



T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
BİYOTEKNOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDEF HASTALIĞI TEDAVİSİ İÇİN SNP'LERİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ VE IN SILICO MOLEKÜLLERİN  
TASARIMI

Rayana Maissa SMAİL

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY  
Eş Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KARASAKAL

İSTANBUL-2023

T.C.  
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
BİYOTEKNOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEDEF HASTALIĞI TEDAVİSİ İÇİN SNP'LERİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ VE IN SILICO MOLEKÜLLERİN  
TASARIMI

Rayana Maissa SMAIL

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY  
Eş Danışmanı  
Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KARASAKAL

İSTANBUL-2023

## ÖZET

### SEDEF HASTALIĞI TEDAVİSİ İÇİN SNP'LERİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE IN SILICO MOLEKÜLLERİN TASARIMI

Sedef hastalığı, deriyi plak, fleksural, guttat, püstüler veya eritrodermik gibi çeşitli şekillerde etkileyen ve eklemleri ve gözleri bile etkileyebilen yaygın bir otoimmün ve inflamatuvar hastalıktır. Dünya çapında tahminen 60 milyon insan sedef hastalığına sahiptir ve psikolojik komorbiditesi ile birlikte varyasyonları kapsamlı, çok alanlı bir terapötik yaklaşım gerektirir.

PSORS1 lokusu, sedef hastalığının ana genetik belirleyici, Histokompatibilite Kompleksi (MHC) içinde yer almaktadır. MHC, patojenlerden türetilen peptit parçalarının bağlanması ve uygun T hücreleri tarafından tanınması için hücre yüzeylerinde gösterilmesinden sorumludur.

IL17, T yardımcı (Th) 17 tarafından üretilen bir sitokin olarak bilinmektedir ancak IL17'nin diğer önemli kaynaklarının derideki inflamatuvar uyarılara yanıt veren  $\gamma\delta$ T lenfositleri olduğu tespit edilmiştir. Th17 fenotip stabilizasyonu, tümör nekroz alfa (TNF $\alpha$ ) ile birlikte tip I interferon salgılanması yoluyla aktive edilen makrofajlar ve dendritik hücreler aracılığıyla gerçekleşmektedir.

Bu bilgi, sedef hastalığı semptomlarının yönetiminde önemli iyileşmelerle sonuçlanan hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesine yol açmıştır. Başlangıçta tümör nekroz alfa hücreleri (TNF $\alpha$ ) bloke edici ajanların yolu açılmış ve hemen ardından IL12/23, IL-23 ve IL-17'ye yönelik monoklonal antikorlar gelmiştir.

Antiseptik, antibakteriyel ve anti-inflamatuvar özellikleri ile Çay Ağacı Yağı çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde etkinliğini göstermiş olsa da, sedef hastalığının tedavisinde ne kadar etkili olduğu henüz gösterilmemiştir.

Bu çalışmanın amacı, çay ağacı yağından elde edilen terpinen-4-ol molekülü (aday ilaç molekülü) ile sedef hastalığı inflamatuvar reaksiyonundan sorumlu proteinler bağlanma etkisini hesaplamak ve aynı zamanda gendeki tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) proteinlerinin işlevi, yapısı ve stabilizasyonu üzerindeki etkisini *in silico* yöntemler kullanarak incelemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Sedef Hastalığı, SNP, *in silico*, Çay Ağacı Yağı

## ABSTRACT

### EVALUATION OF SNP'S FOR THE TREATMENT OF PSORIASIS AND IN SILICO MOLECULES DESIGN

Psoriasis is a widely spread autoimmune and inflammatory disease that affects the skin in multiple forms such as plaque, flexural, guttate, pustular or erythrodermic and that can even affect the joints and eyes. An estimated 60 million people have psoriasis worldwide and its variations along with its psychological comorbidity requires a comprehensive, multi-disciplinary therapeutic approach.

The main genetic determinant is the psoriasis susceptibility 1 locus (PSORS1) located within the Major Histocompatibility Complex (MHC). The MHC is responsible for binding peptide fragments derived from pathogens and displaying them on cell surfaces for recognition by appropriate T cells.

IL17 is known as a cytokine produced by T helper (Th) 17 but it's now established that other important sources of IL17 include  $\gamma\delta$ T lymphocytes which respond to inflammatory stimuli in the skin. Th17 phenotype stabilization occurs through macrophages and dendritic cells activated via type I interferon secretion along with tumor-necrosis alpha cells (TNF $\alpha$ ).

This knowledge has led to targeted therapies being developed resulting in significant improvements in managing psoriasis symptoms. Initially TNF $\alpha$  blocking agents paved way followed closely behind were monoclonal antibodies directed against IL12/23, IL-23 and IL-17.

Even though the Tea Tree Oil with its antiseptic, antibacterial, and anti-inflammatory properties has shown its effectiveness on treating various skin diseases, it is yet to show how efficient it is in the treatment of psoriasis.

The aim of this study is to investigate binding affinity of the active compound found in Tea Tree Oil with the proteins that are responsible of the inflammatory reaction of the psoriasis disease, while looking into the impact of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the gene on the function, structure and stabilization of the proteins using *in silico* methods.

**Keywords:** Psoriasis, SNP, Drug Interaction, *in silico*, Tea Tree Oil

## TEŞEKKÜR

Öncelikle, araştırmamı yaparken bana sağladıkları sonsuz yardım, bana verdiği değerli bilgileri, ve başarabileceğime inandırdıkları için Doç. Dr. Vildan ENİSOĞLU ATALAY ve Dr.Öğr. Üyesi Ömer Faruk KARASAKAL teşekkür ederim. Bu araştırmayı böyle bir tutku ve ilgiyle yapmamı sağladığınız için teşekkür etmek istiyorum.

Araştırmam sırasında bana verdikleri değerli destek için Hüseyin ÖZAKSEL, Heike ALAYLI, Yasemin ALAYLI ve sevgili Şehriban TOPTAŞ'a teşekkür ederim. Bu süreci benim için daha neşeli hale getirdiğiniz için teşekkür ederim.

Bugün aramızda olmayan sevgili Salah-Eddine Mohamed HEMİSSİ'ye de teşekkür etmek istiyorum. İyisiyle kötüsüyle hayat seni kaybettiğimizden beri çok farklı oldu. Her zaman dualarımızda ve kalbimizde olacaksın. Bu başarıyı senin güzel ruhuna ithaf ediyorum.

Ayrıca, güç ve umut kaynağım olan anneme, ve her zaman benim mentorum olan babama teşekkür ediyorum.

Bu çalışmayı erkek kardeşim Aghiles ile kız kardeşlerim Ines ve Lyna'ya adıyorum.

## BEYAN FORMU

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, tarafımdan üretildiğini ve řkdar niversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim



**Tarih**  
**Rayana Maissa SMAIL**  
**İmzası**

## İÇİNDEKİLER

|                                                |      |
|------------------------------------------------|------|
| ÖZET .....                                     | i    |
| ABSTRACT.....                                  | ii   |
| TEŞEKKÜR .....                                 | iii  |
| BEYAN FORMU .....                              | iv   |
| İÇİNDEKİLER .....                              | v    |
| TABLolar DİZİNİ.....                           | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                           | x    |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....            | xi   |
| 1. GİRİŞ .....                                 | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                         | 3    |
| 2.1. Polimorfizm .....                         | 3    |
| 2.1.1. SNP'ler .....                           | 4    |
| 2.2. Sedef Hastalığının Tanıtımı.....          | 5    |
| 2.2.2. Sedef Hastalığının Patofizyolojisi..... | 6    |
| 2.2.3. Sedef Hastalığının Genetik Geçmiş.....  | 6    |
| 2.2.3.1. PSORS1 Geni.....                      | 6    |
| 2.2.3.2. TH17 Hücreleri.....                   | 7    |
| 2.2.3.3. IL-17 Sitokinleri .....               | 7    |
| 2.2.3.4. IL-23 Sitokinleri.....                | 8    |
| 2.3. Melaleuca Alternifolia.....               | 9    |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                        | 10   |

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.1. Araştırmanın Tipi.....</b>                                                | <b>10</b> |
| <b>3.2. Yöntemler.....</b>                                                        | <b>10</b> |
| <b>3.2.1. Veri Eldesi.....</b>                                                    | <b>10</b> |
| 3.2.2. SNP'lerin Siliko Analizleri.....                                           | 12        |
| 3.2.3. SNP'nin Protein Stabilitesi Üzerine Etkisi.....                            | 13        |
| 3.2.5. SNP'lerin Üç Boyutlu Modellemesi.....                                      | 14        |
| 3.2.6. Moleküler Kenetleme Aşamaları.....                                         | 14        |
| 3.2.6.1. Moleküler Kenetleme (Docking) Yöntemi.....                               | 14        |
| 3.2.6.2. Hastalığın Proteinlerinin Elde Edilmesi.....                             | 15        |
| 3.2.6.3 Discovery Studio Visualer Programı ile İlgili Proteinin Hazırlanması..... | 16        |
| 3.2.6.4. Ligand Spartan'14 V1.1.4 Programında Çalışılması.....                    | 17        |
| 3.2.6.5 XYZ Koordinatlarının Elde Edilmesi.....                                   | 24        |
| 3.2.6.6.Auto DockVina Çalıştırılması.....                                         | 25        |
| <b>4.BULGULAR.....</b>                                                            | <b>26</b> |
| <b>4.1. Gen Bilgilerinin, Protein Dizisinin ve SNP'lerin Elde Edilmesi.....</b>   | <b>26</b> |
| <b>4.2. Gen Bilgileri.....</b>                                                    | <b>26</b> |
| 4.2.1. IL23R Gen Bilgileri.....                                                   | 26        |
| 4.2.2. IL17A Gen Bilgileri.....                                                   | 26        |
| <b>4.3. Biyoinformatik Analizlere Ait Bulgular.....</b>                           | <b>26</b> |
| 4.3.1. Gen-Gen Etkileşimi.....                                                    | 26        |
| 4.3.1.1. IL23R Gen-Gen Etkileşimi.....                                            | 26        |
| 4.3.1.2. IL17A Gen-Gen Etkileşimi.....                                            | 27        |

|                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.3.2. SNP'lerin Etkileri Tahmin Sonuçları.....                                      | 28        |
| 4.3.2.1. IL23R Geni Tahmini Sonuçları.....                                           | 28        |
| 4.3.2.2. IL17A Genin Tahmini Sonuçları.....                                          | 35        |
| 4.3.3. Proteinlerin Üç Boyutlu Modellemesi.....                                      | 41        |
| <b>4.4. Kenetleme Sonuçları.....</b>                                                 | <b>46</b> |
| 4.4.1. Referans Ligand QSAR Sonuç Tablosu.....                                       | 46        |
| 4.4.2. Terpinen-4-ol Afinite Değerleri.....                                          | 46        |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                             | <b>54</b> |
| <b>5.1. SNP Çalışmaları .....</b>                                                    | <b>54</b> |
| 5.1.1. Amino Asit Özellikleri.....                                                   | 54        |
| 5.1.1.1. Boyut ve Yapı.....                                                          | 54        |
| 5.1.1.2. Yük.....                                                                    | 55        |
| <b>5.2. Aday İlaç Molekülü Terpinen-4-ol ile Hedef Proteinlerin Kenetlemesi.....</b> | <b>56</b> |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                     | <b>57</b> |
| <b>7.KAYNAKLAR.....</b>                                                              | <b>58</b> |
| <b>EKLER.....</b>                                                                    | <b>62</b> |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                    | <u>Sayfa</u> |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 1:</b> Proteinlerin çözünürlük tablosu.....               | 15           |
| <b>Tablo 2:</b> Terpinen-4-ol benzer yapıları.....                 | 18           |
| <b>Tablo 3:</b> Konformer terpinen-4-ol molekülün özellikleri..... | 24           |
| <b>Tablo 4:</b> IL23R'nin SIFT Sonuçları.....                      | 29           |
| <b>Tablo 5:</b> IL23R'nin PolyPhen 2 HUMDIV Sonuçları.....         | 29           |
| <b>Tablo 6:</b> IL23R'nin PolyPhen 2 HUMVAR Sonuçları.....         | 30           |
| <b>Tablo 7:</b> IL23R'nin SNP&GO Sonuçları.....                    | 30           |
| <b>Tablo 8:</b> IL23R'nin SNAP2.....                               | 31           |
| <b>Tablo 9:</b> IL23R'nin PhD-SNP sonuçları.....                   | 31           |
| <b>Tablo 10:</b> IL23R'nin Meta-SNP sonuçları.....                 | 31           |
| <b>Tablo 11:</b> IL23R geninin fonksiyonel analiz sonuçları.....   | 33           |
| <b>Tablo 12:</b> IL23R genin I-Mutant 2.0 sonuçları.....           | 34           |
| <b>Tablo 13:</b> IL23R genin MUpro sonuçları.....                  | 34           |
| <b>Tablo 14:</b> IL17A'nın SIFT sonuçları.....                     | 35           |
| <b>Tablo 15:</b> IL17A'nın PolyPhen 2 HUMDIV sonuçları.....        | 36           |
| <b>Tablo 16:</b> IL17A'nın PolyPhen 2 HUMVAR Sonuçları.....        | 36           |
| <b>Tablo 17:</b> IL17A'nın SNP&GO Sonuçları.....                   | 37           |
| <b>Tablo 18:</b> IL17A'nın SNAP2 Sonuçları.....                    | 37           |
| <b>Tablo 19:</b> IL17A'nın PhD-SNP Sonuçları.....                  | 38           |
| <b>Tablo 20:</b> IL17A'nın Meta-SNP sonuçları.....                 | 38           |
| <b>Tablo 21:</b> IL17A geninin fonksiyonel analiz sonuçları.....   | 39           |
| <b>Tablo 22:</b> IL17A genin I-Mutant 2.0 sonuçları.....           | 40           |

|                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 23:</b> IL17A genin MUpro sonuçları.....                                                                | 40 |
| <b>Tablo 24:</b> IL23R geninde bulunan yüksek riskli SNP'lerin Project HOPE yazılımında modelleme sonuçları..... | 41 |
| <b>Tablo 25:</b> IL23R genindeki varyasyonlara ait üç boyutlu gösterimler.....                                   | 42 |
| <b>Tablo 26:</b> IL23R genin yabancı ve varyant amino asitlerin Project HOPE yazılım sonuçları.....              | 42 |
| <b>Tablo 27:</b> IL17A genin yüksek riskli SNP'lerin Project HOPE yazılımında modelleme sonuçları.....           | 43 |
| <b>Tablo 28:</b> IL17A genindeki varyasyonlara ait üç boyutlu gösterimler.....                                   | 44 |
| <b>Tablo 29:</b> IL17A genin yabancı ve varyant amino asitlerin Project HOPE yazılım sonuçları.....              | 45 |
| <b>Tablo 30:</b> Ligandlara ait kimyasal tarama verileri.....                                                    | 46 |
| <b>Tablo 31:</b> 5MVZ pdb kodlu kristal yapısı ile terpinen-4-ol afinite değerleri.....                          | 46 |
| <b>Tablo 32:</b> 5N92 pdb kodlu kristal yapısı ile terpinen-4-ol afinite değerleri.....                          | 47 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1: Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) sınıflandırılması.....                             | 4  |
| Şekil 2: Psoriasisın klinik görünümleri.....                                                           | 5  |
| Şekil 3: Sedef hastalığında TH17 hücrelerinin rolü.....                                                | 7  |
| Şekil 4: Çay ağacı yağı bitkisi.....                                                                   | 9  |
| Şekil 5: Çalışma iş akış diyagramı.....                                                                | 10 |
| Şekil 6: Moleküler kenetlemede bileşenler.....                                                         | 15 |
| Şekil 7: a) 4HR9 pdb id kodlu IL17A ve b) 5MZV pdb id kodlu IL23R proteinlerin kristal yapıları.....   | 15 |
| Şekil 8: Aday İlaç Moleküllerin 2 Boyutlu Görüntüleri Ve Swissadme Sonuçları.....                      | 17 |
| Şekil 9: a) IL17A ve ligand config dosyası; b) IL23R ve ligand config dosyası.....                     | 24 |
| Şekil 10: IL23R geni gen-gen etkileşim ağı.....                                                        | 27 |
| Şekil 11: IL17A geni gen-gen etkileşim ağı.....                                                        | 28 |
| Şekil 11: 5MVZ ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi.....                                       | 47 |
| Şekil 12: (Gly149Arg) nokta mutasyonlu 5MVZ proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi..... | 48 |
| Şekil 13: (Trp242Cys) nokta mutasyonlu 5MVZ proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi..... | 48 |
| Şekil 14: 5N92 ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi.....                                       | 49 |
| Şekil 15: (Arg123His) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi..... | 49 |
| Şekil 16: (Leu139Pro) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi..... | 50 |
| Şekil 17: (Glu91Lys) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi.....  | 50 |
| Şekil 18: (Arg95Cys) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi.....  | 51 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

**MHC:** Majör Histokompatibilite Kompleksi.

**IL23:** İnterlökin-23

**IL17:** İnterlökin-17

**SNP:** Single Nucleotide Polymorphism



## 1. GİRİŞ

Sedef hastalığı yaygın iltihaplı bir deri hastalığıdır. Bu hastalığın belirtileri deride ve eklemlerin dışında pullu, belirgin lezyonlar ve kırmızı lekelerdir. Sedef hastalığının palmopantar (çoğunlukla avuç içlerinde ve ayak tabanlarında görülür), püstüler (vücudun her yerinde pus dolu şişlikler şeklinde görülür), eritrodermik (ciltte kırmızı döküntüler) ve guttat prosiazis (küçük nokta benzeri kırmızı lezyonlar şeklinde görülür) gibi farklı varyantları bulunmaktadır (Kimmel ve Lebwohl, 2018).

Hastalığın karmaşıklığı ve esas olarak insan vücudunun en büyük organını (deri) etkilediği gerçeği, her vaka için terapötik bir tedavi arayışını komplike hale getirmektedir. Dahası sedef hastalığı kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve hipertansiyon gibi komorbiditelere de yol açmaktadır. İlgili hastalığı olan birçok hastada yaşam kalitesinin düşük olması nedeniyle depresyon geliştiği de bildirilmiştir (Nair ve Badri, 2023).

Sedef hastalığı, derinin yüzeyinde ne kadar geniş yayıldığına, oluşturduğu komorbiditelere ve hastanın yaşam kalitesine bağlı olarak deriyi hafif ila orta derecede etkileyebilir. Her iki durumda da, kortikoid içeren topikal kremler, ışık tedavisi (yapay bir UVB ışık kaynağına maruz kalmayı içeren fototerapi olarak da bilinir) ve hidroterapi ile tedavi edilebileceği gösterilmiştir (Rendon ve Schäkel, 2019).

Sedef hastalığını tedavi etmek için birçok tedavi mevcut olsa da aşırı artan nüfus sayısı nedeniyle mali yüke yardımcı olacak alternatiflere ihtiyaç duyulmaktadır. Hastalığın tedavisi için hem *in vivo* hem de *in silico* olarak gerçekleştirilen etkili araştırmalar, dikkate değer terapötik adayların keşfedilmesine yol açan ilaçların geliştirilmesinde çok etkili olmuştur. Günümüzde, "hesaplamalı farmakoloji" olarak da adlandırılan "*in silico* farmakoloji" disiplini hızla büyümektedir. Birincil amacı, birden fazla kaynaktan biyolojik ve tıbbi verilerin toplanması ve analiz edilmesi için yazılım yöntemleri sağlamaktır. Bu veriler daha sonra tahminlere olanak tanıyan, teorileri ilerleten ve nihayetinde tıbbi ve terapötik atılımlarla sonuçlanan bilgisayar simülasyonları veya modelleri geliştirmek için kullanılmaktadır. Potansiyeli ve sağlık sektöründe sağlayabileceği kayda değer iyileşme göz önüne alındığında, bu alanın son zamanlarda neden bu kadar ilgi çektiği anlaşılabilir. (Ekins ve ark., 2007).

Bu tez çalışmasının amacı, sedef hastalığının sorumlu olan proteinlerin genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri in silico yöntemler ile incelemek, ortak zararlı olabileceği varyasyonları belirtmek ve daha sonrası protein ile aday ilaç molekülü arasındaki bağlanma etkisi üzerine etkisi tahminde bulunmaktadır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Polimorfizm

DNA, biyolojik genetik taşıyıcıdır. DNA varyantları olarak da bilinen dizilerindeki değişiklikler, neredeyse tüm canlı organizmaları genetik olarak benzersiz kılan unsurdur. Değişiklikler ya da varyasyonlar belirgin bir işlevsel öneme sahip değilse, DNA polimorfizmi olarak kabul edilmektedir.

Polimorfizm, bir tür popülasyonunda alternatif fenotiplerin varlığına yol açan aynı DNA dizisinin iki veya daha fazla varyantının ortaya çıkmasıdır.

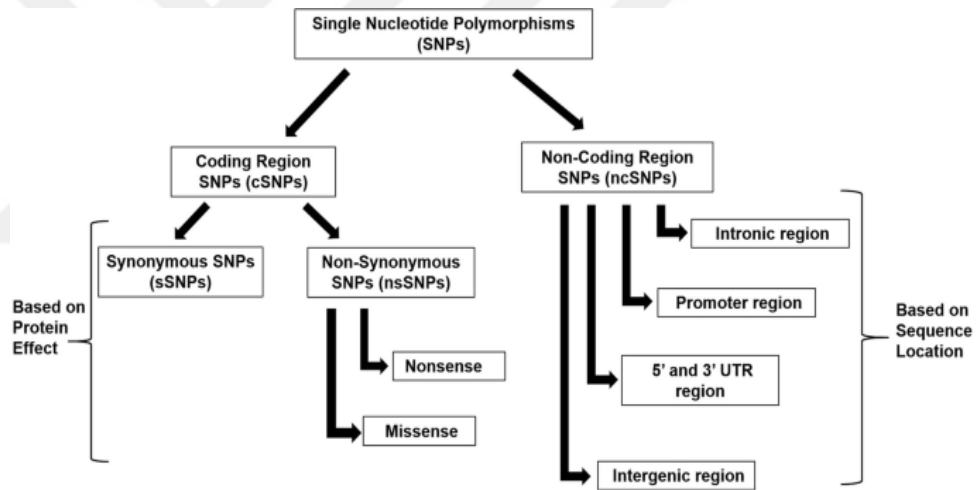
Bir polimorfizmin varlığı, ancak protein kodlayan genomun düzenleyici bir bölgesinde yer alıyorsa gen aktivitesini etkiler. Dolayısıyla, bir varyans proteindeki bir amino asidi değiştirdiğinde, proteinin aktivitesini etkilemiyorsa nötr bir varyant veya polimorfizm olarak adlandırılır ve proteinin veya genin aktivitesi üzerinde bir etkisi varsa mutant olarak adlandırılır.

DNA polimorfizmi büyük DNA dizilerinde veya sadece bir pozisyonda meydana gelebilir. Bu nedenle dört tip polimorfizm tanımlanabilmektedir:

1. RFLP - kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmi.
2. VNTR - değişken sayıda tandem tekrar.
3. SSR - basit dizi tekrarları veya STR - basit tandem tekrar (mikrosatellitler).
4. SNP - çalışmamızın konusu olan tek nükleotid polimorfizmi.

### 2.1.1. SNP'ler

Tek nükleotid polimorfizmi veya Single Nucleotide Polymorphism (SNP), bir DNA dizisindeki tek bir pozisyonun değişmesidir. SNP'lerin keşfedilmesi genetiği anlama biçimimizde devrim yaratmıştır. DNA dizileri dört baz içerdiğinden: A, C, G ve T; eğer insanların %1'inden fazlası aynı noktada diğerlerinden farklı spesifik nükleotidlere sahipse, bu bir SNP olarak kabul edilmektedir. SNP'lerin sadece genlerle sınırlı olmadığı, aynı zamanda genetik yapımızın kodlama yapmayan bölgelerinde de meydana geldiği ve bunların genin ifadesini değiştirebileceği belirtilmelidir. Bu küçük değişiklikler, amino asitlerde metabolizma veya hastalıklara yatkınlık gibi çeşitli biyolojik süreçleri etkileyebilecek önemli değişikliklere yol açabilmektedir.



Şekil 2: Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) sınıflandırılması (Sukumar ve ark., 2021).

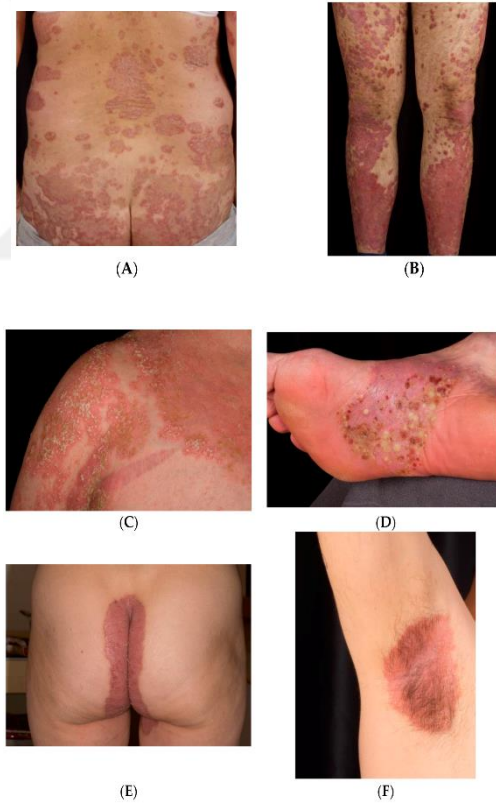
Bu nedenle, bu varyasyonların tanımlanması, belirli özelliklerin nasıl geliştiği veya hastalıkların benzersiz genomik profillerine dayalı olarak bireyler arasında nasıl farklı şekilde ortaya çıktığı hakkında, bize önemli bilgiler sağlayarak insan biyolojisi ve tıbbı hakkında yeni anlayışların önünü açmak için büyük bir potansiyele sahiptir.

## 2.2. Sedef Hastalığı

### 2.2.1. Sedef Hastalığı Tanıtımı

Sedef hastalığı veya psoriasis, güçlü genetik yatkınlığı ve otoimmün patojenik özellikleri olan kronik inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Dünya çapındaki yaygınlığı yaklaşık %2'dir, ancak bölgelere göre değişmektedir (Christophers, 2001). Esas olarak deri ve eklemleri etkiler ve tahmini global prevalansı %2-3 olan karmaşık bir genetik yapıya sahiptir (Lebwohl, M., 2003).

Sedef hastalığının yaygın varyantı olan plak tipi psoriasis vulgaris, klinik olarak iyi sınırlı papüllerin ve gümüşü pullarla kaplı plakların varlığı ile karakterize edilir ve klasik olarak en sık kafa derisi, sakral bölge ve dizlerin dış yüzeylerini içeren simetrik dağılım göstermektedir (Reich ve Szepletowski, 2014).



**Şekil 2:** Psoriasisin klinik görünümüleri. (A, B) Psoriasis vulgaris sırtta ve bacakların ekstansör yüzeylerinde eritemli pullu plaklarla gösterilmektedir. (C) Jeneralize püstüler psoriasis. (D) Ayak tabanlarında lokalize püstüler psoriasis. Bu varyant tipik olarak avuç içlerini de etkiler; dolayısıyla psoriasis pustulosa palmoplantaris olarak adlandırılmaktadır. (E,F) Ters psoriasis deri kıvrımlarını etkiler (örn. aksiller, intergluteal, meme altı ve genital bölgede yerleşim). (Rendon, ve Schäkel, 2019).

Dünya çapında tahminen 60 milyon kişide psoriasis bulunmaktadır (Raharja ve ark., 2021). Hastalık her yaşta ortaya çıkabilir, ancak iki morbidite zirvesi gözlemlenebilir: ilki 20 ila 30 yaş arasında, ikincisi ise 50 ila 60 yaş arasındadır (van de Kerkhof ve Vissers, 2003).

Sedef hastalığının nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte, çoğunlukla aile öyküsü, stres, sigara, obezite gibi çevresel faktörler ve immün disregülasyona bağlı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, beslenme gibi diğer bazı faktörlerin de hastalığın gelişimini hızlandırdığı görülmüştür: Satüre yağ asitleri, basit şekerler, kırmızı et veya alkol, nükleotid bağlayıcı alanın aktivasyonu yoluyla psoriasis şiddetlendirir (Kanda ve ark., 2020).

### 2.2.2. Sedef Hastalığının Patofizyolojisi

Psoriasisin patofizyolojisi, epidermal hiperproliferasyon, epidermal keratinositlerin anormal farklılaşması ve deride immünolojik değişikliklerle birlikte inflamasyon gibi çeşitli faktörleri içeren karmaşık bir süreçtir. Bu durum, artan DNA sentezi ve epidermis için belirgin şekilde azalmış bir devir hızı ile karakterize edilir ve ciltte pullu plakların oluşumuna yol açar.

### 2.2.3. Sedef Hastalığının Genetik Geçmişi

#### 2.2.3.1. PSORS1 Geni

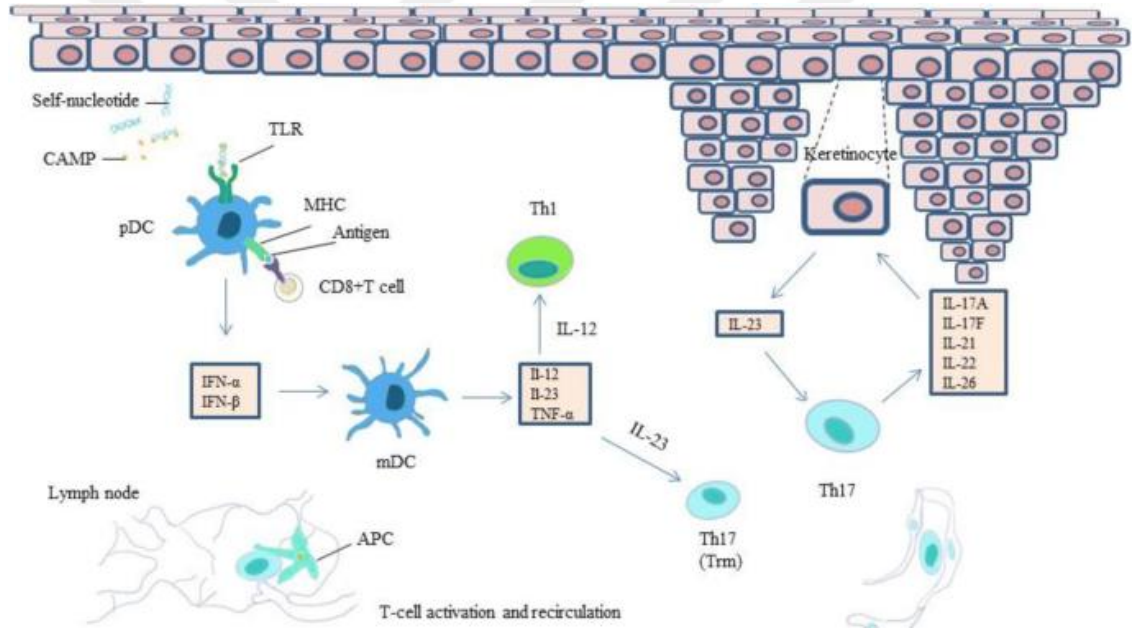
Enlund ve ark. (1999) tarafından yürütülen ailesel sedef hastalığında linkage analizi yoluyla sedef hastalığı için erken evre bir genetik çalışma, dokuz lokusun durumla bağlantılı olduğunu göstermiştir: PSORS1 ila PSORS9, PSORS1 psoriasis duyarlılığının ana determinantıdır.

PSORS1, kromozom 6p21 üzerindeki majör histokompatibilite kompleksi (MHC) bir segmentinde yer alan sedef hastalığı için ana duyarlılık lokusudur. MHC bölgesi dokuz geni kapsar, bunlardan üçü: HLA-C, CCHCR1 ve CDSN yüksek derecede polimorfik olduğu bilinen ve düzenleyici bölgelerinde psoriasis ile ilişkili kodlama mutasyonları ve hastalıkla ilişkili aleller içermektedir (Capon F., 2017).

### 2.2.3.2. TH17 Hücreleri

TH17 hücreleri, bağışıklık sisteminin koruyucu tepkilerini düzenlemek, mikrobiyal öldürmeyi teşvik etmek (IL-26 aracılığıyla) ve doku iltihabını indükleyerek bakteriyel ve fungal patojenleri temizlemek üzere işlev görmektedir (Meller ve ark., 2015).

Th17 hücreleri ve Th17 sitokinleri, çok sayıda otoimmün enflamatuvar hastalığın gelişiminde önemli faktörlerdir. Sedef hastalığı, psoriatik artrit, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi bu durumlar, hastalar için önemli rahatsızlık ve ağrıya neden olabilmektedir. Multipl skleroz, sistemik lupus eritematozus, ankilozan spondilit, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve astım da Th17 hücrelerinin ve sitokinlerin önemli bir rol oynadığı durumlara örnektir (Şekil 3). Th17 hücreleri IL-17, IL-17 F, IL-21, IL-22, IL-23 ve IL-26 proinflamatuvar sitokinlerini ifade etmektedir.



**Şekil 3:** Sedef hastalığında TH17 hücrelerinin rolü (Li ve ark., 2020).

### 2.2.3.3. IL-17 Sitokinleri

IL-17 ailesi altı izoform (IL-17A-IL-17F) altında bulunmaktadır (Martin DA ve ark., 2013). IL-17A ve IL-17F psoriasis patogenezinde önemli rol oynarken, IL-17C ve IL-17E çoğunlukla sedef hastalığının gelişimine yardımcı olmaktadır.

IL-17A ve IL-17F, homolog yapıda olmalarını sağlayan %50'lik bir dizi benzerliğine sahiptir (Zhang X ve ark., 2011). IL-17A, homodimer ve IL-17F (IL-17A/ IL-17F) ile kombinasyon halinde heterodimer olmak üzere iki şekilde bulunur; homodimer, downstream gen aktivasyonu ile biyolojik olarak en aktif izomerdir (Mosca M ve ark., 2021).

IL-17, psoriatik inflamasyonun gelişiminde ve sürdürülmesinde çok önemli bir rol oynayan güçlü bir efektör sitokindir. IL-23'ün downstream mediatörü olarak IL-17, bu kronik cilt durumunu karakterize eden karmaşık bağışıklık tepkisini düzenlemekten sorumludur.

IL-17 reseptörü, T hücreleri, epitel hücreleri ve fibroblastlar dahil olmak üzere çeşitli hücre tiplerinde bulunan çok yönlü bir proteindir. Bu reseptör bağışıklık sisteminde çok önemli bir rol oynar, enflamasyonun düzenlenmesine ve enfeksiyona karşı korunmaya yardımcı olmaktadır. Çoklu hücre tipleri üzerindeki ifadesi, uygun bağışıklık fonksiyonunun sürdürülmesindeki öneminin altını çizmektedir (Girolomoni G ve ark., 2017).

#### 2.2.3.4. IL-23 Sitokinleri

İnterlökin-23 2 alt birimden oluşur; IL23'ün benzersiz bir bileşeni olan p19 ve IL-12'nin de bir bileşeni olan p40 (R. Kollipara ve ark., 2015). IL-23, bağışıklık sisteminin enfeksiyonlara ve otoimmün hastalıklara verdiği yanıtın düzenlenmesinde hayati bir rol oynayan önemli bir sitokindir. Doğal öldürücü hücreler, nötrofiller ve Th17 hücreleri tarafından IL-17 üretimini uyarmaktadır. Bu süreç akut enfeksiyonların kontrolüne yardımcı olur ve kronik otoimmün enflamatuvar süreçlerden sorumlu olan otoreaktif IL-17 üreten T-lenfositlerin oluşumunu teşvik etmektedir. IL-23, doğal ve adaptif bağışıklık arasında bir köprü görevi görerek, bir enfeksiyona karşı ilk bağışıklık tepkisi ile sonraki adaptif bağışıklık tepkisi arasında bir bağlantı sağlamaktadır. Bu sitokin, bağışıklık homeostazının korunması ve otoimmün hastalıkların gelişiminin önlenmesi için gereklidir.

El-Leithy ve ark. (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada, IL-23R'nin psoriatik ciltte yüksek oranda eksprese edildiği ve psoriatik cilt ve eklemlerle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu kanıtlanmıştır.

### 2.3. *Melaleuca alternifolia*

Bilimsel adı ***Melaleuca alternifolia*** olan çay ağacı bitkisi ilk olarak 1770 yılında Kaptan James Cook tarafından keşfedilmiştir. Yakın zamana kadar bu bitki Avustralya yerlileri (Aborjinler) tarafından farklı cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır (Kavalalı G., 2017).

İlaçlar ve Laktasyon Veritabanı (LactMed®) tarafından çay ağacı (*Melaleuca alternifolia*) yağının esas olarak terpinen-4-ol içerdiği bildirilmiştir, ancak 1,8-sineol (okaliptol) dahil olmak üzere 100'den fazla başka bileşen tanımlanmıştır. Çay ağacı yağı, diğer ***Melaleuca*** alt türlerinden elde edilen cajeput yağı, niaouoli yağı, kanuka yağı veya manuka yağı ile karıştırılmamalıdır.

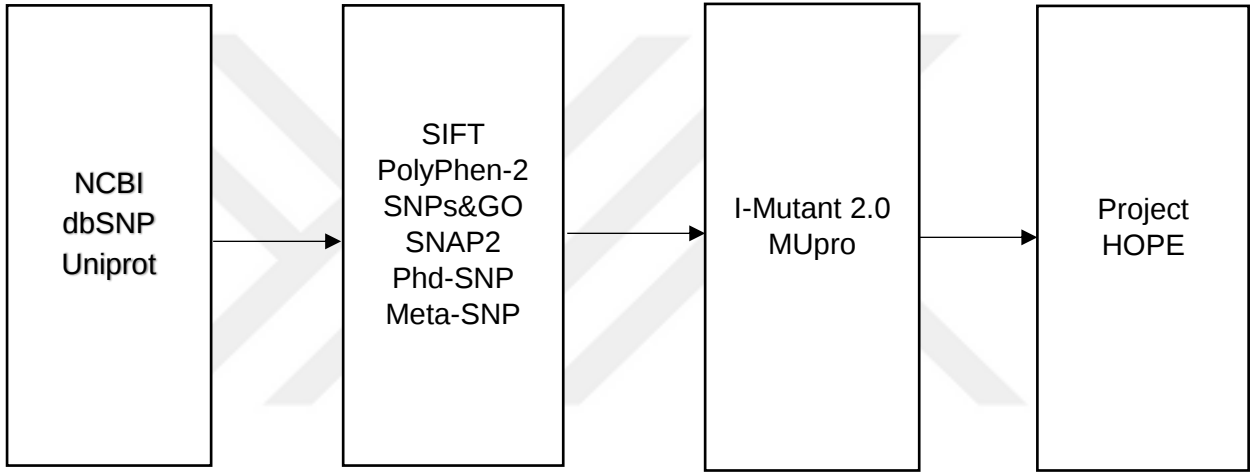


**Şekil 4:** Çay ağacı bitkisi (*Melaleuca alternifolia*) (Varma ve Abuhijleh, 2018)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın Tipi

Bu tez çalışmasında *in silico* yöntemler kullanılarak bir analiz çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada, psoriasis hastalığı bozukluğu ile ilişkili IL23R ve IL17A genindeki yanlış anlamlı SNP'lerin *in silico* analizlerini yapabilmek için, kullanımı kamuya açık olan veri tabanları ve çevrimiçi yazılım araçları kullanılmıştır.



Şekil 5: Çalışma iş akış diyagramı

#### 3.2. Yöntemler

##### 3.2.1. Veri Eldesi

Bu çalışmada, sedef hastalığı ile ilişkili IL23R ve IL17A genlerinde bulunan yanlış anlamlı SNP'lerin protein yapısı, stabilizasyonu ve fonksiyonu üzerine olası etkileri tahmin edilmiş ve kullanılan tüm yazılım araçlarında ortak zarar verici olan olası yüksek riskli SNP'ler belirlenmiştir. Bu kapsamda çalışmada hedef genlerin seçiminden itibaren uygulanan yöntem basamakları aşağıdaki gibidir.

Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI), GenBank nükleik asit dizisi veritabanı ve yaşam bilimleri dergilerinde yayınlanan referans ve özetlerin PubMed veritabanı da dâhil olmak üzere biyolojik bilgi ve veriler için geniş bir çevrimiçi kaynağa katılan bir platformdur (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

NCBI, veritabanları ve yazılımlar için önemli bir kolaylaştırıcı olmanın yanı sıra bilgisayar tabanlı bilgi işleme için en yeni yöntemlerde bir yenilikçidir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). NCBI'nin odak noktası, canlı organizmalar içindeki karmaşık yapıları ve işlevleri anlamak için gerekli olan proteinler gibi biyolojik açıdan önemli moleküllerin analizidir. NCBI'nin bu sorumlulukları göz önünde bulundurulduğunda, birçok disiplinde bilimsel araştırmaların ilerletilmesinde hayati bir rol oynadığı açıktır.

Tek Nükleotid Polimorfizm Veri Tabanı (dbSNP) dbSNP, varyasyonları (polimorfizmler ve klinik mutasyonlar), varyasyonu hemen çevreleyen yan dizinin BLAST ve E-PCR analizi yoluyla diğer NCBI dizi kaynaklarına bağlar (. NCBI, büyük ölçekte ilişkilendirme çalışmaları, gen haritalama ve evrimsel biyoloji araştırmaları yürütmek için gerekli olan her şeyi kapsayan bir genom varyasyonu veritabanına olan talebi karşılamak için proaktif bir adım atmıştır. Bu nedenle, kapsamlı genomik bilgi için bir kaynak olan dbSNP'yi başlatmışlardır (Smigielski ve ark., 2000).

dbSNP'ye yapılan gönderimler NCBI'daki GenBank, PubMed, LocusLink ve İnsan Genom Projesi verileri gibi diğer bilgi kaynaklarıyla da entegre edilmektedir. dbSNP'nin tüm içeriği aşağıdaki web sitesinde halka açıktır: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). dbSNP'nin tam içeriğine ftp://ncbi.nlm.nih.gov/snp/ adresinden anonim FTP aracılığıyla çoklu formatlarda erişilebilir (Sherry ve ark., 2001).

Evrensel Protein Kaynağı veya The Universal Protein Resource (UniProt), Avrupa Biyoinformatik Enstitüsü (EBI), Protein Bilgi Kaynağı (PIR) ve İsviçre Biyoinformatik Enstitüsü (SIB) arasında bir ortaklık olan UniProt Konsorsiyumu, protein dizileri ve bunların işlevsel ek açıklamaları için tereddütsüz, her şeyi kapsayan ve açık bir şekilde erişilebilen bir merkez sunmaktadır ([UniProt](http://www.uniprot.org)).

UniProt'un birincil operasyonları, hesaplamalı analizlerle desteklenen protein dizilerinin titiz bir şekilde düzenlenmesini içermektedir. UniProt Bilgi Bankası, UniProt Knowledgebase, Reference Clusters, Archive ve Metagenomic/Environmental

Sequences veritabanı dahil olmak üzere farklı amaçlar için <http://www.uniprot.org> adresinden çevrimiçi olarak erişebilmektedir. (Nucleic Acids Res., 2008).

### 3.2.2. SNP'lerin Siliko Analizleri

SIFT, PolyPhen-2, SNPs&GO, PHD-SNP, SNAP2 ve Meta-SNP polimorfizmlerinin tamamı ortak zarar verici SNP'leri tanımlamıştır. Protein stabilizasyonu üzerindeki etki I-Mutant 2.0 ve Mupro yazılım araçları ile değerlendirilmiştir. Bu yaygın zarar verici amino asit değişikliklerinin üç boyutlu modellemesi HOPE yazılımı ile değerlendirilmiştir.

SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), kodlama varyantlarının protein işlevi üzerindeki etkisini doğru bir şekilde tahmin eden bir algoritmadır ve 2001'deki başlangıcından bu güne güvenilir bir araç olmuştur. Kullanıcılara kendi özel genetik varyasyonları için kişiselleştirilmiş tahminler sunan ilgili web sitesiyle SIFT, kısa sürede missense varyasyonunu analiz etmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir (<http://sift-dna.org>) (Sim N.L., 2012).

PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping v2), amino asit değişikliklerinin insan proteinlerinin stabilitesi üzerindeki etkisini tahmin etmeye yardımcı olan açık bir yazılımdır. Tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP'ler) fonksiyonel açıklamasını gerçekleştirir, kodlama SNP'lerini gen transkriptlerine eşler, protein dizisi ek açıklamalarını ve yapısal nitelikleri çıkarır ve konservasyon profilleri oluşturur. Daha sonra, tüm bu özelliklerin bir kombinasyonuna dayanarak yanlış anlam mutasyonunun zarar verici olma olasılığını tahmin eder (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) (Adzhubei I., 2013).

SNAP2 sinir ağı sınıflandırıcısı olarak adlandırılır. SNAP2 yazılım aracı kullanılarak amino asit ikamesinin fonksiyonel etkileri tahmin edilebilir. Çeşitli sekans ve varyant özelliklerini dikkate alarak etkili ve nötr varyantlar / eşanlamlı olmayan SNP'ler arasında ayırım yapar (<https://roslab.org/services/snap2web/>).

PhD-SNP (Predictor of Human Deleterious - Single-Nucleotide Polymorphism) aracı, protein dizisini kullanan ve bir nsSNP'nin insanlarda genetik bir hastalıkla ilişkili olup olmadığını tahmin eden destek vektör makinelerine (SVM'ler) dayanmaktadır (Venkata Subbiah H., 2022) . PhD-SNP hem bir web sunucusu hem de büyük değişken

veri gruplarını yerel olarak işlemek için bağımsız bir yazılım olarak mevcuttur. Basit ve hafif olacak şekilde tasarlanmıştır (<http://snps.biofold.org/phd-snp/phd-snp.html>).

SNPs&GO, protein fonksiyonel notunu kullanarak bir mutasyonun hastalıkla ilişkili olup olmadığını tahmin etmek için bir protein dizisinden başlayan bir yöntemdir. Son zamanlarda zararlı SAP'leri tahmin etmek için en iyi algoritmalarından biri olarak değerlendirilmiştir (<https://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go/>) (Venkata Subbiah H., 2002).

Meta-SNP, tek bir noktadaki belirli bir protein varyasyonunun hastalıkla bağlantılı veya polimorfik olarak sınıflandırılıp sınıflandırılmayacağını etkili bir şekilde belirlemek için tasarlanmıştır. Meta-analiz süreci, birden fazla araştırma çalışmasından elde edilen bilgilerin sayısal olarak birleştirilmesini sağlayan çeşitli teknikleri içermektedir ([Meta-SNP - Meta-predictor of disease causing variants \(biofold.org\)](http://meta-snp.biofold.org/)).

### 3.2.3. SNP'nin Protein Stabilitesi Üzerine Etkisi

I-Mutant 2.0 (<http://gpcr2.biocomp.unibo.it/cgi/predictors/I-Mutant3.0/I-Mutant3.0.cgi>), isimli varyasyonlar üzerine protein stabilite değişikliklerinin tahmini için makine tabanlı bir destek vektörü aracıdır. Bu internet tabanlı yazılım aracı, protein yapısından veya protein dizisinden başlayarak, SNP üzerindeki stabilite değişikliğini değerlendirmektedir. DDG değeri (amino asit değişimi serbest enerjisindeki fark), varyant proteinin katlanan Gibbs serbest enerji değeri eksi yabanıl türün katlanan Gibbs serbest enerjisi değeri (kcal/mol) ile hesaplanır ve <0 puanları algoritma tarafından tahmin edilmektedir. Stabilitenin azaldığını gösterirken, >0 puanların artan stabiliteyi gösterdiği kabul edilmektedir.

MUpro, (<http://mupro.proteomics.ics.uci.edu/>), yanlış anlam mutasyonlarının proteinlerin stabilitesi üzerindeki etkisini tahmin etmek için kullanılır. MUpro, protein dizisi ve üçüncül yapı bilgilerini uygulayarak protein stabilite değişikliğini tahmin edebilmektedir (Avsar O., 2022).

Gen gen etkileşimlerinin tespiti için ise GeneMANIA (<http://genemania.org>) yazılım aracı kullanılmıştır. Gen fonksiyonu hakkında hipotezler üretmeye, gen haritalarını analiz etmeye ve fonksiyonel taramalar için genlere öncelik vermeye yönelik bir web sitesidir (Franz ve ark., 2018).

### 3.2.5. SNP'lerin Üç Boyutlu Modellemesi

HOPE, nokta mutasyonlarının yapısal ve işlevsel etkilerini analiz edebilen otomatik bir programdır. HOPE, proteinin 3D koordinatlarının tahminleri ve UniProt veritabanından dizi ek açıklamaları dâhil olmak üzere çok çeşitli bilgi tabanlarından bilgi toplamaktadır. Yabani ve mutant tip amino asitin yük, boyut ve hidrofobiklik gibi özellikleri hakkında sonuç vermektedir (Venselaar H. ve ark., 2010).

### 3.2.6. Moleküler Kenetleme Aşamaları

#### 3.2.6.1. Moleküler Kenetleme (Docking) Yöntemi

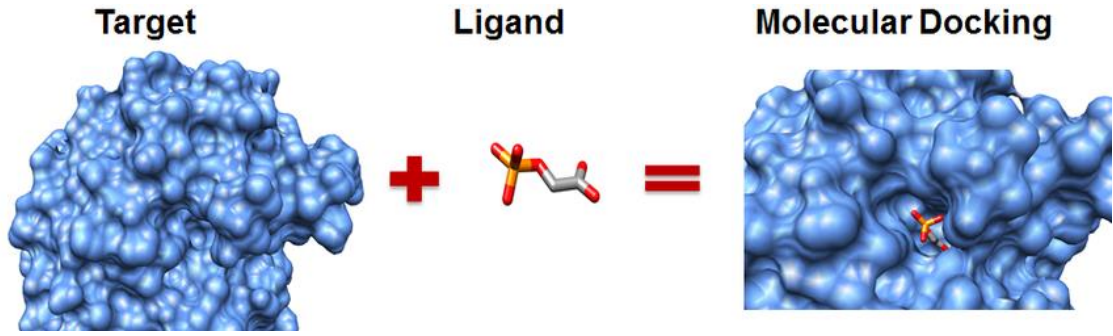
Moleküler kenetleme (docking), bilim insanlarının proteinler ve küçük moleküller (Şekil 6) arasındaki etkileşimi tahmin etmelerini sağlayan yenilikçi bir moleküler modelleme tekniğidir.

Bu modern teknoloji, araştırmacıların proteinlerin dinamiklerini ve biyolojik işlevlerini anlamalarına yardımcı olabilir. Supramoleküler bir kompleks oluşturma yeteneği ile ligand-protein kenetlenmesi, bir ligandın bir protein ile bağlanma mod(lar)ında çok önemli bir rol oynar (Morris GM. ve Lim-Wilby, 2008).

Tüm docking programları, ligandın konformasyonel ve oryantasyonel yollarla reseptör üzerindeki belirli bir bölgeye bağlanma sınırları içinde konumlandırılmasını içeren örneklemeyi içermektedir. Ayrıca, bu moleküller arasındaki her bir potansiyel etkileşim için oryantasyon veya translasyon gibi faktörlere bağlı olarak en uygun pozları belirlemek ve bunları buna göre sıralamak için skorelama fonksiyonları kullanılmaktadır (Rizvi S.M. ve ark., 2013).

Başarılı bir docking çalışmasının esas amacı iki yönlüdür: hem pozisyon tahminini (yani iki molekülün tam olarak nasıl etkileşime gireceğini belirlemek) hem de afinite tahminini (ne kadar güçlü bir şekilde bağlanacaklarını) doğru bir şekilde bulmaktır.

Bu bilgi sayesinde araştırmacılar, ilaç geliştirme stratejileri veya moleküler etkileşimlerin önemli bir rol oynadığı diğer uygulamalar hakkında bilinçli kararlar alabilmektedir.



Şekil 6: Moleküler kenetlemede bileşenler (Tenorio ve ark., 2013).

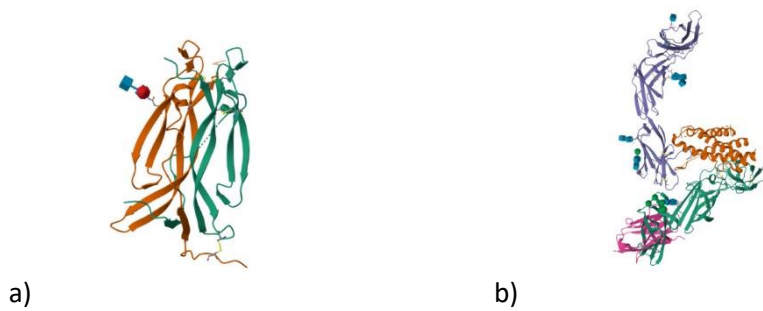
Bu çalışmada, seçilmiş protein yapıları ile aday ligand molekülleri arasında Docking yöntemi Discovery Studio Visualizer, Autodock Vina ve Spartan'14 V1.1.4 programlarını kullanarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.6.2. Hastalığın Proteinlerinin Elde Edilmesi

Protein Data Bank (Nature New Biology (1971)) (Open-access data: A cornerstone for artificial intelligence approaches to protein structure prediction Structure 29: (2021)) sitesinden hastalığa ait proteinler X-ray kristal yapıda, Homo Sapiense organizması üzerinde çalışılmış ve toplamda 2 adet, çözünürlüğü sırasıyla 2.30 Å ve 2.80 Å olan 5N92 ve 5MZV pdb id kodlu kristal yapıları ile çalışılmıştır.

Tablo 1: Proteinlerin çözünürlük tablosu

| Molekül | Çözünürlük (Å) | PDB ID |
|---------|----------------|--------|
| IL23R   | 2.80 Å         | 5MZV   |
| IL17A   | 2.48 Å         | 5N92   |



Şekil 7: a) 5N92 pdb id kodlu IL17A ve b) 5MZV pdb id kodlu IL23R proteinlerin kristal yapıları (<https://www.rcsb.org/>)

### 3.2.6.3 Discovery Studio Visualer Programı ile İlgili Proteinin Hazırlanması

PDB'den belirli filtrelemelerle elde edilen IL17A, L23R, 5N92 ve 5MZV kristal yapıları Discovery Studio Visualer (BIOVIA) programı aracılığıyla kenetlenme işlemi yapılabilecek şekilde su moleküllerinden kaldırıp, aktif bölgesindeki ligand temizlendikten sonra .pdb formatında kaydedilmiştir.

Kristalize durumdaki proteinin aktif bölgesi için Levomenol ve Terpinen-4-ol molekülleri olarak elde edilmesinde Drugbank sitesinden Şekil 8 de görüldüğü gibi IL23R ve IL17A ile ilgili proteinlere ait ligandlar alınmıştır.

Bisabolol olarak da bilinen Levomenol'un, anti-irritant, anti-enflamatuar ve anti-mikrobiyal etkiler gibi faydalı farmakolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Levomenol'un ayrıca belirli moleküllerin perkütan emilimini arttırdığı da gösterilmiştir.

Arenberger ve ark. (2011) tarafından yürütülen bir çalışma levomenol içeren kremlerinin atopik dermatitis hastalarında önemli bir iyileşme sağladığını göstermiştir.

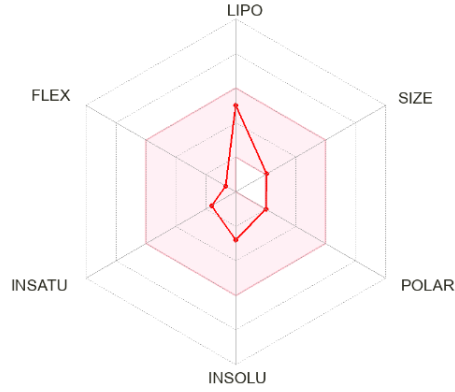
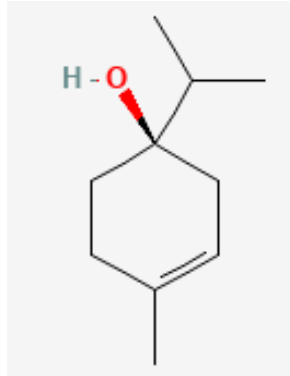
Terpinen-4-ol, Çay ağacı yağının ana biyoaktif bileşenlerinden biridir (Shapira ve ark., 2016). Anti mikrobiyal ve anti inflammatuar özellikler gibi geniş bir biyoaktiviteye sahip olan bir monoterpendir ve cilt tedavilerinde de birçok başarı göstermiştir.

Bassett ve ark. (1990) tarafından yürütülen bir çalışmada, 124 hastanın %5'inde hem iltihaplı hem de iltihapsız akne lezyonlarında (açık ve kapalı komedonlar) iyileşme ve çay ağaç yağına karşı cilt iyi bir toleransı görüldüğü tespit edilmiştir.

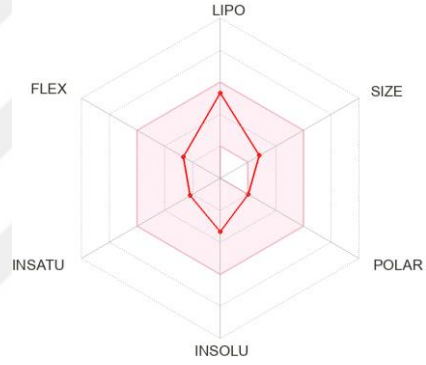
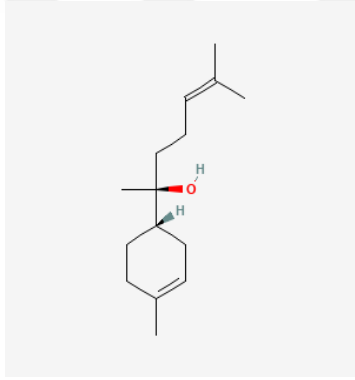
Hart ve ark. (2000) tarafından yürütülen başka bir çalışmada, terpinen-4-ol'un tümör nekroz faktörü-alfa TNFalfa üretimini baskılayabildiği ve böylece inflammatuar reaksiyonu önemli ölçüde önlediği bulunmuştur.

Bu çalışma için terpinen-4-ol'un aday ilaç molekül olarak seçilmesinin nedeni, levomenol (DrugBank'a göre onaylı bir moleküldür) ile yapısal benzerliği, anti-enflamatuar tedavilerdeki olumlu sonuçları ve ayrıca IL23R ve IL17A proteinleri için de iyi bir inhibitör olup olmayacağının araştırılmasıdır.

Hem Levomenol hem de Terpinen-4-ol'un SwissAdme ilaç benzerlik skorları ve 2D yapıları resimde gösterilmiştir.



Terpinen-4-ol



a) Levomenol

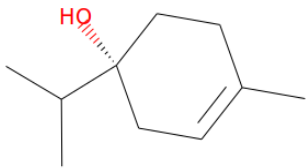
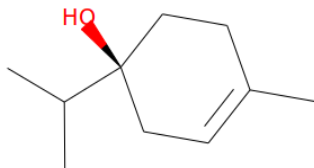
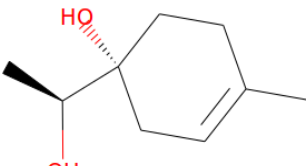
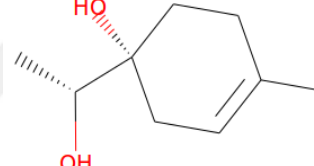
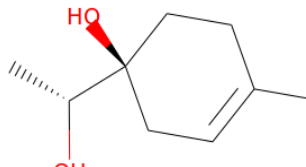
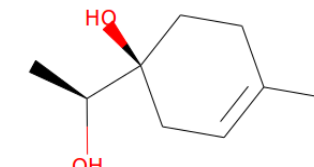
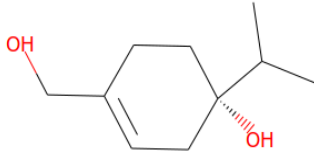
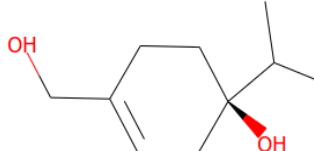
**Şekil 8:** Aday İlaç Moleküllerin 2 Boyutlu Görüntüleri Ve Swissadme Sonuçları (<https://go.drugbank.com/>) (<http://www.swissadme.ch/>)

#### 3.2.6.4. Ligand Spartan'14 V1.1.4 Programında Çalışılması

ZINC15, öncelikle sanal tarama, ligand keşfi, farmakofor taraması, ilaç taraması, kıyaslama ve kuvvet alanı geliştirme için bileşiklere hazır erişim sağlamak üzere geliştirilmiş bir genel erişim veritabanı ve araç setidir (Sterling ve ar., 2015).

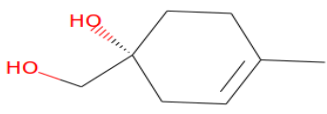
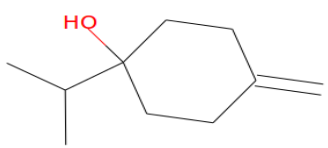
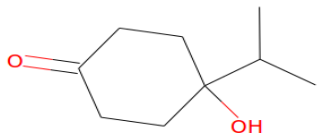
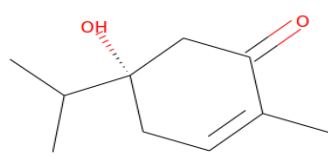
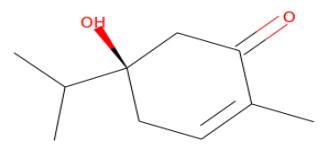
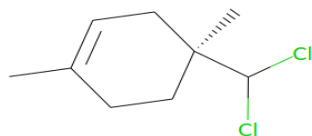
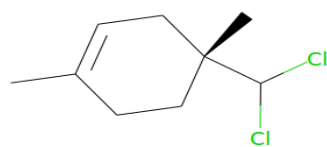
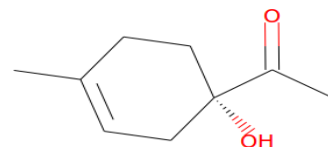
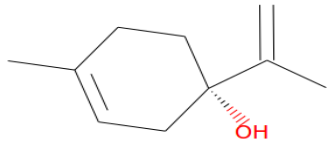
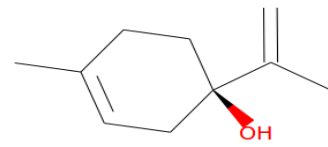
Terpinen-4-ol'e benzer yapılar ZINC15 veri tabanında araştırılmış (Tablo 2), hiçbirisi FDA onaylı olmadığı tespit edilmiş, Spartan14 hesaplamaları için ZINC4262096 (origanol) yapısı seçilmiştir.

**Tablo 2:** Terpinen-4-ol benzer yapıları ([ZINC \(docking.org\)](https://zinc.docking.org))

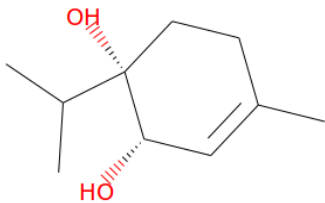
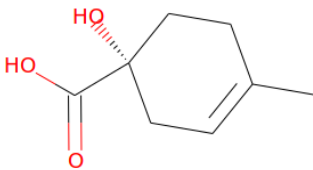
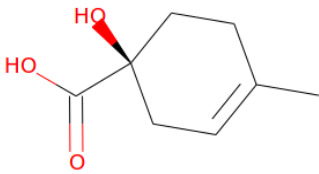
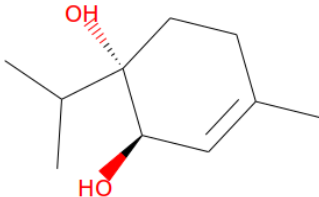
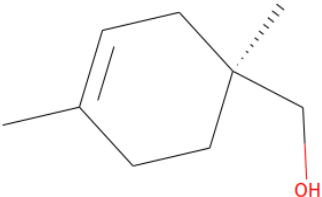
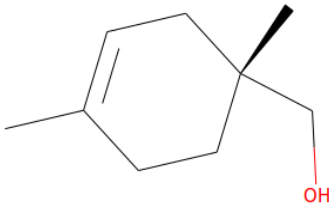
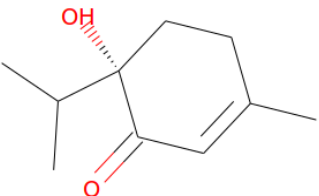
|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |
| ZINC4262096 (Origanol)                                                              | ZINC3861537 (Origanol)                                                               |
|    |    |
| ZINC306649695                                                                       | ZINC306649683                                                                        |
|  |  |
| ZINC306649705                                                                       | ZINC306649690                                                                        |
|  |  |
| ZINC14588769                                                                        | ZINC14588768                                                                         |

|               |               |
|---------------|---------------|
|               |               |
| ZINC39104305  | ZINC238210862 |
|               |               |
| ZINC85646412  | ZINC201641385 |
|               |               |
| ZINC238205673 | ZINC201641354 |
|               |               |
| ZINC95923753  | ZINC5767321   |

|               |               |
|---------------|---------------|
|               |               |
| ZINC5767199   | ZINC14588760  |
|               |               |
| ZINC14588761  | ZINC14588762  |
|               |               |
| ZINC14588763  | ZINC306387955 |
|               |               |
| ZINC307683670 | ZINC136703044 |

|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |
| ZINC307683670                                                                       | ZINC136703044                                                                        |
|    |    |
| ZINC84323254                                                                        | ZINC39104306                                                                         |
|   |   |
| ZINC39104231                                                                        | ZINC238239937                                                                        |
|  |  |
| ZINC238244693                                                                       | ZINC137270234                                                                        |
|  |  |
| ZINC14588424 (Limonen-4-Ol)                                                         | ZINC14588423 (Limonen-4-Ol)                                                          |

|               |               |
|---------------|---------------|
|               |               |
| ZINC39049240  | ZINC39070087  |
|               |               |
| ZINC39049239  | ZINC306579371 |
|               |               |
| ZINC306928518 | ZINC14588737  |
|               |               |
| ZINC306928519 | ZINC306684054 |
|               |               |
| ZINC306928520 | ZINC14588739  |

|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|    |    |
| ZINC14588736                                                                        | ZINC59345056                                                                         |
|    |    |
| ZINC59345054                                                                        | ZINC14588738                                                                         |
|  |  |
| ZINC196540441                                                                       | ZINC136933237                                                                        |
|  |                                                                                      |
| ZINC14488015                                                                        |                                                                                      |

Spartan'14 V1.1.4, Wavefunction (David Young, 2001) tarafından geliştirilen bir moleküler modelleme ve hesaplamalı kimya uygulamasıdır. Birincil fonksiyonları, izole moleküllerin yapıları, rölatif stabiliteleri ve diğer özellikleri hakkında bilgi sağlamaktır.

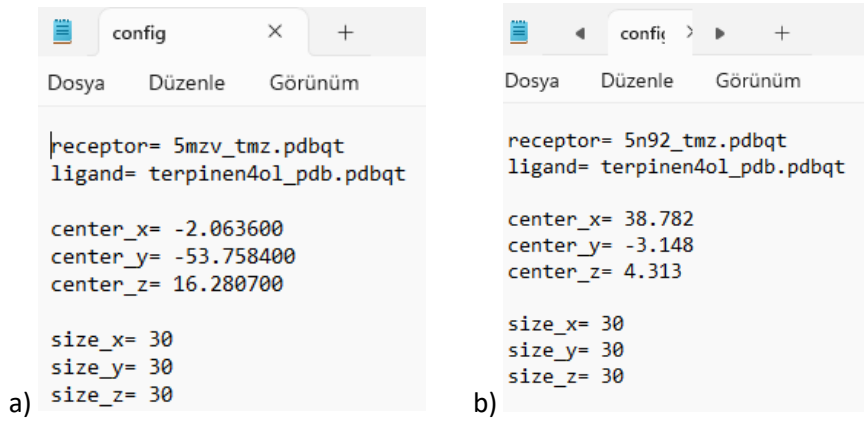
Moleküllerin konformer taramalarını yapmak için Semi-Empirical/PM6 metodu uygulanmıştır. Optimize uygulanan moleküllerden enerji, logP, polarizability, hacim, dipol moment, ağırlık parametreleri elde edilmiştir.

**Tablo 3:** Konformer terpinen-4-ol molekülün özellikleri (Spartan'14 (2014) Wavefunction Inc., Irvine.)

| Formula                           | Energy             |                  |                         |                 |                | Dipol |                |        |            |
|-----------------------------------|--------------------|------------------|-------------------------|-----------------|----------------|-------|----------------|--------|------------|
|                                   | Energy<br>(kJ/mol) | (aq)<br>(kJ/mol) | Solvation<br>E (kJ/mol) | Weight<br>(amu) | E HOMO<br>(eV) | LogP  | Polarizability | Volume | Moment     |
| C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O | -312.81            | -319.16          | -6.34                   | 154.253         | -9.30          | 2.23  | 54.09          | 187.75 | 1.85 debye |

### 3.2.6.5 XYZ Koordinatlarının Elde Edilmesi

5N92 ve 5MZ pdb kodlu kristal yapıları için tespit edilen aktif bölgelerine ait merkezi -x, y, z koordinatları Şekil 9'da belirtilmiştir:



**Şekil 9:** a) IL23R ve ligand config dosyası; b) IL17A ve ligand config dosyası

### 3.2.6.6. AutoDock Vina Çalıştırılması

Protein ve ligand kenetlenmesinin kapsamlı bir şekilde incelenmesinin ardından, dosya analizi için pdbqt komut istemi (cmd) aracılığıyla AutoDock Vina programını kullanmak önemlidir. Şekil yönergelerine uygun olarak "\\Program Files (x86)\\The Scripps Research Institute\\Vina\\vina.exe" --config config.txt --log log.txt girilerek sonuçlar etkin bir şekilde elde edilebilmektedir. Afinite değerleri, proteinler ve ligandlar arasındaki moleküler etkileşimlere kcal mol<sup>-1</sup> olarak ifade edilmektedir. (Bianco ve ark., 2016).



## 4. BULGULAR

### 4.1. Gen Bilgilerinin, Protein Dizisinin ve SNP'lerin Elde Edilmesi

Genler belirlendikten sonra, seçilen genlerin bilgileri, protein bilgileri ve tek nükleotid polimorfizmlerinin tespit edilmesi için NCBI, Uniprot ve NCBI dbSNP veri tabanlarından faydalanılmıştır.

### 4.2. Gen Bilgileri

#### 4.2.1. IL23R Gen Bilgileri

IL-23 Receptör geni, IL23R olarak adlandırılmaktadır (NCBI GENES). IL23R geni tarafından kodlanan proteinin UniprotKB erişim numarasının Q5VWK5 olduğu, giriş adının IL23R\_HUMAN olduğu bilgileri ve FASTA formatında protein dizisi Uniprot veri tabanından alınmıştır (Uniprot, n.d.). IL23R genine ait tüm SNP sayısı 49771, yanlış anlamlı SNP sayısı ise 506 olmak üzere NCBI dbSNP veri tabanından alınmıştır (17 Mart 2023) (NCBI SNP).

#### 4.2.2. IL17A Gen Bilgileri

Interleukin-17A protein geni, IL17A veya Sitotoksik T-lenfosit-ilişkili antijen 8 (CTLA-8) olarak adlandırılmaktadır (NCBI GENES). Sitotoksik T-lenfosit-ilişkili antijen 8 (CTLA-8) olarak da bulunmaktadır. IL17A geni tarafından kodlanan proteinin UniprotKB erişim numarasının Q16552 olduğu, giriş adının IL17\_HUMAN olduğu bilgileri ve FASTA formatında protein dizisi Uniprot veri tabanından alınmıştır (Uniprot, n.d.). IL17A genine ait tüm SNP sayısı 2564, yanlış anlamlı SNP sayısı ise 135 olmak üzere NCBI dbSNP veri tabanından alınmıştır (17 Mart 2023) (NCBI SNP).

### 4.3. Biyoinformatik Analizlere Ait Bulgular

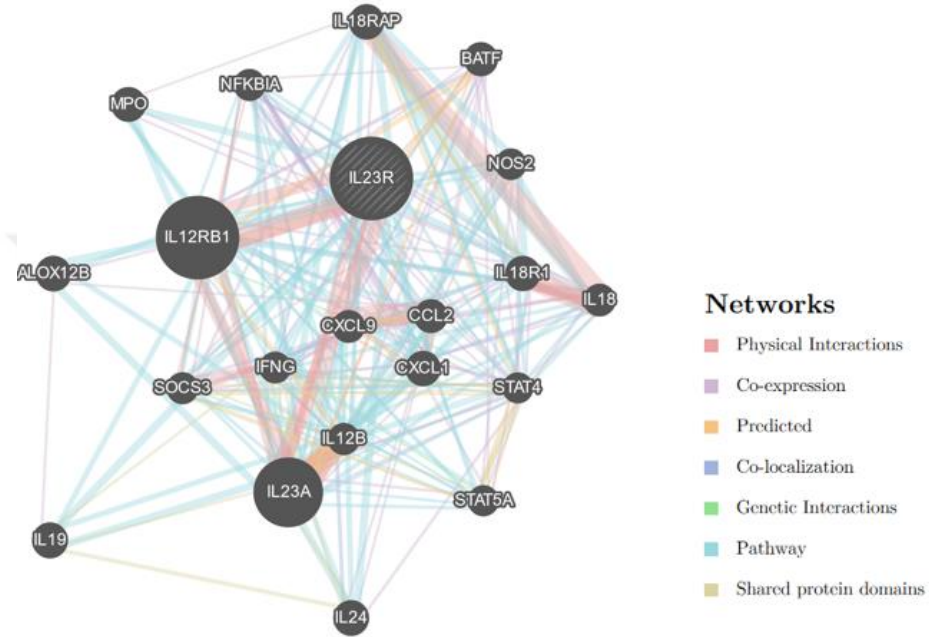
Psoriasis hastalığı için yapılan biyoinformatik analiz aşağıda açıklandığı gibi sonuç vermektedir.

#### 4.3.1. Gen-Gen Etkileşimi

GeneMANIA yazılım aracı kullanılarak genler arası etkileşimler belirlenmiş olup, 2 gene ait fonksiyonel ve etkileşimsel bilgiler alınmıştır.

#### 4.3.1.1. IL23R Gen-Gen Etkileşimi

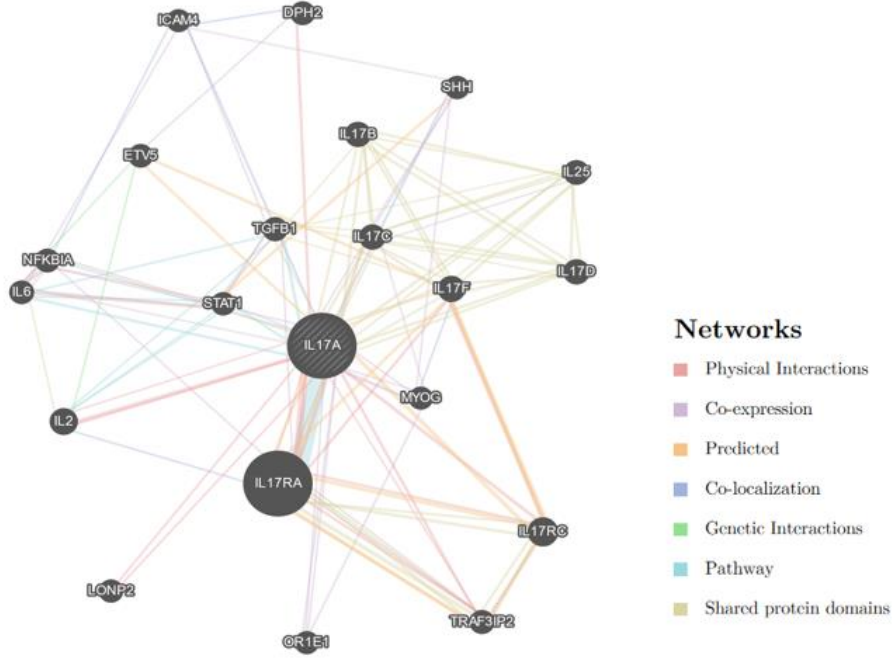
IL23R geninin 20 gen ile etkileşimine bakıldığında aralarında toplamda 286 bağlantı olduğu tespit edilmiştir. Maksimum ilişkili ilk 5 geninin ise; IL12RB1, IL23A, IL19, IL24, ALOX12B olduğu tespit edilmiştir (GENEMANIA). IL23R genine ait gen-gen etkileşim ağı Şekil 10'da verilmektedir.



Şekil 10: IL23R geni gen-gen etkileşim ağı (Warde-Farley ve ark., 2010).

#### 4.3.1.2. IL17A Gen-Gen Etkileşimi

IL17A geninin 20 gen ile etkileşimine bakıldığında aralarında toplamda 137 bağlantı olduğu tespit edilmiştir. Maksimum ilişkili ilk 5 geninin ise; IL17RA, IL17RC, IL2, IL17F ve IL17C olduğu tespit edilmiştir (GENEMANIA).



Şekil 11: IL17A geni gen-gen etkileşim ağı (Warde-Farley ve ark., 2010).

#### 4.3.2. SNP'lerin Etkileri Tahmin Sonuçları

NCBI dbSNP veri tabanından IL23R ve IL17A genleri için elde edilen yanlış anlamlı SNP'ler ve her bir SNP'ye ait amino asit değişimi bilgileri kullanılıp, bunlar arasından protein dizilimlerinde yer alan varyantlar baz alınarak; SIFT, PolyPhen-2, SNPs&GO, SNAP2, PhD-SNP ve Meta-SNP yazılımlarından fonksiyonel analiz sonuçları elde edilmiştir.

##### 4.3.2.1. IL23R Geni Tahmini Sonuçları

IL23R genine ait SNP bilgileri NCBI dbSNP veri tabanından Mart 2023 tarihinde erişim sağlanarak elde edilmiştir. IL23R genine ait tüm SNP sayısı 49771, yanlış anlamlı SNP sayısı ise 506 olmak üzere NCBI dbSNP veri tabanından alınmıştır (NCBI SNP) bu SNP'lere ait toplam 568 farklı varyantın olduğu belirlenmiş ve ileri *in siliko* analizler için kaydedilmiştir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

IL23R genine ait tüm SNP'ler SIFT ile analiz edildiğinde, varyantlardan 47'inde SIFT sonucu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 25 tanesinin zararlı olabileceği, 22 tane

varyantın varyasyona tolere olabileceği tahmin edilmiştir. Ayrıca, 521 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 4)

**Tablo 4:** IL23R'nin SIFT Sonuçları

| SIFT Sonucu  | Sayı |
|--------------|------|
| Zararlı      | 25   |
| Bulunmadı    | 521  |
| Tolerated    | 22   |
| Genel Toplam | 568  |

PolyPhen-2 HumDiv ile analiz edilen varyantlardan; 100'ü muhtemel zararlı etkili, 179'u olası Büyük İhtimalle Zararlı etkili ve 266'sının zararsız olduğu şeklinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 23 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 5).

**Tablo 5:** IL23R'nin PolyPhen 2 HUMDIV Sonuçları

| PolyPhen 2 HUMDIV Sonucu | Sayı |
|--------------------------|------|
| Zararsız                 | 266  |
| Bulunamadı               | 23   |
| Muhtemel Zararlı         | 100  |
| Büyük İhtimalle Zararlı  | 179  |
| Genel Toplam             | 568  |

PolyPhen-2 HumVar sonuçları ise; 83'üsünü muhtemel zararlı etkili, 119'uznu olası Büyük İhtimalle Zararlı etkili ve 343'üsünü zararsız olduğu şeklinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 23 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 6).

**Tablo 6:** IL23R'nin PolyPhen 2 HUMVAR Sonuçları

| <b>PolyPhen 2 HUMVAR Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|---------------------------------|-------------|
| <b>Zararsız</b>                 | 343         |
| <b>Bulunamadı</b>               | 23          |
| <b>Muhtemel Zararlı</b>         | 83          |
| <b>Büyük İhtimalle Zararlı</b>  | 119         |
| <b>Genel Toplam</b>             | <b>568</b>  |

SNPs&GO analizinde varyantlardan 59'ünün hastalık ilişkili, olduğu yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 26 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 7)

**Tablo 7:** IL23R'nin SNP&GO sonuçları

| <b>SNP&amp;GO Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|--------------------------|-------------|
| <b>Hastalık</b>          | 59          |
| <b>Nötr</b>              | 483         |
| <b>Bulunamadı</b>        | 26          |
| <b>Genel Toplam</b>      | <b>568</b>  |

SNAP2 analizinde varyantlardan 217'sinin zararlı etkili, 336'unun nötral etkili olabileceği yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 15 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 8).

**Tablo 8:** IL23R'nin SNAP2 sonuçları

| <b>SNAP2 sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|---------------------|-------------|
| <b>Zararlı</b>      | 217         |
| <b>Nötr</b>         | 336         |
| <b>Bulunamadı</b>   | 15          |
| <b>Genel Toplam</b> | <b>568</b>  |

PhD-SNP analizinde varyantların sonuçları; 88 hastalık ilişkili etki tahmini, 455 nötral etkili tahmini olacak şekilde tespit edilmiştir. Kalan SNP'ler için sonuç bulunmamıştır. Ayrıca, 25 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 9).

**Tablo 9:** IL23R'nin PhD-SNP sonuçları

| <b>PhD-SNP Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|-----------------------|-------------|
| <b>Zararlı</b>        | 88          |
| <b>Nötr</b>           | 455         |
| <b>Bulunamadı</b>     | 25          |
| <b>Genel Toplam</b>   | <b>568</b>  |

Meta-SNP analizinde varyantların 139'unu hastalık ilişkili etkisi, 402'sinin nötral etkili olabileceği yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 27 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 10).

**Tablo 10:** IL23R'nin Meta-SNP sonuçları

| <b>Meta-SNP Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|------------------------|-------------|
| <b>Zararlı</b>         | 139         |
| <b>Bulunamadı</b>      | 27          |
| <b>Nötr</b>            | 402         |
| <b>Genel Toplam</b>    | <b>568</b>  |

İleri analizlerin gerçekleştirildiği tüm yazılım programlarının 8 'inde IL23R genine ait zararlı/hastalıkla ilişkili SNP'ler tespit edilmiştir. Toplam 2 yanlış anlamlı SNP'nin yüksek riskte zararlı olabileceği belirlenmiş olup, Tablo 11 'de analiz sonuçları sunulmaktadır.



**Tablo 11:** IL23R geninin fonksiyonel analiz sonuçları

| SNP ID      | Amino<br>asit<br>değişimi | SIFT<br>Sonucu | SIFT<br>Skor | PolyPhen 2<br>HUMDIV | PSIC<br>SD   | POLYPHEN 2<br>HUMVAR | PSIC<br>SD   | SNAP2<br>Predict<br>Effect | Score | Expected<br>Accuracy | SNP&GO<br>Prediction | RI       | PHD-<br>SNP | RI |
|-------------|---------------------------|----------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------------|-------|----------------------|----------------------|----------|-------------|----|
| rs76418789  | Gly149Arg                 | Z              | 0            | <b>B.I.Z</b>         | <b>1,000</b> | <b>B.I.Z</b>         | <b>1,000</b> | Zararlı                    | 52    | 75%                  | H                    | <b>3</b> | H           | 8  |
| rs369986474 | Trp242Cys                 | Z              | 0            | <b>B.I.Z</b>         | <b>1,000</b> | <b>B.I.Z</b>         | <b>1,000</b> | Zararlı                    | 72    | 85%                  | H                    | <b>3</b> | H           | 7  |

**Z:** Zararlı **B.I.Z:** Büyük İhtimalle Zararlı **H:** Hastalık

Tüm çevrimiçi yazılım araçlarının fonksiyonel olarak zararlı olabileceğini tahmin ettiği 2 varyant için I-Mutant 2.0 yazılım aracı ile analiz yapılmıştır. I-Mutant 2.0 çevrimiçi yazılım aracına, IL23R proteinindeki 2 amino asit değişimin her biri için; IL23R proteininin tek harfli amino asit kodlarından oluşan kanonik protein dizisi, amino asit değişiminin pozisyonu ve mutant tip amino asit bilgisi girilmiştir.

I-Mutant 2.0 programından elde edilen bulgular sonucunda, 2 adet amino asit değişiminin tümünün protein stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Tahmin sonuçları Tablo 12’de sunulmuştur.

**Tablo 12:** IL23R genin I-Mutant 2.0 sonuçları

| SNP ID      | Amino asit değişimi | I-Mutant 2.0 Tahmini | Gİ (Güvenilirlik İndeksi) |
|-------------|---------------------|----------------------|---------------------------|
| rs76418789  | Gly149Arg           | Azalma               | 8                         |
| rs369986474 | Trp242Cys           | Azalma               | 6                         |

MUpro programından elde edilen bulgular neticesinde 2 amino asit substitüsyonunun da protein stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Tahmin sonuçları Tablo 13’te sunulmuştur.

**Tablo 13:** IL23R genin MUpro sonuçları

| SNP ID      | Amino asit değişimi | MUpro Tahmini | DDG (Serbest Enerji Değişimi Değeri) (Kcal/mol) |
|-------------|---------------------|---------------|-------------------------------------------------|
| rs76418789  | Gly149Arg           | Azalma        | -1.4066171                                      |
| rs369986474 | Trp242Cys           | Azalma        | -1.4405679                                      |

#### 4.3.2.2. IL17A Genin Tahmini Sonuçları

IL17A genine ait SNP bilgileri NCBI dbSNP veri tabanından Mart 2023 tarihinde erişim sağlanarak elde edilmiştir. IL17A genine ait tüm SNP sayısı 2564, yanlış anlamlı SNP sayısı ise 135 olmak üzere NCBI dbSNP veri tabanından alınmıştır (NCBI SNP) bu SNP'lere ait toplam 154 farklı varyantın olduğu belirlenmiş ve ileri *in silico* analizler için kaydedilmiştir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

IL17A genine ait tüm SNP'ler SIFT ile analiz edildiğinde, varyantlardan 14'ünde SIFT sonucu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, 4 tanesinin zararlı olabileceği, 10 tane varyantın varyasyona tolere olabileceği tahmin edilmiştir. Ayrıca, 140 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 14).

**Tablo 14:** IL17A'nın SIFT sonuçları

| SIFT Sonucu     | Sayı |
|-----------------|------|
| Zararlı         | 4    |
| Bulunamadı      | 140  |
| Tolere Olabilir | 10   |
| Genel Toplam    | 154  |

PolyPhen-2 HumDiv ile analiz edilen varyantlardan; 22'si muhtemel zararlı etkili, 56'sının olası Büyük İhtimalle Zararlı etkili ve 72'sinin zararsız olduğu şeklinde tespit edilmiştir tespit edilmiştir. Ayrıca, 4 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 15).

**Tablo 15:** IL17A'nın PolyPhen 2 HUMDIV sonuçları

| <b>PolyPhen 2 HUMDIV Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|---------------------------------|-------------|
| <b>Zararsız</b>                 | 72          |
| <b>Bulunamadı</b>               | 4           |
| <b>Muhtemel Zararlı</b>         | 22          |
| <b>Büyük İhtimalle Zararlı</b>  | 56          |
| <b>Genel Toplam</b>             | <b>154</b>  |

PolyPhen-2 HumVar sonuçları ise; 20'sini muhtemel zararlı etkili, 41'isini olası Büyük İhtimalle Zararlı etkili ve 89'unu zararsız olduğu şeklinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 4 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 16).

**Tablo 16:** IL17A'nın PolyPhen 2 HUMVAR sonuçları

| <b>PolyPhen 2 HUMVAR Sonucu</b> | <b>Sayı</b> |
|---------------------------------|-------------|
| <b>Zararsız</b>                 | 89          |
| <b>Bulunamadı</b>               | 4           |
| <b>Muhtemel Zararlı</b>         | 20          |
| <b>Büyük İhtimalle Zararlı</b>  | 41          |
| <b>Genel Toplam</b>             | <b>154</b>  |

SNPs&GO analizinde varyantlardan 68'inin hastalık ilişkili, olduğu yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 2 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 17).

**Tablo 17:** IL17A'nın SNP&GO Sonuçları

| SNP&GO Sonucu | Sayı |
|---------------|------|
| Hastalık      | 68   |
| Nötr          | 85   |
| Bulunamadı    | 1    |
| Genel Toplam  | 154  |

SNAP2 analizinde varyantlardan 112'sinin zararlı etkili, 43'ünün nötral etkili olabileceği yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 15 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 18).

**Tablo 18:** IL17A'nın SNAP2 sonuçları

| SNAP2 Sonucu | Sayı |
|--------------|------|
| Zararlı      | 111  |
| Nötr         | 43   |
| Genel Toplam | 154  |

PhD-SNP analizinde varyantların sonuçları; 88 hastalık ilişkili etki tahmini, 455 nötral etkili tahmini olacak şekilde tespit edilmiştir. Kalan SNP'ler için sonuç bulunamamıştır. Ayrıca, 25 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 19)

**Tablo 19:** IL17A'nın PhD-SNP sonuçları

| PhD-SNP Sonucu      | Sayı       |
|---------------------|------------|
| Hastalık            | 44         |
| Nötr                | 110        |
| <b>Genel Toplam</b> | <b>154</b> |

Meta-SNP analizinde varyantların 139'unu hastalık ilişkili etkisi, 402'sinin nötral etkili olabileceği yönünde tespit edilmiştir. Ayrıca, 27 varyasyon ise yazılım aracında bulunamamıştır (Tablo 20)

**Tablo 20:** IL17A'nın Meta-SNP sonuçları

| Meta-SNP Sonucu     | Sayı       |
|---------------------|------------|
| Hastalık            | 41         |
| Nötr                | 113        |
| <b>Genel Toplam</b> | <b>154</b> |

İleri analizlerin gerçekleştirildiği tüm yazılım programlarının 8'inde IL17A genine ait zararlı/hastalıkla ilişkili SNP'ler tespit edilmiştir. Toplam 4 yanlış anlamlı SNP'nin yüksek riskte zararlı olabileceği belirlenmiş olup, Tablo 21'de analiz sonuçları sunulmaktadır.

**Tablo 21:** IL17A geninin fonksiyonel analiz sonuçları

| SNP ID                                | Amino asit<br>değişimi | SIFT<br>Sonucu | SIFT<br>Skoru | PolyPhen 2<br>HUMDIV | PSIC<br>SD   | POLYPHEN 2<br>HUMVAR | PSIC<br>SD   | SNAP2<br>Predict<br>Effect | Score | Expected<br>Accuracy | SNP&GO<br>Prediction | RI | PHD-SNP  | RI |
|---------------------------------------|------------------------|----------------|---------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------------|-------|----------------------|----------------------|----|----------|----|
| rs145530358                           | Arg123His              | zararlı        | 0.03          | B.İ.Zararlı          | <b>1,000</b> | B.I.Zararlı          | <b>0.975</b> | zararlı                    | 63    | 80%                  | Hastalık             | 6  | Hastalık | 4  |
| rs151317528                           | Glu91Lys               | zararlı        | 0.033         | B.İ.Zararlı          | <b>0.990</b> | B.I.Zararlı          | <b>0.855</b> | zararlı                    | 61    | 80%                  | Hastalık             | 8  | Hastalık | 4  |
| rs199827182                           | Leu139Pro              | zararlı        | 0.038         | B.İ.Zararlı          | <b>1,000</b> | B.I.Zararlı          | <b>0.995</b> | zararlı                    | 65    | 80%                  | Hastalık             | 7  | Hastalık | 8  |
| rs199987410                           | Arg95Cys               | zararlı        | 0.006         | B.İ.Zararlı          | <b>1,000</b> | B.I.Zararlı          | <b>0.999</b> | zararlı                    | 56    | 75%                  | Hastalık             | 6  | Hastalık | 2  |
| <b>B.I.Z:</b> Büyük İhtimalle Zararlı |                        |                |               |                      |              |                      |              |                            |       |                      |                      |    |          |    |

Tüm çevrimiçi yazılım araçlarının fonksiyonel olarak zararlı olabileceğini tahmin ettiği 4 varyant için I-Mutant 2.0 yazılım aracı ile analiz yapılmıştır. I-Mutant 2.0 çevrimiçi yazılım aracına, IL17A proteinindeki 4 amino asit değişimin her biri için; IL17A proteininin tek harfli amino asit kodlarından oluşan kanonik protein dizisi, amino asit değişiminin pozisyonu ve mutant tip amino asit bilgisi girilmiştir. I-Mutant 2.0 programından elde edilen bulgular sonucunda, 4 adet amino asit değişiminin tümünün protein stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Tahmin sonuçları Tablo 22’te sunulmuştur.

**Tablo 22:** IL17A genin I-Mutant 2.0 sonuçları

| SNP ID      | Amino asit<br>değişimi | I-Mutant 2.0<br>Tahmini | Güvenilirlik<br>İndeksi |
|-------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| rs145530358 | Arg123His              | Azalma                  | 9                       |
| rs151317528 | Glu91Lys               | Azalma                  | 8                       |
| rs199827182 | Leu139Pro              | Azalma                  | 6                       |
| rs199987410 | Arg95Cys               | Azalma                  | 6                       |

MUpro programından elde edilen bulgular sonucunda, 4 adet amino asit değişiminin tümünün protein stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Tahmin sonuçları Tablo 23’da sunulmuştur.

**Tablo 23:** IL17A genin MUpro sonuçları

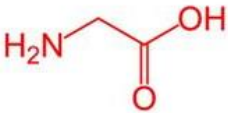
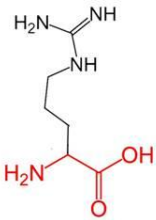
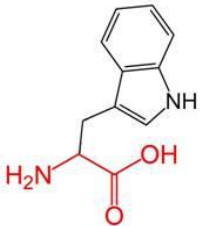
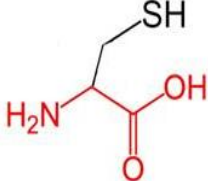
| SNP ID      | Amino<br>asit<br>değişimi | MUpro Tahmini | DDG<br>(Serbest Enerji Değişimi<br>Değeri) (Kcal/mol) |
|-------------|---------------------------|---------------|-------------------------------------------------------|
| rs145530358 | Arg123His                 | Azalma        | -1.4244879                                            |
| rs151317528 | Glu91Lys                  | Azalma        | -0.62287686                                           |
| rs199827182 | Leu139Pro                 | Azalma        | -1.7654869                                            |
| rs199987410 | Arg95Cys                  | Azalma        | -0.76263819                                           |

#### 4.3.3. Proteinlerin Üç Boyutlu Modellemesi

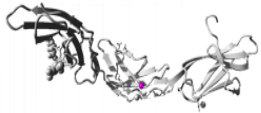
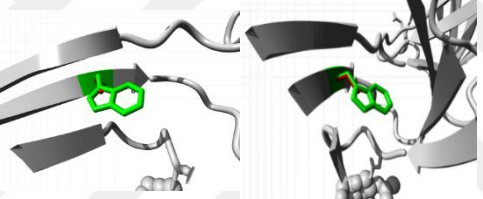
HOPE yazılım aracında, IL23R ve IL17A genlerine ait UniProtta elde edilen Fasta dizisi ve ortak zarar verici olarak tespit edilen amino asit değişimlerine ait bilgiler kullanılarak, bu genlere ait yabancıl ve mutant tip amino asitlere ait üç boyutlu modeller, boyut, yük, hidrofobiklik ve yapı bilgileri temin edilerek kayıt altına alınmıştır.

IL23R genine ait yüksek riskli SNP'lerin oluşturduğu amino asit değişimleri; rs76418789 (G149R) ve rs369986474 (W242C) olarak tespit edilmiştir. Polimorfizm sonucu oluşan mutant rezidü, orijinal yabancıl tip rezidüden genellikle farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar; amino asitlere özgü boyut, yük ve hidrofobiklik değeridir. Polimorfizmler sonucu oluşan amino asit değişimlerine ait modeller ve rezidüler arasındaki farklılıklar sırasıyla Tablo 24 ve 25'te gösterilmiştir.

**Tablo 24:** IL23R geninde bulunan yüksek riskli SNP'lerin Project HOPE yazılımında modelleme sonuçları.

| SNP No                 | Yabancıl Tip Rezidü                                                                 | Mutant Tip Rezidü                                                                   | Açıklama                                                                                                               |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| rs76418789<br>(G149R)  |  |  | Polimorfizmin sonucu olarak 149. pozisyonundaki <b>Glisin</b> amino asidi <b>Arjinin</b> amino asidine dönüşmüştür.    |
| rs369986474<br>(W242C) |  |  | Polimorfizmin sonucu olarak 242. pozisyonundaki <b>Triptofan</b> amino asidi <b>Sistein</b> amino asidine dönüşmüştür. |

**Tablo 25:** IL23R genindeki varyasyonlara ait üç boyutlu gösterimler

| SNP No              | Polimorfizm Bölgesinin Yakından Görünümleri (Protein gri renklidir, hem yabanıl tip hem de mutant rezidünün yan zincirleri sırasıyla yeşil ve kırmızı olarak renklendirilmiştir.) | Mutant Proteinin üç Boyutlu Görünümü (Protein gri renklidir, amino asit değişimine uğramış kalıntının yan zinciri macenta renklidir ve küçük toplar olarak gösterilmiştir) |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| rs76418789 (G149R)  |                                                                                                 |                                                                                         |
| rs369986474 (W242C) |                                                                                                |                                                                                        |

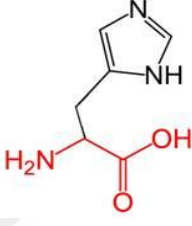
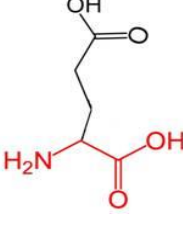
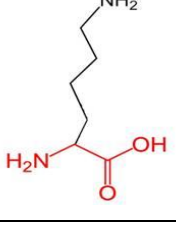
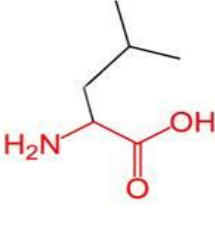
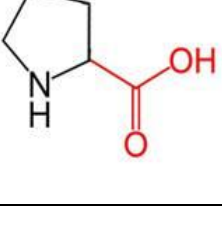
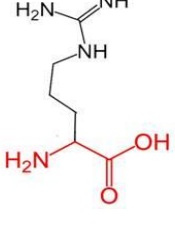
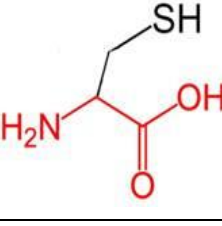
Project HOPE yazılım aracı ile IL23R geninde meydana gelen varyantların neden olduğu amino asit değişimlerinin protein yapısı ve fonksiyonu üzerine olası zararlı etkileri/farklılıkları elde edilmiştir. Yabanıl ve varyant amino asitler arasındaki boyut, hidrofobiklik ve yük farklılıkları, tuz köprüsü ve hidrojen bağı değişimlerinin yanı sıra proteinde meydana gelen üç boyutlu yapı değişiklikleri tahmin edilmeye çalışılmıştır. Sonuçlar sırasıyla Tablo 26 da gösterilmiştir:

**Tablo 26:** IL23R genin yabanıl ve varyant amino asitlerin Project HOPE yazılım sonuçları

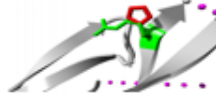
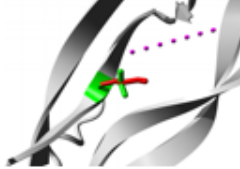
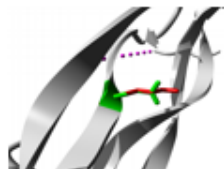
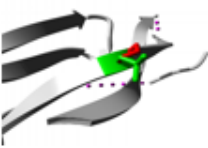
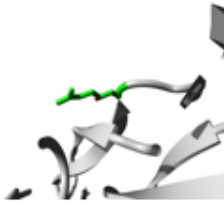
| SNP Numarası | Amino Asit Değişikliği | Yabanıl Tip Özellikleri |      |               | Mutant Tip Özellikleri |         |               |
|--------------|------------------------|-------------------------|------|---------------|------------------------|---------|---------------|
|              |                        | Boyut                   | Yük  | Hidrofobiklik | Boyut                  | Yük     | Hidrofobiklik |
| rs76418789   | G149H                  | <                       | Nötr | >             | >                      | Pozitif | <             |
| rs369986474  | W242C                  | >                       | -    | -             | <                      | -       | -             |

IL17A genine ait yüksek riskli SNP'lerin oluşturduğu amino asit değişimleri; rs145530358 (R123H), rs151317528 (E91K), rs199827182 (L139P) ve rs199987410 (R95C) olarak tespit edilmiştir. Polimorfizm sonucu oluşan mutant rezidü, orijinal yabancı tip rezidüden genellikle farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar; amino asitlere özgü boyut, yük ve hidrofobiklik değeridir. Polimorfizmler sonucu oluşan amino asit değişimlerine ait modeller ve rezidüleri arasındaki farklılıklar sırasıyla Tablo 27 ve 28'de gösterilmektedir.

**Tablo 27:** IL17A genin yüksek riskli SNP'lerin Project HOPE yazılımında modelleme sonuçları

| SNP No                 | Yabancı Tip Rezidü                                                                  | Mutant Tip Rezidü                                                                    | Açıklama                                                                                                               |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| rs145530358<br>(R123H) |   |   | Polimorfizmin sonucu olarak 123. pozisyonundaki <b>Arjinin</b> amino asidi <b>Histidin</b> amino asidine dönüşmüştür   |
| rs151317528<br>(E91K)  |  |  | Polimorfizmin sonucu olarak 91. pozisyonundaki <b>Glütamik Asit</b> amino asidi <b>Lizin</b> amino asidine dönüşmüştür |
| rs199827182<br>(L139P) |  |  | Polimorfizmin sonucu olarak 139. pozisyonundaki <b>Lösın</b> amino asidi <b>Prolin</b> amino asidine dönüşmüştür       |
| rs199987410<br>(R95C)  |  |  | Polimorfizmin sonucu olarak 95. <b>Arjinin</b> amino asidi <b>Sistein</b> amino asidine dönüşmüştür                    |

**Tablo 28:** IL17A genindeki varyasyonlara ait üç boyutlu gösterimler

| SNP No              | Polimorfizm Görünümleri (Protein gri renklidir, hem yabani tip hem de mutant rezidünün yan zincirleri sırasıyla yeşil ve kırmızı olarak renklendirilmiştir.) | Bölgesinin Yakından                                                                  | Mutant Proteinin üç Boyutlu Görünümü (Protein gri renklidir, amino asit değişimine uğramış kalıntının yan zinciri macenta renklidir ve küçük toplar olarak gösterilmiştir) |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| rs145530358 (R123H) |                                                                             |     |                                                                                         |
| rs151317528 (E91K)  |                                                                            |    |                                                                                         |
| rs199827182 (L139P) |                                                                           |   |                                                                                       |
| rs199987410 (R95C)  |                                                                           |  |                                                                                       |

Project HOPE yazılım aracı ile IL17A geninde meydana gelen varyantların neden olduğu amino asit değişimlerinin protein yapısı ve fonksiyonu üzerine olası zararlı etkileri/farklılıkları elde edilmiştir. Yabanıl ve varyant amino asitler arasındaki boyut, hidrofobiklik ve yük farklılıkları, tuz köprüsü ve hidrojen bağı değişimlerinin yanı sıra proteinde meydana gelen üç boyutlu yapı değişiklikleri tahmin edilmeye çalışılmıştır. Sonuçlar sırasıyla Tablo 29 da gösterilmiştir:

**Tablo 29:** IL17A genin yabanıl ve varyant amino asitlerin Project HOPE yazılım sonuçları

| SNP Numarası | Amino Asit Değişikliği | Yabanıl Tip Özellikleri |         |               | Mutant Tip Özellikleri |         |               |
|--------------|------------------------|-------------------------|---------|---------------|------------------------|---------|---------------|
|              |                        | Boyut                   | Yük     | Hidrofobiklik | Boyut                  | Yük     | Hidrofobiklik |
| rs145530358  | R123H                  | >                       | Pozitif | -             | <                      | Nötr    | -             |
| rs151317528  | E91K                   | <                       | Negatif | -             | >                      | Pozitif | -             |
| rs199827182  | L139P                  | >                       | -       | -             | <                      | -       | -             |
| rs199987410  | R95C                   | >                       | Pozitif | <             | <                      | Nötr    | >             |

#### 4.4. Kenetleme Sonuçları

Bu tez çalışmasında, IL23 ve IL17 A reseptörlerinin sırasıyla 5MZV ve 5N92 kristal yapıları ile psoriasis tedavisinde etkili olduğu düşünülen *Melaleuca Aletrnifolia*'nın suda çözünebilen bir bileşeni olan terpinen-4-ol arasında Autodock Vina kenetlenme çalışmaları yapılmış ve proteinler ile ligand arasındaki bağlanma afinitesi belirlenmiştir.

Diğer taraftan, protein dizilimindeki yabanıl tip rezidüler mutant rezidürlere dönüştürüldükten sonra her iki proteinde ligand ile bağlanma afinitesi hesaplanırken aynı yaklaşım kullanılmıştır.

##### 4.4.1. Referans Ligand QSAR Sonuç Tablosu

Spartan 14' hesaplamalarından sonra terpinen-ol'ün özellikleri aşağıdaki Tablo 30 da gösterilmektedir:

**Tablo 30:** Ligandlara ait kimyasal tarama verileri

| Formül  | Ağırlık (amu) | Log P | Hacim (A3) | Dipol Moment (Debye) | Polarizability | Alan (A2) | Enerji (kJ/mol) |
|---------|---------------|-------|------------|----------------------|----------------|-----------|-----------------|
| C10H18O | 154.2533      | 2.23  | 187.75     | 1.85                 | 54.09          | 205.94    | -302.90         |

##### 4.4.2. Terpinen-4-ol Afinite Değerleri

Aday molekül terpinen-4-ol'ün hedeflenen reseptörlerle kenetlenme sonuçları tablo 31 ve 32'de gösterilmiştir:

**Tablo 31:** 5MVZ pdb kodlu kristal yapısı ile terpinen-4-ol afinite değerleri

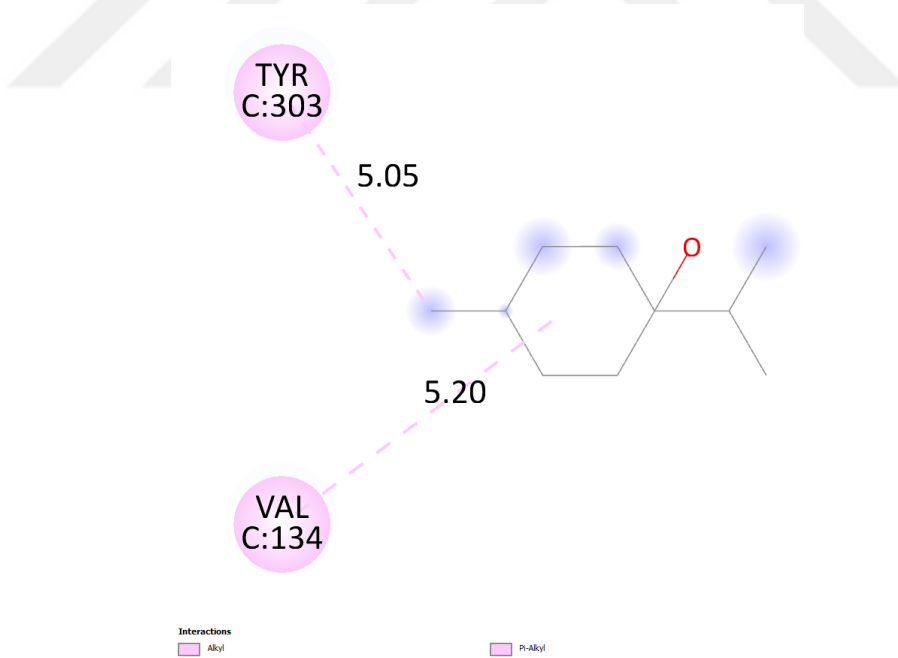
| Protein          | Afinite Değeri (Kkal.mol-1) |
|------------------|-----------------------------|
| 5MZV             | -4.7                        |
| 5MZV (Gly149Arg) | -5.2                        |
| 5MZV(Trp242Cys)  | -6.0                        |

**Tablo 32:** 5N92 pdb kodlu kristal yapısı ile terpinen-4-ol afinite değerleri.

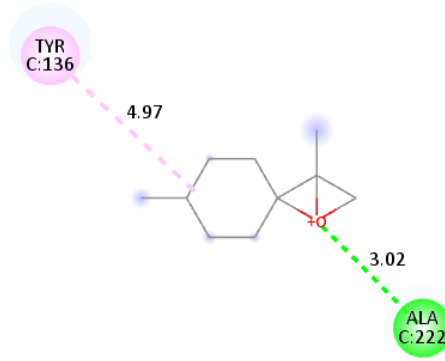
| Protein          | Afinite Değeri (Kkal.mol-1) |
|------------------|-----------------------------|
| 5N92             | -4.8                        |
| 5N92 (Arg123His) | -4.8                        |
| 5N92 (Glu91Lys)  | -4.8                        |
| 5N92 (Leu139Pro) | -4.9                        |
| 5N92 (Arg95Cys)  | -4.9                        |

#### 4.4.3. Terpinen-4-ol Molek  l  n Reseptör-Ligand Etkileşimleri

Reseptör ve ligand docking sonuçları Discovery Studio Visualizer programı üzerinde incelenmiştir ve amino asitlerin bağ çeşitliliği ve aralarındaki mesafeler aşağıdaki şekillerde iki boyutlu görüntülemelerde gösterilmiştir.



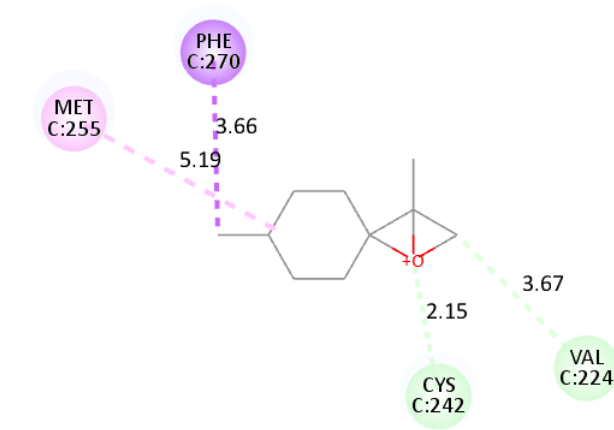
**  kil 11:** 5MVZ ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkile  imi



**Interactions**

|                                                                 |                                              |
|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| <span style="color: green;">—</span> Conventional Hydrogen Bond | <span style="color: pink;">—</span> Pi-Alkyl |
|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|

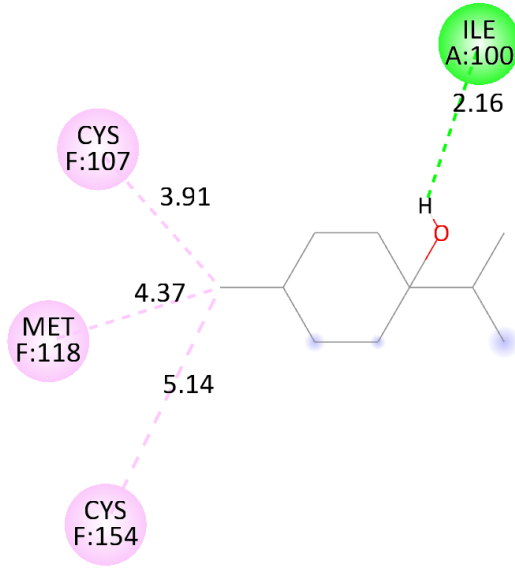
**Şekil 12:** (Gly149Arg) nokta mutasyonlu 5MVZ proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi



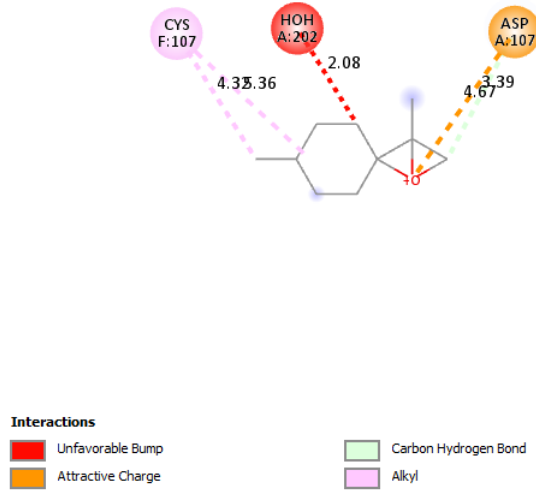
**Interactions**

|                                                           |                                           |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| <span style="color: green;">—</span> Carbon Hydrogen Bond | <span style="color: pink;">—</span> Alkyl |
| <span style="color: purple;">—</span> Pi-Sigma            |                                           |

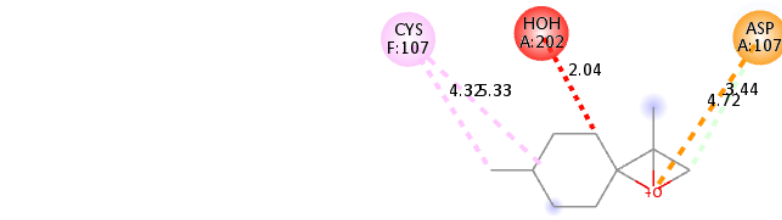
**Şekil 13:** (Trp242Cys) nokta mutasyonlu 5MVZ proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi



Şekil 14: 5N92 ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi



Şekil 15: (Arg123His) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi

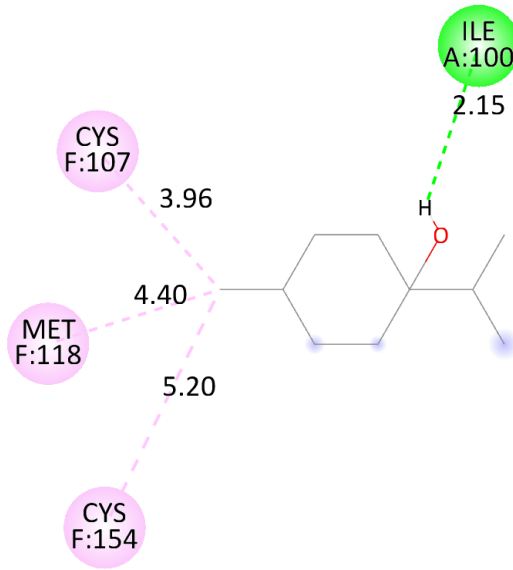


#### Interactions

- Unfavorable Bump
- Attractive Charge

- Carbon Hydrogen Bond
- Alkyl

**Şekil 16:** (Leu139Pro) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi

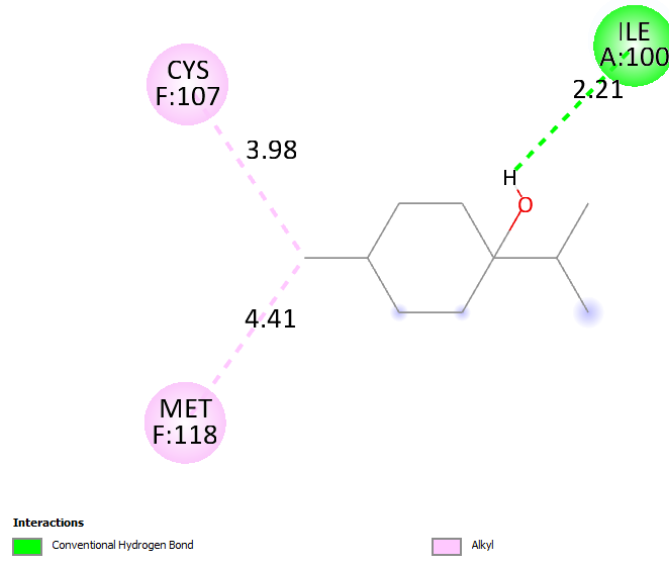


#### Interactions

- Conventional Hydrogen Bond

- Alkyl

**Şekil 17:** (Glu91Lys) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi



**Şekil 18:** (Arg95Cys) nokta mutasyonlu 5N92 proteini ile terpinen-4-ol reseptör-ligand etkileşimi

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. SNP Çalışmaları

Yaklaşık 44 milyon SNP içeren NCBI dbSNP (Dumurgier ve Sabia., 2020) ile, SNP'lerin her birinin anlamını belirlemek için laboratuvarlarda çalışmanın zaman ve maliyet alıcı bir yöntem olduğu bilinmektedir. Son yüzyılda, *in silico* yöntemlerin geliştirilmesi, sağlık çalışmalarının etkinliği üzerinde büyük bir etkiye sahip olmuştur. Biyolojik araştırmalar için bilgisayar yöntemlerinin kullanımına dayalı araçlar olan biyoinformatik, laboratuvar araştırmasına gerek kalmadan kesin sonuçları tahmin edebildiği için eski yöntemlerin yerini almıştır. Moleküler yerleştirme gibi *in silico* teknikler kullanılarak, doğal terapötik ligandların ve reseptör komplekslerinin olasılıkları incelenebilmektedir (Moradi M ve ark., 2022) Bu yöntem, maliyetli deneylere veya kapsamlı kaynaklara ihtiyaç duymadan moleküler etkileşimlerin kapsamlı bir şekilde analiz edilmesine olanak sağlamaktadır. Bu çalışmada, Psoriasis hastalığı ile ilgili IL23R ve IL17A genleri *in silico* yöntemlerle analiz edilmiş ve *Melaleuca alternifolia* yağında bulunan bir molekülden yeni bir ilaç molekülü geliştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, öncelikle IL23R ve IL17A genlerindeki yanlış anlamalı SNP'lerin protein dizilerinde neden olduğu amino asit substitüsyonlarını belirlemek için SIFT, PolyPhen-2, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2, Meta-SNP ve PhD-SNP yazılım araçları kullanılmış ve hepsinde ortak zarar verici olanlar tespit edilmiştir.

Protein stabilizasyonu üzerindeki etki daha sonra I-Mutant 2.0 ve Mupro yazılım araçları ile değerlendirilmiştir. Son olarak, bu ortak zararlı amino asit mutasyonlarının üç boyutlu modellemesi HOPE yazılım aracı ile analiz edilmiştir.

IL23R geninde 506'sı missense olmak üzere toplam 49771 SNP bulunmaktadır. SIFT, PolyPhen-2, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2, PhD-SNP ve Meta-SNP yazılım araçları kullanılarak yapılan analizler esassından 506 yanlış anlamalı SNP'den ortak zararlı etkiye sahip olanlar seçilmiştir. Bu SNP'lere ait toplam 568 farklı varyant tespit edilmiş ve daha ileri *in silico* analizler için kaydedilmiştir. Bunlardan 2 protein dizisindeki amino asit pozisyonlarına karşılık gelen SNP'ler potansiyel olarak zararlı olarak tanımlanmış ve seçilmiştir.

Bu SNP'ler rs76418789 (G149R) ve rs369986474 (W242C) 'dir ve ortak zararlı olduğu tahmin edilen bu 2 yanlış anlamlı SNP için literatür çalışması yapıldığında, bu SNP'leri içeren yaptığımız çalışmaya benzer farklı çalışmalara rastlanmamıştır.

IL17A geninde 135'isi missense olmak üzere toplam 2564 SNP bulunmaktadır. SIFT, PolyPhen-2, PROVEAN, SNPs&GO, SNAP2, PhD-SNP ve Meta-SNP yazılım araçları kullanılarak yapılan analizler esassından 154 yanlış anlamlı SNP'den ortak zararlı etkiye sahip olanlar seçilmiştir. Bu SNP'lere ait toplam 154 farklı varyant tespit edilmiş ve daha ileri *in silico* analizler için kaydedilmiştir. Bunlardan 4 protein dizisindeki amino asit pozisyonlarına karşılık gelen SNP'ler potansiyel olarak zararlı olarak tanımlanmış ve seçilmiştir.

Bu SNP'ler rs145530358 (R123H), rs151317528 (E91K), rs199827182 (L139P) ve rs199987410 (R95C)'dir ve ortak zararlı olduğu tahmin edilen bu 4 yanlış anlamlı SNP için literatür çalışması yapıldığında, bu SNP'leri içeren yaptığımız çalışmaya benzer farklı çalışmalara rastlanmamıştır.

Proteinler, bir reaksiyon sırasında yapılarını değiştirebildikleri için çok instabil moleküllerdir. Aslında, proteinin aktivitesi, bir protein yapısının doğal konformasyonu veya denatüre bir durum olup olmadığını belirleyen kuvvetlerin eşit dengesi olan proteinin stabilizasyonuna bağlıdır.

Proteinin yapısı, en temel halinden itibaren amino asitlerin belirli bir dizilimine, çeşidine ve sayısına bağlıdır. Amino asitlerin dağılımındaki en ufak bir değişiklik proteini etkileyebilir. Ayrıca, hidrofobik, elektrostatik, hidrojen bağı, van der Waals ve disülfid bağları gibi birçok bağ, protein yapılarının katlanmış doğal halini atomik/grup etkileşimleriyle stabilize etmektedir (Gromiha MM., 2010).

Bu konfigürasyonlardaki değişiklikler proteinin stabilitesinin azalmasına yol açabilir. Mutasyonlar farklı boyut, hidrofobiklik ve yüke sahip bazı amino asitleri ortaya çıkarır, bu nedenle bu mutasyonlar olasılıkla proteinin yapısını bozmaktadır ve daha sonra protein stabilitesini azaltarak proteinin aktivitesinin azalmasına veya kaybolmasına neden olmaktadır. Bu yan etkiler genellikle çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

IL23R geni için; I-Mutant 2.0 ve MUpro yazılım araçlarının sonuçlarının, rs76418789 (G149R) ve rs369986474 (W242C) referans numarasına sahip SNP'lerin tahminen proteinin stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir.

IL17A geni için; I-Mutant 2.0 ve MUpro yazılım araçlarının, rs145530358 (R123H), rs151317528 (E91K), rs199827182 (L139P) ve rs199987410 (R95C) referans numarasına sahip SNP'lerin tahminen proteinin stabilizasyonunu azalttığı tespit edilmiştir.

### **5.1.1. Amino Asit Özellikleri**

Amino asitlerin bir amino asitten diğerine farklı şekil ve boyutlara sahip olduğu bilinmektedir ve proteinin yapısındaki dizilimleri proteinin üç boyutlu yapısını tanımlamaktadır. Amino asitlerin heterojen kombinasyonları (küçük ve büyük kalıntılar), homojen (küçük-küçük veya büyük-büyük) kombinasyonlardan daha çok tercih edilmektedir.

#### **5.1.1.1. Boyut ve Yapı**

HOPE programı sonuçları, IL23R geni için rs76418789 (G149R) varyantının yabanıl tip rezidünün mutant rezidüden daha küçük boyutta olduğunu, rs369986474 (W242C) varyantı için ise yabanıl tip rezidü mutant rezidüden daha büyük boyutta olduğunu göstermiştir (Tablo 24 ve Tablo 25).

rs76418789 (G149R) varyantında mutant rezidü proteinin yüzeyinde bulunmaktadır ve mutant rezidü büyük olasılıkla proteinin diğer molekülleriyle etkileşimleri bozacaktır. Glisin en esnek amino asittir, bu nükleotid üzerindeki mutasyon olağandışı burulma açılarının ortaya çıkmasına neden olur ve bu nedenle yerel omurga yapıyı bozacak yanlış bir konformasyona dönüştürebilmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

rs369986474 (W242C) varyantında mutant tip rezidünün yabanıl tip rezidüden daha küçük olduğu durumda, boyut farkı proteinin çekirdeğinde boş bir alanın ortaya çıkmasına neden olacak ve bu da proteinin yapısını ve aktivitesini etkileyebilecektir (Venselaar ve ark., 2010). Mutasyon, bir amino asidi farklı özelliklere sahip bir alana yerleştirmektedir, bu da fonksiyonunu bozabilmekte ve ortadan kaldırabilmektedir.

HOPE programı sonuçları, IL17R geni için rs145530358 (R123H), rs199827182 (L139P), rs199987410 (R95C) varyantlarında yabancı tip rezidülerin mutant rezidülerden daha küçük boyutta olduğunu göstermiştir (Tablo 31) (Venselaar ve ark., 2010).

rs145530358 (R123H) varyantı için, yabancı ve mutant kalıntı arasındaki boyut farkı, yeni kalıntının yabancı tip kalıntının yaptığı gibi aynı hidrojen bağı yapmayı yapmak için doğru konumda olamamasına neden olabilmektedir. Ayrıca, yabancı tip kalıntı Aspartik Asit 81. pozisyonunda, Glutamik Asit 83. pozisyonunda ve Glutamik Asit 136. Pozisyonunda bir tuz köprüsü oluşturur, protein moleküllerinin etkileşimlerini değiştiren bir yük farklılığı oluşturabilmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

rs199827182 (L139P) ve rs199987410 (R95C) varyantları için, yabancı tip rezidü ve mutant rezidünün boyut farklılığı dış etkileşimlerde olası bir kayba neden olabilmektedir (Venselaar ve ark., 2010).

rs151317528 (E91K) varyantı için ise yabancı tip rezidü mutant rezidüye göre daha büyük boyutta olduğunu göstermiştir (Tablo 29). Yabancı ve mutant rezidü arasındaki boyut farkı, yeni rezidünün anormal hidrojen bağları yapmasını sağlamaktadır. Yabancı tip kalıntı bir tuz köprüsü oluşturur: Yabancı tip rezidü, 84. pozisyonundaki Arjinin ve 93. pozisyonundaki Lizin ile bir tuz köprüsü oluşturmaktadır, bu da yük farkına neden olarak proteinin yapısındaki iyonik etkileşimin bozulmasına yol açmaktadır (Venselaar ve ark., 2010).

#### **5.1.1.2. Yük**

IL23R için, rs76418789 (G149R) varyantında, yabancı tip rezidünün yükü nötr, mutant rezidünün yükü ise pozitif'tir (Tablo 28). Mutasyon, mutant kalıntı ile komşu kalıntılar arasında itmeye neden olabilecek bir yük eklemektedir (Venselaar ve ark., 2010).

IL17A için, rs145530358 (R123H) ve rs199987410 (R95C) 'de yabancı tip rezidünün yükü pozitif, mutant rezidünün yükü nötr'dür (Tablo 31). Yük kaybı diğer moleküllerle etkileşim kaybına neden olabilmektedir.

rs151317528 (E91K) varyantında, yabancı tip kalıntı yükü negatif, mutant rezidü yükü pozitif'tir. Oluşan bu yük farklılığı, protein çekirdeğindeki kalıntılar arasında itmeye neden olabilmektedir.

## 5.2.Aday İlaç Molekülü Terpinen-4-ol ile Hedef Proteinlerin Kenetlenmesi

Psoriasis çok yaygın bir hastalık olduğundan, araştırmalar günümüzün ihtiyaçlarını karşılamak ve artan dünya nüfusunun tedaviye ulaşımını sağlamak için daha modern, ekonomik, üretimi kolay ve güvenli farmakolojik tedavilere doğru yönelmektedir.

Psoriasis için sistematik ilaçlar olan metotreksat, siklosporin ve apremilast; ishal, mide bulantısı veya solunum yolu enfeksiyonları gibi yüksek ikincil etki riski taşımaktadır (Carrascosa ve ark., 2020).

Bu nedenle, bu tezde, Melaleuca Alternifolia'nın suda çözünür bileşiği terpinen-4-ol'ün sedef hastalığı oto-immün reaksiyonundaki hedef proteinlerin inhibisyonu üzerindeki etkisi yeni bir tedavi alternatifi olarak araştırılmıştır.

Levomenol, inflamatuvar cilt hastalıklarının tedavisinde umut verici sonuçlar vermesi nedeniyle farmasötik alanda yeni bir hedef olarak araştırma için başlangıç olarak alınmıştır. Molekül benzer bir yapı aramak için Drugbank'ta araştırılmış ve terpinen-4-ol'ün (Melaleuca Alternifolia'da bulunan bir bileşik) 0. 775 benzerlik skoruna sahip olduğu gösterilmiştir. İlk adım olarak, seçilen bitki bazlı bileşik Swissadme web sayfasında aranmıştır ve ADME parametreleri elde edilmiştir. Elde edildiği sonuçlara göre, terpinen-4-ol ilaç olabilme değerlerinin içindedir. Moleküler Mekanik/MMFF yöntemi kullanılarak koformer analizleri gerçekleştirilmiş ve molekülü optimize etmek için Yarı Ampirik/PM6 yöntemi uygulanmıştır.

Proteinin kristal yapıları Protein Data Bank veri tabanından elde edilmiş ve Autodock Vina programı ile kenetlenme gerçekleştirilmiştir.

Proteinin doğal yapılarına ve aynı zamanda daha önce yapılan SNP analizlerine göre protein yapısındaki yabancı tip rezidü mutant tipine değiştirerek docking gerçekleştirilmiş.

Docking sonuçları (bağlanma afinitesi) tablo 31 ve 32'de gösterilmiş ve protein ile ligand arasındaki etkileşim Discovery Studio programından elde edilmiştir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

*In silico* yöntemlerinin uygun maliyetli olduğu, hedefe yönelik çalışmalar yapılmasına olanak sağladığı ve laboratuvar araştırmalarının yerini alabileceği gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında, sedef hastalığında inflamatuvar reaksiyona katkıda bulunan IL23R ve IL17A genlerinin *in silico* analizleri yapılarak zararlı SNP'ler tespit edilmiş, ardından çay ağacı yağına (*Melaleuca Alternifolia* bitkisinden elde edilen) bulunan terpinen-4-ol molekülü ile proteinler üzerinde moleküler kenetlenme gerçekleştirilmiştir.

IL23R geninde yer alan missense SNP'lerin tüm programlarda zararlı çıkanları değerlendirildiğinde rs76418789 (G149R) ve rs369986474 (W242C) polimorfizmleri ortak zarar verici SNP olarak tespit edilmiştir. IL17A geninde SNP'lerin tüm programlarda zararlı çıkanlarının değerlendirilmesinde ise rs145530358 (R123H), rs151317528 (E91K), rs199827182 (L139P) ve rs199987410 (R95C) polimorfizmleri hepsinde ortak zarar verici SNP'ler olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, sedef hastalığı ile ilişkili IL23R ve IL17A genleri üzerindeki SNP'lerin olası etkilerini ve bu proteinlerin stabilizasyonu ve işlevi üzerindeki etkilerini tahmin etmek için *in silico* yöntemler kullanılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların gelecekte yapılacak SNP ve genotipleme çalışmalarına katkı sağlaması beklenmektedir.

Ayrıca, Autodock Vina'da yapılan kenetlenme hesaplamaları, hem 5N92 hem de 5MZV için, bağlanma afinitesi sonuçlarının genel olarak yabancıl tip ve mutant yapının yaklaşık olarak eşit olduğunu göstermiştir, bu da protein dizisinde meydana gelen mutasyonların bağlanma bölgesinde yer almadığı anlamına gelmektedir, mutasyonlu amino asitler arasında oluşturulan bağlar ve mutasyonlu tip rezidüleri arasındaki etkileşim proteinin aktif bölgesini etkilememektedir.

Elde edildiği sonuçları bu tez çalışması için olumlu görünmektedir, çünkü hedeflenen proteinlerde meydana gelebilecek mutasyonlar, sedef hastalığı tedavisi için yeni bir ilaç molekülü olarak terpinen-4-ol üzerinde çalışmanın gelecekte başarılı bir ilerlemeye yol sağlayabileceği anlamına gelmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Curr Protoc Hum Genet*. 2013 Jan;Chapter 7:Unit7.20. doi: 10.1002/0471142905.hg0720s76. PMID: 23315928; PMCID: PMC4480630.
- Arenberger, P & Arenbergerova, Monika & Drozenová, H & Hladíková, Marie & Holcová, S. (2011). Effect of topical heparin and levomenol on atopic dermatitis: A randomized four-arm, placebo-controlled, double-blind clinical study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 25. 688-94. 10.1111/j.1468-3083.2010.03950.x.
- Avsar, O. Analysis of missense SNPs in the *SLC47A1* and *SLC47A2* genes affecting the pharmacokinetics of metformin: Computational approach. *Egypt J Med Hum Genet* 23, 92 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00306-9>
- Bassett, I.B., Barnetson, R.S.C. and Pannowitz, D.L. (1990), A comparative study of tea-tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acne. *Medical Journal of Australia*, 153: 455-458. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1990.tb126150.x>
- BMC Bioinformatics. 2010 Nov 8;11(1):548. DOI: [10.1186/1471-2105-11-548](https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548). PubMed: [21059217](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21059217/).
- Capon F. The Genetic Basis of Psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2017 Nov 25;18(12):2526. doi: 10.3390/ijms18122526. PMID: 29186830; PMCID: PMC5751129.
- Capriotti E, Calabrese R, Casadio R. (2006) Predicting the insurgence of human genetic diseases associated to single point protein mutations with support vector machines and evolutionary information. *Bioinformatics*. 22 2729-2734. (PhD SNP referansı)
- Capriotti E, Fariselli P and Casadio R (2005). I-Mutant2.0: predicting stability changes upon mutation from the protein sequence or structure. *Nucl. Acids Res*. 33: W306-W310. <http://gpcr.biocomp.unibo.it/cgi/predictors/I-Mutant2.0/I-Mutant2.0.cgi>
- Carrascosa JM, Del-Alcazar E. Apremilast for psoriasis treatment. *G Ital Dermatol Venereol*. 2020 Aug;155(4):421-433. doi: 10.23736/S0392-0488.20.06684-5. Epub 2020 Jun 15. PMID: 32545946.
- Christophers, E. Psoriasis—Epidemiology and clinical spectrum. *Clin. Exp. Dermatol*. 2001, 26, 314–320  
pubmed
- Computational Chemistry*, David Young, Wiley-Interscience, 2001. Appendix A. A.1.6 pg 330, Spartan
- Drugs and Lactation Database (LactMed®) [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Child Health and Human Development; 2006–. Tea Tree Oil. 2023 Apr 15. PMID: 30000944.
- Dumurgier, J., & Sabia, S. (2020). Nouvelles tendances épidémiologiques de la maladie d'Alzheimer [Epidemiology of Alzheimer's disease: latest trends]. *La Revue du raticien*, 70(2), 149–151.
- Edward G. Neilan, Vivian E. Shih, Amino Acids, Editor(s): Michael J. Aminoff, Robert B. Daroff, Encyclopedia of the Neurological Sciences, Academic Press, 2003, Pages 112-116, ISBN 9780122268700, <https://doi.org/10.1016/B0-12-226870-9/00003-4>.

- Ekins S, Mestres J, Testa B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. *Br J Pharmacol*. 2007 Sep;152(1):9-20. doi: 10.1038/sj.bjp.0707305. Epub 2007 Jun 4. PMID: 17549047; PMCID: PMC1978274. pubmed
- El Bably MM, Abdel Aziz DM, Adly NN, Ali MA, Khedr AS, El Leithy SA. Galectin-1 in Psoriatic arthritis, Psoriasis, Rheumatoid arthritis and its relation with disease activity and skin lesion. *Egypt J Immunol*. 2023 Apr;30(2):73-82. PMID: 37031409.
- El-Leithy, S.A., Sherif, N.M., El-Arousy, N.H., El-Hilaly, R.A., & Shakweer, M.M. (2020). *Cutaneous immunohistochemical expression of interleukin-23 receptor (IL-23R) in psoriasis and psoriatic arthritis patients: Relation to musculoskeletal ultrasound findings. The Egyptian Rheumatologist*, 42, 313-318.
- Franz M, Rodriguez H, Lopes C, Zuberi K, Montojo J, Bader GD, Morris Q. GeneMANIA update 2018. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jul 2;46(W1):W60-W64. doi: 10.1093/nar/gky311. PMID: 29912392; PMCID: PMC6030815.
- Fredrik Enlund, Lena Samuelsson, Charlotta Enerbäck, Annica Inerot, Jan Wahlström, Maria Yhr, Åsa Torinsson, Tommy Martinsson, Gunnar Swanbeck; Analysis of Three Suggested Psoriasis Susceptibility Loci in a Large Swedish Set of Families: Confirmation of Linkage to Chromosome 6p (HLA Region), and to 17q, but not to 4q. *Hum Hered* 1 March 1999; 49 (1): 2–8. <https://doi.org/10.1159/000022832>
- Girolomoni, G., Strohal, R., Puig, L., Bachelez, H., Barker, J., Boehncke, W.H. and Prinz, J.C. (2017), The role of IL-23 and the IL-23/T<sub>H</sub>17 immune axis in the pathogenesis and treatment of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 31: 1616-1626. <https://doi.org/10.1111/jdv.14433>
- Gromiha MM. Protein folding, stability and interactions. *Curr Protein Pept Sci*. 2010 Nov;11(7):497. doi: 10.2174/138920310794109102. PMID: 20887266.
- Hart PH, Brand C, Carson CF, Riley TV, Prager RH, Finlay-Jones JJ. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res*. 2000 Nov;49(11):619-26. doi: 10.1007/s000110050639. PMID: 11131302.
- J. Cheng, A. Randall, and P. Baldi. Prediction of Protein Stability Changes for Single-Site Mutations Using Support Vector Machines. *Proteins*, vol. 62,no. 4, pp. 1125-1132, 2006. (MUPRO referans)
- J. Cheng, A. Randall, and P. Baldi. Prediction of Protein Stability Changes for Single Site Mutations Using Support Vector Machines. *Proteins: Structure, Function, Bioinformatics*. In press, 2005. [PDF] (MUPRO referansı)
- Kanda N, Hoashi T, Saeki H. Nutrition and Psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 29;21(15):5405. doi: 10.3390/ijms21155405. PMID: 32751360; PMCID: PMC7432353.
- Kavalalı G. Çay Ağacı Bitkisinin (*Melaleuca alternifolia*, Maiden & Betche, Cheel) Halk Hekimliğinde Kullanılışının Etnofarmakolojik Olarak Değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*. 2017; 7(3): 211-214.
- Kimmel GW, Lebwohl M. Psoriasis: Overview and Diagnosis. *Evidence-Based Psoriasis*. 2018 Jul 1:1–16. doi: 10.1007/978-3-319-90107-7\_1. PMCID: PMC7122924. pubmed
- Lebwohl, M. Psoriasis. *Lancet* 361, 1197–1204, (2003).

- Li, B., Huang, L., Lv, P. *et al.* The role of Th17 cells in psoriasis. *Immunol Res* **68**, 296–309 (2020). <https://doi.org/10.1007/s12026-020-09149-1>
- Martin DA, Towne JE, Kricorian G, et al. The emerging role of interleukin-17 in the pathogenesis of psoriasis: preclinical and clinical findings. *J Invest Dermatol.* 2013;133(1):17–26. doi: 10.1038/jid.2012.194 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list]
- Meller S, Di Domizio J, Voo KS, *et al.* T(H)17 cells promote microbial killing and innate immune sensing of DNA via interleukin 26. *Nat Immunol* 2015; 16: 970– 979.
- Moradi M, Golmohammadi R, Najafi A, Moosazadeh Moghaddam M, Fasihi-Ramandi M, Mirnejad R. A contemporary review on the important role of *in silico* approaches for managing different aspects of COVID-19 crisis. *Inform Med Unlocked.* 2022;28:100862. doi: 10.1016/j.imu.2022.100862. Epub 2022 Jan 21. PMID: 35079621; PMCID: PMC8776350.
- Morris GM, Lim-Wilby M. Molecular docking. *Methods Mol Biol.* 2008;443:365-82. doi: 10.1007/978-1-59745-177-2\_19. PMID: 18446297.
- Mosca M, Hong J, Hadelar E, Hakimi M, Liao W, Bhutani T. The Role of IL-17 Cytokines in Psoriasis. *Immunotargets Ther.* 2021 Nov 24;10:409-418. doi: 10.2147/ITT.S240891. PMID: 34853779; PMCID: PMC8627853.
- Nair PA, Badri T. Psoriasis. 2022 Apr 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 28846344. pubmed
- Ogawa K, Okada Y. The current landscape of psoriasis genetics in 2020. *J Dermatol Sci.* 2020 Jul;99(1):2-8. doi: 10.1016/j.jdermsci.2020.05.008. Epub 2020 May 28. PMID: 32536600.
- Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces.
- R. Kolipara, C. Downing, R. Gordon, S. Tying, Interleukin-23 in the pathogenesis and treatment of psoriasis, *Skin Therapy Lett*, 20 (2) (2015), pp. 1-4
- Raharja A, Mahil SK, Barker JN. Psoriasis: a brief overview. *Clin Med (Lond).* 2021 May;21(3):170-173. doi: 10.7861/clinmed.2021-0257. PMID: 34001566; PMCID: PMC8140694.
- Reich A, Szepietowski JC. Clinical Aspects of Itch: Psoriasis. In: Carstens E, Akiyama T, editors. *Itch: Mechanisms and Treatment*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2014. Chapter 4. PMID: 24830002.
- Rendon, A., & Schäkel, K. (2019). *Psoriasis Pathogenesis and Treatment. International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1475. doi:10.3390/ijms20061475 pubmed
- Rizvi SM, Shakil S, Haneef M. A simple click by click protocol to perform docking: AutoDock 4.2 made easy for non-bioinformaticians. *EXCLI J.* 2013 Sep 23;12:831-57. PMID: 26648810; PMCID: PMC4669947.,
- Shapira S, Pleban S, Kazanov D, Tirosh P, Arber N (2016) Terpinen-4-ol: İnsan Gastrointestinal Kanseri için Yeni ve Umut Verici Bir Terapötik Ajan. *PLOS ONE* 11(6): e0156540. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156540>

- Sherry, S. T., Ward, M. H., Kholodov, M., Baker, J., Phan, L., Smigielski, E.M., & Sirotkin, K. (2001). dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic acids research*, 29(1), 308–311. <https://doi.org/10.1093/nar/29.1.308>
- Sim NL, Kumar P, Hu J, Henikoff S, Schneider G, Ng PC. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acids Res.* 2012 Jul;40(Web Server issue):W452-7. doi: 10.1093/nar/gks539. Epub 2012 Jun 11. PMID: 22689647; PMCID: PMC3394338.
- Smigielski EM, Sirotkin K, Ward M, Sherry ST. dbSNP: a database of single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res.* 2000 Jan 1;28(1):352-5. doi: 10.1093/nar/28.1.352. PMID: 10592272; PMCID: PMC102496.
- Sterling T, Irwin JJ. ZINC 15--Ligand Discovery for Everyone. *J Chem Inf Model.* 2015 Nov 23;55(11):2324-37. doi: 10.1021/acs.jcim.5b00559. Epub 2015 Nov 9. PMID: 26479676; PMCID: PMC4658288.
- Sukumar, S., Krishnan, A., Banerjee, S. (2021). An Overview of Bioinformatics Resources for SNP Analysis. In: Singh, V., Kumar, A. (eds) *Advances in Bioinformatics*. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-33-6191-1\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-33-6191-1_7)
- Tenorio, Yair & Hernandez-Santoyo, Alejandra & Altuzar, Victor & Vivanco-Cid, Hector & Mendoza-Barrera, Claudia. (2013). Protein-Protein and Protein-Ligand Docking. 10.5772/56376.
- UniProt Consortium. The universal protein resource (UniProt). *Nucleic Acids Res.* 2008 Jan;36(Database issue):D190-5. doi: 10.1093/nar/gkm895. Epub 2007 Nov 27. PMID: 18045787; PMCID: PMC2238893
- van de Kerkhof PC, Vissers WH. The topical treatment of psoriasis. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2003 Mar-Apr;16(2):69-83. doi: 10.1159/000069029. PMID: 12637782.
- Varma, Sudhir & Abuhijleh, Eyas. (2018). The Antiplatelet Efficacy of Two Herbal-Based Toothpastes: A Clinical Intervention.
- Venkata Subbiah H, Ramesh Babu P, Subbiah U. Determination of deleterious single-nucleotide polymorphisms of human LYZ C gene: an in silico study. *J Genet Eng Biotechnol.* 2022 Jul 1;20(1):92. doi: 10.1186/s43141-022-00383-8. PMID: 35776277; PMCID: PMC9247897
- Venselaar H, Te Beek TA, Kuipers RK, Hekkelman ML, Vriend G. Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics.* 2010 Nov 8;11:548. doi: 10.1186/1471-2105-11-548. PMID: 21059217; PMCID: PMC2992548.
- Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, Franz M, Grouios C, Kazi F, Lopes CT, Maitland A, Mostafavi S, Montojo J, Shao Q, Wright G, Bader GD, Morris Q. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jul;38(Web Server issue):W214-20. doi: 10.1093/nar/gkq537. PubMed PMID: 20576703; PubMed Central PMCID: PMC2896186.
- Zhang X, Angkasekwinai P, Dong C, Tang H. Structure and function of interleukin-17 family cytokines. *Protein Cell.* 2011;2(1):26–40. doi: 10.1007/s13238-011-1006-5 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar] [Ref list]