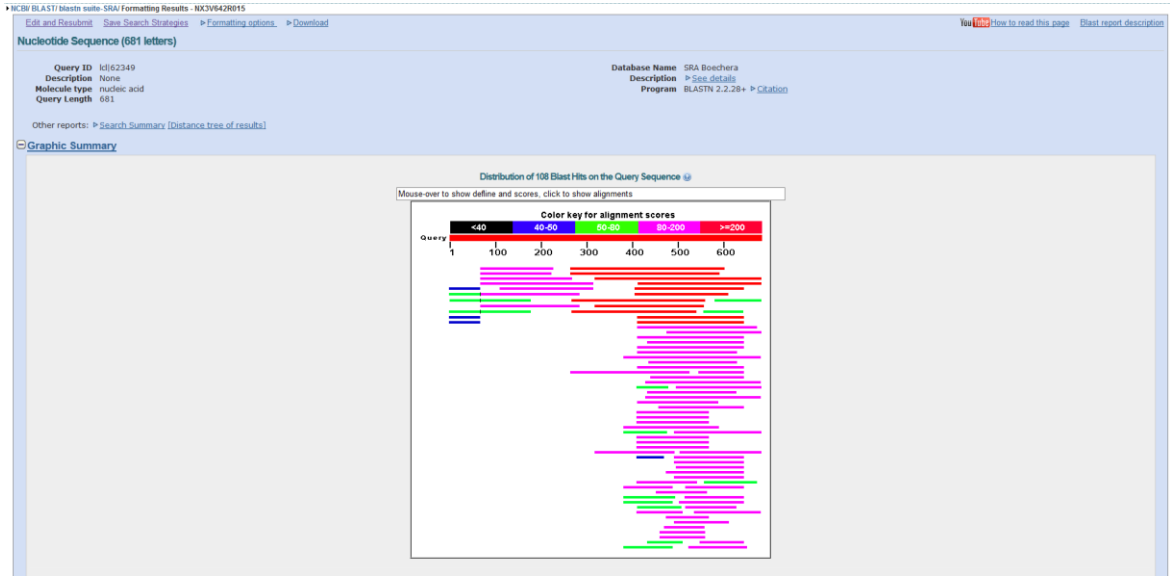
SRR329602.952098.2	728	11
SRR329605.412738.2	820	12
SRR329606.1072130.2	674	15
SRR329604.743535.2	851	17
SRR329604.501647.2	581	15
SRR329602.324805.2	709	7
SRR329604.507787.2	715	17
SRR329604.173205.2	627	8
SRR329606.587076.2	642	17
SRR329604.403819.2	728	20
SRR329603.944972.2	594	37

Toplamda elde edilen bu 37 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G36560 geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 2699 bc olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş domain içermemektedir (Ek 2.6).

4.1.4. AT5G63740

AT5G63740 geni *A.thaliana* bitkisinin 5 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 681 bazdan oluşmaktadır. Bu gen tek bir exon bölgesinden oluşmakta ve intron içermemektedir. Bu genin proteini korunmuş herhangi bir domain içermemektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 23).



Şekil 23. *B. holboellii* AT5G63740 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT5G63740 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 20’de gösterilmiştir.

Çizelge 20. BLAST sonucunda kaydedilen AT5G63740 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.1041288.2	493	-
SRR090303.1305967.2	579	-
SRR090310.396444.2	399	-
SRR090304.985894.2	544	-
SRR090302.1113930.2	484	-
SRR090305.175876.2	583	-
SRR090303.876662.2	474	-
SRR090312.171773.4	277	10
SRR090304.737365.2	501	-
SRR090306.278696.2	332	-
SRR090303.516758.2	555	-
SRR090308.123732.4	342	4

SRR090304.96305.2	511	-
SRR090302.990881.2	569	-
SRR090307.294071.4	334	2
SRR090305.22336.2	534	15
SRR090304.258279.2	564	-
SRR090303.998708.2	541	1
SRR090303.848292.2	566	-
SRR090307.460861.2	195	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 26. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 5 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 21).

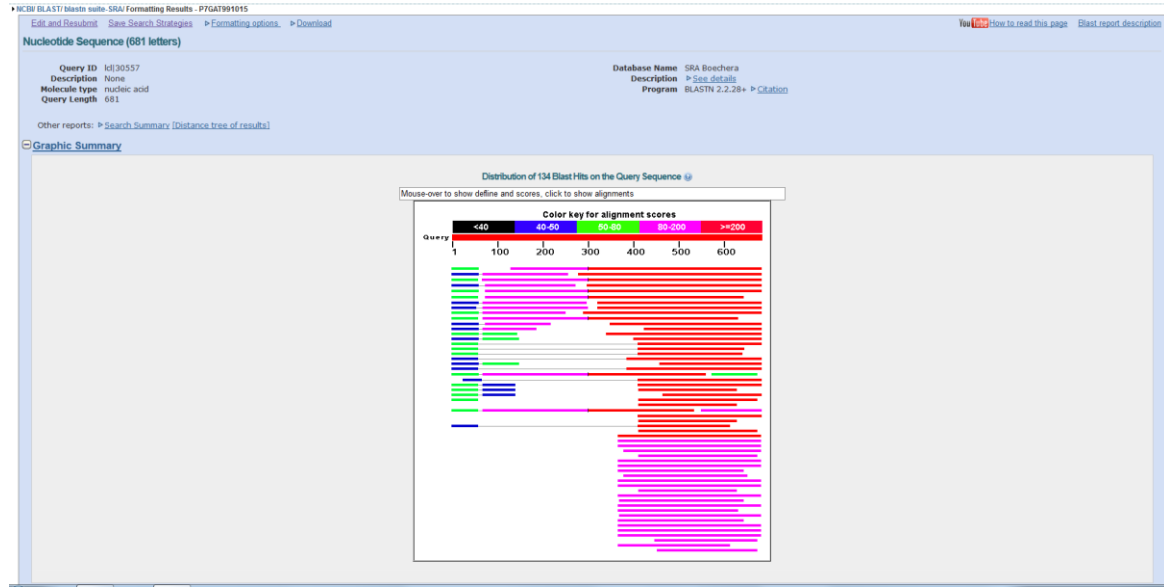
Çizelge 21. BLAST sonucunda kaydedilen AT5G63740 SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090308.475922.2	189	-
SRR090305.247981.2	481	-
SRR090303.552452.2	487	-
SRR090304.979306.2	525	-
SRR090305.703267.2	576	-

Toplamda elde edilen bu 25 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana*

dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT5G63740 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 718 bç olarak elde edilmiştir (Ek 2.7).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 24).



Şekil 24. *B. stricta* AT5G63740 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT5G63740 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırpılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 22’de gösterilmiştir.

Çizelge 22. BLAST sonucunda kaydedilen AT5G63740 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırpılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırpılan baz sayısı
SRR329604.269716.2	632	7
SRR329604.298550.2	642	9
SRR329605.451893.2	771	24
SRR329602.885847.2	554	4
SRR329605.164787.2	675	12
SRR329604.1014108.2	675	23

SRR329606.815774.2	644	22
SRR329603.78002.2	548	13
SRR329602.678718.2	882	13
SRR329602.317086.2	693	24
SRR329603.519509.2	696	18
SRR329603.1026035.2	604	17
SRR329602.621132.2	689	31
SRR329604.1117848.2	628	3
SRR329604.1428047.2	831	7
SRR329606.228735.2	816	11
SRR329604.1289849.2	1010	-
SRR329606.932327.2	625	8
SRR329604.502047.2	568	10
SRR329605.232917.2	802	16

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde boş kalan bir bölge tespit edilmemiştir.

Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine "N" harfi yazılmıştır.

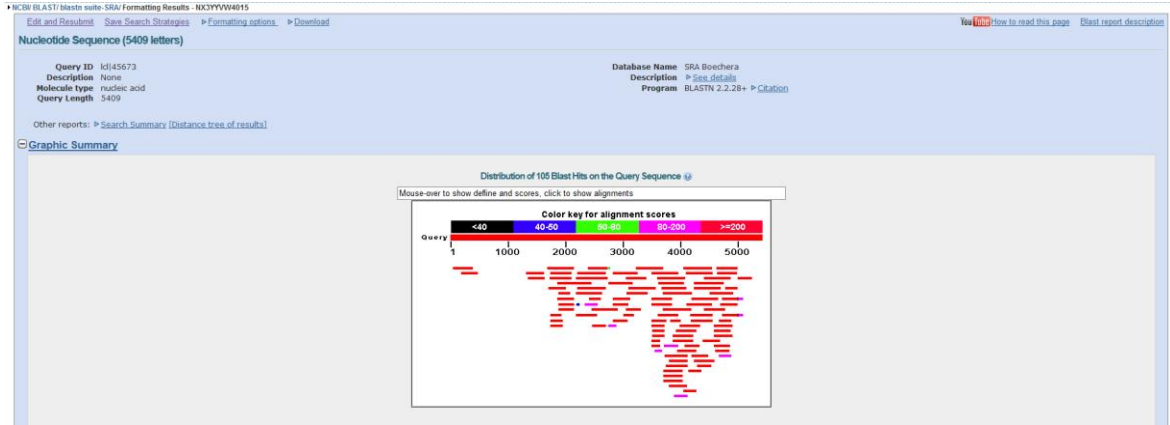
Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT5G63740 geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 636 bç olarak elde edilmiştir (Ek 2.8).

4.1.5. AT2G32370 (HDG3)

AT2G32370 geni *A.thaliana* bitkisinin 2 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA'sı 5409 bazdan oluşmaktadır. Bu gen 12 exon 11 intron bölgesi içermektedir. Bu genin proteini korunmuş iki tane SRPBCC domain ([cl14643](#)) ve DNA bağlayıcı homeodomain ([cd00086](#)) içermektedir

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>). Bu domainde spesifik DNA baz bağlantıları ve DNA bağlanma bölgesi vardır.

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 25).



Şekil 25. *B. holboellii* HDG3 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G32370 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 23'te gösterilmiştir.

Çizelge 23. BLAST sonucunda kaydedilen HDG3 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090302.186230.2	500	1
SRR090302.424784.2	504	-
SRR090302.359738.2	508	-
SRR090307.674202.2	529	-
SRR090303.335703.2	537	-
SRR090303.95383.2	502	-
SRR090302.828776.2	509	3
SRR090302.311822.2	507	-

SRR090302.269025.2	512	2
SRR090303.253707.2	522	-
SRR090303.293530.2	516	-
SRR090303.968423.2	527	-
SRR090303.1126669.2	534	-
SRR090304.366429.2	517	-
SRR090309.334756.2	366	-
SRR090304.1127824.2	552	-
SRR090305.875347.2	554	-
SRR090309.334756.2	366	-
SRR090304.962609.2	535	-
SRR090304.75303.2	518	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 1665. baz arası, 2193. baz ile 2733. baz arası ve 5024. baz ile 5409. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 26 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 24).

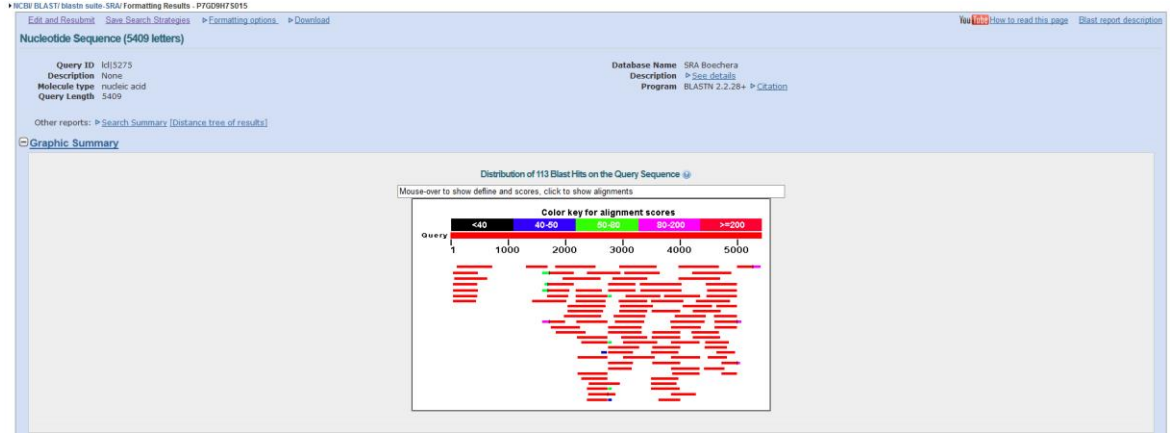
Çizelge 24. BLAST sonucunda kaydedilen *HDG3* SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090302.454193.2	634	-
SRR090302.1081681.2	623	-
SRR090302.714060.2	589	-
SRR090303.360167.2	627	-
SRR090305.811276.2	590	-
SRR090303.732830.2	642	-
SRR090304.860876.2	666	-

SRR090302.1003144.2	804	-
SRR090303.968423.2	527	-
SRR090303.148847.2	568	-
SRR090303.1246659.2	546	-
SRR090303.197905.2	515	-
SRR090308.816101.4	399	-
SRR090303.1162597.2	561	-
SRR090304.267720.2	557	-
SRR090303.567057.2	571	-
SRR090303.1114891.2	541	-
SRR090305.172134.2	544	-
SRR090305.97056.2	553	-
SRR090302.719407.2	549	-
SRR090306.271910.2	294	-
SRR090302.377206.2	697	-
SRR090305.811276.2	590	-
SRR090303.1307130.2	542	-
SRR090304.581782.2	861	-
SRR090305.342974.2	734	-

Toplamda elde edilen bu 46 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘‘N’’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G32370 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 5414 bp olarak elde edilmiştir korunmuş ve üç tane SRPBCC domain ([cl14643](#)) ve bir DNA bağlayıcı homeodomain ([cd00086](#)) içermektedir (Ek 2.9).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 26).



Şekil 26. *B. stricta* HDG3 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT2G32370 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 25'te gösterilmiştir.

Çizelge 25. BLAST sonucunda kaydedilen HDG3 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329605.949754.2	770	15
SRR329605.662825.2	1005	-
SRR329605.1108679.2	789	10
SRR329605.405166.2	658	4
SRR329602.572715.2	833	13
SRR329606.1295327.2	747	14
SRR329602.1246710.2	853	2
SRR329605.1049269.2	751	9
SRR329606.1250813.2	798	9
SRR329602.503125.2	713	25
SRR329606.1329110.2	692	19

SRR329604.507720.2	669	9
SRR329606.381996.2	625	17
SRR329602.91591.2	572	7
SRR329606.420382.2	746	18
SRR329605.573424.2	696	4
SRR329604.323918.2	632	13
SRR329606.322992.2	610	12
SRR329606.183719.2	555	14
SRR329604.455058.2	847	16

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 2828. baz arası ve 5206. ile 5409. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 17 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 26).

Çizelge 26. BLAST sonucunda kaydedilen *HDG3* SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.932088.2	556	6
SRR329604.1143175.2	610	3
SRR329602.592298.2	817	24
SRR329603.1140460.2	562	4
SRR329603.706258.2	788	16
SRR329604.1020472.2	596	3
SRR329604.1490116.2	608	-
SRR329605.998493.2	717	7
SRR329602.1301523.2	911	11
SRR329603.1307100.2	765	11
SRR329605.577524.2	676	7

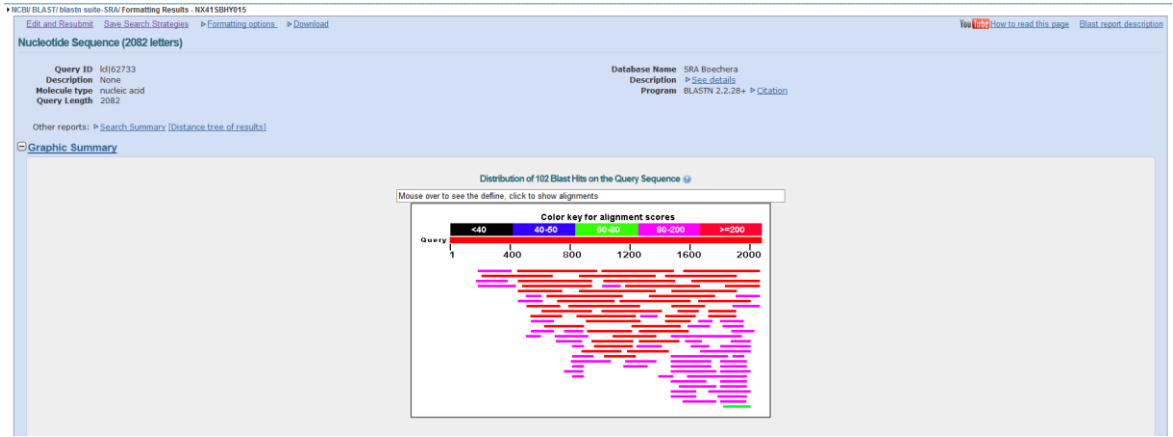
SRR329606.1065643.2	746	24
SRR329605.1087890.2	635	9
SRR329604.1505539.2	1090	-
SRR329606.900937.2	600	9
SRR329604.1263826.2	553	7
SRR329605.1145940.2	753	11

Toplamda elde edilen bu 47 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. stricta* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine “N” harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT2G32370 geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 4920 bp olarak elde edilmiştir ve iki START_ArGLABRA2_benzeri C-terminal lipid-bağlayıcı domain ([cd08875](#)) ve bir DNA bağlayıcı homeodomain ([cd00086](#)) içermektedir (Ek 2.10).

4.1.6. AT1G17770 (SUVH7)

AT1G17770 geni *A.thaliana* bitkisinin 1 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 2082 bazdan oluşmaktadır. Bu gen tek bir exondan oluşmakta ve intron bölgesi içermemektedir. Bu genin proteini korunmuş bir SET domaini ([smart00317](#)), çinko bağlayıcı bir Pre-SET motifi ([pfam05033](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen bir YDG-SRA domaini ([pfam02182](#)) içermektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 27).



Şekil 27. *B. holboellii* SUVH7 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G17770* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 27’de gösterilmiştir.

Çizelge 27. BLAST sonucunda kaydedilen SUVH7 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.489311.2	519	-
SRR090302.986772.2	540	1
SRR090302.353912.2	531	2
SRR090303.459902.2	513	-
SRR090305.93065.2	535	-
SRR090303.1294638.2	524	-
SRR090303.1205277.2	544	-
SRR090303.714282.2	520	-
SRR090303.1102828.2	503	-
SRR090302.111669.2	511	1
SRR090304.691411.2	544	-
SRR090302.205585.2	512	1
SRR090302.975330.2	527	-
SRR090305.676897.2	500	11
SRR090303.601443.2	528	-

SRR090303.360257.2	540	-
SRR090302.25478.2	503	-
SRR090304.399556.2	709	-
SRR090304.728140.2	502	-
SRR090302.867153.2	528	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

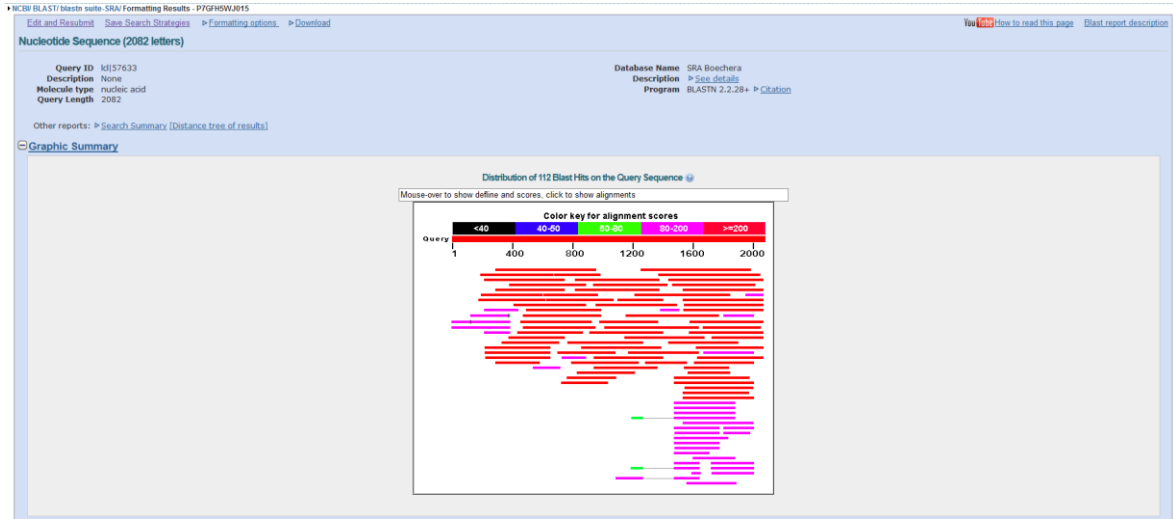
Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 159. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 4 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 28).

Çizelge 28. BLAST sonucunda kaydedilen *SUVH7* SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090305.827749.2	537	-
SRR090307.60836.4	305	1
SRR090303.360257.2	540	-
SRR090304.271930.2	639	-

Elde edilen 24 SRA *B. holboellii* dizisi, *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Sonuçta, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine "N" harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve *AT1G17770* geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 2087 bp olarak elde edilmiştir ve proteini bir SET domaini ([smart00317](#)), çinko bağlayıcı iki Pre-SET motifi ([cl02622](#)), sisteince zengin bir Post-SET motifi ([cl02636](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini ([pfam 02182](#)) içermektedir (Ek 2.11).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 28).



Şekil 28. *B. stricta* *SUVH7* genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G17770* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 29’da gösterilmiştir.

Çizelge 29. BLAST sonucunda kaydedilen *SUVH7* SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329605.1024249.2	795	12
SRR329602.208011.2	898	25
SRR329602.1043122.2	721	19
SRR329603.900265.2	594	146
SRR329602.277403.2	606	18
SRR329602.849285.2	674	10
SRR329602.250754.2	604	16
SRR329605.265574.2	577	7
SRR329602.46087.2	604	19
SRR329605.451525.2	724	40

SRR329605.68927.2	610	14
SRR329606.552228.2	878	13
SRR329602.1126826.2	619	10
SRR329603.216407.2	668	19
SRR329606.432585.2	722	29
SRR329606.332179.2	658	27
SRR329602.1037103.2	645	6
SRR329606.1016970.2	705	19
SRR329602.177356.2	573	31
SRR329604.157866.2	603	9

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 217. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 3 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 30).

Çizelge 30. BLAST sonucunda kaydedilen *SUVH7* SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.1215834.2	674	32
SRR329605.618148.2	572	4
SRR329605.44545.2	565	-

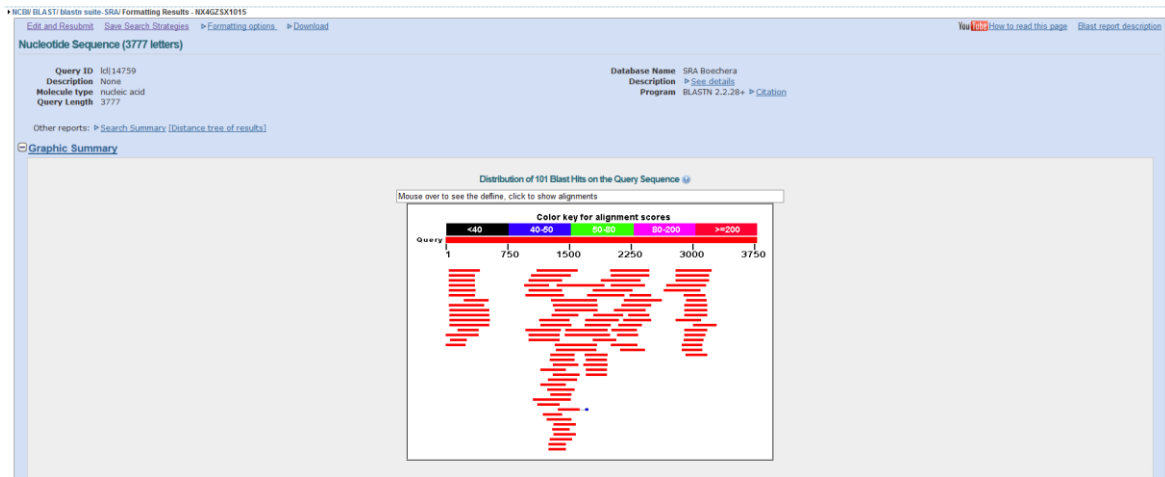
Toplamda elde edilen bu 23 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. stricta* okumalarının kapsamadığı, kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana*

dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtreleneip birleştirilmiş ve *AT1G17770* geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 2083 bp olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş bir SET domaini ([smart00317](#)), çinko bağlayıcı bir Pre-SET motifi ([pfam05033](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini ([cl02620](#)) içermektedir (Ek 2.12).

4.1.7. *AT1G57820 (VIM1)*

AT1G57820 geni *A.thaliana* bitkisinin 1 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA'sı 3777 bazdan oluşmaktadır. Bu gen 9 exon 8 intron bölgesi içermektedir. Bu genin proteini korunmuş zinc-finger-benzeri bir motif olan The Plant Homeodomain ([smart00249](#)), iki tane zinc finger domaini ([pfam13923](#)), iki tane özel bir çinko bağlayıcı olan RING-finger domaini ([cd00162](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen üç YDG-SRA domaini ([cl02620](#)) içermektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve *Boechera* SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 29).



Şekil 29. *B. holboellii* *VIM1* genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G57820* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 31'de gösterilmiştir.

Çizelge 31. BLAST sonucunda kaydedilen *VIM1* SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090306.959061.2	507	-
SRR090302.188559.2	502	-
SRR090303.153921.2	522	-
SRR090303.1156344.2	529	-
SRR090302.812793.2	502	-
SRR090304.291015.2	545	-
SRR090304.709061.2	523	-
SRR090304.695773.2	528	-
SRR090304.105618.2	528	-
SRR090303.1147468.2	518	-
SRR090303.406533.2	541	-
SRR090302.911646.2	517	-
SRR090303.1192928.2	515	-
SRR090303.430047.2	551	-
SRR090304.33332.2	506	-
SRR090306.521642.4	397	2
SRR090305.126897.2	532	-
SRR090303.1207587.2	524	-
SRR090303.1310290.2	514	-
SRR090304.113597.2	537	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

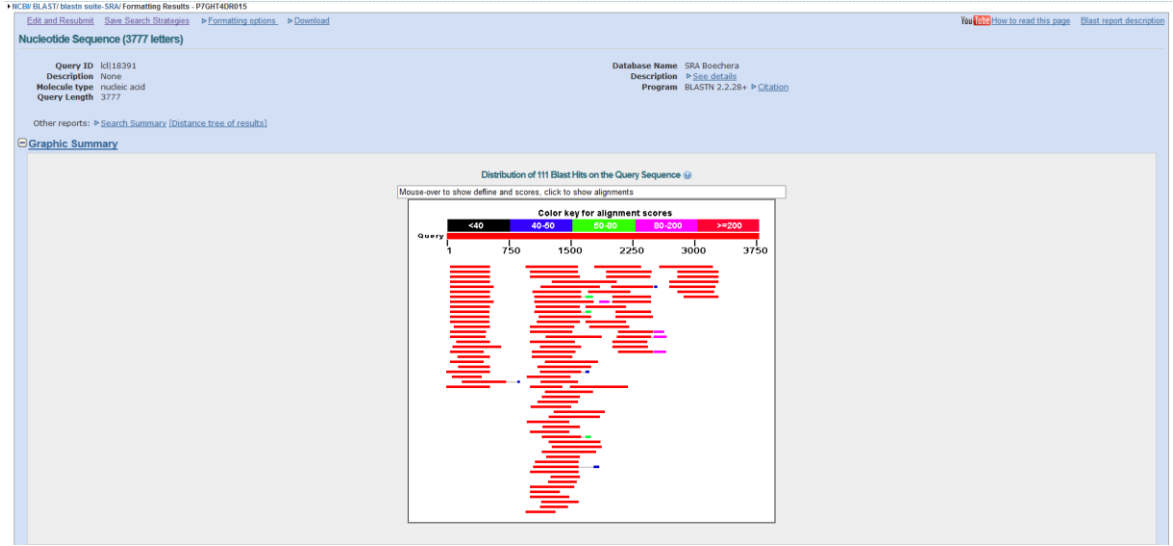
Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 435. ile 830. baz arası ve 2480. baz ile 2740. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeleri kapsayan 15 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 32).

Çizelge 32. BLAST sonucunda kaydedilen *VIM1* SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.430047.2	551	-
SRR090302.1037353.2	480	1
SRR090303.533619.2	553	-
SRR090308.581138.2	257	-
SRR090303.156513.2	523	-
SRR090303.1192928.2	515	-
SRR090305.809705.2	521	-
SRR090303.171406.2	506	-
SRR090309.572222.4	300	3
SRR090310.417965.2	349	-
SRR090308.581138.2	257	-
SRR090304.500473.2	592	-
SRR090306.499341.2	277	-
SRR090303.171406.2	506	-
SRR090302.270707.2	506	-

Toplamda elde edilen bu 35 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine “N” harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve *AT1G57820* geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 3745 bç olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş zinc-finger-benzeri bir motif olan The Plant Homeodomain ([smart00249](#)), bir tane zinc finger domaini ([pfam13923](#)), iki tane özel bir çinko bağlayıcı olan RING-finger domaini ([cd00162](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini ([cl02620](#)) içermektedir (Ek 2.13).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 30).



Şekil 30. *B. stricta* VIM1 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT1G57820 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırpılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 33'te gösterilmiştir.

Çizelge 33. BLAST sonucunda kaydedilen VIM1 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırpılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırpılan baz sayısı
SRR329604.1186082.2	687	11
SRR329606.231481.2	737	21
SRR329605.271569.2	672	16
SRR329602.545569.2	690	16
SRR329605.521141.2	1013	-
SRR329603.342168.2	689	21
SRR329606.217791.2	641	20
SRR329605.982243.2	709	22
SRR329606.1439261.2	1007	13

SRR329606.75308.2	598	34
SRR329605.103073.2	616	18
SRR329602.859771.2	705	20
SRR329602.1313834.2	872	5
SRR329602.347582.2	675	10
SRR329604.1297576.2	671	15
SRR329605.134218.2	764	18
SRR329605.1127752.2	773	4
SRR329602.384900.2	790	19
SRR329606.1141967.2	752	25
SRR329604.1124614.2	726	23

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1. ile 762. baz arası ve 2415. baz ile 3777. baz arasında kalan bölgelerin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgelere denk gelen *A. thaliana* genomik dizileri SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeleri kapsayan 11 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir. (Çizelge 34)

Çizelge 34. BLAST sonucunda kaydedilen *VIM1* SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329602.1256426.2	838	13
SRR329605.379621.2	637	21
SRR329606.1232433.2	653	28
SRR329602.962688.2	753	39
SRR329605.1098121.2	850	9
SRR329602.532499.2	884	9
SRR329604.969148.2	830	14
SRR329602.276049.2	637	6
SRR329602.990629.2	724	18

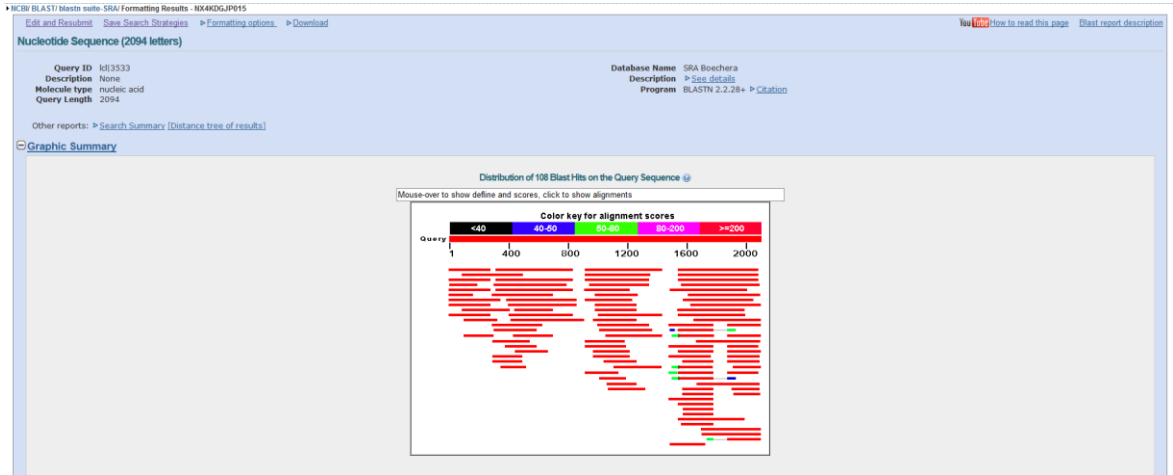
SRR329602.1335570.2	1004	5
SRR329605.65188.2	740	23

Toplamda elde edilen bu 31 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. stricta* okumalarının kapsamadığı, halen boş kalan bölge bir bölge vardır. Bu bölge 3637. baz ile 3777. baz arasında kalan kısımdır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve *AT1G57820* geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 3341 bp olarak elde edilmiştir ve proteini korunmuş zinc-finger-benzeri bir motif olan The Plant Homeodomain ([smart00249](#)), bir tane zinc finger domaini ([pfam13923](#)), iki tane özel bir çinko bağlayıcı olan RING-finger domaini ([cd00162](#)) ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini ([cl02620](#)) içermektedir (Ek 2.14).

4.1.8. *AT1G48910* (*YUC10*)

AT1G48910 geni *A.thaliana* bitkisinin 1 numaralı kromozomu üzerinde yer alır ve genomik DNA’sı 2094 bazdan oluşmaktadır. Bu gen 4 exon 3 intron bölgesi içermektedir. Bu genin proteini korunmuş bir NAD(P)-bağlayıcı Rossmann-benzeri domain ([cl17500](#)) ve TrkA domaini ([COG2072](#)) içermektedir (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Bu gene ait *A. thaliana* genomik DNA dizileri, TAIR web sayfasından elde edilmiş ve SRA veri tabanında BLAST programı ile karşılaştırma yapmak için kullanılmıştır. Bu diziler ilk önce, *Boechera* SRA *B. holboellii* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulama SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmeden kullanılmıştır (Şekil 31).



Şekil 31. *B. holboellii* YUC10 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre *AT1G48910* ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 35’te gösterilmiştir.

Çizelge 35. BLAST sonucunda kaydedilen YUC10 SRA *B. holboellii* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.51743.2	555	-
SRR090303.367291.2	558	-
SRR090304.292552.2	574	-
SRR090305.437708.2	586	-
SRR090303.172651.2	550	-
SRR090303.76820.2	552	-
SRR090302.323954.2	587	-
SRR090303.783622.2	539	3
SRR090303.33292.2	557	-
SRR090310.381437.2	324	-
SRR090303.426324.2	606	-
SRR090303.1067541.2	598	-
SRR090303.1228946.2	551	-
SRR090303.1158154.2	580	-

SRR090303.364656.2	576	-
SRR090304.91295.2	576	-
SRR090304.132413.2	558	-
SRR090307.694128.4	319	3
SRR090303.343928.2	575	-
SRR090302.512563.2	574	-

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. holboellii* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 955. ile 1459. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. holboellii* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 7 adet SRA *B. holboellii* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 36).

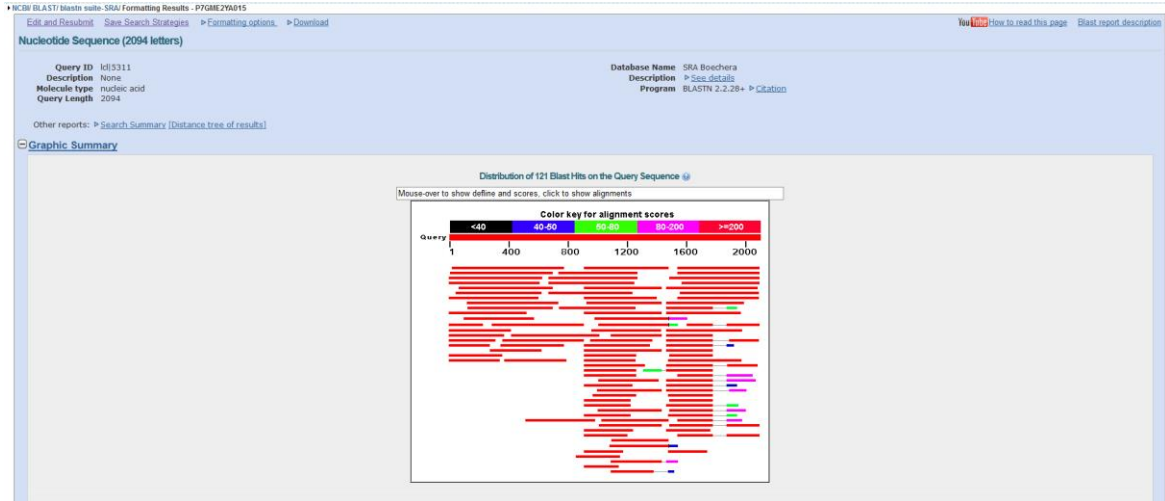
Çizelge 36. BLAST sonucunda kaydedilen YUC10 SRA *B. holboellii* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR090303.1158154.2	580	-
SRR090303.1315743.2	594	-
SRR090303.364656.2	576	-
SRR090304.1045723.2	584	5
SRR090303.1267101.2	608	-
SRR090305.584789.2	622	1
SRR090302.281766.2	655	1

Toplamda elde edilen bu 27 SRA *B. holboellii* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. holboellii* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana*

dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. holboellii* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve AT1G48910 geninin *B. holboellii* türündeki tahmini genomik dizisi 2095 bç olarak elde edilmiştir ve proteini iki tane TrkA domaini (COG2072) içermektedir (Ek 2.15).

İlgili gene ait *A. thaliana* genomik dizisi daha sonra SRA *B. stricta* genom okumaları veri tabanında BLAST programı ile sorgulanmış ve bu sorgulamada da SRA BLAST programı varsayılan ayarları değiştirilmemiştir (Şekil 32).



Şekil 32. *B. stricta* YUC10 genine ait SRA BLAST sonucu.

BLAST sonucuna göre AT1G48910 ile en yüksek benzerliğe sahip, yani e-value sonuçları sıfır veya sıfıra en yakın olan ilk 20 SRA dizisi kaydedilmiştir. Kaydedilen SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, kırılan baz sayıları ve sonrasında kalan baz sayıları Çizelge 37’de gösterilmiştir.

Çizelge 37. BLAST sonucunda kaydedilen YUC10 SRA *B. stricta* dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.1199348.2	800	22
SRR329606.445158.2	726	27
SRR329606.1245639.2	756	11
SRR329604.550039.2	714	6
SRR329604.1434923.2	800	16
SRR329605.570055.2	844	34

SRR329602.625335.2	642	31
SRR329606.1245639.2	756	11
SRR329603.1157116.2	735	20
SRR329602.1140844.2	789	13
SRR329603.1333493.2	873	18
SRR329602.1330420.2	620	19
SRR329602.1319398.2	786	13
SRR329603.221728.2	711	23
SRR329605.436048.2	819	12
SRR329604.422151.2	593	2
SRR329606.1384142.2	978	22
SRR329606.1023086.2	657	39
SRR329603.1117607.2	744	7
SRR329604.1234205.2	653	4

Bu dizilerde, kalite skor değeri 20'nin altında olan bazlar Fastq programı kullanılarak filtrelenmiştir. Filtrelenen *B. stricta* dizileri ve referans *A. thaliana* genomik dizisi BioEdit programı yardımı ile birleştirilmiştir.

Birleştirme sonucunda *A. thaliana* dizisi üzerinde 1133. ile 2094. baz arasında kalan bölgenin boş olduğu belirlenmiştir. Bu bölgeye denk gelen *A. thaliana* genomik dizisi SRA *B. stricta* veri tabanında yeniden BLAST programı ile sorgulanmıştır. Bu sorgulama sonucunda ilgili bölgeyi kapsayan 6 adet SRA *B. stricta* dizisi daha filtrelenerek, önceden kaydedilen 20 adet diziye eklenmiştir (Çizelge 38).

Çizelge 38. BLAST sonucunda kaydedilen *YUC10* SRA *B. stricta* dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları

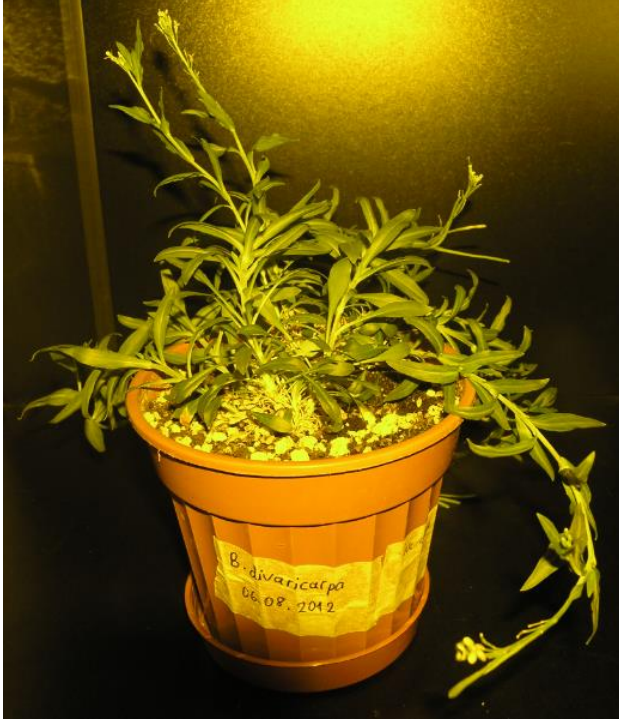
Erişim Numarası	Alınan baz sayısı	Kırılan baz sayısı
SRR329604.1581379.2	1035	11
SRR329602.217473.2	666	3
SRR329605.156641.2	663	6
SRR329606.113225.2	561	7
SRR329606.1291827.2	733	15
SRR329602.278725.2	632	11

Toplamda elde edilen bu 26 SRA *B. stricta* dizisi, tekrar *A. thaliana* dizisi üzerinde birleştirilmiştir. Bu birleştirme sonucunda, referans *A. thaliana* dizisi üzerinde SRA *B. stricta* okumalarının kapsamadığı, boş kalan bir bölge kalmamıştır. Bu dizilerden elde edilen konsensüs dizisi üzerinde, aynı bölgede üst üste gelen SRA dizilerinde eğer baz anlaşmazlığı varsa, sayıca daha çok dizide aynı olan baz seçilmiş ve konsensüs dizi üzerine yazılmıştır. Eğer bu baz anlaşmazlıkları sayıca birbirlerinden üstün değil ve eşitse, o bazın yerine ‘N’ harfi yazılmıştır. Böylece, ilgili gene ait *A. thaliana* dizisi referans alınarak, NCBI SRA veri tabanında bulunan *B. stricta* okumaları filtrelenip birleştirilmiş ve *AT1G48910* geninin *B. stricta* türündeki tahmini genomik dizisi 2113 bp olarak elde edilmiştir ve korunmuş bir NAD(P)-bağlayıcı Rossmann-benzeri domain ([cl17500](#)) ve TrkA domaini ([COG2072](#)) içermektedir (Ek 2.16).

Sonuç itibarıyla; *AGL92*, *AT2G36560*, *HDG3* genleri için, SRA BLAST ile elde edilen diziler referans *A. thaliana* bitkisinin dizilerini tamamen kapsamış olmalarına rağmen, hem *B. holboellii* hem de *B. stricta* türlerinde bu genleri çalışabilmek ve primerler seçebilmek için gereken elverişli diziler sağlanamamıştır. *AT2G21930* ve *VIM1* genleri için *B. holboellii* türünde çalışmaya elverişli diziler elde edilmiş ancak *B. stricta* türünde elde edilememiştir. *AT5G63740* geninde ise *B. holboellii* türünde çalışmaya elverişli diziler elde edilememiş, sadece *B. stricta* türünde elde edilmiştir. Buna rağmen, *SUVH7* ve *YUC10* genleri için her iki bitki türünde de çalışmaya elverişli *Boechera* dizileri elde edilmiş ve bu iki gen ile moleküler biyolojik çalışmalar yapılabilmesi için primerler seçilmiştir.

4.2 Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan diploid apomikt *B. divaricarpa* türünün tohumları, petrilerde +4°C’de karanlıkta 21 gün süreyle buzdolabında bekletilerek dormansi kırılmıştır. Sonrasında, petriler doğrudan 21°C sıcaklıktaki fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabinine yerleştirilmiştir. Kökleri geliştikten sonra fideler, steril edilmiş toprak: perlit (4:1) karışımı içeren saksılara aktarılmış ve sıcaklığı 21°C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabinine yerleştirilmiştir. Bitkiler bu ortamda 29 hafta süresince 15 günde bir beslenme solüsyonu (NPK 4:2:2) ile sulanmıştır. Ardından çiçeklenmeyi teşvik etmek için, 3 hafta boyunca sıcaklığı 10°C, fotoperiyodu 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık olan büyüme kabininde vernalize edilen bitkiler, çiçeklendikten sonra çalışmalar için kullanılmıştır (Şekil 33).



Şekil 33. Çalışmalarda kullanılan *B. divaricarpa* bitkisi.

4.3 Kendileme

PEG'lerin tüm çiçek dokusunda ve döllenme sonrasındaki günler boyunca ifade seviyelerini karşılaştırmak için diploid apomikt *B. divaricarpa* türü kendilenmiştir. Kendilemeden sonraki 5 gün boyunca, melezleme ile aynı saatte, her gün için 10'ar adet döllenmiş pistil dokusu toplanmıştır.

İlk iki gün için kendileme başarısı gözle görülür değildir bu sebeple bu günlerde toplanan 20 örnek kendileme başarısına katılmamıştır. Ancak üçüncü, dördüncü ve beşinci günlerde kendilendiğinden emin olunan dokular alınmıştır. Bu durumda kendileme başarısı 80 pistilde 30'dur (%37.5). Kendileme işlemindeki başarısızlık pistil dokularına yapılan mekanik zarardan kaynaklanmış olabilir.

Gen ifadesi, endosperm dokusunda döllenmeden sonra 4. günden itibaren oldukça zayıfladığı için (Weinhofer ve ark., 2010), döllenmeden sonra 6 günden itibaren endosperm boyutundaki değişimler farkedilir oranda değiştiği için (Lin, 1984), endosperm dokusu döllenmeden sonra 5. günden itibaren bozulmaya başladığı için (Vinkenoog ve ark., 2002) ve kendileme başarısı düşük olduğu yalnızca ilk 5 güne ait örnekler toplanmıştır.

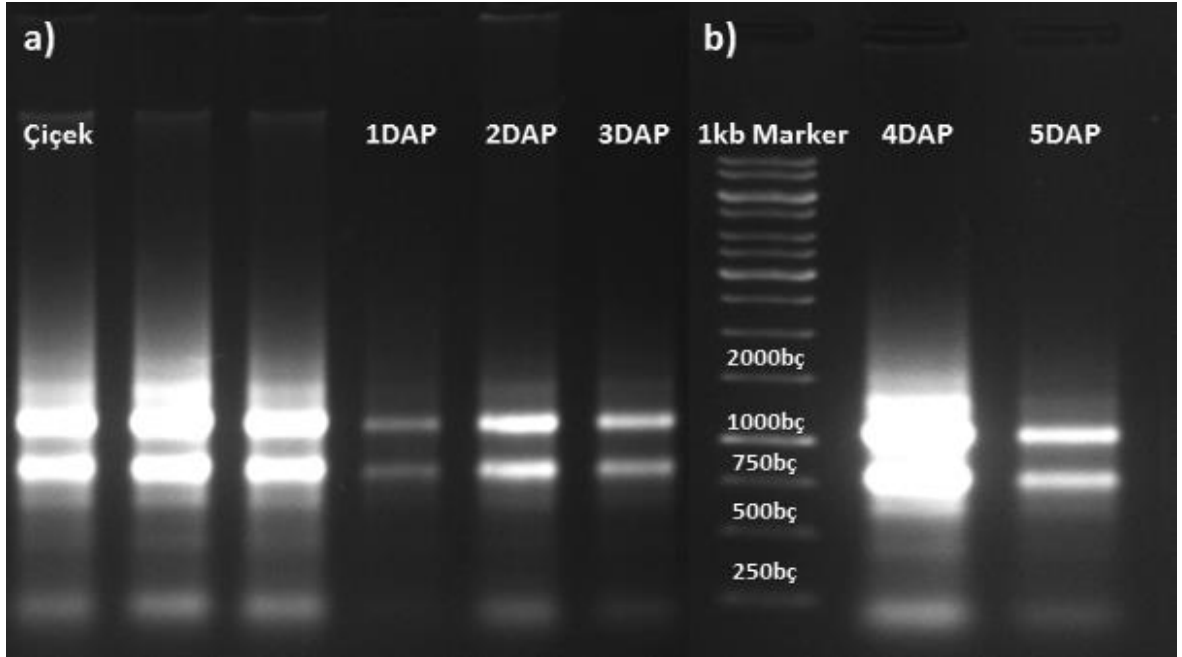
4.4 RNA Jel Elektroforezi

100 mg çiçek dokusu ve döllenmeden sonraki 5 gün boyunca her gün için alınan 10'ar adet döllenmiş pistil dokusundan izole edilen toplam 6 RNA örneğinin PCR çalışmaları için kalitesini kontrol etmek amacıyla Qubit 2.0 Florometre cihazı ile RNA'ların miktarları ölçülmüş ve çizelge 40'ta gösterilmiştir.

Çizelge 39. Melezleme sonrası izole edilen RNA miktarları

Örnekler	Miktar
Çiçek	534ng/μl
1DAP	170ng/μl
2DAP	188ng/μl
3DAP	144ng/μl
4DAP	444ng/μl
5DAP	674ng/μl

Ayrıca izole edilen RNA'lar %1'lik agaroz jel elektroforezi ile ayrılmış ve görüntülenmiştir (Şekil 34).



Şekil 34. Tüm çiçek dokusu ve döllenmeden sonraki 1., 2. ve 3. günde (a) ve döllenmeden sonraki 4. ve 5. günde (b) izole edilen RNA'ların jel elektroforezi görüntüsü.

RNA'ların miktarları ve jelde görülen düzgün bantlar sebebiyle bu RNA kalıplarının cDNA sentezi için yeterli kaliteye sahip olduğu gözlenmiş ve bu cDNA kalıpları RT-PCR'da kullanılmıştır.

4.5 Gradyent RT-PCR Ürünlerinin Jel Elektrofrez

Genomik etiketleme ile gen ifadesini düzenleyen *FIE* geni ve babasal ifadeye uğrayan etiketli genler *SUVH7* ile *YUC10* genlerinin PCR ile çoğaltılabilmesi için, bu genlere özgü primerlerin optimum bağlanma sıcaklıklarının belirlenmesi için gradyent RT-PCR yapılmıştır. Ayrıca kalıp olarak kullanılan cDNA'ların kalitesini kontrol etmek amacı ile bitkinin tüm dokularında sürekli ifade olduğu bilinen *ACTIN2* genine ait primerler ile de reaksiyon kurulmuştur.

FIE geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 426 bp, *SUVH7* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 653 bp, *YUC10* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 721 bp ve pozitif kontrol olarak kullanılan *ACTIN2* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu da 274 bp'dir.

4.5.1 *FIE* geni

FIE geninin, apomikt *Boechea* türleri transkript havuzundan elde edilen dizileri Prof. Dr. Timothy F. Sharbel'den (Leibniz Bitki Genetiği ve Ekin Bitkileri Araştırma Enstitüsü, Almanya) alınmıştır. Bu transkript dizinin, *A. thaliana* bitkisi transkript dizileri ile olan benzerliği BLAST programı ile araştırılmıştır. Sonuçta, apomikt *Boechea* türlerindeki *FIE* geni transkript dizilerinin, *A. thaliana* bitkisi transkript dizileri ile %92 oranında benzer olduğu ortaya çıkmıştır (Şekil 35).

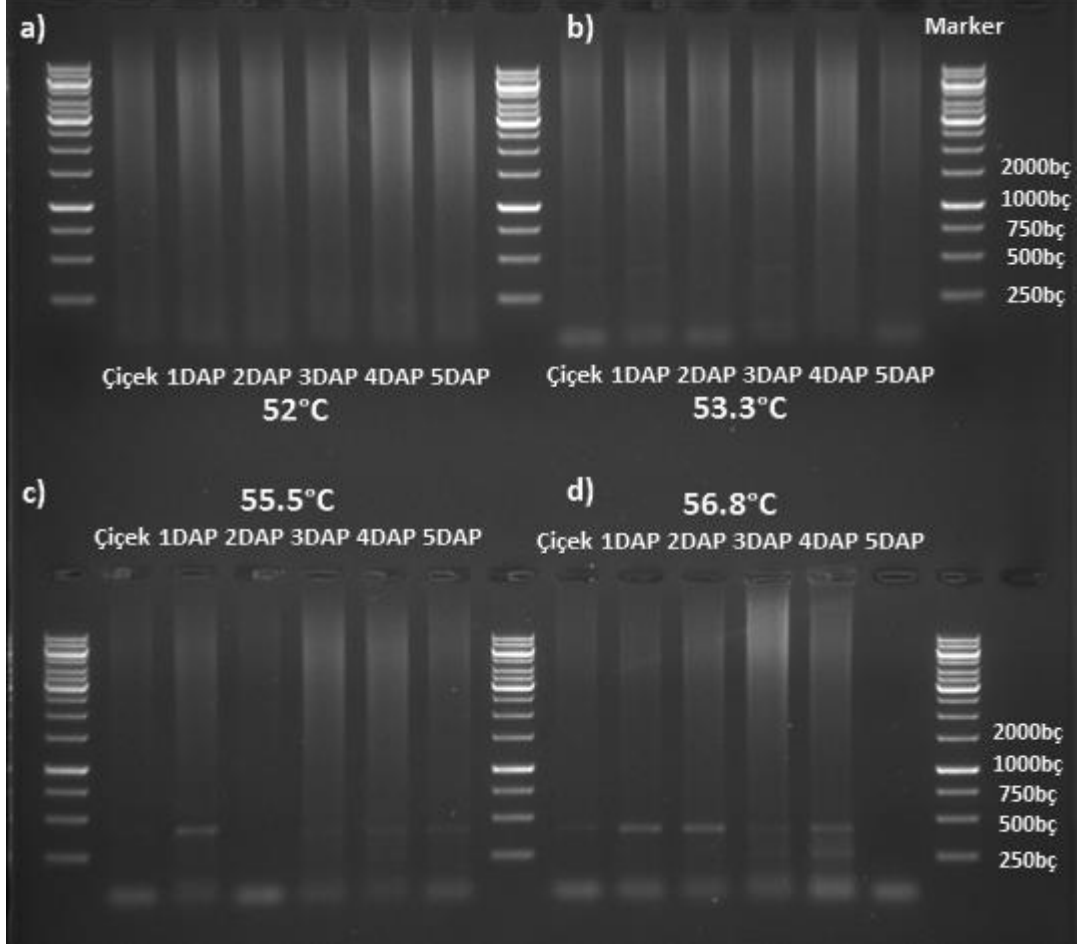
Download v GenBank Graphics					
Arabidopsis thaliana polycomb group protein FERTILIZATION-INDEPENDENT ENDOSPERM mRNA, complete cds					
Sequence ID: ref NM_112965.1 Length: 1563 Number of Matches: 1					
See 1 more title(s)					
Range 1: 175 to 1533 GenBank Graphics					
▼ Next Match ▲ Previous Match					
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
1988 bits(2204)	0.0	1274/1392(92%)	36/1392(2%)	Plus/Minus	
Query 17	ttCCTGCAATAAAGCTCCCGGATACAGCCTTGIGTATTGAACAGAAGAGAATAAGAGAAA				76
Sbjct 1533	TTCCTGCAATAAAGCTCCAGGATACAGCCTTGIGTATTGAACT-AAGAGAATAAGACAAA				1475
Query 77	ATCTC-ATAAAGGGTTTACAATATGGTTCAAATGTTGACGTTAACAAGGCTATAAAGAAC				135
Sbjct 1474	ATCTCCAGAAAGGGTATACACTGTGGTACAAGGGTGGACGTTAACAAGGCTACAAAGAGC				1415
Query 136	A-CTCAAGGTTTCAGGGAGTAGAAACAAAACGAATTCCAAATCATAACGTGATCAATACA				194
Sbjct 1414	ATCTCAAGGTCTCAGGGAGTAGCAACAT-----				1387
Query 195	GATCAGAGTTACAATAAAGAATGGGTATCTCATTTCCTCGTATTCCTAATTCATCAATT				254
Sbjct 1386	GATCAGAAATTACAATAAAGAATGGATATCTCATTTCCTCGCACTCCTAATTCATCAATT				1327
Query 255	CCTACAAGACTCAGACCGCTATTGGTAATCAGTCCCAGCGCCATATAGTCCCGTCCTC				314
Sbjct 1326	CCTACAAGACTCAGACCGCTACTTGGTAATCAGTCCCAGCGCCATATAGTCCCGTCCTC				1267
Query 315	GCAGCAAGCAAGAATTGTGCTTCCATCGACAGACATGGCGGTTTGCTGATTACAGACTT				374
Sbjct 1266	GCAGCAAGCAAGAATCGTGCTTCCATCGACAGACATGGCTGTTTGCTGATTACAGACTT				1207
Query 375	TGATTGATTGTGTGATAACTTTGTAATCAAAACAGGAGGACAACTTTTAAATCCCAGAC				434
Sbjct 1206	TGATTGATTGTGTGATAACTTTGTAATCAAAACAGGAGGGCAACTTTTCAAATCCCAGAC				1147
Query 435	ATAAACTTTTCCTTCTGATTACCTATTGCGACAGAATTGAAATGGAGGTACAAAGAAA				494
Sbjct 1146	ATAAACCTTTTCCTTCTGATTACCTATCGCAACAGAACTTAAATGGAGGTACAAAGAAA				1087
Query 495	CTTGATAAACCAATATCACACATTGGAATCGGGTATCTTAGTAGAACATCTGAAGTACC				554
Sbjct 1086	CTTGATAAACCAATATCACACATTGGAACCGGGTATCTTAATAGAACATCTGAAGTACC				1027
Query 555	CTCTCCAGGAGAACTCTTTCAGTTGTGGTTCCCAACAGGATCTCGTTGTCCCACT				614
Sbjct 1026	CTCGCCAGGAGAACTCTTTCAGTTGTGGTTCCCAACAGGATCTCGTTGTCCCACT				967
Query 615	CTTTGAAGAATAAAATCACCAACCAACGGTTACAATCTACATAAATTTGTATGAAGTGA				674
Sbjct 966	CTTTGAGAGGATAAAATCACCAACCAACGGTTACAATCTACATAAATTTGTATGAAGTGA				907
Query 675	AGCTGTAATAACAGGGAATTGGACAAATTTTGTTGGGAATTTTGACGGATCATCAGTCCA				734
Sbjct 906	AGCTGTAATAACAGGGAATTGGACAAATTTTGTTGGGAATTTTGATGGATCATCAGTCCA				847
Query 735	CGTGAATGACTTCTCGACATATGTCCAAACTCTTTCATTGACCATAATTTAATAGTGGT				794
Sbjct 846	TGTGAATGACTTCTCGACGTACGTCCAAACTCTTTCATTGACCATAATTTAATAGTGGT				787
Query 795	ATCCATACCAGCTAGCAAAACGGTAAATATCAGAAGGATGAAAATCCCACTTAGAAC				854
Sbjct 786	GTCCATACCACACTAGCAAAACGGTAAATATCAGACGGATGAAAATCCCACTTAGAAC				727
Query 855	TTCGTAGCGATGACCTCCAGCTCCAGCAAATATCAGAATACATAATCCAGTTTCAACGTT				914
Sbjct 726	TTCATAGCGATGACCTCCAGCTCCAGCAAATATCAAAATACATAATCCAGTTTCAACATT				667
Query 915	CCACAAACGAACAGATTTCATCCTTGCTAGCAGTAATCACAAGTTG-GGCTTCAAAGGTTG				973
Sbjct 666	CCACAAACGAACAGATTTCATCCTTGCTAGCAGTAATCACAAGTTGAGGTTTTAAAGGTTG				607
Query 974	TGTTCTGATTTCGTTCACTGAATCTCCATGGCCCAAGGCTCTTATGAATAATTTCAAT				1033

Şekil 35. Apomikt *Boechera* türlerinde ve *A. thaliana* bitkisinde var olan *FIE* geni transkriptlerinin benzerliği.

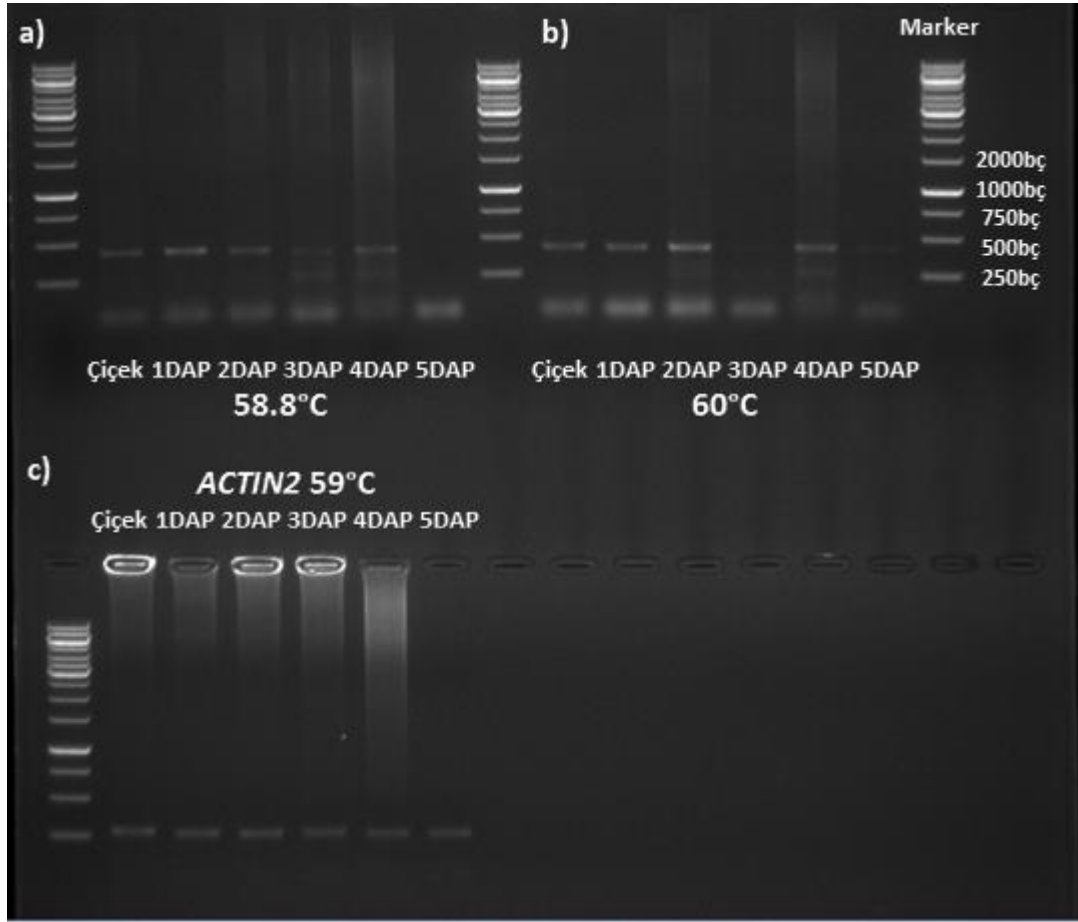
PRC2'nin bir bileşeni olarak genomik etiketlemede gen ifadesini kontrol ettiği birçok araştırmacı tarafından bildirilen *FIE* geninin diploid apomikt *B. divaricarpa* çiçeklerinde ve döllenme sonrası baklalarındaki anlatımına ait gradiyent RT-PCR sonuçları şekil 35 ve

36 ‘da belirtilmiştir. *FIE* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 426 bp’dir.

Şekil 36’da RT-PCR reaksiyonunda uygulanan ilk 4 sıcaklık görülmektedir. Şekil 37’de ise sonraki iki sıcaklık değeri görülmektedir.



Şekil 36. *FIE* geninin RT-PCR’da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.

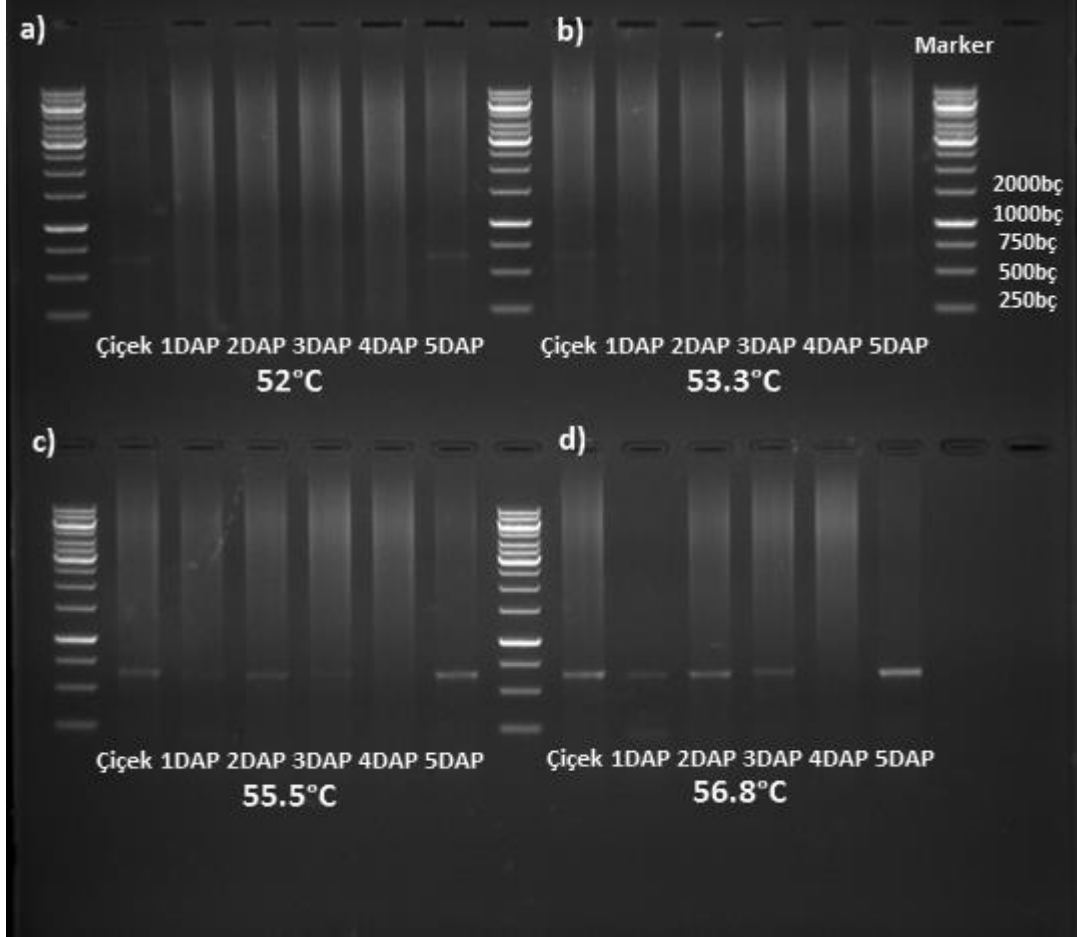


Şekil 37. *FIE* geninin RT-PCR’da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve *ACTIN2* geninin jel görüntüsü.

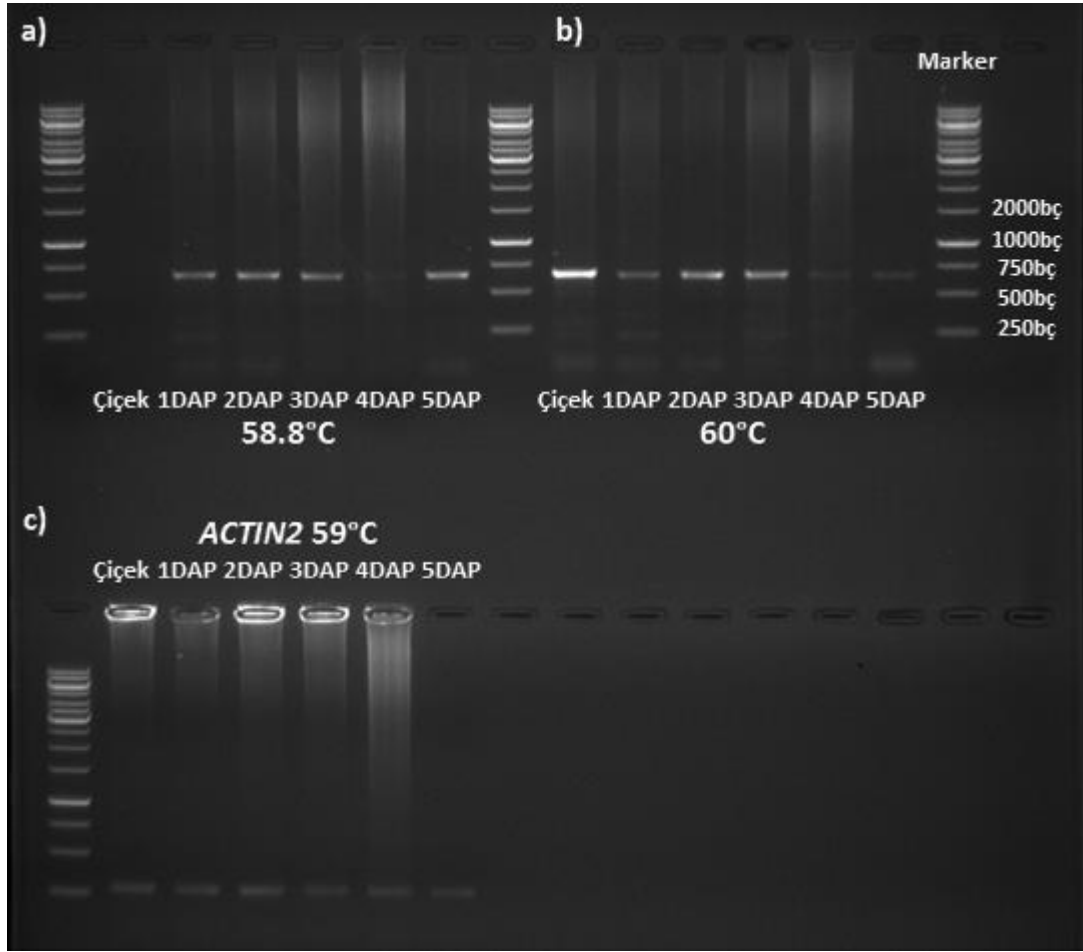
Bu sonuçlara göre, *FIE* geni için kullanılan primerlerin 52°C ve 53.3°C sıcaklıklarında kalıba bağlanmadığı görülmüştür (Şekil 36a, 36b). Bu sebeple beklenen boyutta bir ürün oluşmamıştır. Daha yüksek olan 55.5°C, 56.8°C ve 58.8°C sıcaklıklarda ise beklenen boyutta ürünler oluşmasına karşın, en az bir örnek için beklenen boyutta bir ürün gözlenememiştir (Şekil 36c, 36d, 37a). Ancak, 60°C’de tüm örnekler için beklenen boyutta ürünler görülmektedir (Şekil 37b). Bu ürünler arasında 3DAP ve 5DAP kuyucuklarında gözlenen bantların diğer kuyucuklarda gözlenen bantlara göre silik olmasının nedeni *FIE* geninin transkript miktarlarındaki düşüşlerden kaynaklanabileceği öngörülmüştür (Şekil 37b). Bu sonuçlar, *FIE* genine ait primerlerin bağlanması için gereken optimum sıcaklığın yaklaşık 60°C olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra pozitif kontrol olarak kullanılan *ACTIN2* geni tüm cDNA kalıplarında sorunsuz çalışmıştır, bu da cDNA kalıplarının sağlam olduğunu kanıtlamaktadır (Şekil 37c).

4.5.2 SUVH7 geni

A. thaliana L. bitkisinde CG metilasyonunun devamından sorumlu bir SET domain proteini kodlayan *SUVH7* geninin gradiyent RT-PCR sonuçları şekil 38 ve 39’da belirtilmiştir (Hsieh ve ark., 2011). *SUVH7* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 653 bç’dir.



Şekil 38. *SUVH7* geninin RT-PCR’da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.



Şekil 39. *SUVH7* geninin RT-PCR’da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve *ACTIN2* geninin jel görüntüsü.

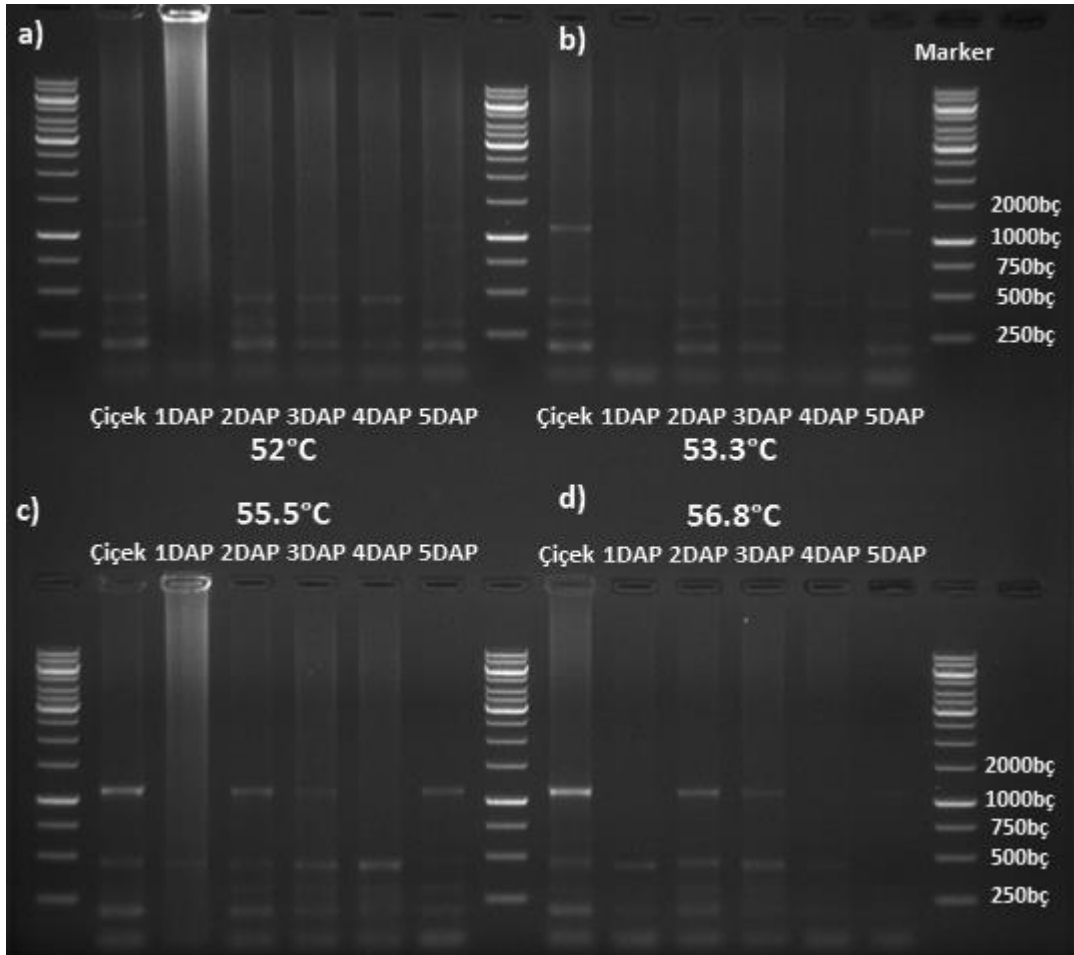
Bu sonuçlara göre, *SUVH7* geni için kullanılan primerlerin 52°C ve 53.3°C sıcaklıklarında kalıba bağlanmadığı görülmüştür (Şekil 38a, 38b). Bu sebeple beklenen boyutta bir ürün oluşmamıştır. Daha yüksek olan 55.5°C, 56.8°C ve 58.8°C sıcaklıklarda ise beklenen boyutta ürünler oluşmasına karşın, en az bir örnek için beklenen boyutta bir ürün gözlenememiştir (Şekil 38c, 38d, 39a). Ancak, 60°C’de tüm örnekler için beklenen boyutta ürünler görülmektedir (Şekil 39b). Bu ürünler arasında 4DAP ve 5DAP kuyucuklarında gözlenen bantların diğer kuyucuklarda gözlenen bantlara göre silik olmasının nedeni *SUVH7* geninin transkript miktarlarındaki düşüşlerden kaynaklanabileceği öngörülmüştür (Şekil 37b). Bir PEG olan *SUVH7*’nin döllenmeden sonraki günlerde ifadesinin gitgide azalması, embriyonun endosperm dokusunu kullanması sebebiyle bu genin endospermdeki ifadesinin azaldığını düşündürmektedir. Elde edilen bu sonuç daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir (Lin, 1984; Vinkenoog ve ark.,

2002; Weinhofer ve ark., 2010). Ayrıca bu sonuçlar, *FIE* genine ait primerlerin bağlanması için gereken optimum sıcaklığın yaklaşık 60°C olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra pozitif kontrol olarak kullanılan *ACTIN2* geni tüm cDNA kalıplarında sorunsuz çalışmıştır, bu da cDNA kalıplarının sağlam olduğunu kanıtlamaktadır (Şekil 39c).

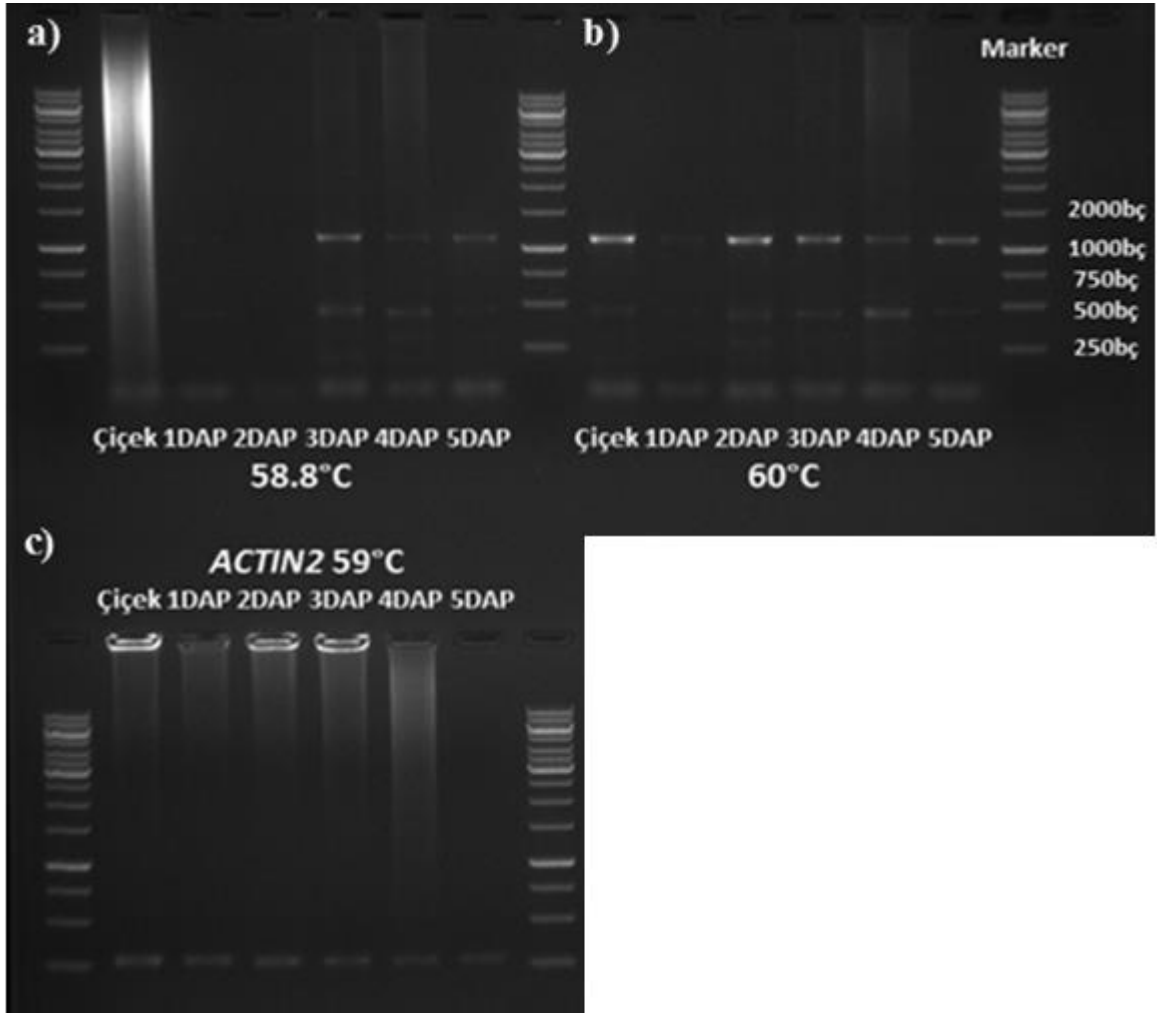
4.5.3. *YUC10* geni

A. thaliana bitkisinde oksin sentezinde görevli olan bir protein kodlayan *YUC10* geninin gradiyent RT-PCR sonuçları şekil 40 ve 41’de belirtilmiştir (Hsieh ve ark., 2011). *YUC10* geninin primerlerinden beklenen ürün boyutu 721 bp’dir.

Şekil 40’ta RT-PCR reaksiyonunda uygulanan ilk 4 sıcaklık görülmektedir. Şekil 41’de ise sonraki iki sıcaklık değeri görülmektedir.



Şekil 40. *YUC10* geninin RT-PCR’da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.



Şekil 41. *YUC10* geninin RT-PCR’da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve *ACTIN2* geninin jel görüntüsü.

YUC10 geni için seçilen primerlerle yapılan gradiyent RT-PCR’da 52-60°C aralığında beklenen boyutlarda bir ürün elde edilememiştir. Bununla birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan *ACTIN2* genine ait primerler tüm cDNA kalıplarında sorunsuz bir şekilde beklenen boyutlarda ürün oluşturmuştur. (Şekil 41c). Bu sonuç cDNA kalıpların sağlam olduğunu kanıtlamaktadır.

Bu çalışmada kullanılan primerler, biyoinformatik yaklaşımlarla *A. thaliana YUC10* geni (*AT1G48910*) ile benzerlik gösteren apomikt ve seksüel *Boechera* türlerine ait muhtemel cDNA dizilerden seçilmiştir. Çalışmada kullanılan *YUC10* primerlerin apomikt ve seksüel *Boechera* türlerine ait genom ve transkript dizilerine kalıp olarak bağlanmaları BLAST programı aracılığı ile kontrol edilmiştir. BLAST programı bu primerlerin transkriptlere kalıp olarak bağlandığını ve 721 bp’lik bir ürün oluşturacağını göstermiştir.

Aynı programda kalıp olarak genomik DNA seçildiğinde ise 1110 bp'lik bir ürün oluşacağı anlaşılmıştır. Ayrıca, *YUC10* primerlerinin seçimleri sırasında kullanılan biyoinformatik programlar (PrimerBLAST) bu primerlerin *YUC10* dışında farklı DNA bölgelerine bağlanmadığını göstermiştir. Buna karşın, *YUC10* genine ait çiçek ve döllenme sonrası baklalarda bu genin transkriptine ait bant elde edilememiştir. Ancak primerlerin genomik DNA'ya bağlanması sonucunda oluşması beklenen yaklaşık 1110 bp'lik ürünler gözlenmektedir. Bunun nedeni izole edilen RNA'ların DNA ile kontaminasyonu olabilir. Bu genin *Boechea* türlerinin endosperm dokusunda ifade olup olmadığını kesin olarak belirlemek için daha hassas yöntemler kullanılmalıdır. Ayrıca bu çalışmada kullanılan primerlerden farklı bir primer çifti ile analizlerin tekrarlanması gerekmektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; seksüel bitki türlerinde tohum gelişimini kontrol eden epigenetik süreçlerin, apomikt üremedeki rolünün incelenebilmesi için, genomik etiketlemeye uğradığı bilinen bazı paternal ifadeye sahip etiketli genlerin genomik dizileri ve cDNA dizileri, *Boechea holboellii* ve *Boechea stricta* türlerinde biyoinformatik yöntemlerle ilk kez ortaya çıkarılmıştır.

Çalışmada *A. thaliana* bitkisinde paternal ifadeye uğradığı bilinen 8 adet genin (*AGL92*, *AT2G21930*, *AT2G36560*, *AT5G63740*, *HDG3*, *SUVH7*, *VIM1* ve *YUC10*) *Boechea* cinsine ait seksüel *Boechea stricta* ve apomikt *Boechea holboellii* türlerindeki benzerleri, mevcut veritabanları kullanılarak biyoinformatik analiz yöntemleriyle belirlenmiştir. Doğal triploid apomikt *B. holboellii* türünde genlerin uzunlukları *AGL92* için 1509 bp, *AT2G21930* için 1235 bp, *AT2G36560* için 3208 bp, *AT5G63740* için 718 bp, *HDG3* için 5414 bp, *SUVH7* için 2087 bp, *VIM1* için 3745 bp ve *YUC10* için 2095 bp olarak; seksüel *B. stricta* türünde ise *AGL92* için 1472 bp, *AT2G21930* için 511 bp, *AT2G36560* için 2699 bp, *AT5G63740* için 636 bp, *HDG3* için 4920 bp, *SUVH7* için 2083 bp, *VIM1* için 3341 bp ve *YUC10* için 2113 bp olarak belirlenmiştir. Bu 8 genin genomik dizileri *B. holboellii* ve *B. stricta* türlerinde ilk kez ortaya çıkarılmıştır ve sonraki deney aşamaları için primer seçimlerinde bu diziler kullanılmıştır. Bu genlerin olası proteinleri için ayrıca korunmuş domainler belirlenmiştir. *AGL92* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde bir tane MADS_SRF_benzeri domain içermekte, *B. holboellii* türünde korunmuş domain içermemekte, *B. stricta* türünde ise bir tane MADS_SRF_benzeri domain içermektedir. *AT2G21930* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde bir F-box domaini, F-box ile ilişkili bir FBA_3 domaini ve bir tane F-box protein etkileşim domaini olan F-box_assoc_1 içermekte, *B. holboellii* türünde iki adet F-box protein etkileşim domaini olan F-box_assoc_1 domaini ve *B. stricta* türünde ise bir F-box domaini içermektedir. *AT2G36560* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde bir Caprin-1_C domaini ve fonksiyonu bilinmeyen bir DUF296 domaini içermekte, *B. holboellii* türünde de *B. stricta* türünde de korunmuş domain içermemektedir. *AT5G63740* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde korunmuş bir domain içermediği gibi *B. holboellii* türünde de *B. stricta* türünde de korunmuş domain içermemektedir. *HDG3* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde iki tane SRPBCC domain ve DNA bağlayıcı homeodomain içermekte ve hem *B. holboellii* türünde hem de *B. stricta* türünde üç tane SRPBCC domain ve bir tane DNA bağlayıcı

homeodomain içermektedir. *SUVH7* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde korunmuş bir SET domaini, çinko bağlayıcı bir Pre-SET motifi ve fonksiyonu bilinmeyen bir YDG-SRA domaini içermekte, *B. holboellii* türünde bir SET domaini, çinko bağlayıcı iki Pre-SET motifi, sisteince zengin bir Post-SET motifi ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini içermekte, *B. stricta* türünde ise bir SET domaini, çinko bağlayıcı bir Pre-SET motifi ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini içermektedir. *VIM1* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde korunmuş zinc-finger-benzeri bir motif olan The Plant Homeodomain, iki tane zinc finger domaini, iki tane özel bir çinko bağlayıcı olan RING-finger domaini ve fonksiyonu bilinmeyen üç YDG-SRA domaini içermekte, *B. holboellii* türünde de *B. stricta* türünde de korunmuş zinc-finger-benzeri bir motif olan The Plant Homeodomain, bir tane zinc finger domaini, iki tane özel bir çinko bağlayıcı olan RING-finger domaini ve fonksiyonu bilinmeyen iki YDG-SRA domaini içermektedir. *YUC10* geninin proteini *A. thaliana* bitkisinde bir NAD(P)-bağlayıcı Rossmann-benzeri domain ve bir TrkA domaini içermekte, *B. holboellii* türünde iki tane TrkA domaini içermekte, *B. stricta* türünde ise korunmuş bir NAD(P)-bağlayıcı Rossmann-benzeri domain ve TrkA domaini içermektedir. Böylece çalışmada, *A. thaliana* bitkisinden farklı olarak, *B. holboellii* bitkisinde *AT2G21930* genine ait proteinde fazladan bir F-box protein etkileşim domaini olan *F-box_assoc_1*, *HDG3* genine ait fazladan bir tane SRPBCC domain, *SUVH7* genine ait fazladan bir çinko bağlayıcı Pre-SET motifi, sisteince zengin bir Post-SET motifi ve fazladan bir fonksiyonu bilinmeyen YDG-SRA domaini, *YUC10* genine ait fazladan bir TrkA domaini ve *B. stricta* bitkisinde, *HDG3* genine ait fazladan bir tane SRPBCC domain, *SUVH7* genine ait fazladan bir fonksiyonu bilinmeyen YDG-SRA domaini bulunmuştur.

Çalışmada yalnızca baba aleli ifade olan *SUVH7* ve *YUC10* ile genomik etiketlemede rol alan *FIE* genlerinin, diploid apomikt bir tür olan *Boechera divaricarpa* türünde bakla ve çiçek dokularındaki anlatımları RT-PCR ile belirlenmiştir.

Yapılan deneyler sonucunda *B. divaricarpa* türünde *SUVH7* geninin anlatıma uğradığı belirlenmiştir ve bu anlatımın döllenme sonrası 2. ve 3. günde artmış olduğu, 5. güne doğru azaldığı belirlenmiştir. Bu durum embriyonun endosperm dokusunu gün geçtikçe tüketmesi ile bağdaştırılabilir. Ayrıca, endosperm boyutundaki değişimlerin döllenmeden sonra 6. günden itibaren kaydadeğer oranda değiştiği (Lin, 1984), döllenmeden sonra 5. günden itibaren endosperm dokusunun bozulmaya başladığı (Vinkenoog ve ark., 2002) ve gen ifadesinin endosperm dokusunda döllenmeden sonra 4.

günden itibaren zayıfladığı (Weinhofer ve ark., 2010) daha önce yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar önceden yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Genomik etiketlemenin düzenlenmesinde PRC2'nin yapısına katılan FIE proteinini kodlayan *FIE* geninin ifadesinin ise döllenme sonrası özellikle 3. ve 5. günlerde daha az olduğu belirlenmiştir.

YUC10 geninin ise genomdaki varlığı kanıtlanmasına rağmen ifadesine rastlanmamış olup, bu durumun genin suskun olması ile alakalı olup olmadığı henüz kesin değildir. Bu gen için kullanılan primer çiftlerinin yerine başka primerler seçilerek deney tekrarlanmalı, ayrıca bu genin ifadesi daha hassas yöntemler ile araştırılmalıdır.

Bu çalışmanın amacı, seksüel bitkilerde tohum gelişimini kontrol eden epigenetik süreçlerin, apomikt üremedeki rolünün incelenmesidir. Aseksüel bir üreme şekli olan apomiksiyi ticari önemi olan bitkilere aktarmak; yüksek verimlilikte genetik olarak saf ekinler elde edilebileceği için ekonomik anlamda çok önemlidir (Hanna ve Bashaw, 1987). Bu ise, apomiksi mekanizmasının moleküler seviyede anlaşılması ile mümkündür (Koltunow ve ark., 1995). Apomiksi özelliğini ticari seksüel bitkilere kazandırmak, bu bitkilerin endospermdeki değişen etiketleme sistemleri ile başa çıkabilmelerini de gerektirir. Bu sebeple apomiksi benzeri özellikler gösteren bitkiler elde edilmiş olmasına rağmen tam olarak apomikt bir bitki elde edilememiştir (Ravi ve ark., 2008; d'Erfurth ve ark., 2009; Marimuthu ve ark., 2011). Ticari önemi olan bitkilere aktarılan apomiksi mekanizmasının devamı ancak, tohum gelişiminde seksüel ve apomikt bitkiler arasında farklı olarak meydana gelen epigenetik süreçlerin ortaya çıkarılması ile mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Aliyu O.M., Schranz M.E. ve Sharbel T.F., 2010. Quantitative Variation for Apomictic Reproduction in the Genus *Boechera* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 97(10): 1719-1731.
- Al-Shehbaz I.A., 2003. Transfer of Most North American Species of *Arabis* to *Boechera* (Brassicaceae). *Novon*, 13:381-391.
- Angiosperm: reproduction cycle. Art. *Encyclopædia Britannica Online*. Web. 03 May 2013.
- Asker S.E. ve Jerling L., 1992. *Apomixis in Plants*. CRC Press, Boca Raton.
- Baumbusch L.O., Thorstensen T., Krauss V., Fischer A., Naumann K., Assalkhou, Schulz I., Reuter G. ve Aalen R., 2001. The *Arabidopsis thaliana* Genome Contains at least 29 Active Genes Encoding SET Domain Proteins that can be Assigned to Four Evolutionarily Conserved Classes. *Nucleic Acids Research*, 29(21): 4319-4333.
- Bemer M., Heijmans K., Airoidi C., Davies B. ve Angenent G.C., 2010. An Atlas of Type I MADS Box Gene Expression during Female Gametophyte and Seed Development in *Arabidopsis*. *American Society of Plant Biologists*, 154(1): 287-300.
- Carman J. G., 1997. Asynchronous Expression of Duplicate Genes in Angiosperms May Cause Apomixis, Bispory, Tetraspory, and Polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society*, 61: 51-94.
- Choi Y., Gehring M., Johnson L., Hannon M., Harada J.J., Goldberg R.B., Jacobsen S.E. ve Fischer R.L., 2002. DEMETER, a DNA Glycosylase Domain Protein, Is Required for Endosperm Gene Imprinting and Seed Viability in *Arabidopsis*. *Cell*, 110: 33-42.
- Costa L.M., Yuan J., Rouster J., Paul W., Dickinson H. ve Gutierrez-Marcos J.F., 2012. Maternal Control of Nutrient Allocation in Plant Seeds by Genomic Imprinting. *Current Biology*, 22(2): 160-165.
- Craig K.L. ve Tyers M., 1999. The F-Box: A New Motif for Ubiquitin Dependent Proteolysis in Cell Cycle Regulation and Signal Transduction. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 72: 299-328.
- Crouse H.V., 1960. The Nature of the Influence of X-translocations on Sex of Progeny in *Sciara Coprophila*. *Chromosoma*, 11: 146-166.

- Çam H. ve Taşkın K.M., 2009. Characterization of the *PHERES1* Orthologs in the Apomict *Boechera*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 3: 1294-1298.
- d'Erfurth I., Jolivet S., Froger N., Catrice O., Novatchkova M. ve Mercier R., 2009. Turning Meiosis into Mitosis. *PLoS Biology*, 7(6): 1-10.
- Feil R. ve Berger F., 2007. Convergent Evolution of Genomic Imprinting in Plants and Mammals. *Trends in Genetics*, 23(4): 192-199.
- Fitz Gerald J.N., Hui P.S. ve Berger F., 2009. Polycomb Group-Dependent Imprinting of the Actin Regulator *AtFH5* Regulates Morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *Development*. 136: 3399-3404.
- Garcia-Aguilar M., Michaud C., Leblanc O. ve Grimanelli D., 2010. Inactivation of a DNA Methylation Pathway in Maize Reproductive Organs Results in Apomixis-Like Phenotypes. *The Plant Cell*, 22: 3249-3267.
- Gehring M., Choi Y. ve Fischer R.L., 2004. Imprinting and Seed Development. *The Plant Cell*, 16: 203-213.
- Gehring M., Huh J.H., Hsieh T., Penterman J., Choi Y., Harada J.J., Goldberg R.B. ve Fischer R.L., 2006. DEMETER DNA Glycosylase Establishes MEDEA Polycomb Gene Self-Imprinting by Allele-Specific Demethylation. *Cell*, 124: 495-506.
- Gehring M., Bubb K. L. ve Henikoff S., 2009. Extensive Demethylation of Repetitive Elements During Seed Development Underlies Gene Imprinting. *Science*, 324: 1447-1451.
- Gehring M., Missirian V. ve Henikoff S., 2011. Genomic Analysis of Parent-of-Origin Allelic Expression in *Arabidopsis thaliana* Seeds. *PLoS ONE*, 6 (8): e23687.
- Grossniklaus U., Vielle-Calzada J-P., Hoepfner M.A. ve Gagliano W.B., 1998. Maternal Control of Embryogenesis by MEDEA, a Polycomb Group Gene in Arabidopsis. *Science*, 280: 446-450.
- Grossniklaus U., Spillane C., Page D.R. ve Köhler C., 2001. Genomic Imprinting and Seed Development: Endosperm Formation with and without Sex. *Current Opinion in Plant Biology*, 4: 21-27.
- Haig D., 2000. The Kinship Theory of Genomic Imprinting. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31: 9-32.
- Haig D., 2002. *Genomic Imprinting and Kinship*. Rutgers University Press, New Brunswick. 1-16.

- Hanna W. W. ve Bashaw E. C., 1987. Apomixis: Its Identification and Use in Plant Breeding. *Crop Science*, 27(6): 1136-1139.
- Hofmann N.R., 2010. Apomixis and Gene Expression in *Boechera*. *The Plant Cell*, 22:539.
- Hojsgaard D. H., Martinez E. J., Acuna C. A., Quarin C. L. ve Pupilli F., 2011. A Molecular Map of the Apomixis-Control Locus in *Paspalum procurrens* and Its Comparative Analysis with Other Species of *Paspalum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 959-971.
- Hsieh T., Shin J., Uzawa R., Silva P., Cohen S., Bauer M.J., Hashimoto M., Kirkbride R.C., Harada J.J., Zilberman D. ve Fischer R. L., 2011. Regulation of imprinted gene expression in *Arabidopsis* endosperm. *Plant Biology*, 108: 1755-1762.
- Huh J.H., Bauer M.J., Hsieh T. ve Fischer R.L., 2008. Cellular Programming of Plant Gene Imprinting. *Cell*, 132: 735-744.
- Ikeda Y., 2012. Plant Imprinted Genes Identified by Genome-wide Approaches and Their Regulatory Mechanisms. *Plant Cell Physiology*, 53 (3): 809-816.
- Jahnke S. ve Scholten S., 2009. Epigenetic Resetting of a Gene Imprinted in Plant Embryos. *Current Biology*, 19: 1677-1681.
- Jullien P.E., Katz A., Oliva M., Ohad N. ve Berger F., 2006(a). Polycomb Group Complexes Self-Regulate Imprinting of the Polycomb Group Gene MEDEA in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 16: 486-492.
- Jullien P.E., Kinoshita T., Ohad N. ve Berger F., 2006(b). Maintenance of DNA Methylation during the *Arabidopsis* Life Cycle Is Essential for Parental Imprinting. *The Plant Cell*. 18: 1360-1372.
- Kawanabe T., Fujimoto R., Sasaki T., Taylor J.M. ve Dennis E.S., 2012. A Comparison of Transcriptome and Epigenetic Status Between Closely Related Species in the Genus *Arabidopsis*. *Gene*, 506(2): 301-309.
- Kermicle J.L., 1970. Dependence of the R-Mottled Aleurone Phenotype in Maize on Mode of Sexual Transmission. *Genetics*, 66: 69-85.
- Kinoshita T., Yadegari R., Harada J.J., Goldberg R.B. ve Fischer R.L., 1999. Imprinting of the MEDEA Polycomb Gene in the *Arabidopsis* Endosperm. *The Plant Cell*, 11: 1945-1952.
- Kinoshita T., Miura A., Choi Y., Kinoshita Y., Cao X., Jacobsen E.S., Robert L.F. ve Kakutani T., 2004. One-Way Control of FWA Imprinting in *Arabidopsis* Endosperm by DNA Methylation. *Science*, 303: 521.

- Koch M., Haubold B. ve Mitchell-Olds T., 2001. Molecular Systematics of the Brassicaceae: Evidence from Coding Plastidic *matK* and Nuclear *Chs* Sequences. *American Journal of Botany*, 88(3): 534-544.
- Koch M.A., Dobes C. ve Mitchell-Olds T., 2003. Multiple Hybrid Formation in Natural Populations: Concerted Evolution of the Internal Transcribed Spacer of Nuclear Ribosomal DNA (ITS) in North American *Arabis divaricarpa* (Brassicaceae). *Molecular. Biology and. Evolution*, 20(3): 338-350.
- Koltunow A. M., 1993. Apomixis: Embryo Sacs and Embryos Formed without Meiosis or Fertilization in Ovules. *The Plant Cell*, 5: 1425-1437.
- Koltunow A. M., Bicknell R. A. ve Chaudhury A. M., 1995. Apomixis: Molecular Strategies for the Generation of Genetically Identical Seeds without Fertilization. *Plant Physiology*, 108: 1345-1352.
- Köhler C., Page D.R., Gagliardini V. ve Grossniklaus U., 2005. The *Arabidopsis thaliana* MEDEA Polycomb Group Protein Controls Expression of PHERES1 by Parental Imprinting. *Nature Genetics*, 37: 28-30.
- Köhler C. ve Weinhofer-Molisch I., 2010. Mechanisms and evolution of genomic imprinting in plants. *Heredity*, 105: 57-63.
- Lin B., 1984. Ploidy Barrier to Endosperm Development in Maize. *Genetics*, 107: 103-115.
- Lovell J. T., 2011. *Boechera* Summit 2011. *Molecular Ecology*, 20: 4840-4842.
- Luo M., Bilodeau P., Koltunow A., Dennis E.S., Peacock W.J. ve Chaudhury A.M., 1999. Genes Controlling Fertilization-Independent Seed Development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology*, 96: 296-301.
- Luo M., Bilodeau P., Dennis E.S., Peacock W.J. ve Chaudhury A.M., 2000. Expression and parent-of-origin effects for FIS2, MEA, and FIE in the endosperm and embryo of developing *Arabidopsis* seeds. *PNAS*, 97(19): 10637-10642.
- Luo M., Taylor J.M., Spriggs A., Zhang H., Wu X., Russell S., Singh M. ve Koltunow A., 2011. A Genome-Wide Survey of Imprinted Genes in Rice Seeds Reveals Imprinting Primarily Occurs in the Endosperm. *PLoS Genetics*, 7 (6): e1002125.
- Makarevich G., Villar C. B. R., Erilova A. ve Köhler c., 2008. Mechanism of *PHERES1* Imprinting in *Arabidopsis*. *Journal of Cell Science*, 121: 906-912.

- Marimuthu M. P. A., Jolivet S., Ravi M., Pereria L., Davda J. N., Cromer L., Wang L., Nogue F., Chan S. W. L., Siddiqi I. ve Mercier R., 2011. Synthetic Clonal Reproduction Through Seeds. *Science*, 331: 876.
- Naumova T.N., Laak J., Osadtchiy J., Matzk F., Kravtchenko A., Bergervoet J., Ramulu K.S. ve Boutilier K., 2001. Reproductive Development in Apomictic Populations of *Arabis holboellii* (Brassicaceae). *Sexual Plant Reproduction*, 14: 195-200.
- Nogler G.A., 1984. Gametophytic Apomixis. (Johri B.M., ed, Embryology of Angiosperms.) Springer Verlag, Berlin. 475-517.
- Olmedo-Monfil V., Duran-Figueroa N., Arteaga-Vazquez M., Demesa-Arevalo E., Autran D., Grimanelli D., Slotkin R. K., Martienssen R. A. ve Vielle Calzada J. P., 2010. Control of Female Gamete Formation by a Small RNA Pathway in *Arabidopsis*. *Nature*, 464: 628-632.
- Patel R.K. ve Jain M., 2012. NGS QC Toolkit: A Toolkit for Quality Control of Next Generation Sequencing Data. PLoS ONE, 7(2): e30619. doi:10.1371/journal.pone.0030619.
- Ravi M., Marimuthu M.P.A. ve Siddiqi I., 2008. Gamete Formation without Meiosis in *Arabidopsis*. *Nature*, 451: 1121-1124.
- Scheres B., 2007. Stem-Cell Niches: Nursery Rhymes Across Kingdoms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8: 345-354.
- Schranz M.E., Dobes C., Koch M.A. ve Mitchell-Olds T., 2005. Sexual Reproduction, Hybridization, Apomixis, and Polyploidization in the Genus *Boechera* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 92(11): 1797-1810.
- Scott R.J., Spielman M., Bailey J. ve Dickinson H.G., 1998. Parent-of-origin Effects on Seed Development in *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 125: 3329-3341.
- Sharbel T.F., Voigt M-L., Corral J.M., Thiel T., Varshney A., Kumlehn J., Vogel H. ve Rotter B., 2009. Molecular Signatures of Apomictic and Sexual Ovules in the *Boechera holboellii* Complex. *The Plant Journal*, 58: 870-882.
- Sharbel T.F., Voigt M-L., Corral J.M., Galla G., Kumlehn J., Klukas C., Schreiber F., Vogel H. ve Rotter B., 2010. Apomictic and Sexual Ovules of *Boechera* Display Heterochronic Global Gene Expression Patterns. *American Society of Plant Biologists*, 22(3): 655-671.

- Sokolov V.A., 2006. Imprinting in Plants. *Russian Journal of Genetics*, 42(9): 1043-1052.
- Spielman M., Vinkenoog R. ve Scott R.J., 2003. Genetic Mechanisms of Apomixis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 358: 1095-1103.
- Surani M. A., 2001. Reprogramming of Genome Function Through Epigenetic Inheritance. *Nature*, 414: 122-128.
- Taşkın K.M., Turgut K. ve Scott R.J., 2009. Apomeiotic Pollen Mother Cell Development in the Apomictic *Boechera* Species. *Biologia Plantarum*, 53(3): 468-474.
- Tiwari S., Schulz R., Ikeda Y., Dytham L., Bravo J., Mathers L., Spielman M., Guzman P., Oakey R.J., Kinoshita T. ve Scott R.J., 2008. MATERNALLY EXPRESSED PAB C-TERMINAL, a Novel Imprinted Gene in *Arabidopsis*, Encodes the Conserved C-Terminal Domain of Polyadenylate Binding Proteins. *The Plant Cell*, 20: 2387-2398.
- Villar C.B.R., Erilova A., Mkarevich G., Trösch R. Ve Köhler C., 2009. Control of *PHERES1* Imprinting in *Arabidopsis* by Direct Tandem Repeats. *Molecular Plant*, 2(4): 654-660.
- Vinkenoog R. ve Scott R.J., 2001. Autonomous Endosperm Development in Flowering Plants: How to Overcome the Imprinting Problem?. *Sexual Plant Reproduction*, 14: 189-194.
- Vinkenoog R., Spielman M., Adams S., Dickinson H.G. ve Scott R.J., 2002. Genomic Imprinting in Plants. *Methods in Molecular Biology*, 181:327-370.
- Walia H., Josefsson C., Dilkes B., Kirkbride R., Harada J. ve Comai L., 2009. Dosage-Dependent Deregulation of an AGAMOUS-LIKE Gene Cluster Contributes to Interspecific Incompatibility. *Current Biology*, 19(13): 1128-1132.
- Ward A., 2002. Genomic Imprinting: Methods and Protocols. *Humana Press*, Totowa. 181: 327-330.
- Weinhofer I., Hehenberger E., Roszak P. Hennig L. ve Köhler C., 2010. H3K27me3 Profiling of the Endosperm Implies Exclusion of Polycomb Group Protein Targeting by DNA Methylation. *PLoS Genetics*, 6(10): e1001152.
- Wilkins J.F. ve Haig D., 2003. What Good Is Genomic Imprinting: The Function of Parent-Specific Gene Expression. *Nature*, 4: 1-10.

- Windsor J. A., Schranz M. E., Formanova N., Gebauer-Jung S., Bishop J. G., Schnabelrauch D., Kroymann J. ve Mitchell-Olds T., 2006. Partial Shotgun Sequencing of the *Boechea stricta* Genome Reveals Extensive Microsynteny and Promoter Conservation with *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 140: 1169-1182.
- Winkler H., 1908. Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. *Prog. Rei. Bot*, 2: 293–454.
- Makarevich G., Villar C. B. R., Erilova A. ve Köhler c., 2008. Mechanism of *PHERES1* Imprinting in *Arabidopsis*. *Journal of Cell Science*, 121: 906-912.
- Wolff P., Weinhofer I., Seguin J., Roszak P., Beisel C., Donoghue M.T.A., Spillane C., Nordborg M., Rehmsmeier M. ve Köhler C., 2011. High-Resolution Analysis of Parent-of-Origin Allelic Expression in the *Arabidopsis* Endosperm. *PLoS Genet* 7(6): e1002126. doi:10.1371/journal.pgen.1002126
- Wollmann H. ve Berger F., 2012. Epigenetic Reprogramming During Plant Reproduction and Seed Development. *Current Opinion in Plant Biology*, 15: 63-69.
- Woo H.R., Pontes O., Pikaard C.S. ve Richards E. J., 2007. VIM1, A Methylcytosine-Binding Protein Required for Centromeric Heterochromatinization. *Genes & Development*, 21(3): 267-77.
- Woo H.R., Dittmer T.A. ve Richards E.J., 2008. Three SRA-Domain Methylcytosine-Binding Proteins Cooperate to Maintain Global CpG Methylation and Epigenetic Silencing in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, 4(8): e1000156. doi:10.1371/journal.pgen.1000156
- Zhang M., Zhao H., Xie S., Chen J., Xu Y., Wang K., Zhao H., Guan H., Hu X., Jiao Y., Song W. ve Lai J., 2011. Extensive, Clustered Parental Imprinting of Protein-Coding and Noncoding RNAs in Developing Maize Endosperm. *PNAS*, 108(50): 20042-20047.

www.arabidopsis.org

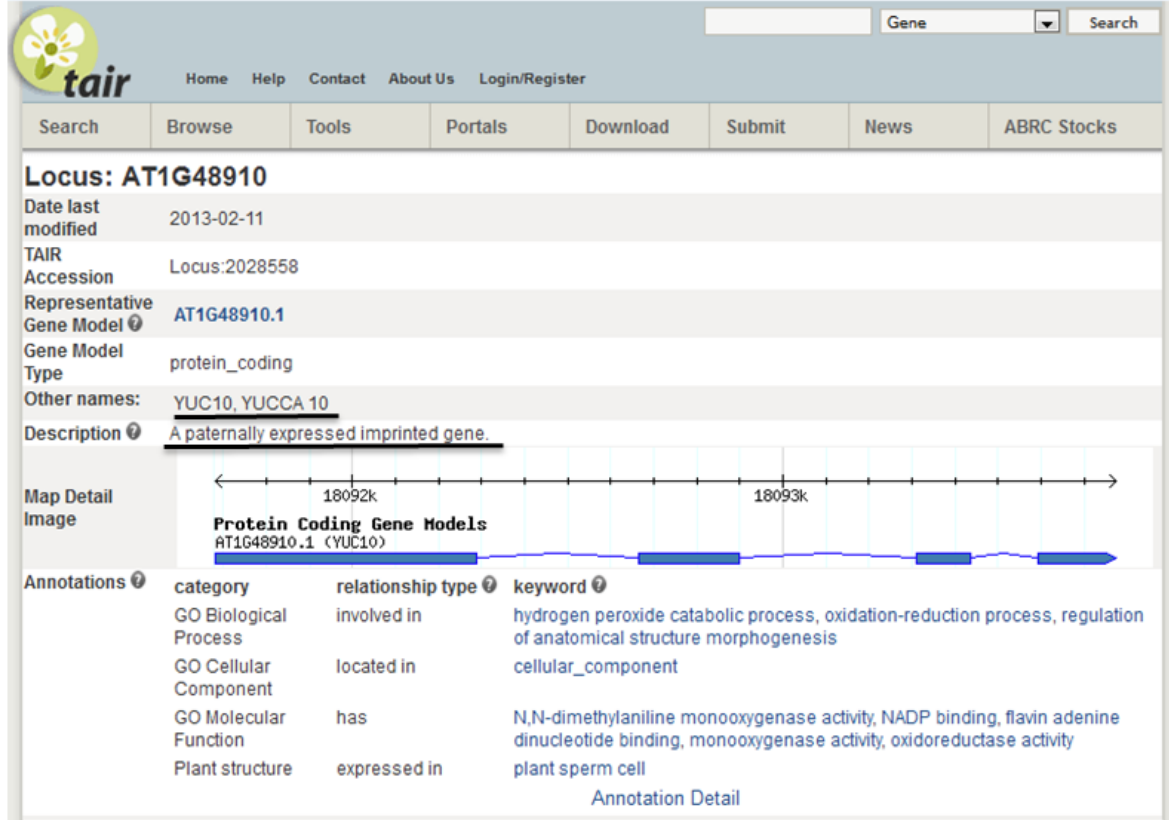
www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/

www.ncbi.nlm.nih.gov/

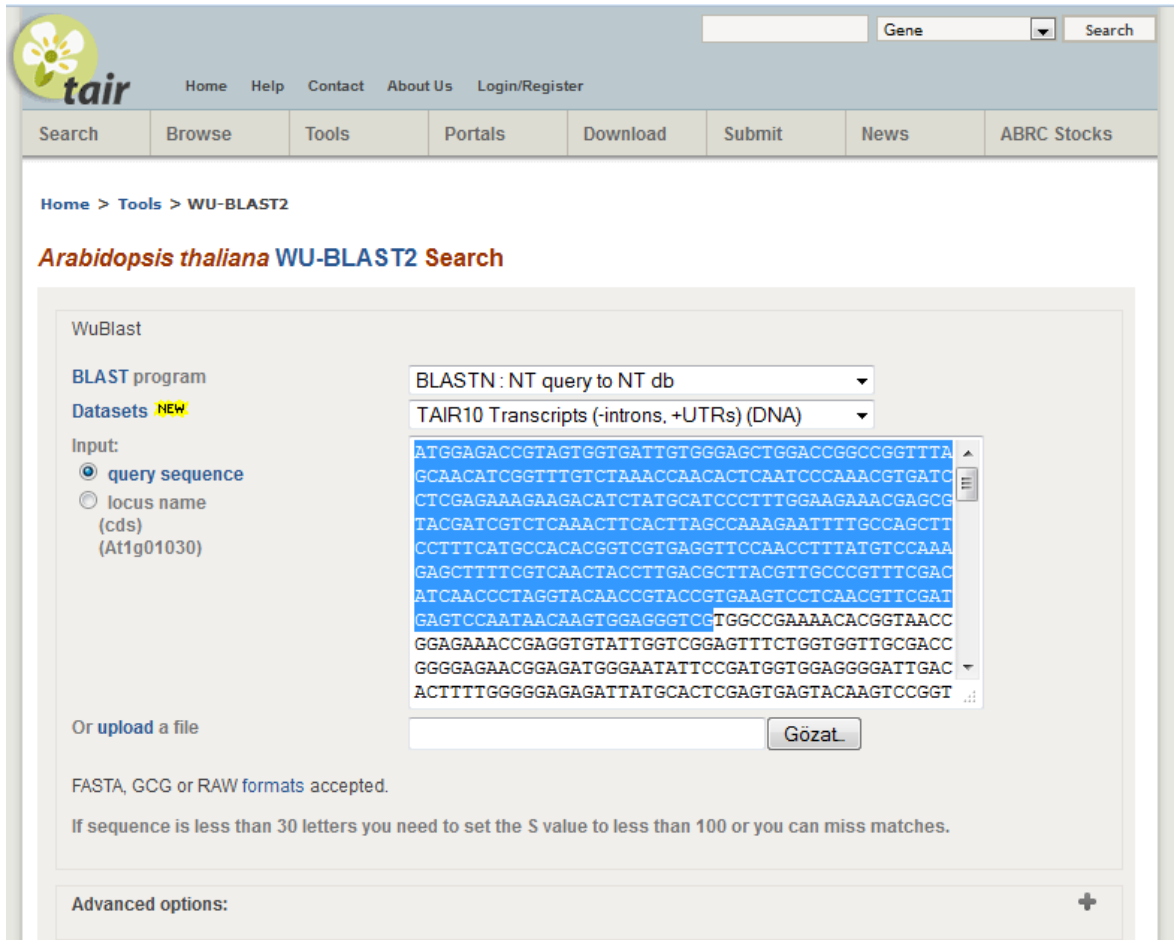
EKLER

Ek 1. *A. thaliana* türünde etiketlemeye uğradığı bilinen bazı PEG'lerin Seksüel ve Apomikt *Boechera* Türlerinde Varlıklarının Belirlenmesi ile İlgili İzlenen Metot

Ek 1.1 İlgili Genlere Ait Genomik dizilerin *A. thaliana* Veritabanlarından Eldesi-a



Ek 1.2 İlgili Genlere Ait Genomik dizilerin *A. thaliana* Veritabanlarından Eldesi-b



Home > Tools > WU-BLAST2

Arabidopsis thaliana WU-BLAST2 Search

WuBlast

BLAST program: BLASTN: NT query to NT db

Datasets **NEW**: TAIR10 Transcripts (-introns, +UTRs) (DNA)

Input:

☒ query sequence

☐ locus name (cds) (At1g01030)

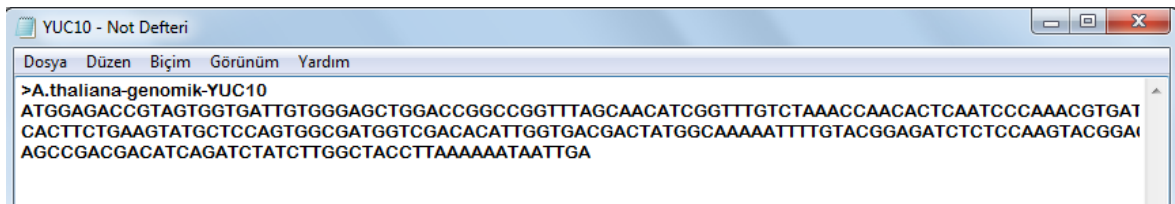
Or **upload** a file

FASTA, GCG or RAW formats accepted.

If sequence is less than 30 letters you need to set the S value to less than 100 or you can miss matches.

Advanced options: +

Ek 1.3 Elde Edilen *A. thaliana* Dizilerinin FASTA Formatına Çevrilmesi



YUC10 - Not Defteri

Dosya Düzen Biçim Görünüm Yardım

>A.thaliana-genomik-YUC10
ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGGACCGGCCGGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAAACCAACACTCAATCCCAAACGTGAT
CACTTCTGAAGTATGCTCCAGTGGCGATGGTCGACACATTGGTGACGACTATGGCAAAATTTGTACGGAGATCTCTCCAAGTACGGA
AGCCGACGACATCAGATCTATCTTGGCTACCTAAAAAATAATTGA

Ek 1.4 FASTA Formatındaki *A. thaliana* Dizilerinin SRA BLAST Programı ile Seksüel ve Apomikt *Boechera* Türleri Veritabanında Araştırılması-a

BLAST® Basic Local Alignment Search Tool

Home Recent Results Saved Strategies Help

My NCBI Hide list (Logout)

NCBI BLAST/blast suite

Sequence Read Archive Nucleotide BLAST

Status of the NCBI Sequence Read Archive (SRA)

BLASTN programs search SRA databases using a nucleotide query.

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gis(s), or FASTA sequence(s)

Clear Query subrange

From To

Or, upload file

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Choose Search Set

Database

Transcript WGS

SRA Boechera (2 entries)

Strains

SRA Boechera kolobaria

SRA Boechera stricta

Program Selection

Optimize for

Highly similar sequences (megablast)

More dissimilar sequences (discontiguous megablast)

Somewhat similar sequences (blastn)

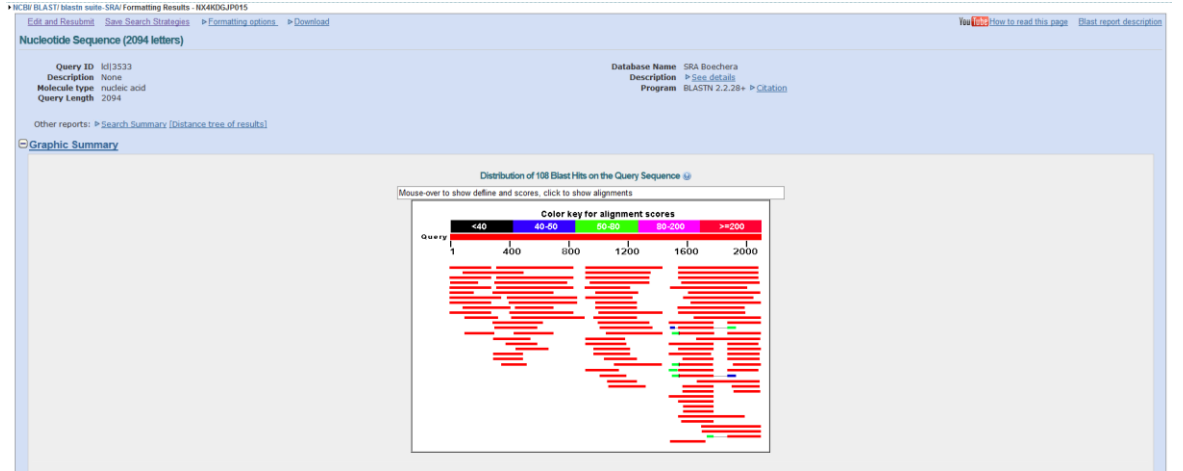
Choose a BLAST algorithm

BLAST

Search database SRA Boechera (2 entries) using Blastn (Optimize for somewhat similar sequences)

Show results in a new window

Ek 1.5 FASTA Formatındaki *A. thaliana* Dizilerinin SRA BLAST Programı ile Seksüel ve Apomikt *Boechera* Türleri Veritabanında Araştırılması-b



Ek 1.6 E-value Değeri Sıfır veya Sıfıra Yakın Olan SRA Dizilerinin Seçilmesi

Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: **All** **None** Selected: 0

Alignments Download Graphics Distance tree of results

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
☐	GF2NLF401D7FTZ	616	616	24%	3e-173	85%	SRA_SRR090303.51743.2
☐	GKJVP5101BSK3Z	600	600	19%	2e-168	93%	SRA_SRR090304.292552.2
☐	GF2NLF401C771P	596	596	24%	2e-167	85%	SRA_SRR090303.367291.2
☐	GKZ33A001BQKFG	587	587	23%	1e-164	87%	SRA_SRR090305.437708.2
☐	GF2NLF401C8CFL	571	571	24%	1e-159	84%	SRA_SRR090303.172651.2
☐	GF2NLF401EML09	544	544	19%	1e-151	91%	SRA_SRR090303.76820.2
☐	GD2W50101BH5HD	518	518	16%	5e-144	93%	SRA_SRR090302.323954.2
☐	GF2NLF402G10Q3	511	511	22%	8e-142	83%	SRA_SRR090303.783622.2
☐	GF2NLF401A20GR	499	499	21%	5e-138	83%	SRA_SRR090303.33292.2
☐	GFKJOLE1C8AQ8	473	473	15%	2e-130	92%	SRA_SRR090310.381437.2
☐	GF2NLF401EB1Q8	470	470	24%	2e-129	81%	SRA_SRR090303.426324.2
☐	GF2NLF402IRPYR	468	468	20%	9e-129	85%	SRA_SRR090303.1067541.2
☐	GKJVP5101EHU0	462	462	20%	4e-127	83%	SRA_SRR090304.132413.2
☐	GF2NLF402GA1R1	462	462	23%	4e-127	70%	SRA_SRR090303.122846.2

Ek 1.7 Seçilen SRA Dizilerinin Kalite Skorları ile Birlikte Kaydedilmesi

< 1 5175 142009 >

View: ☒ reads [\(customize\)](#) ☒ intensity graph ☐ signals

Reads (separated)

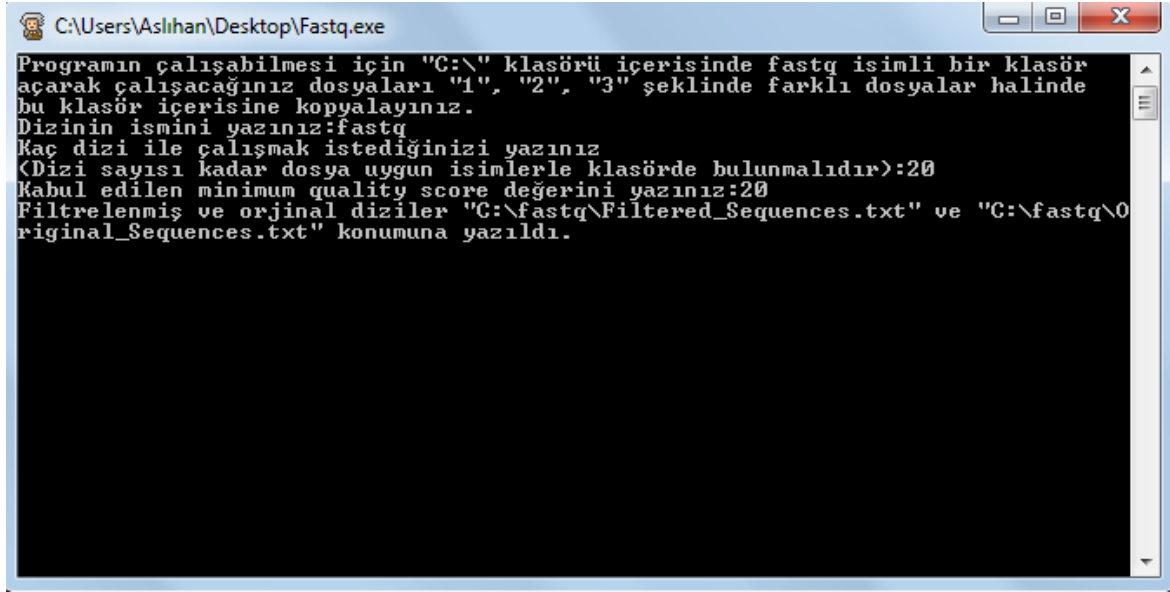
>gml|SRA|SRR090303.51743.2 GF2NLF401D7FTZ *F (Biological)*

ATTTTACAAGCCAGCCATTATCAAAATCTCATATGATATTTTGGATCTCAATAATCAAA
ACGAGGTTTGTCCATGAATTGACCAAGAGATCAACTATCGTTAAGGGACGTATTAGTAA
TTTAAACTCGAAAAAATCTATACCACAATCACACATGCAAGACAGGTGTGCATCTTTA
ACTTTTCATGCATACAAATAAATAAAGAGACAAAATCAACATTAAATACATATCGGAG
TTCTAATGAGAACCGTCGTATTAGCTCCGAAAGTTGCAAGATCAAAATCAATCTCCATAC
CGGAATTTCTCTCCGACCACAAGAACATTTTACCTTAAATCACGACCGGACTTGTAT
CTCACTCGAGTGCACAATCTCTCCGGGAAAGTGTCAATCCCTTTCACCATCGGAATATT
CCCATCTCCGTCTCCCCGGTCGCAACCAACAGAAATCCGACCAATACACCTCGGTATC
TCCGGTCACCGTGTTTTCCGCCTCGACCTCCACTTGTATTGGACTCATTGAACCTGAGA
CTGCCAAGGCACACG

One channel quality score

A:40 T:33 T:33 T:31 T:31 A:39 C:40 A:40 A:40 G:40 C:40 C:40 A:40 A:40 G:40 C:40
C:40 A:40 T:40 T:40 A:40 T:40 C:40 A:34 A:34 A:34 A:34 T:40 C:40 T:40 C:40 A:40
T:40 A:40 T:40 G:40 A:40 T:40 A:40 T:31 T:31 T:31 T:31 G:40 G:40 A:40 T:40 C:40
T:40 C:40 A:40 A:40 T:40 A:40 A:40 T:40 C:40 A:34 A:34 A:34 A:34 C:40 G:40 A:40
G:39 G:39 T:26 T:26 T:26 T:26 G:39 T:37 C:40 C:40 A:40 T:40 G:40 A:40 T:40
T:40 G:40 A:40 C:40 C:40 A:40 A:40 G:40 A:40 G:40 A:40 T:40 C:40 A:40 C:40
T:40 A:40 T:40 C:40 G:40 T:39 T:39 A:39 A:39 G:39 G:39 G:39 A:40 C:40 G:40 T:40
A:40 T:40 T:40 A:40 G:40 T:40 A:40 A:40 T:34 T:34 T:34 T:34 A:39 A:36 A:33 C:40
T:26 C:36 G:33 A:16 A:16 A:16 A:16 A:16 A:16 T:36 C:36 T:40 A:40 T:40 A:40
C:40 C:40 A:40 C:40 A:40 A:40 T:40 C:40 A:40 C:40 A:40 C:40 A:40 T:40 G:40 C:40
A:40 A:40 G:40 A:40 C:40 A:40 G:39 G:39 T:39 G:40 T:40 G:40 C:40 A:40 T:40 C:40
T:34 T:34 T:34 A:34 A:30 C:30 T:19 T:19 T:19 C:35 A:40 T:40 G:40 C:40 A:40 T:40
A:40 C:40 A:39 A:39 A:39 T:40 A:39 A:39 A:39 T:40 A:40 A:40 T:40 T:40 A:40 A:40
G:40 A:40 G:40 A:40 C:39 A:26 A:26 A:26 A:26 T:39 C:40 A:40 A:40 C:40 A:40 T:40
T:40 A:40 A:40 T:40 T:40 A:40 C:40 A:40 T:40 A:40 C:40 T:40 G:40 A:39 G:35
T:34 T:34 C:40 T:35 A:34 A:34 T:40 G:40 A:40 G:40 A:40 C:40 C:40 G:40 T:40
C:40 G:40 T:40 A:40 T:40 T:40 A:40 G:40 C:40 T:40 C:40 G:40 A:40 A:40 G:40
T:40 T:40 G:40 C:40 A:39 A:39 A:39 G:40 A:40 T:40 C:40 A:32 A:33 A:33 A:33 C:40

Ek 1.8 Kalite Skoru 20'den Düşük Olan Bazların Fastq Programı ile Filtrelenmesi



```
C:\Users\Aslıhan\Desktop\Fastq.exe

Programın çalışabilmesi için "C:\\" klasörü içerisinde fastq isimli bir klasör
açarak çalışacağınız dosyaları "1", "2", "3" şeklinde farklı dosyalar halinde
bu klasör içerisine kopyalayınız.
Dizinin ismini yazınız:fastq
Kaç dizi ile çalışmak istediğinizi yazınız
<Dizi sayısı kadar dosya uygun isimlerle klasörde bulunmalıdır>:20
Kabul edilen minimum quality score değerini yazınız:20
Filtrelenmiş ve orjinal diziler "C:\fastq\Filtered_Sequences.txt" ve "C:\fastq\O
riginal_Sequences.txt" konumuna yazıldı.
```

Ek 1.9 Orijinal ve Filtrelenmiş SRA Dizilerinin Kaydedilmesi

>fastq_1 Original

```
ATTTTACAAGCCAAGCCATTATCAAAATCTCATATGATATTTGGATCTCAATAATCAAAACGAGGTTTTGTCCA
TGAATTGACCAAGAGATCAACTATCGTTAAGGGACGTATTAGTAATTTTAAACTCGAAAAAATCTATACCACA
ATCACACATGCAAGACAGGTGTGCATCTTTAACTTTTCATGCATACAAATAAATAATTAAGAGACAAAATCAACA
TTAATTACATACTGGAGTTCTAATGAGAACCCTCGTATTAGCTCCGAAGTTGCAAAGATCAAACTAATCTCCA
TACCGGAATTTCTCCTCCGACCACAAGAACATTTTACCTTAAATCACGACCGGACTTGTACTCACTCGAGTG
CACAATCTCTCCGGGGAAAGTGTCAATCCCTTTCACCATCGGAATATTCCCATCTCCGTTCTCCCCGGTCGCAAC
CACCAGAACTCCGACCAATACACCTCGGTATCTCCGGTCACCGTGTTTTCCGCCTCGACCCTCCACTTGTTATT
GGACTCATTGAACTGAGACTGCCAAGGCACACG
```

>fastq_1 Filtered

```
ATTTTACAAGCCAAGCCATTATCAAAATCTCATATGATATTTGGATCTCAATAATCAAAACGAGGTTTTGTCCA
TGAATTGACCAAGAGATCAACTATCGTTAAGGGACGTATTAGTAATTTTAAACTCGNNNNNNNTCTATACCAC
AATCACACATGCAAGACAGGTGTGCATCTTTAACNNNCATGCATACAAATAAATAATTAAGAGACAAAATCAA
CATTAAATTACATACTGGAGTTCTAATGAGAACCCTCGTATTAGCTCCGAAGTTGCAAAGATCAAACTAATCTC
CATACCGGAATTTCTCCTCCGACCACAAGAACAANNNNNACCNNAAAATCACGACCGGACTTGTACTCACTCG
AGTGACAATCTCTNNNNNNNNNNNNGTCAATNNNTTTCACCATCGGAATATTCCCATCTCCGTTCTCCCCGGT
CGCAACCACCAGAACTCCGACCAATACACCTCGGTATCTCCGGTCACCGTGTTTTCCGCCTCGANNNTCCACT
TGTTATTGGACTCATTGAACTGAGACTGCCAAGGCACACG
```

Ek 1.10 Filtrelenen SRA Dizilerinin BioEdit Programı ile Birleştirilmesi



ATGATATGAATTCGAACTAGAATATGAGTTTGGATCCAAATCAGTATCCGTTACAACAAGGATC
 ATTCGTNAANCTGTNNGTTNNNNNNNAGANCNTNNACANATNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNATNGNCANCNNCNTCNACNACNACCNACCATTGNNNNTGNTNN
 NNCTNNTNACATNNNTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNCCNNNGNNNNNNNNNNNNNNNCTCNTN
 ANNNNNNNNNNNNNNNNGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGATACAGCTANGNNNACTGNNNNNNN
 TNNNATNNNTNTGNANNNNNNTCAGCATNANNCNNNGNNNANNNNTCTGNNNCNGCNTGNNN
 TNNNNANCANNTNNTNCNNNNNNNNNNNNNANGNATNNNANNCANNATCAGCAAGAGCCNNT
 TCAATACCATACTCCCATNANTTTTAATGATNAGATTNACATNGAATCTATGATATGAATTCG
 AACNAGAATATGAGTTTGGATCCAAATCAGTATCCGTTACAACGANGANNATTNNTGAATNT
 GTTGGTGGAACATCCTCAACNNNTAGGTTNNGTTGGAGAGCATGCACATATTCCTCCTTTNATG
 GANGGCAACNNCTACAANTGGTCACATGCCNNNNNNNANNNNNANNNCNNNNNNCNNNTNTNT
 ATGCTCTNNNATNNGT

Ek 2.3 AT2G21930 *B. holboellii* Genomik Dizisi

CAGAGACCGGAGAAGAAGATCCCCGATGATCTAAGTAAAAGCGGAGGGAACCTCAGATCCGATT
 CCGCTAGATCTCATCCCGGAGATACTCAAAGCATCGCTATTAAAACCCTAGCGAGGTTACTAT
 GCGTATCAAACTAAATGCATCCATCATTCGCAACCGAGATTTTGTGAAATCGTACTTGATCAA
 ATCTTCGACGCGTCAAATTGATCAAATCTTCGACTCGTCCTTTGACGCGTAAGTCTCTCATGGGA
 TGGTTTNGTTCAACTNGGTGMTTCTCCTNTTCTTNGAAAACAAAGAAGCAAANNANGGTTTNN
 NGAAATGGGAANNNTANNNNNNTGANCTNNNNNAGCCGTACACAACTGTTGCTCCATCTGTTC
 ATGGTTTNAATTTGTTATGGACCTCCTTATAAACTCATGGTATATAACCCTAGCACAAAGACGATCC
 ATGNTACTTTGNCTNNGATTGATTCTCATAGTTAGATATGTACCATTACTTGGGTTATGATCCG
 ATCAATGAGGATTACAAAGTCTTGTGTATGACGAAAGGAATGAAAGATCTTAGTGACACAGT
 NTNAGCTCAAGAGCTTAGGGTTTTGACATTGGGGAANTGGGAATTCGTGGANNATGATTCAAG
 ATTGTCCTCCTCACTCTCCTGAGTCTCATGATATATGTATCAATGGTGTGTATACTATGAAGTG
 TTTCTTGAAACATANCCNNNNNNNCAGAACAAAGCATCAAGCAGTCGNNANNTNNGANNNTNNN
 NNNNNNNNNNNNNNTNNACNNNAANNNNNNNNGTCTGNNNTGCAACNNNANNNNNNNATATNCCT
 GNNGGTTNNNNNNNANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTGCTTTAGATCTCTGGATAACTGA
 GTGTTATTTTCAAACCTTTTGCCTCACTGATGCAGGTGAGTTTGTGTTTGGGACCAGAACTTTGA
 GTGTACCACCATTTTATGTTCTCTATTATGATNNCAAGAAATACATTGTGAGAAAAGTCTACGT
 AGAAGGAATCACAGAACGTTGGGATAATGGAATAATNCTCTATCTTCTCTAGTCAGGTTGANNA
 TCTCATGTTACTCTAAAGAGTGATGGCTCGTTAGTCTGTAGGACGGGTTTCATGATCATCTCCAC
 TGAAATGTTTGTCTTACGGTTGTA

Ek 2.4 AT2G21930 *B. stricta* Genomik Dizisi

CAGAGAGCAAAGAAGAAGATCTCCGATGATCTGATANCATGCAGAGGAACTCAGTTCNGATT
CCACTTGATCTCATCCCAGAGATACTCAAACGCTTACCGGTCAAACCCCTAGCGAGGTTCTCT
GCGTATCGAAGCTCTGGTCATCAATCATCCGCCGCAGAGATTCATNAAATTGTTCTCACCGA
GACGAAACCGGAANGTCTCTTNTTCAGCTTCACGCGTGACGAAGATTNNNNNNNTNNCTNGTNG
NTNCAGACNNAATCCANNTNAAGNNNTGTAGNTANNNNCNNNATNNNANNNNCNTCNNN
TAAANTCACAGTNAATNCNTNCTNTNTTNANNGTATNNTTNNNTNTGGATACTGCTTCTGCTTCT
TNACTTGTGNTNTACNNNNNNATNNNTNNNGNTNNNNNATATNNNCGGGTTNTGNTNNCCAA
ANNNNTNTAACCAGAAATACAGAATACTCTCTGCATCCCATCNANNGNGNCNTNNANCTATT
CAG

Ek 2.5 AT2G36560 *B. holboellii* Genomik Dizisi

TNNNNNNNNNNNNCTCNTNNTCTCTCNNATNNNNNTCNNNNNCAGTCTCTATCATGGNNNNN
NNCGAGAGCACCATTTCTTGTCAGTCTCGAACTCAAGGCCCATCTCTCCCTCTCCGGTCAGGG
AGACTGCCGTAACGGCACCAGTCACGGTGGAGGAGGGTATCAACGACACGACGGGGAAGAGA
GGGAGGCCTAGGATATACGGGCGCGATGCAAGAGGGAAGTTCATCAGTAAATCTGGGACACAA
ACGAAGAGGTCGTTGACGAACAGTAGAGGTAAAGCTTTGGGCTCTTACAATAAAACTACAAAA
TTGTAACGATAAACTATATGAGTTTCGTTAGTGGGGAGGGGACAAAATTAATCTGCTATATGCC
TTGTGCTAGGAAAAATAATAACGATTGGAGAATATGAATCTAGGGTACGTTTCGATCAAATGGA
AATTACTTGGAATATCCCTTTTAGTCTTTTGTAGGTCTTCGGGAAATTCGTCACTTCTATTATA
TATTGTGTAATTTGTAGGGAAATTAATTGAAGGAAACATAACATGTCAACNNNNNNNTATNNNAT
NTATANNGNNNNNTNNNNNCNNTAGAGACAGTGTGAGTTCAGATACATNNNNNNNNNTGTNTG
NNNTGNNTNNNACTNTNNGAGGAGTCTACTTCACGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNTAATAACANTTCNCTTCAANTTCTCCACAACATAGTTAGTATATATATANA
NNNTNNNNNNNCGTNNNNNNNATNNNGNNNTTCNNNNNNNNCANNNTAACTCGNNNTNN
NNNNACTCGAGNNNTNATGANTTGGANCTATGGNNNNNNGATTCTTNNNNNNNNNAGANNN
NNTNAGCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTTAGNNNANNAANNNTATGAGCTAATNNNNNTGA
ANCNTGANNANANNTNNNNANTANANNNNNTNTATATNNNNANNTNGNNANTTTNGTTNTT
ANANCATNTNANNNTNNCANNAGAATAGNNNNNAGCTTCNATTTAGATGATAATTGCATTG
ACAACTATTNNTTNNNNNNNNCNTNNTNTATATTTGACTCTTAAACTTTCTTTTNGATANNTNT
TNNTNANTGGNNNACTNNNATNNANTANNTNNGTTANNACAAATGTTTAATATTAATTGGCGA
ACTAACTCTTTTGAACCTACGATTTGAATGATATGAGTTCAGATTGATAAAATATAAGCTCATAT
AATAAATGAGTTGAACTAAAATGAGTTATCAACCTGGGCACGGTGAAGCACAACCAAGGGGT
ACTACCATCAACGCTAAGTCATTCTAGTTCATTATTAAGTTGAGCGGAATGGAGTGAATTAGCT
CACTTTAACACCCCTCCTAGTTTTCTAAATATGGAAGGACCTAACAGAGGGATGAACAATGGAC
TTACGGTCACAGCNNNNNNNNNTTGCTTCGAGAGCTTTGGNNNNNGCATATCATATATGTGTTG
AAGATGGGANGNNNTNNNNATCTTTTATNNTNNNTNNACAGGTNNATAATNAAAANGNNTNA
TGTCTTTCACGGAATGGTTCTCGNCGGGATCAGTGTTTTATCAGCAAATGGTGCTGTTGCTA
ACGTCAAGATTCTANACCGCTNCGGTATANNNGCCAAGTCGTGANCGTTTAAGGTATANNTA

TATGATGAACTCGGTCTTGCAGTCCAGTCTTGAATCTTATAACTTAATTGTTCTGGTTGGAAGG
 ATGCTTTAGAAAAATTGGTCTAGATGTAGATTAATAAATTGTCTTAACCTGAATGTTGGTGTTC
 AAATGTAAACCATCCATTTGGATACGTTATGATAACAATTTGGTGTAGGAGGCGTATGAGATAT
 TATCGCTGAGCAGTTCAATGACGACATCTGAGAGCGGAGGAGTGAACATTAAGACGGGAGGGT
 GGCGGATTACGATTGGTGGAGCTGGTGGAGGTATCTTTGGTGGTGCTTTAGCCGGTAGACTCAT
 TGCAGCAAGTCCAGTCCAAGTAAGAACAAAATACATCTTCTTTATTTGTGGTTCAATGTTTGAA
 ACTATCTTATGATTCATTTTTACAGGATTGTGATTGGAAGTTTCTTGCCTTTGGTCACAAATACG
 CCTCAGAAGAGGAACAATGAGTCCAAAACCTGTGGTTGTGCGACTCCCAATGCCAAACTCATTGG
 CTTCCTCATCCACAGGACAAGTCCAACAACCAGACATGATAGGCCCTTCTCAATCTCAGAAGAG
 GAACGATGAGTCCAAAGCTGTGATTGTTCCACCCACAATACCAAGCGCACTGGCTTCCTCANN
 ACCGGANNNNNNNNNCNCNNCACATGATAGANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTATCTTATGANNANNTNNAAGATTGTGATTGGAAGTTTC
 TTGCCTNNNGGTCNCAAATANGCCTCAGAAGAGGAACAATGAGTCCNNNNCTGTGGTTGTGCG
 ACTCCCAATGCCAAACTCATTGGCTTCCTCATCCACAGGACAAGTCCAACAACCAGACATGATA
 GGCCCTTCTCAATCTCAGAAGAGGAACGATGAGTCCAAAGCTGTGATTGTTCCACCCACAATAC
 CAAGCGCACTGGCTTCCTCATCCACCGGAGAAGTCCAACAACCACACATGATAGACCCTTCTCA
 AACTCATAAGAGGAATGATGAGTCCCAAGCTGTGGTTGTTCCGCCACAATACCATGCACATTG
 GCTTCCTCATCCACAGGACAAGTTCAATAACCAGAAATGACAAGCCCTTCTCCCTTTCTGACTCT
 AGGGTGGTATGGCTCGGAACCGGAACCTTAAGGAGTAAGCTCATCAGAAACNTTTTAACATTGG
 ACTAAGACTTTCAAGTTCATAAGNNGCNTANNNNNNTGAGGATC

Ek 2.6 AT2G36560 *B. stricta* Genomik Dizisi

TCTATCTCTATCTNNNNNCGAATTGNNNNNNANNNNCAGTNNNNATCATNNNNNNNNNNNGAG
 AGNNNCATTTNNNNNGTCAGTCTCGAACTCAAGGNNNNNNNTCCCTCTCCTGTCAGGGAGAC
 TGCCGTAGCGGCACCAGTCACNNTGGAGGAGGGNNNCAACGACACNNNCGGGGAAGANGAGG
 GAGGCCTAGGATATACGGGCGCGATGCAANAGGGAAGTTCATCAGTNNNNCTGGGACACAAAC
 GAAGAGGTCGTTGACGAACAGTAGAGGTNNNGCTNNNNNNNNCNNNNNNNNNNNNCTNNNNNN
 TGTAACGATAACTATATGAGTTTCGTTAGTNNNNNGGGGNCAAAATTAATCTGCTATATGCCTT
 GTGCTAGGNNNNNNNNNTAACGATTGGAGAATATGAATCTAGGGTACGTTTCGATCAAATGGAA
 ATTACTTGGANNTATCNNNNNNNGNCNNNNGTAGGTCTTCGGGAAATTCGTCACCTTCTATTAT
 ATATTGTGTAATTTGTAGGGAAATTAATTGAAGGAAACATAACATGTCAACTTTTTNTANATG
 AAATATATTTGTTATNANNACAATAGAGACAGTGTGAGTTCAGATACANGGGTTTGAATGTGTA
 TTGNTNTTGGATTGAAGGTGACATGTCTATGACTCNNNNNNNNNNNNNNCTTCACGCCGTATATC
 TTCACTATTAACNANNANANNTAAATATATAACTTATGCATACATATNNNNNNNNNNCNNNT
 GTTGTNNNNNNNNAANNNNNNNNNNTNTNNNNNNNNNNCTGTGAATTTAGATTTAGATTTTTAA
 TACTATCCTTTANCNNNGTTAATAACATTTCTCTTAAATTCTCCACAACATAGTTAGTATATAT
 ATANNTNNAANCTGCGTAAAAATGTATAACGNNNNNTNNNNNNNNNNNAACTNAACTCGGTTCA
 ACTCAAGTCTTTGATGAATTGGAACCTATGGTTTTANATNNNNNNNNNTACNNAGATTANNTAAGC
 AAATATATCTNAGTTAGTAAATTATATGAGCTAATNTNATNANNCNTGANTNNNTTNGGTNNGT
 ANANNNNNNNNTNNNATNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNACNANNTANNNNAANGNNNNNTNTN

NNNATNCAATATGTAGTATACAACCTTGTATATGATGAGGATGAACATTTTCGTTCTTAGATCAT
CTAAGACTTTTCAAATAGAATATATTTAGCTTCCATTTAGATGATAATTGCATTGACAACCTATTT
ATTTAGATTTTCTTTTGTATATTTGACTCTTAAAACCTTCTTTTGGATATATTTGTTAAGTTGTTTA
CTTTTATGGATTATTTTGTATTACAAATGTTTAATATTAATTGGCGAACTAACTCTTTTGAAC
TACGATTGAATGATATGAGTTCAGATTGATAAAATATAAGCTCATATAATAAATGAGTTGAAC
TNNNANAANNNNNNAGACATTCTAGTTCATTATTAAGTTGAGANNANNGNAGNNNNNTTAGCTC
ACTTTAACACCCCTNNNNGTNNNNNNNNNAANNNCCTAACAGAGNNNTGAANCANTGGACTT
NNNNTCACANATATGTGNTNNNNNNNGAGAGCTTTGGTCTTTGTATACATATATNNNTTNNACA
GGATATAANNNNNNNNNATNNTNNNNNNNNNCGGAAAATNNNNCTCGCGGGATCAGNNNNNNA
TCAGCAAATGGTGCTGTTGCTAACGTCAAGATTCAACCGCTCGGTATACCCCGCCAAGTCGTGA
CGTTTAGGGTATATATATGATGAACTCGGTCTTGCACTCCAGTCTTGAATCTTATAACTTAATT
GTTCTGGTTGGAAGGATGCTTTCGAAAAATTGGTCTAGATGTAGATTAATAAGTTGCTTAACTT
GAATGTTGGTGTTCAAAATGTAAACCATCCATTTGGATACGTTATGATAACAATTTGGTGTAG
GATGCGTATGAGATATTATCGCTGAGCAGTTCAATGACGATATCTGAGAGCGGAGGAGTGAAA
ATTAAGACGGGAGGGTGGCGGATTACGATTGGTGGAGCTGGTGGAGGTATCTTTGGTGGTGCTT
TAGCCGGTAGACTCATTGCAGCAAGTCCAGTCCAAGTAAGAACNNNNNNNNNTCTTCTTTATTTG
TGGTTCAGTATTGAACTATCATATGATTCATTTTTACAGGTTGTGATTGGAAGTTTCTGGCCTT
TGGTCACAAATACGCCTCAGAAGAGGAACAATGAGTCCAAAACCTGTGGTTGTTGCACTCCCAAT
GCCAACTCATTGGCTTCCTCATCCACAGGACAAGTCCAACAACCAGACATGATAGGCCCTTCT
CAATCTCAGAAGAGGAACGCTGAGTCCAAAGCTGTGATTGTTCCACCCACAATACCAAGCGCA
CTGGCTTCCTCATCCACCGGANNAGTCCAACAACCACACATGATANGACCCTTCTCANNNTCAG
AAGAGGAANGNTGAGTCCCAAGCTGTGGTTNNNNNNNNCACNNACAATANCAAGCGCATTGGCT
TCCTCATCCACAGGACAAGTTCAACANCNAGAAATGACANNCCCTTCTCCCTTTCTGACTCTAG
GGGGNNTNNNNNNNNNGAACNNNGGNNNTTAANNAGTNAGNTCANNNNNNNCTTTTNACA
TTGGACNNANACNTTNCAAGTTCA

Ek 2.7 AT5G63740 *B. holboellii* Genomik Dizisi

ATGGAGAATGATCAACAGAGACCATACTCGAGAGATGAAGTTAAGGAAGAGATGAAGAACT
AATCAGTGNNCATCTCCTACACNNNTGCNTACGAGAACTGAACCAACCCGTANTNNTCATG
NNNCNNGGATGGGACTTGATTCTGTGTTANNGNNNNNGNTGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGNNTNNTGANTNANNNNNATCNNNANNNNNNNNNNN
NTTNNNNNNNNNNNNNNNANNNNTNANNNNNNTNNTGNTGATGATGATGATGATGATG
ATGNTNNTGATNNTNNTGATNATGNNGNTGATGATGANGATGATGATGATGAGGTTGAGAGTG
AGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGATGAGGTTGAGGNTGAGGGTGAGGGTGANGGTGAAGTTNA
NGATGAANNNGATNNNGATNATCATTTATCTCCACNCCCTTTTGTCTCANAAGTTNTGNAA
AANNTGTTGGAGAGAGTATCTTNAGNNNNNNNTNTNNNNCTCTCTNGAGNGAAACCTAATTG
TAATCTCATNTNCTGATNAAGATTGTGGAGCTGCGATTAGATCAAAAANGATTGAGAAANTNA
GGCNTANNTNANCAAGAGATGTCCGAGAGTTATATTNTGANATCTTACNNTNNGANNANNNA
NNNNNNNNNNNGCACANGANTNCAATNNNN

Ek 2.8 AT5G63740 *B. stricta* Genomik Dizisi

ATGCATCTTGGATGGGACTTGATTCTGTATTATAGAGCCGTTGGCTGAAAAAANNGGAGGAATTA
TTGGCGGAATTAGGTTTGAAANNNGTTGTGATTGATTCTGAATCAAGATTTATCTGTACAATTTTG
TGGTATTTGTTCTAAGACTGAAGATGAATTTAATGTGTCTGATGATGATGAGGATGATGATGAT
AGTGATGATCGTGATGATGAGGATGATAATGATGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGTTGAGGTT
GAGGTTGAGGTTGGGGTTGAGGTTGAGGTTGAGGGTGAAGTTGAAGTTGAAGATCATCATTTCA
TCTCCACGCCCTTTTGTCTCACAAGTTTTCACAAAACCTTGTGGAGAGAGTATCTTGAGAAAAAT
TTCTACTCTCTGGAGGAAAACCTAACCGTAATCTCATGTCTGATCAAGATTGTGGAGCTGCGG
TTNNNNNNNNNNCATTGAAAAATTAGGAATAGATGATCAAGAGATGTATGAGAGTTATCTTT
TGAGATCTTACCTTGAGACGAAACAGCTTCATGCACAAGATTGCAATTAGGTCATTGACCAGTT
CTGAATTTACTCAAAAAGGAAAAGTTCTACTTTTATGAAATGCATTGTTCCANNTTTTTT

Ek 2.9 HDG3 *B. holboellii* Genomik Dizisi

CCGNNAAGCCTATTGCCTATAGATACTATCCAAGAGTTANNNNNNANNNNNNATCGACAACG
TAATATACCTAACATTCATTAACCTTCTCATTAAACNTNCAAATATATCTTAGATTTTCATNCCTT
NTTTCATTTGATTAAATTTATACCATTCAGNNNNNATGGTNNAGATATCGANGTTTATNCAAN
NCCGCTCTTGTGTATCTATCATATACATCAAATGATGAAATGAATTCCTATTTANNNNNNNNN
NNNNNACNNNNNNNNNGTTTATAGANNANNNNNNNNNNNNNNNCNCNNNNCGTTNGTAGNNAAG
AGTGAGACAAAGATGGAGAGACAGATCAAGCTAACAAAGGAACAATAAGCTTAAAAAGATTT
GATTCTTCTGAGTTTACACAGCCAAAACGTTAAAGGTATCGCTGGATTCTCCTCGTTATCCTTT
TCATTTTATGTTTATGTTCTTAATTATATATGTGTGACCAATTAAATACAACGATCATAGCENN
NTNNNNNNNNNNNNNNNN:NAANNNNNNACNNNNNNN:NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNANNNNNNNNNNNNNNN:TNTNCNTNTGATAN:N::NNNNN:ANN::NNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNTTNNNCNATACNNNTTT:NNTAANANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNAGTGGTAGAGCTTTNNNNNNNTACATATAAATCTATCTGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNGNNNNNNNTCNNNNNNNTT:TAANNNNANNNNNNN:GATCTACT:TATGGTCATTTTATTTGT
TTANNNCNNNTGA:ATCAACA:ATTCTNNTTNTCGTANNNTCTTCCNTCATTCCCTCCTTGTCTA
TAATGTAGATCTCTGTAAATCATGAAANN:NCGNANNNNNNNNNNNNTTACTGACAAAATCAAAC
TTCTAAAAACTGCGATCCATACTTTGACTCTTAAACTAGTTTCCGAGAGTTCATAATGTTGATAT
GCTGGTTAGGGCNNNNNNAGNNCANNANNNNGCNNNNNCNNNNGGGTAAATTNATGGTCTA
TATNNNTTTCATTTGNNNGTGTTAATTATTNGCTAATCTGCTGACTGGTGTGNNTNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNCENN
NNNTNNNNNNANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNTTAGTGAAAGAGANAGTGTATGTGTGACTGTATGTAAATACCNNNNNNNN
NNCNANCAATCTTAAGNNNNNNNNNNNNNNNGATTCTTGTACTGAAGAACAAGGAAAACATA
AAGAAACCNTTTCACAAACCCTAATTTCTAGATCAAATGAGTTCTTATCATTTTATATCCCTCT
AATATGACTTTAATTTGTAGTAACATNTTYNNNNNNNCAACTCTTAGATCTTCCAGAAATCG
AAAGAGCNNNNNTGTCCGAGCCAAACATGGTACCAGCGGATAACAATGGAGACAATGATAAA
AAAGAAAACAATAACATGAGCAACACTAATGGTGGAATTAACAACACNNAATGGTAGGAATTA
ACAACACNNNTGGTNNNGCTGATGTTGGAGCTGGTGTGAGCTGAAGAACTCGACAGTGCGA
ATACTTTAANGTGACAATCATGAAGAATCATTTGNNNNNNATCATGAAGAAGCATTNNNNNNC

AATCATGAAGAAGCATTGGGAGACAATGAAGATNCNNNTCGNNNNNNNNNNNGATNCAATCG
TCACAGCCAATTTTCAGATCCAGGAGATNNNNNNNGNAANNNNNNNNNNTCNNNNNNNNNNNTNNN
NCAACTTATATATAGATCAATNNTAAATTATATATAATCATTTTACAATATCTCTCTCTTTCTTN
CNNNNNNNNNGTGTGGAATAGTTTCTTCAGAGAGTGTCTCACCCAGATGACAAACNNNNNNNN
NGAACTTAGCCGTCAATTGGGTTTAGAGCCTATTCAGATCAAATTCTNNNNCCAGAACAAACGC
ACCCAAAACAAGGTATATATATAATAAAATTTGTTATCATCTCACACATATTATATTTAATGTATC
TATAGACATGACATGAGTTGTTAATTCATTATATATAACTGAAGATTGGTGATTCCGCATATATA
TGTTGAATTCGAAATCTAGNNNNAAGNNNNNNGGGTTATCTTATTTTCGTATGAGAATATTANN
CNNNNNNNNNNNTGTGAAACACAACGTGTAAACACATTAGAGGAAGTGTACATGTATTTGTA
TGGACGCAATTAACACATGTACATTTCTTCCTTTAGTAAAAATTCATTATTCATTTGAAAACCAA
ANNCTTCATTACTTTTGTTGCTTCATATCCAAAGATAATGACTTAGTTGGGTTTTTCATTTAATTT
GAAATATTATTAAGAACCTTTGNNNGTTTTGCAGAATCATCAAGAACGTTTTGAGAACACAGA
ACTTCGGACAGTGAACAACAAGCTCAGAGCTGAAAACCAACGGTACCGAGAAGCTATTCTTCA
AGCCTTATGCCCTAAGTGTGGAGGCCAACTGCAATTGGTGACATGTCCTTCGAAGAACATCAT
CTGCGCATCCNNNNNCGCTCGNGTTAAATGAAGAGGTAAGTATTATTTNNATAAAATATAGAT
GTTTAATGTAAATATTCATAACCTTTTCATTAAACACACTGACCATTACAATTAACATATAGCGAAC
CACATATNNNNNNNNNGTTATAATAAATGAANGCATACATATTACATTTTCGAAATTATTAACA
AGTTGTATTNCTNNNNNTNNNNNTTCTATAGATCAATCAATTATCCGCTCTGGCGGCAAGGTT
TACCAGAAAACCGGTAATGAGCTATCCTGTTATGTCTCCTCTATTAATCGTCCTCAACCTTTGG
AGTTCGGGGTGGGATCTATTGGAAGAGATTTGTATGGAAATGGCGGAAACCTCTCGAGGGGAAA
TCACTGGACCAGCAGATGCTGATAAGCCGATGATCATAGNNTTGNCANTTGGAGCNATACACA
GGGACGTNNNGNNNNNGGCTCNGGGCCTAGACTGAGCGGTTTAGANNTGAGGCATCCAGNN
NANCCGCGCTCGTGGCAATGAATCCTACTGGCATTGTTTCAGATGCTTATGAAAGAGGTATATTT
AAAATTAATAAATCAAATTATGATCCTAATTAATCCTTTTCATAAAATATAACATTATATTAGGTG
TTTAATTAATGATCTGTATTTCGAGAATCTGTGGTCAACAATGTTTNNNGGAATGATTGGTAGA
GCCATGACTCATGAACAAATATTGGCTGATGTTGCTGGAACTTCAATGGAGCTCTCCAAATCG
TAGTTCTTCTACTTTGCNNNNNANNNNATTTAATATGATCTAAAGAAGAGCTATAAAACAAAAC
TGACACCATATTTGATATAACATAACCAATGTTGTTCTTTATTCATAGATGAGTGCTGAGTACCA
AGTGCTTTCGCCGCTAGTCTCAACCCGCGAAAGCTACTTCGTCCGCTACTGTAAACAGCAAGAA
GATGGTTTGTGGGCGGTGGTCGATGTTTCCATCGACCATCTCCTTCCAAATATCCACCTTAAATG
TCGCCGCCGACCCTCTGGATGTTTGATTCAAGAAATTCCTAGTGGTTACTCCAAGGTATATATAT
AACTTATTGTCTCATTATGGTTATTTAGAGTATGGTTCATATATTAATGANTNNNNNNNGCTGGT
TTGNNNNNGGTTACATGGGTTGAACATGTGGAAGTAGATGACAGAGAAGGAGTTCACAACATA
TTTAAGCACTTAATCTGTACTGGTCAAGCTTTTGGTGCTAACCGCTGGGTTGCAACATTGGAACG
CCAGTGCGAGAGGATAGCTAGCATCATAGCTACAGATTTTGAATCCGTAGATTCTNNNTGATCAC
ATAAGTATTTATGACTCATTNNNAAAATTTNCATCAAAGNNNNGTNNNNNNNCNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNATTCTGNGNNNNNNNNNGACATGGTGCAGCGCTAACGAACCATGGAAGATGAGC
ATTCTNNNNNTTNAAGCTGAGCGGATCGCGAGAAGCTNCNNNGTTGGACTGACCAATTCGATGGG
GTCTACATTTTCTGGTGGTGCAGGGGATGATATCAGAGTGATGACAATGAAGAGCCTGAATGAT
CCAGGAAGGCCTCCCGGTGTCATTCTTTCTGCAGCCACTTCGTTTTGGGTTCTGTTCCTCTAA
GACTGTCTTTGACTTCCTCAGAGATGAGAATCATCGAACCAAGGTATACTTATTTAGGACAAGA
CTTCCTTTTTTCTATGACTTCCTTATATAACATGTTTTGAGATATGTATCTGCAGTGGGATGTTCT

CTGCACCGGAGGGACTGTGCAGAAGATATCAGAGATTGCAAATGGGAGAGACAGTAGGAACTG
TGCAACTTTACTCCGGGTAAAGAGCTAACTTGTGTTTTTGA AAAAATGCATTNNNNNNNAANCT
TTTGGTATGTGACCGATGNNNNNNNNGGNNACAGAATGCNAACAACTGCCAGAGCAAGATGAT
GATAGTTCAAGAGACCTCTACTGATCNNNCAGCTTCGNNNNNGATCTATGCGCCGGTTGATACG
GCATCAGTAGAGGCTGTTCTCAATGCAGGTGGTGATCCTGACTATGTNNCTCTCCTTCCTTCTGG
TTTTGCTATTCTTCCGGATNGGNATGGGTCAGCCTGGAGAAAACGGAGGAGGATCACTCCTGAC
CGTTGCCCTCCAGATGCTGGTTGAAACAGCTCCTTTGGGTAAGCTGAGTATTAGCTCTGTTGCAA
CCGTTGAGAATCTGATTCTGACAACCGTGCTGAGGATCAAAGCNNNGTTTCCTTCTCAAACGT
TTGNNNNNNNNNNNNNATTCGGTAATCTATTGAACCCATATCATAAACAACTTAAACTATCGA
ATACTTGCTACGCAATTAAGGTGCTCATGACGTTTTTGTCTTTTACAGGAAAGTAAGCT
AAATGGAAGATTAAATCAATGAAGAAAGAGAGAGAGTGTGTTTGAGTTGAAGATCGGCTTTTA
AAGTTAATTGGAGAGCTTCAAAGGGGAGGAGTCAAGAACGAACCTCAAAGAGATTGGTTTTT
ATGAGGTTCTGGGATTTGACTTCCCCTGAAATATACCCATTCAAGATNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNCNNNCTNNNNNATTCGNNNGNANNNNNNNNGNNNNNNNGTCTATTANNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNCNATTNNNGTTNNNNNGNNNNNNNGNCNNNNNNNNNNNACCNNNGNNATTTC

Ek 2.10 HDG3 *B. stricta* Genomik Dizisi

GTGAGACAAAGATGGAGAGACAGATCAAGCTAACAAAGGAACAATAAGCTTAAAAAGATTTG
ATTCTTTTGAGTTTACACAGCCAAAACGTTAAAAGGTATCGCTGGATTCTCTCGTTATCCTTTTC
ATTTTATGTTTATGTTCTTAATTATATATGTGTGCGACCAATTAAATACAACGATGATAGCAAAAT
AANNNGAAGAATTTAANNCATCACANGNTGGTCGGTAAATATACATATGATACCATGCTAANN
NNNNNNNNNNNNNNNNCTCTTCCTCTATACGAAATTTGATAATATTTCTGAAGNNNNAANNTAA
ATTTTCAGTGCTAGAGCTTTATTAAATACATATAAATCTATCTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGTCNNNNNNNN
NNNNNNNNNGGCNNNTGAATCCACAATTCNCNNNNCGNATTCTCTTCCTCATTCCCTCCTTGTC
TATAATGTAGATCTCTGTNNNTCATGGNNNNNCTNGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNCNNNNNTC
AAACNNNNNNNNNNNNNCGATCCATACNNNGACTCTTAANCTAGTTTCCGAGAGTTCATAATGT
TGATATGCTGGTTAGGGCTTTTNNNGTTCAATTNNNNNGCNNNNNNNNNNNNNNNNNAATTTGAT
GGTCTATATNNNNNNNCANNGTTTGTGTTAATTANNGCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGATTCTACTGGTCGGTCNNNGATTCC
GACNNNCANNTCAATTACTTTTNCNNNNNNNNNNNNNNNNCTGNNNCTCCTTTANNNATAAGATC
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGTAGATNAAAAGTNNNNNNNNCTTCGAAAAGCTAA
NNNNNNNNNNNNAATGAATTTAGTGAAAGAGAGAGTGTATGTGTGACTGTATGTNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGATTCTTGACTGAAGNNCN
NNNNNNNNNNNTNAAGNNNCCNNNNNNNNNNNNNNNCCNNNNNNNTAGATCAAATGAGTTCTTATC
ATTTTATATTNNTCNAATATGACTTTAANNNGTAGNAACTCANNNNCGTTTTTCAACTCTTAGAT
CTTCCAGAANTCGNNNGAGCNNNNNTGTCCGAGCCAAACATGGTACCAGTGGATAACAATGGA
GACAATAATAACAAAGAAAACAATAACATGAACAACACTAANTGGTGGAATTAACAACACNN
NTGGTGGAATTAACAACACTAATGGTAGAGCTGATGTTGGAGCTGATGTTGGAGCTGAAGAAC
ACGACAGTGCGAATACTTTAAGTGACAATCATGAAGAAACATTTGGAACAATCACGAAGAAG
CATTGGGAAACAATCATGAAGAAGCATTGGGAGACAATGAAGATCCTCCTCNNNNNNNNNNNN
CGNTACAATCGTCACAGCCAANNNCAGATCCAGGAGATGGAAGCNNNNNNNNNNNNNCANNNNN

NNNNNNNNNNAACTTATATATAGATCANNNNNTAAATTATATATAATCANNNCACAATATCTCTC
TCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTGNNTNNNNNCTTCAGNNNNNNNNCCTNNCCCAGATGACAAA
CNNNNNNNNNNNNNTTAGCCGTCAANNNNNNNTAGACCCTATTTCAGATCAAATTCTGGTTCCAG
AACAAACGNNNNCAAAACNNNTATATNTATNNNNNNNNNNNGTTATCANNNNNNCACANATTAN
ANNNNNNTGTATCTATAGACATGGCATGAGTTGTTAATTCATTATATATAACTGAAGATTGNNGN
NNNNGCATATATATGTTGAATTCGAAATCTAGNNNNNAAGTTTTTAGGGTTATCTTATTTTCGTATG
AGAATATTATAACGTTTTGNNNCGTGTGAAAGTGAAACACAACGTGTACACACATTAGAGGAA
GTGTACATGTATTTGTATGGACGCAATTAACACATGTACATTTCTTCCTATAGTAATTCATTTGA
AAACCNNNNNNNCTTCATTACNNNNGTGCTTCATATCCAAAGATAATGACTTAGTTGGNNNNNC
ATTTAATTTGAAATATTATTAAGAACCTTTGTNNNGNNNNNTTTTGCAGAATCATCAAGAACGT
TTTGAGAACACAGAACTTCGGACAGTGAACAACAAGCTCAGAGCTGAAAACCAACGGTACCGA
GAAGCTATTCTTCAAGCCTTATGCCCTAAGTGTGGAGGCCAAACTGCAATTGGTGACATGTCCT
TCGAAGAACATCATCTGCGCATCCAAAACGCTCGGTTAAATGAAGAGGTACTGGATTATTTCTA
TAAATATAGATGTTTAATGTAAATATTCATAACCTTTCATTAAACACACTGACCATTACAATTAA
CATATAGCGAACCACATATATCAAAGAAGNNNTAATAAATGAAGCATACATATTACATTTCGA
AANTNTTAAACNNGTTGTATTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNAGATCAATCAATTATCCGC
TCTGNNNNCAAGGTTTACAAGAAAACCGGTAATGAGCTATCCTGTTATGTCTCCTCCTATTAAT
CGTCGTCAACCTTTGGAGTTCGGGGTGGGATCTATTGGAAGAGATTTGTATGGAAATGGCGGAA
ACCTCTCGAGGGAAATCACTGGACCGGCAGATGCTGATAAGCCGATGATCATAGAGTTGGCAG
TTGGAGCCATGGAGGAGCTAATGTTGATGGCTCAAGTGGGTGAACCACTGTGGATGGGAGGAG
TTAATGGCACTAGCTTAGCTTTGAACTTGGATGAATACACAGGGACGTTTCGGAAGGGTCTCGG
GCCTAGACTGAGCGGGTTTAGAACTGAGGCATCCAGGGAAACCGCGCTCGTGGCAATGAATCC
TACTGGCATTCTTCAGATGCTTATGCAAGAGGTATATNNNNNNNNNNNTAAATCAAATTATGAT
CCTAATTAATCCTTTCATAAAATATAACATTATATTAGGTGTTTAATTAATGATCTGTATTGCA
GAATCTGTGGTCAACAATGTTTGTGGAATGATTGGTAAAGCCATGACTCATGAACAAATATCG
GCTGATGTTGCTGGAACTTCAATGGAGCTCTCCAAATCGTAGTTCTTCTACTTTGCNNNNNNN
NNNATTTAATATGATCTAAAGAAGAGCTATAAAACAAAACCTGAGACCATATTTAATATAACAT
AACCAATGTTGTTCTTTATTTCATAGATGAGTGCTGAGTACCAAGTGCTTTTCGCCGCTAGTCTCAA
CCCGCGAAAGCTACTTCGTCCGCTACTGTAAACAGCAAGGAGATGGNNNNNNNNNNNGTGGTCG
ATNNNNNNNATCGACCATCTCCTTCCAAATATNNNNNNNNNNNNNNNGCCGCCGANNNNCTGGAT
GTTTGATTCAANNNNNTTCCTAGTGGTTACTCCAAGGTATATATATAACTTATTGTCTCATTATGG
TTATTTAGAGTATGGTTCATATATTAATGATTANNNNNNGCNGGTTTNNNNNNNNNNNNNCATGGGT
TGAACATGTGGAAGTAGATGACAGAGAAGGAGTTCATAACATATTTAAGCACTTAATCTGTACT
GGTCAAGCTTTTGGTGCTAACCGCTGGGTTGCAACATTGGAACGCCAGTGCGAGAGGATAGCA
AGCATCATAGCTACAGATTTTGAATCCGTAGATTTCGGGTGATCACATAAGTATTTATGACTCATT
CCCAAATTTACATCAAAGAAATGTGTTTTTCTGTTTCTTTTTCTTAACCATTCGTGAGTTTTGTG
ACATGGTGCAGCGCTAACGAACCATGGAAAGATGAGCATTCTGAAATTAGCTGAGCGGATCGC
GAGAAGCTTCTTTGTTGGACTGACCAATTCGATGGGGTCTACATTTTCTGGTGGTGCAGGGGAT
GATATCAGAGTGATGACAATGAAGAGCCTGAATGATCCAGGAAGGCCTCCCGGTGTCATTCTTT
CTGCAGCCACTTCGTTTTGGGTTCCTGTTCTCCTAAGACTGTCTTTGACTTCCTCAGAGATGAG
AATCATCGAACCAAGGTATACTTATCTAGGACAAGACTTNNNNNNNNNNNATGACTTCCTTATAT
ANNCATNNNNNNNGNATATGTATCTGCAGTGGGATGTTCTCTGCACCGGAGGGATTGTGCAGA

AGATATCAGAGATTGCAAATGGGAGAGACAGTAGGAACTGTGCAACTTTACNCCGGGTAAANN
GCTAAGTTGTGTTTTTGAAAATGCATTNNNNNNNNNNNNNGGTATGTGACCGATGTTNNN
NNNNNNNCAGAAATGCAAACNNCTGCCAGAGCAAGATGATGATAGTTCAAGAGACCTCTACTGA
TCCAACAGCTTCGTTTGTGATCTATGCGCCNGGTTGATACNGGCATCAATAGAGGCTGTTCTCA
ATGCAGGTGGTGATCCTGACTATGTGGCTCTCCTNNNNNNNNNNNNNGCTATTCTTCCGGATGG
TATGGGTCAGCCTGGAGAAAACGGAGGAGGATCACTCCTGACCGTTGCCTTCCAGATGCTGGTT
GAAACAGCTCCNNNNNNNNAGCTGAGTATTAGCTCTGTTGCAACCGTTGAGAATCTGATTTCGTA
CAACCGTGCTGAGGATCAAAGCTTTGTTNCCNNNTCAAAGTGGTTGAACCAACCCCNATTCCGT
AATCTACNGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGGAAGANN
NTCAATGAAGAAAGAGAGAGAGAGTGTGTTTGTGTTGAA

Ek 2.11 *SUVH7 B. holboellii* Genomik Dizisi

ATGCCATTTGATGATTCCANNNNNNATTCTTATGATGCAAATGCTGGTTCTAGTACTGGTCCAAT
CATACGAGAACCATGCGACGATGTTAATGATGANNNNNNANANNNNNNNNTCNNNNNNNNNNCN
NNNNNNNNNNNTCACACC:NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NTATGATGCAAATGNTGGTTCTAGTACTGGTCCAATCATACGAGAACCATGCGACTGATGTTAA
TGNNNNNNNNNNCNCACACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
ACCAGTAGACCATCTGATGGCNNNAACANACCACTCNNNTNNNNNNNNNNNGCTGGTNNNNGTAC
TANN:CCAACAAAACGAGGACGTNNNNGACNNNNNNNTTCGNNNNNNNTCGAAGCCCTCGGCG
AANNNGCCAAAAACACATGATCCCAACAGCAAAATGGTTATATCTTGTCTGAATTTTGATTCA
GGGATAACCGACGCAGAGAGAGAAACCGGAAACCAGGAGATAGTTGATTTCGGTTTTGATGCGG
TTTGACGCGGTTAGACGGCGATTATGCCAACTAAACCACCCGAAACACCTCCTTACAACGGCGT
CAGCTAATTGCGTGACATTGGGGGTCCAGACTAATACGAGAAGGAGAATTGGTCCAGTTCCTGG
AGTACAAGTAGGCGATATATTCTATTTCTGGGGTGAAATGTGCTTAGTCGGGCTTCACAAAGTA
TCGGTCGCCGGCATCGATTATCTGACGGCTAAAGATGGAGCAGTTGACGGTCCTGTAGCTACGA
GTGTGGTAACATCAGGACAGTACGATGATGAAACCGAGGAGCTTGACACGTTGATCTATACCG
GACATGGCGGAGAGGACAAGAAGGGACCTTGTGATCAAAATATGAAAAGAGGAAACCTTGCA
CTAGAAGCAAGTAAAAGAAAAGGGAACGACGTTAGAGTCATCAGAGGCATACAAGATCCGTAC
AATAAGAAACAGAATATATACATCTACGATGGACTTTATCTAGTTTCTGATGTCTGGTCCGTGA
TAGGAAAATCCGGTTTCAAGGAGTTCAAATTTAAACTGGTGAGGAAACCAGACCAACCTAATTC
TGGTTATGCAATCTGGAAATCAGTTGAAAATTTGAGGATGCATGACTTGATTGATTTCGAGAGAG
GGTTTCATACTTGATGATCTTTCTTTTGAATAGAGCTTTTACGAGTCAGGCTGGTTAATGAAGT
CGATGAAGATGACAAAACGATGCCAGAAGATTTTACTACATCAGATCTCAGTATTACTCAAGT
GAGACGCCTAATATCTATATCGATCGCCAATCACTTGGATGCCAGAATTGTCAAGGTCAGTCAT
GCATTCATCAAAATCGTAACTGCATGTGCATGCGAAAAACGATGGCAAATTACCGTACCATAA
CAGCATTTTGGTTTGTGCTAAACATTGATTTACGAGTGCGGTGAATCTTGTCCCTGTCCCAACG
ACTGCAAAAACCGATTGGTTCAAACCGGTTTGAAACTCCGCATGGAAGTGTTCAGACAGCAA
ACTGTGGTTGGGGTTTACGTTCTTGGGATCCAATCCGAGCCGGAACCTTTATCTGCGAGTTTGCT
GGTGTGAGCAAGAGAAAAGAAGAAGTAGAAGAGGATGATGACTACTTGTGTTGACACATCTCGG
GTTTATAACAAGTTCAAGTGGAACCTGAGCTTTTGTGTGAGGATGCTTGGGAACAAG
TCCCTGAAGTTATCAATCTTCCGATGCAAGTGTGATAAGCGCCAAGGAAAAAGGGAACGTTGG

TCGGTTTATGAACCACAGCTGTTCCGCGAATGTTTTCTGGCAGCCTATTGAGTATGAAAACAAC
GTTGATATATATGTTCCGATTGGGCNNNNNGCGATGAAGCATATTCTCTCCGATGACAGAGTTAA
CATATGACTATGGNAGTTTCTTCTGTAGAGATGACTGGAGAAGATGNANNAGTGCTTTACCAAG
GCAAGAAGATTTGTCTCTGTGGTTCAGTCAAATGTCGTGGCTCTTNCGGC

Ek 2.12 *SUVH7 B. stricta* Genomik Dizisi

ATGGATAAGTTCATTCCGATTGAGGCAACACCGGTCACAAGTTCAGACAGGATTTTGTAGACA
ATCAGACCGAAAACACATCATCAGCATCTCCTCCTACTATGGTCTCACCGCTTCTAACCATTATG
CCATTTGATGATTCCAACAAGGATTCTTATGATGCAAATGCTGGTTCTAGTACTGGTCCAATCAT
ACGAGAACCATGCGACGATGTTAATGATGNNNNNCNNNNNCNNAACAGCCGGCCNTCNGNNTT
NNNGGTNANACCNNNNNCANANCNGNGNCCNNTCTNNNGGNGTCAACAACCNCNNANNANN
ANNNNNNNNGNTGGNNCNANNCNNNNNNNNNNNNNNNNNNCGNGTNNNNNTNCNANNATNCTCC
NNNAAAANGAGGACGTGGCCGACCAAANNNTTCGAAAACTCGAAGNNNTCGGCGAAGAAGC
CNNNNNCNCATGATCCCAACAGCAAATGGTTATATCTTGTCCGAATTATGATTCAGGGATAAC
CGACGCAGAGAGAGAAACCGGAAACCAGGAGATAGTTGATTCCGTTTTGATGCGGNNNNNGACG
CAGTTAGACGGCGATTATGCCAACTAAACCNCNNNNNNCACCTCCTTACAACGGCGTCAGCTA
ATTGCGTGACATTNNNNNTCCAGACTAATACGAGAAGGAGAATTGGTCCAGTTCCTGGAGTAC
AAGTAGGCGATATATTCTANNNTCTNNNNNNNAAATGTGCTTAGTCGGGCTTCACAAAGNNTCNG
TCGNNNNNNNTCGATNNNNNGACGGCNNNNNNNNNAGCAGTTGACGGTCCCNANNTACGA
GNNNNNTAACATCAGNACAGTACGATGATGAAACNNNNNAGCTTGACACGTTGATATATACCG
GACATGGCGGAGAGAAACAANNNNNNNCCTTGTGATCNNNNNTANNNNNNNNNNNNNNNNTTGCA
CTAGAAGCNNNNNNNNNNNNNNNNNGAACGACGTTAGAGTCATCAGAGGCATACAAGATCCGTA
CAATAAGAAACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGAAATCAGTTGAAAGTTTGAGGGAGCATGACTTGATCGA
TTCGAGAGANNGTTTCNNACNNNATGATCNNNCTTTTGGAATAGAGCTTTTACGAGTCAGGCNG
GTTAATGAAGTCGATGAAGATGNCAAATGATGCCAGAAGANNNGACTACATCAGATCTCAG
TATTACTCAAGTAAGACGCCTAATATCTATATCGATCGCCAATCACTTGGATGCCAGAATTGTC
AAGGTCAGTCATGCATTCATCAAAGTCGTAACCTGCATGTGCATGCGAAAAAACGATGGCAAATT
ACCGTACCATAACAGCANNNTGGTTTGTCTGTAACCATTTGATTTACGAGTGCGGTGAATCTTGT
CCCTGCCCCAACGACTGNNNNNNCCGANTGGTTCAAACCGGNNNGAACTCCGCATGGAAGTG
TTCAAGACAGCAAACCTGTGNTTGGGGTTTACGTTCTTGGGATCCAATCCGAGCCGGAACTTTTA
TCTGCGAGTTTGCTGGTGTGAGCAAGACAAAAGAAGAAGTAGAAGAGGATGATGACTACTTGT
TTGACACATCTCGGGTTTATAACAAGTTCAAGTGGAACCTACGAACCTGAGCTTTTGTGTGAGGA
TGCTTGGAACAAGTCCCTGAAGTTATCAATCTTCCGATGCAAGTGTTGATAAGCGCCAAGGAA
AAAGGGAACGTTGGTCGGTTTATGAACCACAGCTGTTCCGCGAATGTTTTCTGGCAGCCTATTG
AGTATGAAAACAACGTTGATATATATGTTCCGATTGGGCTTTTTGCGATGAAGCATATTCTCTCG
ATGACAGAGTTAACATATGACTATGGAGTTTCTTTTGTAGAGATGACTGGAGAAGATGAAATGC
TTTACCAAGGCAAGAAGATTTGTCTCTGTGGTTCAGTCAAATGTCGTGGCTCTTTCGGCTGA

Ek 2.13 *VIM1 B. holboellii* Genomik Dizisi

GTAAATTAATCAATGICCAACTTAATCCGTTTCTTTGATTGCTAGCATCTTCAGACATGACACATGACCA
GAGTTTCTTCTTCAGGGTTGGTACCTGAGCCTTCACCTTCGTCTACAGACTTGGCGCTGTCCTCT
TCCTGGTTCTTCAGACTCTCTATCACCTTCATTACTTCTCTATTGACCTGTTTACACACATTTTAC
CAAAAGATATTATTCCCTAATTTTCNGTGATCATAATAATAATGGTAAATATCATATGATCCTATT
TGCTAGAGNNNCAANNNNNNCATGAATNNNNNGCATCAAATAAGTGAATGACATACTAAAAATCC
ANTCAAATTTNTANGNCTTCTCTANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNAATCACATTGCAAAANNNNTAA
TCTATAGACGTTATGTAATTATTNGATAGTACTGGCNNNNNNNNNNNTNNNNNCAGACAGAGA
TCCATTCTACTAACTTCCATCTAGTTCTAGCAGAGTCAAAATCAATGCTAATGCAATTTGCACAT
GTATTCATANAANNNATATGGAAGAAGAAGAAGAAGAGATGATGATGTTACACCTGAGGGTTC
TGGAGAAAGTCAGAAATGTCAGTGGGGCAACAAGGGCACTTCATGACATTCTTCTGTGCACGTA
GTGTACGTCCACCTCTGCTTCTCTCTCTCATTAGAGTTTTCCCAGCAAATTTGGATTCTAAGCAT
GCCTTGCAGAAGTTATGAGCACAAGGCGTTGTACGGGAAGAGTCATCACTTGACGACAGATCT
GGCACTTAAACTCTGCATCAACAAAACTCAACGACAGTTTAGATGGATTAGAGAAAATTTTGG
AAACAAAGCTATATAAAGAAAGAGCTGAATCTTAAAGTTAGGATAACCATATTAATAGTTAG
GATAACCATTTTTGAAACATTATATACCTAATACTAAAAGTTCTCAGGGAAGCTTAATTAGCTT
GAGCCTCATTTCTAGAGAAGGTAACCTTAGAATTGTTTAGGAAGGCATATGCTATAAACATTATA
ACAGTAGAGGTAGAGAATTTGGACACTCATACTTTTACAAGGTTTGGCCATCATGGTATTCGAG
TGTGCNNCCTTTATGGCTTTTCTCAAACNTTCCTCTCCTCAGGATCCAAAACCATAACTGNCNN
NNNACTAGCAGGTGGAGGCTTCATCCATCTCTAACGACCCTCAGCTNNNTGATCAAGTAAGCCT
ATTATCAGTAAATNNNNNNNNNGAAATTATAGAAAATGGAACCTTACATCGAAATCCCAAGATGG
ACTTTGNNTTCTCTCACAGAGGTTTGTGGCNANATTAAGTTCTGGAATNNNNGGTACAGGTCTT
GGACGATCTCCATGTTTCATCACTGCAATATATCACAAACATTAATCTTAAATGGAAATCTCAAAT
GGAAAATATATAGAAAAGGCGCACGCTTTAGAGAAGTAGATCAAACCTGGTCCATGGAGCTGG
TTCATTGTCACATCTAACAAACATGTAACGACAAATCTTNNNNGNCCCTATGGAACACAGAAG
AATAGGTCAATGCATTAATATTAACAGCATAAATTTACAATTGTTAGCTATATGTGTACCTGTAT
GCCAACTTTCCGCCAGCACTTCTCGATCCGGTATACCCCATCATACCTCAGTCTCTCCCTCAGGGG
CATATGCAGAACACTTATCCTTGTGAGACCTGATCAAATGACAAAAGGTAATTGAAGAGTTAAG
ATCACTGAAGCAGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTNNNNNGAGTGANNNGNTGNNTCATGCAATGGAG
ATGTGCTNCAAATAACCGCTAACCTCACAACTCGAATAGGATNACCCNNATNTGCAACTAANN
CTTNNNGCTNNNNNTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNANCCNTNNNNANTCNNNTN
NNNNANNCNNANNNNNNTAGTCNTNNNGNNTGANNNNNNNNNNNNNGNNNNNNNNNNNNNNNNANN
NNNNANCCTTGTTAGTCCTCTNGTTGCCACTGAGATCTNNNNNNNNCACTGCGTGACATTAAGAC
AAAAAGAGAAATAAACATATCAGTAAATTGGAAAATAGCTACTTCCATACGCATGACAGAAGT
ANNATATACAATATTACTTAAGGAAACAAATCCTAATCCAGTCATTAGAATAAATCAAAGACC
AAAACGTAGGATTAATGAAAAGCAGACCTTCTGTGTATNGAAACCATTCTCCATGATCCTCAT
CATCCTCATAACCTCCAGAGAGGACTACAGATTGAGCTCCATGCTCTGATTGTCCAGCAATGCC
AGAAATAAGTGGGAANTCGAGTCNNNCACTGCCTACACTCGAACGGTCTCCAGGATTCTCCA
ACCAANNACCTTGGTTCCTGATAGGATCATTTTCAGCTGGTATAGGACCAAAGTGATCAGGTG
GTATTGTAACATAAATCCTGCCACTGGCAGCATTCGCCTTCCCAGTTTTCTTTGCACGCTCGGTT
GTAAATGCTTTATCTGGTGGTCTTGGTTGCTTATGAAATGAGAGACGACACTTGAAGTACTCG
CAGCAGCACTTTTAGAGACTTTTGCTAATCGGATAGATGACACGAGGGACAAGTTGATACGGG

GATTGCTTGCCATGTTTTAGGAAGTATGCTGCGGCATTTTCCACAAGTGCGCTTTCCCAGACCC
ATCCACTTCTCTAAACATTTCAAGCAAGCGTTGTGCCACATGGTNNNNNNNNNNNNNNNTNTN
NNNNAGATATTCATCAGCTCTACTTAATAATATTTANANNCNTNNANCTNTNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTTCABA:ATAT
CGACTACTAATCAATNNCNNNNGCTNANGAACNNCCTNNAAACAGCNACTAAACAACAATATN
GAAAAGAACAACCNNNNNNNNNNNNNGTACACATACCACTCCTAACNAATTATCAACAACATA
TTAACACCATGATACACCTCTCCACTAAACAATCCAACCCNNNNNNNNNTNNNNNNNNNNNNCA
AGTGGTATCACGAATATATAAGTCTATCAGCAAAAGGAACGATTAATTGTGTCAATAAACTGGT
ATCACATACGCAGCTTAATTTAGTGGTATGTCACAAGCTCGAATTAGTAAATCAAGTTTACGTA
CACATAAACAATCATAATCAATAATGTGAATCCACAATTAAGGANNNNNNNNTAACACAGATTC
GAGAAATTAANANNNNNNAGNANNNNNGANANAGAGNNNGAANNNNNACANNNNTCTNAGG
CAACTGNATNCAGAANGAACANNTNANGTTTTCTCCAAGNGCAGNTAANACATCNANANTCAN
ANNTTTTCCTTTACTCTTCTTCTTCTTTTCTTCTTCGTCATCCTCATCGACGCCTTTACCACTAAGT
AACTGTTGCCTCTTCTTAGCCTTCTCTGCAGTACTCAAAGACTCATCAGCCTCAATCGCGTGGAT
CGCCGCTACAAGATCTGAACCAACAAATCCATACCCCGCCGCAACGCCGAAACAGGAAGAGG
ATCGATTTCCCGGAGCAATCAGGACATTGCCACTGTAAAGTAGAAGCTANGGTTTCAGGAGG
AGACGAGAGGCAGGACACGTGCCAAGGCGTAACGCACGTGCCNNNNNNNGAGACATTCTTCAGG
NNNNGGCTTGATTTGCATCGCATGCATACACCGTCGTCGCCGTTGCAG

Ek 2.14 VIM1 *B. stricta* Genomik Dizisi

TGACGCGTNACATCCAANTNCCNTGCAACGGCGANGACGGTGTATNCATGCGATGCAAATCCA
AGCCTCCGCCTGAAGAATGTCTCACTTGCGGCACGTGCGTTACGCCTTGGCACGTGTCCTGCCTC
TCNTCTCCTCCTGAAACCNTAGCTTCTACTTTACAGTGGCAATGTCCTGATTGCTCCGGNGAAAT
CGATCCTCTTCCTGTTTCCGGCGTTGCGGCGGGGTATGGATCTGTTGGTTCAGATCTTGTAGCGG
CGATCCACGCGATTGAGGCTGATGAGTCTTTGAGTACTGCAGAGAAGGCTAAGAAGAGGCAAC
AGTTACTTAGTGTAANGCGTCGATGAGGATGACGAAGAAGAAAAGAANAAGAGTAAA
GGNNAANATGCTAATCTCGATGTGTTACCTGCTCTTGGAGAAAACCTTGATGTGTTNNNNCTGTA
TGCAGTTGCCTCAGAAACCTGTGACGGTTNGTTCTCTTTNTCTAGGCTCTCATGCNTGTTNNTN
NTCNNNTNNTGTNTTNNNNNTNNNTCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGNNNNNGTGTACGT
NNNCTTGATTTNNNNNTTCGAGCNNNTGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGCTGCGTACGTGANNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNANTNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNTNNNNNNANNNNNNNNNNNNNAANGNTNNNNNNNTTNTNNNGNNGANN
NNNNNNNNNNNNNTGTNNNNNNNNNTNCAGANACCATGTGGGNACAACGCTTGCTTGAAATGTT
TCGAGAAGTGGATGGGTCTGGGAAAGCGCACTTGTGGAAAATGCCGCAGCATAGTTCCTGAAA
ACATGGCAAGCAATCCCCGTATCAACTTGTCCATCNTGTCATCTATCCGATTAGCAAAAGTCTCT
AAAAGTGCTGCTGCGAGTACTTCAAATGTCTCTCATTNCATAAGCAACCAAGACCGACCAGATA
AAGCATTTACAACCGAGCGTGCAAAGAAAACCTGGGAAGGCGAATGCTGCCAGTGGCAGGATTT
ATGTTACAATACCACCTGATCACTTTGGTCCAATACCAGCTGAAAATGATCCTNTCAGGAACCA

AGGTCAAATGNTTGGAGAATCCTGGGAGGACCGGTTTCGAGTGTAGGCAGTGNNNGNGCTCACTT
 NCNNCNTNNNTCTNGCATTNCNNNANAATCANAGCATGGAGCTCAATCTGTANTCCNCTCNGN
 NGGTTANGANGATNNTGAGGATCATGNAGAATGNTNNNNATACANNGGAAGGNTTGNTTTTCA
 TTACNCNNNNNNNNNTNNNNCNTTTNANTNNTTCTAANGNNTNNNNNNNNNTTNNNTNNCNTAA
 GNAATNTTNTNANNNNNNNNNCNGNCNNGNNTATNNNNGNNNNNNTTNNNNAATNTNNGAT
 ATGTTTATTTCTCTTNTNCTCTTAATGTCACGCNNTNGNNNAANNATCTCANNGGCANNNNN
 NNNNTANNNNGNNAAGTCTNNGATNNNNNNNNNANNNNNNNNNNGCAGNTNTNAGNNTT
 AGNNNCATANNGNNTATNCTATNNGANNNGTNNNNTNANCNGTNATTTGANCACAACACNAN
 TNNATGCAACATCTTTCTCACTCTTCAACTTGAAGTTTTAAAGCCTGCTTCAGTTATCTTAACTCT
 TCAATTACCTTTTCCATATGATCAGGTCTCACAAGGATAAGTGTCTGCGTATGCCCCTGAGAAA
 GGACTGAGGTATGATGGGGTATACCGGATCGAGAAGTGCTGGCAGAAAGTTGGCATAACAGGTT
 CACATATAGCTAACAAATTGTAAATTTACGATGTTCATTTTAATGCATTGACCTATTCTTCTGTG
 TTCCATAGGGTTCNNNNAAGGTTTGTGCTTATATGTTTGTTAGATCTGACAATGAGCCAGCTCCA
 TGGACCAGGTTTGATCTATTTCTCTAAAGCATGGCCCTTTTCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNTATATTGCAGTGATGATCATGGAGATCGTCCAAGACTTNGNNTNANNNNNNN
 NNCCANNNNNNTAANNNGNCACAGACCTCTGTGAGAGNNNNCAAAGTCCATCATGGGATTTCTG
 ATGTAAGTTCAAAGNCATCTCAATTATAACAGTTGGCAANNNNNNATANNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNATTANCTGTTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNNNNNNNNNNNNNNNAANCCTTCTGNAACNNNGAGNNNNNNNNNNNNCNNNNNNNACTGTT
 NNAANGNNNATAGCATGNNNNNTTCTTNNNNNNNNCTNNNTTANNNNNNNNNNNNNNNNGNN
 NNNAGCTAAGNNNNNNNNNNNNCTTTTAGNATCAGGAATTCAANGTTTNNNNANNNNNNNNN
 NANNCCNNNNNNNTGGTTATCCTAACTNNNNNNNTTTANNNNNNNNTNNNNNNNNNNNTT
 NNGNNNNNNNNCTCCAATCCATCTAACTGTNNNNNNNNNTTTGTTGATGTAGNNTTTAAGTGC
 CAGATCTGTGCTCAAGTCATGACTCTTCCNGTGACAACGCCTTGTGCTCATAACTTCTGCAAGGC
 ATGCTTAGAATCCAAATTTGCTGGGNAACTCTAATGAGAGAGAGAAGCAGAGGTGGACATAC
 ACTACGTGCACAGAAGAATGTCATGAAGTGCCCTTGTTGCCCCACTGTCAATTTCTGACTTTCTCC
 AGAACCCTCAGGTGTAACATCATCATCTCTTCTTCTTCTTCCATATNNATAATATGAATACATGT
 GCAAATTGCATTAGCATTGATTTTGACTCTGGTAGAACTAGATGGAAGTTAGTNAGAATGGATA
 CTACTGTCTGGTTTTATTTGGTTATGTGCCNGTACTATCNNATAANNNCATANCGTATATAGATT
 A

Ek 2.15 *YUC10 B. holboellii* Genomik Dizisi

ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGGACCGGCCGGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAA
 ACCAACACTCCATTCCAAACGTGATTCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCACTATGGAAGAA
 ACGAGCCTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTGCGAGCTACCTTTCATGCCA
 CATGGTCCTGATGTACCAACCTTTATGTCCAAAGAGCTTTTCGTCAACTACCTTGACGCTTACGT
 TGCCCGNTTCGACATANNNNNNTAGGTACAACGNGNCCGTGNANGTCTCAACGTTCAATGAGT
 CCAATAACAAGTGGAGGGTCGAGGCGGAAACACGGTGACCGGAGATACCGAGGTGTATTGGT
 CGGAGTTTCTGGTGGTTGCGACCGGGGAGAACGGAGATGGGAATATTCCGATGGTGAAAGGGA
 TTGACACTTTCCCCGGAGAGATTGTGCACTCGAGTGAGTACAAGTCCGGTCGTGATTTTAAGGN

NNNNNTGTTCTTGTGGTCGGAGGAGGAAATTCCGGTATGGAGATTAGTTTTGATCTTTGCAACT
TCGGAGCTAATACGACGGTTCTCATTAGAACTCCAGTATGTAATTAATGTTGATTTTGCTCTTA
ATTATTTATTTGTATGCATGAAAGTTAAAGATGCACACCTGTCTTGCATGTGTGATTGTGGTATA
GANNNNNNNNCGAGTTTAAAATTACTAATACGTCCCTTAACGATAGTTGATCTCTTGGTCAATT
CATGGACAAAACCTCGTTTTGATTATTGAGATCCAAAATATCATATGAGATTTTGATAATGGCTT
GGCTTGTA AAAATATGAAANNNGACCNNNANCTTCATNTAAAAANNNTTTNTATNANTNCNNAN
ATNNCNNNNNNNNNNCANNNNNNNTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNA
NNNNNNCATCNNNNNNNNNNCNNNNNNCANAANCTTTGCAGAGACANGTGGTGACTAAAGAA
GTGGTACACTTNNNNATGTCACTTTGAAGTATGNNNNNGTGACGATGGTCNACACATTGGTGAC
GANTATAGCTAAACTTGTGTACGGAGACCTCTCCNAGTACGGACTCTTCAGATCAAAACAANN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGCTCCTGTCAATTGATGTCCGAACTGTCAA
AAGATTNTCGATGGTGAGATTCAGGTACCTGCCCTTGTTTCATCAAATTTTCATNTTAATCTTTATT
GATTTNTTCCTTATNATAATATATTTTAGTGTATCAAAAATTGTCAAGTCTACTTTCCCTTTTTGG
TNAACANTGTCAGNCNNTTTTAAAAAGTTGGTTTATATGAAANCGGTTAAACTATAAACAGGT
NTTtaggaggaagaaaatngtaatttctgtacaattannnnnnccnnnngnnnnncnnnnntn
CTCAAATTTNAGATNTNTAGAAACCTCNATTTTCAACCATGACAANTTTATTTTGTACCTTTTTG
TTTTATTTTCATATCAGAAAACCTGNNNNNCCTTTATTTCTGTCCAAATCTGNNGGTTTTCCCCCT
ATAGCCTACTGATTCACACAAATTAATGAAGATAAAATTCATAAGAATTTATTATGTATTTCGT
TTTCTTCCATTTTCCATTTTCCATTGTTCAAAGCTTTTTGATTACTTATTTTTATGGTAAGTGGTA
AATTTGATTAAATGGAAACACTATTAATACTAATAATGCAATATTAGGTTATCAATTGTGGT
ATTGGAAGCATCAAAGGGAAGACCTAGACATTCGAAAATGGACTTGAACAAGATTTTGCTGCA
ATTGTGTTTGGGACTGGTTACAAAAGCTCCGTGTGCAATTGGTTAGAGGTATTATAACATAAGT
ACCCTCAAATCCTCTACCCAAAACAAAATAAACCAGTTTAATTTAACCGATTGAATAAATATG
ACAATGATTTGNNNNNNCGNGAAAATATACAGGACTATGAATACGTGATTTAAAAGGATGGAT
TNNNNNNNNNNCCGATGCCGAAGCATTGGAANNAGATAAGAATCTTNA

Ek 2.16 YUC10 B. stricta Genomik Dizisi

ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGGACCGGCCGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAA
ACCAACACTCAATTCCAAACGTGATTCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCACTATGGAAGA
AACGAGCCTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTTGCGAGCTACCTTTCATGCC
ACACGGTCCTGATGTACCAACCTTTATGTCCAAAGAGCTTTTTGTCAACTACCTTGACGCTTACG
TTGCCCGTTTCGACATAAANNNTAGGTACAACCGCACCGTGAAGCTCTCAACGTTTCGATGAGTC
CAATAACAAGTGAGGGTCGAGGCGGAAAACACGGTGACCGGAGATACCGAGGTGTATTGGTC
GGAGTTTCTGGTGGTTGCGACCGGGGAGAACGGAGATGGGAATATTCCGATGGTGAAAGGGAT
TGACACNTTTCCCCGAGAGATTGTGCACTCGAGTGAGTACAAGTCCGGTCGTGATTTGAAAGG
TAAAAATGTTCTTGTGGTCCGAGGTGGAAATTCCGGTATGGAGATTAGTTTTGATCTTTGCAACT
TCGGAGCTAATACGACCGTTCTCATTAGAACTCCAGTAAGTAATTAATGTTGATTTTGCTCTTA
ATTATTTNNTTTGTATGCATGAAAGTTAAAGATGCACACCTGTCTTGCATGTGTGATTGTGGTAT
AGATNNNNNNNNNGNNNNANAATTACTAATACGTCCCTTAACGATAGTTGATCTCTTGGTCAAT
TCATGGACAAAACCTCGTTTTGANTNNTNAGATCNNNAANNNNANNNGANNNNNNNNNCCNN
NNNNTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTANAGTNTANNNTANANNNNNNNN
TNNNNANNNNANNNNTNNNTANATNNTNNTNTNNANANNTTANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTNTCNNNNNCNNNTNNGANNNNCNTNNTNANNAAAGAA
GNGNNACACNTNNNNANNNNANNNNTGAAGTANNNTCCAGTGACGATGGTCGACACATTGGT
GACGANTATAGCGAAACTTGTGTACGGAGACCTCTCNNAGTACGGACTCTTCAGANCAAAACA
AGGTCCTTTCGNCACCAAACCTCTTTACNGNAAAAGCTCCTGTCATTGATGTCGGAACGTCCAA
AAGATTNCGATGGNGAGATTNAGGTANCTANCNNNNNTNCATCNNATTTCATNNNNANNNNNN
NNNANTTNTTNTCTNATAATATATTTTAATGTANNAANNNTNTCAGTCTANNNNNNNNNNNNN
NNNAACAGTGTCNGNCTTTTNNNANNTGNNNNNNNTNAAAACNNTTAAACNNTAAACAGGN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTGATAAGTG
GTAAATTTGATTAAATGGAAACANTATTAACATACTAATAATGCAATATTANGNTNATCAATGG
TGGGATTGGAAGCATCAAAGGGAAGACCTTGACNTTCNAAAATGGANTTGAACAAGATTTCTGA
TGCAATTGTGTTTTCGACTGGTTACAAAAGCTCCGTCTGCAATTGGTTAGAGGTATTATAACAT
AAGTACCCNCAAANTCCTNNNCCCNNNNCNNNNNTNAAACCAGTTTTAATTTAACCNATTGAATA
AATATGANANTGATGNNNNNNNNNNNNNNNGTGAAAATATACAGGACTATGAGTACGTGATGA
AGAAGGATGGATTCCCCAAAACACCGATGCCGAAGCATTGGAAAGGAGAGAAGAATCTTTACT
GTGTCGGATTTTCAAGAAAGGGAATCGCCGAGCTGCCGAGGATGCTATGTCCGTCCGACGACG
ACATAAGATCTGTCTTAGCTACCATAAAACATTAGAA

Ek 3. Biyoinformatik Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen *B. Holboellii* ve *B. stricta* cDNA Dizileri

Ek 3.1 *SUVH7 B. holboellii* cDNA Dizisi

CTTCTAACCATATGCCATTTGATGATTCCANNNNNNATTCTTATGATGCAAATGCTGGTTCTAG
TACTGGTCCAATCATACGAGAACCATGCGACGATGTTAATGATGANNNNNANANNNNNNNNTCN
NNNNNNNNNCNNNCNNNNNNNNNTCACACCNNNNNNNNNCNNNNANANNCNNNNNNNTGNNNNN
NNNNNNNGAYTNNTATGATGCAAATGNTGGTTCTAGTACTGGTCCAATCATACGAGAACCATGC
GACTGATGTTAATGNNNNNNNNNCNCCACACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNCA
CNNNNNNNCAAACAGTAGACCATCTGATGGCNNNAACANACCACTCNNNTNNNNNNNNNGC
TGGTNNNGTACTANNNCCAACAAAACGAGGACGTNNNGACCNNNNNNNTTCGNNNNNNNTCG
AAGCCCTCGGCGAANNNGCCAAAAACACATGATCCCAACAGCAAAATGGTTATATCTTGTCT
GAATTTTGATTGAGGATAACCGACGCAGAGAGAGAAACCGGAAACAGGAGATAGTTGATTC
GGTTTTGATGCGGTTTGACGCGGTTAGACGGCGATTATGCCAACTAAACCACCCGAAACACCTC
CTTACAACGGCGTCAGCTAATTGCGTGACATTGGGGGTCCAGACTAATACGAGAAGGAGAATT
GGTCCAGTTCCTGGAGTACAAGTAGGCGATATATTCTATTTCTGGGGTGAAATGTGCTTAGTCG
GGCTTCACAAAGTATCGGTCGCCGGCATCGATTATCTGACGGCTAAAGATGGAGCAGTTGACGG
TCCTGTAGCTACGAGTGTGGTAACATCAGGACAGTACGATGATGAAACCGAGGAGCTTGACAC
GTTGATCTATACCGGACATGGCGGAGAGGACAAGAAGGGACCTTGTGATCAAAATATGAAAAG
AGGAAACCTTGCACTAGAAGCAAGTAAAAGAAAAGGGAACGACGTTAGAGTCATCAGAGGCA
TACAAGATCCGTACAATAAGAAACAGAATATATACATCTACGATGGACTTTATCTAGTTTCTGA
TGTCTGGTCCGTGATAGGAAAATCCGGTTTCAAGGAGTTCAAATTTAAACTGGTGAGGAAACCA
GACCAACCTAATTCTGGTTATGCAATCTGGAAATCAGTTGAAAATTTGAGGATGCATGACTTGA
TTGATTCGAGAGAGGGTTTCATACTTGATGATCTTTCTTTTGAATAGAGCTTTTACGAGTCAGG
CTGGTTAATGAAGTCGATGAAGATGACAAAACGATGCCAGAAGATTTTGA CTACATCAGATCTC
AGTATTACTCAAGTGAGACGCCTAATATCTATATCGATCGCCAATCACTTGGATGCCAGAATTG
TCAAGGTCAGTCATGCATTCATCAAAATCGTAACTGCATGTGCATGCGAAAAAACGATGGCAA
ATTACCGTACCATAACAGCATTTTGGTTTGTCTGTAACCATTTGATTTACGAGTGCGGTGAATCTT
GTCCCTGTCCCAACGACTGCAAAAACCGATTGGTTCAAACCGGTTTGAAACTCCGCATGGAAGT
GTTCAAGACAGCAAACCTGTGGTTGGGGTTTACGTTCTTGGGATCCAATCCGAGCCGGAACCTTT
ATCTGCGAGTTTGTGGTGTGAGCAAGAGAAAAGAAGAAGTAGAAGAGGATGATGACTACTTG
TTTGACACATCTCGGGTTTATAACAAGTTCAAGTGGAACCTACGAACCTGAGCTTTTGTGTGAGG
ATGCTTGGGAACAAGTCCCTGAAGTTATCAATCTTCCGATGCAAGTGTTGATAAGCGCCAAGGA
AAAAGGGAACGTTGGTCGGTTTATGAACCACAGCTGTTCCGCGAATGTTTTCTGGCAGCCTATT
GAGTATGAAAACAACGTTGATATATATGTTCCGATTGGGCNNNNNGCGATGAAGCATATTCCTC
CGATGACAGAGTTAACATATGACTATGGNAGTTTCTTCTGTAGAGATGACTGGAGAAGATGNA
NNAGTGCTTTACCAAGGCAAGAAGATTTGTCTCTGTGGTTCAGTCAAATGTCGTGGCTCTTNCG
GC

Ek 3.2 *SUVH7 B. stricta* cDNA Dizisi

GGATTTTGTAGACAATCAGACCGAAAAACATCATCAGCATCTCCTCCTACTATGGTCTCACCG
CTTCTAACCATTTATGCCATTTGATGATTCCAACAAGGATTCTTATGATGCAAATGCTGGTTCTAG
TACTGGTCCAATCATAACGAGAACCATGCGACGATGTTAATGATGNNNNNCNNNNNCNNAACAGC
CGGCCNTCNGNTTTNNNGGTNANACNNNNNCANANCNGNNGNCCNNTCTNNNGGNGTCAAC
AACCNCNNANNANNANNNNNNNNNGNTGGNNCNAANNNNNNNNNNNNNNNNNNCGNGTNNNN
NTNCNANNATNCTCCNNNAAAANGAGGACGTGGCCGACCAAANNNTTCGAAAACTCGAAGN
NNTCGGCGAAGAAGCCNNNNNCNCATGATCCCAACAGCAAAATGGTTATATCTTGTCCGAATT
ATGATTCAGGGATAACCGACGCAGAGAGAGAAACCGGAAACCAGGAGATAGTTGATTTCGGTTT
TGATGCGGNNNGACGCAGTTAGACGGCGATTATGCCAACTAAACCNCNNNNNNNCACCTCCTT
ACAACGGCGTCAGCTAATTGCGTGACATTNNNNNTCCAGACTAATACGAGAAGGAGAATTGGT
CCAGTTCCTGGAGTACAAGTAGGCGATATATTCTANNNCTNNNNNNNAAATGTGCTTAGTCGGGC
TTCACAAAGNNTCNGTCGNNNNNNNTCGATNNNNNGACGGCNNNNNNNNNAGCAGTTGACGG
TCCNNNANNTACGAGNNNNNTAACATCAGNACAGTACGATGATGAAACCNNNNNAGCTTGACA
CGTTGATATATACCGGACATGGCGGAGAGAAACAANNNNNNNCCTTGTGATCNNNNNTANNNNNN
NNNNNNNNNTTGCCTAGAAGCNNNNNNNNNNNNNNNNNGAACGACGTTAGAGTCATCAGAGGC
ATACAAGATCCGTACAATAAGAAACNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGAAATCAGTTGAAAGTTTGAGGGA
GCATGACTTGATCGATTGAGAGANNGTTTCNNACNNNATGATCNNNCTTTTGGAATAGAGCTT
TTACGAGTCAGGCNGGTTAATGAAGTCGATGAAGATGNCAAAATGATGCCAGAAGANNNGAC
TACATCAGATCTCAGTATTACTCAAGTAAGACGCCTAATATCTATATCGATCGCCAATCACTTG
GATGCCAGAATTGTCAAGGTCAGTCATGCATTCATCAAAGTCGTAAGTGCATGTGCATGCGAAA
AAACGATGGCAAATTACCGTACCATAACAGCANNNNTGGTTTGTGCTAAACCATTGATTTACGAG
TGCGGTGAATCTTGTCCCTGCCCCAACGACTGNNNNNNCCGANTGGTTCAAACCGGNNNGAAA
CTCCGCATGGAAGTGTTCAAGACAGCAAAGTGTGNTTGGGGTTTACGTTCTTGGGATCCAATCC
GAGCCGGAACTTTTATCTGCGAGTTTGTGTTGTGAGCAAGACAAAAGAAGAAGTAGAAGAGG
ATGATGACTACTTGTGTTGACACATCTCGGGTTTATAACAAGTTCAAGTGGAAGTACGAACCTGA
GCTTTTGTGTGAGGATGCTTGGGAACAAGTCCCTGAAGTTATCAATCTTCCGATGCAAGTGTTG
ATAAGCGCCAAGGAAAAAGGGAACGTTGGTTCGGTTTATGAACCACAGCTGTTCCGCCAATGTTT
TCTGGCAGCCTATTGAGTATGAAAACAACGTTGATATATATGTTTCGCATTGGGCTTTTTGCGATG
AAGCATATTCTCCGATGACAGAGTTAACATATGACTATGGAGTTTCTTTGTAGAGATGACTG
GAGAAGATGAAATGCTTTACCAAGGCAAGAAGATTTGTCTCTGTGGTTCAGTCAAATGTCGTGG
CTCTTTCGGCTGA

Ek 3.3 *YUC10 B. holboellii* cDNA Dizisi

ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGGACCGGCCGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAA
ACCAACACTCCATTCCAAACGTGATTCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCACTATGGAAGAA
ACGAGCCTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTTTCGAGCTACCTTTCATGCCA
CATGGTCCTGATGTACCAACCTTTATGTCCAAAGAGCTTTTCGTCAACTACCTTGACGCTTACGT
TGCCCCGNTTCGACATANNNNNTAGGTACAACGNGNCCGTGNANGTCTCAACGTTCAATGAGT
CCAATAACAAGTGGAGGGTCGAGGCGGAAAACACGGTGACCGGAGATACCGAGGTGTATTGGT
CGGAGTTTCTGGTGGTTGCGACCGGGGAGAACGGAGATGGGAATATTCCGATGGTGAAAGGGA
TTGACACTTTCCCCGGAGAGATTGTGCACTCGAGTGAGTACAAGTCCGGTCGTGATTTTAAGGN
NNNNNTGTTCTTGTGGTCGGAGGAGGAAATTCCGGTATGGAGATTAGTTTTGATCTTTGCAACT
TCGGAGCTAATACGACGGTTCTCATTAGAACTCCAAGACACGTGGTGACTAAAGAAGTGGTAC
ACTTNNNNATGTCACCTTTGAAGTATGNNNNNGTGACGATGGTCNACACATTGGTGACGANTATA
GCTAAACTTGTGTACGGAGACCTCTCCNAGTACGGACTCTTCAGATCAAAACAANNNNNNNNN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGCTCCTGTCAATTGATGTGCGAACTGTCCAAAAGATTN
TCGATGGTGAGATTCAGGTTATCAATTGTGGTATTGGAAGCATCAAAGGGAAGACCTAGACATT
CGAAAATGGACTTGAACAAGATTTTGCTGCAATTGTGTTTTCGACTGGTTACAAAAGCTCCGTG
TGCAATTGGTTAGAGGACTATGAATACGTGATTTAAAAGGATGGATTNNNNNNNNNNNCCGATG
CCGAAGCATTGGGAANNAGATAAGAATCTTNATTGTGNNNNNNNNNNNNNAGNNNNNNNNNTCG
CCGGAGCCGNNAGGATGCTATGTCCGTGCGCGACCACATCAGATCTGTCTTGCTA

Ek 3.4 *YUC10 B. stricta* cDNA Dizisi

ATGGAGACCGTAGTGGTGATTGTGGGAGCTGGACCGGCCGTTTAGCAACATCGGTTTGTCTAA
ACCAACACTCAATTCCAAACGTGATTCTCGAGAAAGAAGACATCTATGCATCACTATGGAAGA
AACGAGCCTACGATCGTCTCAAACCTTCACTTAGCCAAAGAATTTTTCGAGCTACCTTTCATGCC
ACACGGTCCTGATGTACCAACCTTTATGTCCAAAGAGCTTTTTGTCAACTACCTTGACGCTTACG
TTGCCCGTTTCGACATAAANNNTAGGTACAACCGCACCGTGAAGCTCTCAACGTTTCGATGAGTC
CAATAACAAGTGGAGGGTCGAGGCGGAAAACACGGTGACCGGAGATACCGAGGTGTATTGGTC
GGAGTTTCTGGTGGTTGCGACCGGGGAGAACGGAGATGGGAATATTCCGATGGTGAAAGGGAT
TGACACNTTTCCCCGGAGAGATTGTGCACTCGAGTGAGTACAAGTCCGGTCGTGATTTGAAAGG
TAAAAATGTTCTTGTGGTCGGAGGTGGAATTTCCGGTATGGAGATTAGTTTTGATCTTTGCAACT
TCGGAGCTAATACGACCGTTCTCATTAGAACTCCAANNNNCNTNNTNANNAAGAAGNGNNAC
ACNTNNNNANNNNANNNNTGAAGTANNNTCCAGTGACGATGGTCGACACATTGGTGACGANTA
TAGCGAAACTTGTGTACGGAGACCTCTCNAGTACGGACTCTTCAGANCAAAACAAGGTCCTTT
CGNCACCAAACCTTTTACNGNAAAAGCTCCTGTCAATTGATGTGCGAACTGTCCAAAAGATTNNC
GATGGNGAGATTNAGTNATCAATGGTGGGATTGGAAGCATCAAAGGGAAGACCTTGACNTTC
NAAAATGGANTTGAACAAGATTTTCGATGCAATTGTGTTTTCGACTGGTTACAAAAGCTCCGTCT
GCAATTGGTTAGAGGACTATGAGTACGTGATGAAGAAGGATGGATTCCCCAAAACACCGATGC
CGAAGCATTGGAAGGAGAGAAGAATCTTTACTGTGTCGGATTTTCAAGAAAGGGAATCGCCG
GAGCTGCCGAGGATGCTATGTCCGTGCGCAGACGACATAAGATCTGTCTTAGCTACCATAAAACA
TTAGAAC

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 1. *A. thaliana* türünde paternal ifadeye uğradığı bilinen bazı etiketli genler... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

Çizelge 1. <i>A. thaliana</i> türünde paternal ifadeye uğradığı bilinen bazı etiketli genler.....	9
Çizelge 2. cDNA reaksiyonu bileşenleri ve konsantrasyonları	34
Çizelge 3. RT-PCR reaksiyonunda uygulanan sıcaklık ve kullanılan örnekler.....	35
Çizelge 4. Gradyent RT-PCR bileşenleri ve konsantrasyonları	36
Çizelge 5. Gradyent RT-PCR’da kullanılan primerlerin baz dizilişleri.....	36
Çizelge 6. <i>FIE</i> , <i>FIS2</i> , <i>SUVH7</i> ve <i>YUC10</i> için kullanılan gradyent RT-PCR programı.....	37
Çizelge 7. <i>ACTIN2</i> için kullanılan PCR programı	37
Çizelge 8. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AGL92</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	40
Çizelge 9. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AGL92</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	41
Çizelge 10. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AGL92</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	42
Çizelge 11. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AGL92</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	43
Çizelge 12. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G21930</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	45
Çizelge 13. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G21930</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	46
Çizelge 14. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G21930</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	47
Çizelge 15. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G21930</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	48
Çizelge 16. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G36560</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	50
Çizelge 17. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G36560</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	51
Çizelge 18. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G36560</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	52
Çizelge 19. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT2G36560</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları.....	53
Çizelge 20. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT5G63740</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin	

erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	55
Çizelge 21. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT5G63740</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	56
Çizelge 22. BLAST sonucunda kaydedilen <i>AT5G63740</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	57
Çizelge 23. BLAST sonucunda kaydedilen <i>HDG3</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	59
Çizelge 24. BLAST sonucunda kaydedilen <i>HDG3</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	60
Çizelge 25. BLAST sonucunda kaydedilen <i>HDG3</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	62
Çizelge 26. BLAST sonucunda kaydedilen <i>HDG3</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	63
Çizelge 27. BLAST sonucunda kaydedilen <i>SUVH7</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	65
Çizelge 28. BLAST sonucunda kaydedilen <i>SUVH7</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	66
Çizelge 29. BLAST sonucunda kaydedilen <i>SUVH7</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	67
Çizelge 30. BLAST sonucunda kaydedilen <i>SUVH7</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	68
Çizelge 31. BLAST sonucunda kaydedilen <i>VIM1</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	70
Çizelge 32. BLAST sonucunda kaydedilen <i>VIM1</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	71
Çizelge 33. BLAST sonucunda kaydedilen <i>VIM1</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	72
Çizelge 34. BLAST sonucunda kaydedilen <i>VIM1</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	73
Çizelge 35. BLAST sonucunda kaydedilen <i>YUC10</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	75
Çizelge 36. BLAST sonucunda kaydedilen <i>YUC10</i> SRA <i>B. holboellii</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	76
Çizelge 37. BLAST sonucunda kaydedilen <i>YUC10</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerinin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	77

Çizelge 38. BLAST sonucunda kaydedilen <i>YUC10</i> SRA <i>B. stricta</i> dizilerine eklenen yeni dizilerin erişim numaraları, alınan ve kırılan baz sayıları	78
Çizelge 39. Melezleme sonrası izole edilen RNA miktarları	81

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. Angiospermelerde çift döllenme.	1
Şekil 2. Embriyo ve endosperm arasındaki metilasyon asimetrisi.	4
Şekil 3. Memeli(a) ve bitkilerde(b) etiketli genlerin genom üzerinde lokalizasyonu.	5
Şekil 4. PRC2.....	6
Şekil 5. MEA'nın etiketleme mekanizması.	17
Şekil 6. FIS2 ve FWA genlerinin etiketlenme mekanizması	18
Şekil 7. PHE1 geninin ifade mekanizması	19
Şekil 8. Genlerin biyoinformatik analizinde izlenen adımlar.	26
Şekil 9. SRA BLASTn programı.	27
Şekil 10. SRA veritabanında bazıları ve kalite skorlarını gösteren bir genomik dizi	28
Şekil 11. BioEdit programı ile birleştirilmiş SRA dizileri.	29
Şekil 12. Clustal W2 ile hizalanmış YUC10 geni dizisi.	31
Şekil 13. Kendileme sonrası iklim kabiniindeki <i>B. divaricarpa</i> bitkileri.	32
Şekil 14. Kendileme sonrası <i>B. divaricarpa</i> pistil dokuları.	33
Şekil 15. <i>B. divaricarpa</i> Çiçek dokusu (a) ve döllendikten sonra (3DAP) uzamaya başlayan pistil dokusu (b).....	33
Şekil 16. Çalışmada kullanılan marker haritası.	38
Şekil 17. <i>B. holboellii</i> AGL92 genine ait SRA BLAST sonucu.	40
Şekil 18. <i>B. stricta</i> AGL92 genine ait SRA BLAST sonucu.	42
Şekil 19. <i>B. holboellii</i> AT2G21930 genine ait SRA BLAST sonucu.	45
Şekil 20. <i>B. stricta</i> AT2G21930 genine ait SRA BLAST sonucu.	47
Şekil 21. <i>B. holboellii</i> AT2G36560 genine ait SRA BLAST sonucu.	49
Şekil 22. <i>B. stricta</i> AT2G36560 genine ait SRA BLAST sonucu.	52
Şekil 23. <i>B. holboellii</i> AT5G63740 genine ait SRA BLAST sonucu.	55
Şekil 24. <i>B. stricta</i> AT5G63740 genine ait SRA BLAST sonucu.	57
Şekil 25. <i>B. holboellii</i> HDG3 genine ait SRA BLAST sonucu.	59
Şekil 26. <i>B. stricta</i> HDG3 genine ait SRA BLAST sonucu.	62
Şekil 27. <i>B. holboellii</i> SUVH7 genine ait SRA BLAST sonucu.	65
Şekil 28. <i>B. stricta</i> SUVH7 genine ait SRA BLAST sonucu.	67
Şekil 29. <i>B. holboellii</i> VIM1 genine ait SRA BLAST sonucu.	69
Şekil 30. <i>B. stricta</i> VIM1 genine ait SRA BLAST sonucu.	72
Şekil 31. <i>B. holboellii</i> YUC10 genine ait SRA BLAST sonucu.	75
Şekil 32. <i>B. stricta</i> YUC10 genine ait SRA BLAST sonucu.	77
Şekil 33. Çalışmalarda kullanılan <i>B. divaricarpa</i> bitkisi.	80

Şekil 34. Tüm çiçek dokusu ve döllenmeden sonraki 1., 2. ve 3. günde (a) ve döllenmeden sonraki 4. ve 5. günde (b) izole edilen RNA'ların jel elektroforezi görüntüsü.	81
Şekil 35. Apomikt <i>Boechea</i> türlerinde ve <i>A. thaliana</i> bitkisinde var olan <i>FIE</i> geni transkriptlerinin benzerliği.....	83
Şekil 36. <i>FIE</i> geninin RT-PCR'da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.	84
Şekil 37. <i>FIE</i> geninin RT-PCR'da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve <i>ACTIN2</i> geninin jel görüntüsü.	85
Şekil 38. <i>SUVH7</i> geninin RT-PCR'da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.	86
Şekil 39. <i>SUVH7</i> geninin RT-PCR'da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve <i>ACTIN2</i> geninin jel görüntüsü.....	87
Şekil 40. <i>YUC10</i> geninin RT-PCR'da ilk dört sıcaklıktaki ürünlerinin jel görüntüsü.	88
Şekil 41. <i>YUC10</i> geninin RT-PCR'da son iki sıcaklıktaki ürünlerinin ve <i>ACTIN2</i> geninin jel görüntüsü.....	89

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı: Aslıhan ÖZBİLEN

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 10.03.1986

EĞİTİM DURUMU:

Lisans Öğrenimi: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2004-2009)

Yüksek Lisans Öğrenimi: İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü (2010-2011)

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı (2011-2013)

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

Bildiriler- Uluslararası- Ulusal:

Sezer F., **Özbilen A.**, Güneş Ş., Özcan N., Türe D., Konuk E., Taşkın K.M. Keten (Linum
usitatissimum) EST Veri Tabanlarında Korunmuş
MikroRNA ve Hedef Genlerinin Biyoinformatik Olarak Belirlenmesi. 21. Ulusal Biyoloji
Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 3-7 Eylül 2012. İzmir/TÜRKİYE

İŞ DENEYİMİ:

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı,
Araştırma Görevlisi 2011-...

İLETİŞİM:

e-posta: aslihanozbilen@hotmail.com - aozbilen@comu.edu.tr

