



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**BAZI BÖCEK TÜRLERİNDE
FUKOZİLTRANSFERAZLARIN *IN SILICO*
YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE *IN VIVO*
DOĞRULANMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Sadiye OYLUM

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir
2023

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**Bazı Böcek Türlerinde Fukoziltransferazların *in silico*
Yöntemlerle Tanımlanması ve *in vivo* Doğrulanması**

Sadiye OYLUM

Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

Zooloji Yüksek Lisans Programı

İZMİR

2023

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / ~~Doktora Tezi~~ olarak sunduğum “**Bazı Böcek Türlerinde Fukoziltransferazların *in silico* Yöntemlerle Tanımlanması ve *in vivo* Doğrulanması**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

18 / 07 / 2023

Sadiye OYLUM

ÖZET

BAZI BÖCEK TÜRLERİNDE FUKOZİLTRANSFERAZLARIN *IN SILICO* YÖNTEMLERLE TANIMLANMASI VE *IN VIVO* DOĞRULANMASI

OYLUM, Sadiye

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

Ağustos 2023, 74 sayfa

Fukoziltransferazlar (FucT) tip II trans-membran golgi yerleşik proteinlerdir ve α -L-fukozun GDP-Fuk'tan N- ve O-bağlı glikanlara, serbest oligosakkaritlere, lipidlere veya doğrudan proteinlere transferini (fukozilasyon) katalize ederler. Fukozilasyonlar, selektin aracılı lökosit-endotelyal adezyon, lenfosit homing, ABO kan grubu histolojik uyumluluğu, notch reseptör sinyali, embriyo-fetal gelişimi ve konakçı-mikrop etkileşimleri dahil olmak üzere çeşitli biyolojik olaylarda yer alır.

FUT gen ailesi fukoziltransferaz proteinlerini kodlar. Memelilerde FUT 1-11, POFUT1 (Protein O-fukoziltransferaz 1) ve POFUT2 (Protein O-fukoziltransferaz 2) olmak üzere 13 fukoziltransferaz gen ailesi (FUT) tanımlanmıştır. Böceklerde ise çalışmalar daha az sayıda olup, FUT tipleri türlere göre karakterize edilmemiştir. Amacımız böceklerde bulunan FUT'ların, memelilerde bulunan FUT gen ailesinden hangileri ile ortak gen yapısına sahip olduğunu belirlemek ve transkriptom verileri bulunan böceklerde FUT'ların belirlenmesi ve karakterize edilmesidir. Ayrıca *Bombyx mori* larvalarında fukoziltransferaz gen ekspresyon seviyeleri Real-time PCR ile belirlenmiştir.

Genomları bilinen böceklerin, veri tabanlarından elde edilen transkriptomlarından (tüm mRNA dizileri) fukoziltransferaz motif dizileri veri tabanları (Clustal Omega, Prosite ve MEME-Suite/FIMO) aracılığıyla tespit edilerek böceklerdeki olası fukoziltransferazlar belirlenmiştir. Böceklerdeki fukoziltransferazlar, memelilerdeki 13 fukoziltransferaz dizileri ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra memelilerdeki fukoziltransferaz enzimlerinin üç boyutlu protein yapılarıyla karşılaştırılarak (Swiss-Model, AlphaFold ve pyMOL veri tabanları) aralarındaki benzerlikler ortaya çıkarılmıştır.

Böceklerdeki fukoziltransferazlarda bulunan motiflerde memelilerdekilerle benzerlikler elde edilmiştir. Motif ve üç boyutlu yapı karşılaştırma bölgelerine göre, *Callosobruchus maculatus* türünde 13 fukoziltransferazın tümü bulunurken, *Galleria mellonella* türünde FucT1 ve FucT9, *Manduca sexta* türünde FucT1, FucT4, FucT5, FucT8 ve FucT11, *Myzus persicae* türünde FucT2, FucT3, FucT5, FucT6, FucT7, FucT9, FucT10 ve FucT11, *Bombyx mori* türünde FucT1, FucT3, FucT5, FucT6 ve FucT9 motifleri karakterize edilmiştir. QPCR sonuçlarına bakıldığında ipek böceğinin (*B. mori*) farklı gün ve farklı dokularında $\alpha 1,6$ ve $\alpha 1,3$ -fukoziltransferaz gen ekspresyon seviyeleri hepsinde farklılık göstermektedir.

Bu bilgiler omurgasızlarda fukoziltransferazlar üzerine çalışmalara devam edilmesi için yol gösterici özellik taşımaktadır. Genomu belirlenen böceklerde çalışıldıkça fukoziltransferaz enzimi için yeni diziler ortaya çıkaracaktır. Böcekler ve memelilerdeki fukoziltransferaz motiflerinin benzerlikleri evrimsel açıdan ortolog genler olabileceğine işaret ederken, ayrıca bu konuda gelişimsel ve evrimsel yeni çalışmaların yapılacağının göstergesidir.

Anahtar sözcükler: Fukoziltransferaz, gen, motif, veri tabanı, QPCR.

ABSTRACT***IN SILICO* IDENTIFICATION AND *IN VIVO* VALIDATION OF
FUCOSYLTRANSFERASE IN SOME INSECT SPECIES**

OYLUM, Sadiye

MSc in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU

July 2023, 74 pages

Fucosyltransferases (FucTs) are type II trans-membrane Golgi-resident proteins that catalyze the transfer (fucosylation) of α -L-fucose from GDP-Fuc onto N- and O-linked glycans, free oligosaccharides, or lipids or directly onto proteins. Fucosylations are involved in a variety of biological processes, including selectin-mediated leukocyte-endothelial adhesion, lymphocyte homing, ABO blood group histocompatibility, notch receptor signaling, embryo-fetal development, and host-microbe interactions (4).

The FUT gene family encodes fucosyltransferase proteins. In mammals, 13 fucosyltransferase gene families (FUT) have been identified, including FUT 1-11, POFUT1 (Protein O-fucosyltransferase 1) and POFUT2 (Protein O-fucosyltransferase 2). In insects, there are few studies on fucosyltransferase and FUT types are not characterized by species. The purpose of the article is to determine which FUTs found in insects have a common gene structure with the FUT gene family found in mammals, and to identify and characterize FUTs in insects with transcriptome data. In addition, fucosyltransferase gene expression levels in *Bombyx mori* larvae were determined by QPCR.

Fucosyltransferase motif sequences were determined from the transcriptomes (all mRNA sequences) obtained from the databases of insects with known genomes through databases (Clustal Omega, Prosite and MEME-Suite/FIMO), and possible fucosyltransferases in insects were determined. Fucosyltransferases in insects were compared with 13 fucosyltransferase sequences in mammals. Then, the similarities between the three-dimensional protein structures of the mammalian fucosyltransferase enzymes (Swiss-Model, AlphaFold and pyMOL databases) were revealed.

Similarities to those in mammals were obtained in motifs found in fucosyltransferases in insects. According to the patterns and three-dimensional structure comparison regions, all 13 fucosyltransferases were found in *Callosobruchus maculatus*, FucT1 and FucT9 in *Galleria mellonella*, FucT1, FucT4, FucT5, FucT8 and FucT11, FucT2, FucT6, FucT in *Manduca sexta*, in *Myzus persicae*. FucT9, FucT10 and FucT11, FucT1, FucT3, FucT5, FucT6 and FucT9 motifs have been characterized in *Bombyx mori* species. Considering the real-time PCR results, α 1,6 and α 1,3-fucosyltransferase gene expression levels differ in different tissues of silkworm (*B. mori*) on different days.

This information provides guidance for continuing studies on fucosyltransferases in invertebrates. New sequences for the fucosyltransferase enzyme will be revealed as the genome of determined insects is studied. While the similarities of fucosyltransferase motifs in insects and mammals indicate that they may be orthologous genes in terms of evolution, it is also an indication that new developmental and evolutionary studies will be conducted on this subject.

Keywords: Fucosyltransferase, gene, motif, database, QPCR.

ÖNSÖZ

Omurgalılarda fukoziltransferazlarla ilgili enzimin işlevleri, yapısı, insanlarda kanser türleri üzerine etkileri açısından çok sayıda çalışma olduğunu yaptığımız literatür araştırmaları sonucu gördük. Omurgasızlarda ise karakterize edilen ve fonksiyonel olarak çalışılan fukoziltransferazlar oldukça az sayıdadır. Bütün böceklerde fukoziltransferazlar olduğunu düşündüğümüz için genomu bilinen diğer böceklerde biyoinformatik uygulamalarla (Clustal Omega, Prosite ve MEME-Suite/FIMO) fukoziltransferaz motiflerini böcek protein dizilerinde aradık. Bunun sonucunda böceklerde fukoziltransferazların olabileceğini belirledik. Daha sonra genomu bilinen *B. mori*'de çalışarak bilinen fukoziltransferaz genlerinin ekspresyon seviyesini gözlemledik. Yetiştirdiğimiz ipek böceklerinin 5. instara ulaşan larvalarını farklı günlerde disekte ettikten sonra alınan dokulara RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve QPCR analizi yaptık.

İZMİR

18 / 07 /2023

Sadiye OYLUM



İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK	
KABUL ONAY SAYFASI	
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxvii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Fukoz ve GDP-fukozun Biyosentezi	3
2.2 Fukozilasyon ve Fukozillenmiş Glikanlar	4
2.3 Fukoziltransferaz Gen Ailesi	6
2.4 İnsan Fukoziltransferazlarının Kromozomal Lokasyonu ve Ekspresyonu	8
2.5 FucT katalitik Alanı ve α 1,3-FucT Motifleri	9

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.6 Biyoinformatik ve Biyobilişimin Önemi	10
2.7 Biyoinformatiğin Uygulama Alanları	11
2.7.1 Homoloji Araştırmaları	11
2.7.2 Biyolojik Veri Tabanları	12
3.GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1 Biyoinformatik Yöntemler	14
3.1.1 Clustal Omega	14
3.1.2 Prosite	15
3.1.3 MEME-Suite	16
3.1.4 Swiss-Model	16
3.1.5 PyMOL	17
3.2 α 1,6 ve α 1,3-fukoziltransferaz Genlerinin mRNA Ekspresyon Seviyelerinin QPCR ile Belirlenmesi	18
3.2.1 <i>Bombyx mori</i> 'nin Yetiştirilmesi ve Diseksiyonu	18
3.2.2 Total RNA İzolasyonu	19
3.2.3 cDNA Sentezi	20
3.2.4 QPCR Analizi	20
3.2.5 İstatistiksel Yöntemler	21

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4. BULGULAR	22
4.1 Biyoinformatik Sonuçlar	22
4.2 Fuc-T C3 ve Bma1,6FucT Genlerinin mRNA Ekspresyon Seviyeleri	52
5.TARTIŞMA	56
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR DİZİNİ	62
TEŞEKKÜR	69
ÖZGEÇMİŞ	71
EKLER	



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Fukozilasyon süreci ve Lewis antijenleri	4
2.2 Fukozun glikanlara ve amino asitlere eklenmesi.....	4
2.3 α 1,3-fukoziltransferazların korunmuş peptid motifleri I-V'in ClustalW dizi hizalaması	10
3.1 <i>Bombyx mori</i> yaşam döngüsü	19
4.1 <i>C. maculatus</i> , <i>M. musculus</i> , <i>H. sapiens</i> , <i>B. taurus</i> ve <i>T. truncatus</i> 'un Clustal Omega'da hizalanması	32
4.2 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırması	32
4.3 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT2 3 boyutlu yapı karşılaştırması	33
4.4 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırması	33
4.5 <i>C. maculatus</i> ve <i>M. musculus</i> FucT4 3 boyutlu yapı karşılaştırması	34
4.6 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırması	35
4.7 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT6 3 boyutlu yapı karşılaştırması	36
4.8 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT7 3 boyutlu yapı karşılaştırması	37
4.9 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT8 3 boyutlu yapı karşılaştırması	37
4.10 <i>C. maculatus</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırması	38

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.11 <i>C. maculatus</i> ve <i>B. taurus</i> FucT10 3 boyutlu yapı karşılaştırması	39
4.12 <i>C. maculatus</i> ve <i>M. musculus</i> FucT11 3 boyutlu yapı karşılaştırması.....	40
4.13 <i>C. maculatus</i> ve <i>C. lupus familiaris</i> POFucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırılması	41
4.14 <i>C. maculatus</i> ve <i>B. taurus</i> POFucT2 3 boyutlu yapı karşılaştırması	42
4.15 <i>B. mori</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırması	42
4.16 <i>B. mori</i> ve <i>P. troglodytes</i> FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırması	43
4.17 <i>B. mori</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırması	43
4.18 <i>B. mori</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT6 3 boyutlu yapı karşılaştırması	44
4.19 <i>B. mori</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırması	45
4.20 <i>G. mellonella</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırması	45
4.21 <i>G. mellonella</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırması	46
4.22 <i>M. sexta</i> ve <i>M. musculus</i> FucT4 3 boyutlu yapı karşılaştırması	46
4.23 <i>M. sexta</i> ve <i>M. musculus</i> FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırması	47
4.24 <i>M. sexta</i> ve <i>M. musculus</i> FucT8 3 boyutlu yapı karşılaştırması	47
4.25 <i>M. sexta</i> ve <i>M. musculus</i> FucT11 3 boyutlu yapı karşılaştırması	48
4.26 <i>M. persicae</i> ve <i>P. troglodytes</i> FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırması	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.27 <i>M. persicae</i> ve <i>P. troglodytes</i> FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırması	49
4.28 <i>M. persicae</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT7 3 boyutlu yapı karşılaştırması	49
4.29 <i>M. persicae</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırması	50
4.30 <i>M. persicae</i> ve <i>H. sapiens</i> FucT10 3 boyutlu yapı karşılaştırması	50
4.31 Hemositlerde Bm α 1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması	54
4.32 Yağ dokuda Bm α 1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması	55
4.33 Ovaryumda Bm α 1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması	55
4.34 Testislerde Bm α 1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması	55



TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Sık kullanılan veri tabanları	7
2.2 FUT genleri, enzimler, enzimlerin hücre içi konumu ve protein sınıfı... ..	13
3.1 IUPAC tek harf amino asit kodlama	16
4.1 FucT1 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	22
4.2 FucT2 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	23
4.3 FucT3 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	23
4.4 FucT4 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	24
4.5 FucT5 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	24
4.6 FucT6 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	25
4.7 FucT7 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	25
4.8 FucT8 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	26
4.9 FucT9 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	26
4.10 FucT10 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	27
4.11 FucT11 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	28
4.12 POFucT1 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	28
4.13 POFucT2 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri	29
4.14 Tüm fukoziltransferaz motifleri için oluşturulmuş modeller	29

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.15 Böcek türlerinin protein dizileri	30
4.16 <i>C. maculatus</i> FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	32
4.17 <i>C. maculatus</i> FucT2 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	33
4.18 <i>C. maculatus</i> FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	33
4.19 <i>C. maculatus</i> FucT4 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	34
4.20 <i>C. maculatus</i> FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	35
4.21 <i>C. maculatus</i> FucT6 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	35
4.22 <i>C. maculatus</i> FucT7 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	36
4.23 <i>C. maculatus</i> FucT8 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	37
4.24 <i>C. maculatus</i> FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	38
4.25 <i>C. maculatus</i> FucT10 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	39

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.26 <i>C. maculatus</i> FucT11 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	40
4.27 <i>C. maculatus</i> POFucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	41
4.28 <i>C. maculatus</i> POFucT2 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	41
4.29 <i>B. mori</i> FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	42
4.30 <i>B. mori</i> FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	43
4.31 <i>B. mori</i> FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	43
4.32 <i>B. mori</i> FucT6 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	44
4.33 <i>B. mori</i> FucT9 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	44
4.34 <i>G. mellonella</i> FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	45
4.35 <i>G. mellonella</i> FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	46
4.36 <i>M. sexta</i> FucT4 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	46

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.37 <i>M. sexta</i> FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	47
4.38 <i>M. sexta</i> FucT8 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	47
4.39 <i>M. sexta</i> FucT11 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	48
4.40 <i>M. persicae</i> FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	48
4.41 <i>M. persicae</i> FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	49
4.42 <i>M. persicae</i> FucT7 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	49
4.43 <i>M. persicae</i> FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	50
4.44 <i>M. persicae</i> FucT10 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri	50
4.45 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan <i>C. maculatus</i> VEN34891.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri	51
4.46 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan <i>C. maculatus</i> VEN34890.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri	51

4.47	α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan <i>C. maculatus</i> VEN34889.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri	52
4.48	α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan <i>C. maculatus</i> VEN58850.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri.....	52
4.49	<i>B. mori</i> gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait RNA miktarları	53
4.50	<i>B. mori</i> gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait RNA miktarlarının 260 nm/280 nm'deki saflık değerleri.....	53
4.51	<i>B. mori</i> gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait QPCR target gen CT, referans gen CT ve Delta CT değerleri	54
4.52	<i>B. mori</i> gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait QPCR target gen CT değerleri.....	54



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
FucT	Fukoziltransferaz proteinleri
FUT	Fukoziltransferaz genleri
POFucT1	Protein O-fukoziltransferaz 1
POFucT2	Protein O-fukoziltransferaz 2
Bm α 1,6FucT	<i>Bombyx mori</i> α 1,6-fukoziltransferaz
Bmrp49	<i>Bombyx mori</i> ribozomal protein 49
Fuc-T C3	α 1,3-fukoziltransferaz
GDP-fuc	Guanozin difosfat fukoz
GlcNAc	N-asetilglukozamin
LacdiNAc	N-asetilgalaktozaminil-b1,4-N-asetilglukozamin
Asp	Aspartik asit
Glu	Glutamik asit



1. GİRİŞ

Fukoziltransferaz gen ailesi (FUT), karmaşık bir hücre ve doku tipine özgü ekspresyon modeli gösteren bir grup proteini (FucT) kodlamaktadır (Vries *et al.*, 2001). FucT'ların enzimatik aktivitesindeki benzerlikler ve farklılıklar, substrat özgüllüklerine göre çeşitli enzim aktiviteleri arasında ayırımı yapmayı mümkün hale getirmektedir. Birçok doku birden fazla FucT içerir. İnsan genomunda tanımlanmış 13 FUT geni bulunmaktadır. FucT1 (H enzimi) ve FucT2 (sekretör enzim), ABH ve Lewis kan grubu antijenlerinin oluşumundan sorumlu α 1,2-fukoziltransferazlar ailesine dahildir. FucT3-7 α 1,3-fukoziltransferaz ve ayrıca FucT3 ve FucT5 α 1,4-fukoziltransferaz, FucT8 α 1,6-fukoziltransferaz, FucT9-11 α 1,3-fukoziltransferaz, POFucT1 (Protein O-fukoziltransferaz 1) ve POFucT2 (Protein O-fukoziltransferaz 2) ise O-fukoziltransferaz ailesine dahil edilir. FucT'ların çoğu modifiye olmuş N-bağlı glikanlarıdır ve Golgi'de bulunurlar. O-fukoziltransferazlar ise genellikle endoplazmik retikulumda bulunur (Vries *et al.*, 2001; Minagawa *et al.*, 2015; Shan *et al.*, 2019).

İnsan α 1,3/4-fukoziltransferazları ve bunların genetik ifadesi gelişimsel olarak düzenlenmektedir (Mollicone *et al.*, 1994; Candelier *et al.*, 2000). FUT4 ve FUT9 genleri insan embriyogenezinin erken dönemlerinde görülürken, FUT6 ve FUT3 gelişimin 8. haftasından sonra eksprese olmaya başlamaktadır (Mollicone *et al.*, 2009). FucT4 ve FucT9 tarafından üretilen Le^x ve CD15 antijeninin, Fuc5, Fuc6 ve Fuc7 tarafından üretilen siyalil-Le^x ve tip 1 Lewis (Le^a ve Le^b) antijenlerinden daha erken görünmesi bu durumun bir göstergesidir. Le^x farklılaşmamış hızlı bölünen hücrelerde bulunurken, siyalil-Le^x farklılaşmış hücrelerde daha fazladır (Candelier *et al.*, 2000). Bu glikotoplar embriyo-fetal gelişimde, selektine bağımlı lökosit alımında ve lenfositlerin yaralanan bölgeye göç etmesinde yer almaktadır (Mollicone *et al.*, 2009).

Bombyx mori, genomu bilinen ve ulaşılması kolay model organizmalardan biridir ve bu nedenle çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır. Böceklerde α 1,6-fukoziltransferazın fonksiyonlarını araştırmak için *B. mori*'den (Bm α 1,6FucT) cDNA klonlanmış ve böcek hücre dizileri kullanılarak hazırlanan rekombinant enzim karakterize edilmiştir. Yapılan araştırmalar doğrultusunda *B. mori*'de α 1,3-fukoziltransferaz (Fuc-T C3), *Caenorhabditis elegans* ve *Drosophila melanogaster*'de ise α 1,6-fukoziltransferaz karakterize edilmiştir (Stacke *et al.*, 2010; Ihara *et al.*, 2014). Omurgasızlarda bulunan α 1,6 fukoziltransferazın, omurgalılarıdaki FucT8 ile homolog olduğu anlaşılmıştır.

Omurgasızlar ve omurgalılarından çeşitli türler arasında fukoziltransferaz dizilerinin hizalanması, motif bölgelerinin böceklerden memelilere kadar değişen enzimlerde yüksek oranda korunduğunu ve homolog dizilerin evrimsel olarak aynı atadan kökenlendiğini göstermektedir (Paschinger, 2005; Ihara *et al.*, 2014).

Bu çalışmada *B. mori* 5.instar larvalarının farklı günlerinden 4 farklı doku alınarak α 1,3- ve α 1,6-fukoziltransferaz gen ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca veri tabanlarından (NCBI ve UniProt) ulaşılan omurgalı FucT'lerinin motif dizileri tespit ve analiz edilmiş (Clustal Omega, Prosite ve MEME-Suite/FIMO), böcek protein dizileriyle karşılaştırılmıştır (Clustal Omega). Böceklerde yer alan olası fukoziltransferazlar tespit edilip görselleştirilmiş (Swiss-Model) ve omurgalıların 3 boyutlu protein yapılarıyla (AlphaFold) karşılaştırılarak (PyMOL) motif kısımlarının kesiştiği gösterilmiştir.

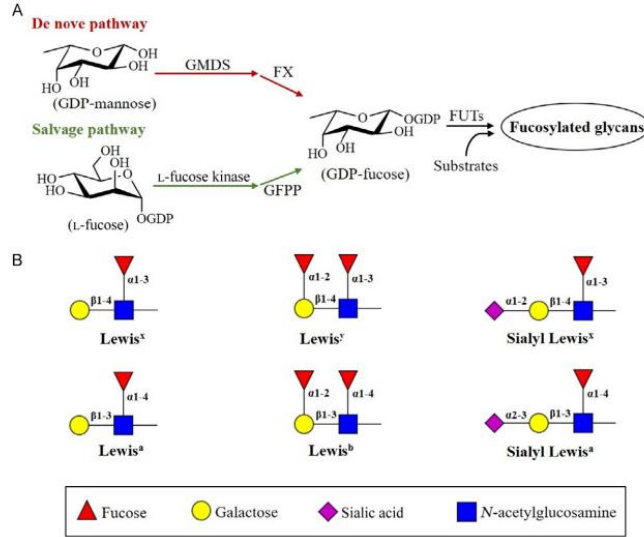
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Fukoz ve GDP-fukozun Biyosentezi

Fukoz (6-deoksi-L-galaktoz) bir deoksiheksozdur (Kurz *et al.*, 2016) ve hücre yüzeylerinde yaygın olarak bulunan bir monosakkarit molekülüdür (Yan *et al.*, 2013). Birçok glikolipidin yanı sıra doğada meydana gelen N- ve O-bağlı glikoproteinlerin ortak bir bileşenidir (Kurz *et al.*, 2016) ve birçok biyolojik hücrel tanıma olayında yer alır. Fukoz, fukozilasyonda (glikoprotein ve glikolipidlerdeki oligosakkaritlere fukoz eklenmesi) yer alan enzimlerin (fukoziltransferazlar) özgülüğünün tanımlanmasında ve modern glikobiyolojide önemli bir role sahiptir (Yan *et al.*, 2013).

Fukoz, oligosakkaritlere fonksiyonel özellikler kazandırır ve hücre adezyonu, hücre farklılaşması ve hücre büyümesi gibi çeşitli biyolojik süreçlerde, ayrıca büyüme faktörü reseptörü, mikrobiyal ve viral enfeksiyonlar, kanser ve aterosklerozda önemli biyolojik etkileri bulunmaktadır (Staudacher *et al.*, 1999; Zhao *et al.*, 2008; Kurz *et al.*, 2016).

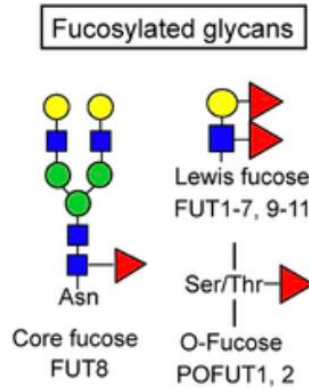
GDP-fukoz, memeli hücrelerinin sitozolünde iki yolla sentezlenir (Şekil 2.1). Bu yollardan biri *de novo*, diğeri ise *yan özüştürüm (salvage)* yoludur. Yapılan çalışmalar HeLa hücrelerinde GDP-fukozun %90'ı *de novo* yoluyla sitozolden orijinlendiğini göstermektedir. GDP-mannozun GDP-fukoza dönüştürülmesi üç enzimatik reaksiyonla katalizlenir. Bunu sağlayan iki enzim GDP-mannoz 4,6-dehidrataz ve GDP-4-keto-6-deoksimannoz-3,5-epimeraz-4-redüktaz'dır. *Yan özüştürüm* yolunda ise fukoz iki aşamalı reaksiyonla GDP-fukoza dönüştürülür. Bu reaksiyon fukoz kinaz ve GDP-fukoz pirofosforilaz tarafından gerçekleştirilir (Shan *et al.*, 2019).



Şekil 2.1 Fukozilasyon süreci ve Lewis antijenleri. (A) Fukozilasyon, fukoz içeren glikanları sentezlemede kullanılan bir süreçtir. Memeli hücrelerinin sitozolündeki GDP-fukoz iki yolla sentezlenir: *de novo* yolu ve *yan özüştürüm* yolu. (B) Lewis antijenleri, glikolipidler veya glikoproteinlerdeki O-bağlı veya N-bağlı glikanların terminalinde yer alan fukozillenmiş yapısal motiflerdir. FUT, fukoziltransferazlar; FX, GDP-4-keto-6-deoksimannoz-3,5-epimeraz-4-redüktaz; GFPP, GDP-fukoz pirofosforilaz; GMDS, GDP-mannoz 4,6-dehidrataz.

2.2 Fukozilasyon ve Fukozillenmiş Glikanlar

Fukozilasyon, biyokimyasal bir süreçtir ve organizmaların hücrelerinde gerçekleşen bir glikozilasyon reaksiyonunu ifade eder. Fukoziltransferazlar tarafından gerçekleştirilen fukozilasyon, α -L-fukozun GDP-Fuc'tan N- ve O-bağlı glikanlara (Şekil 2.2), serbest oligosakkaritlere veya lipidlere (Oriol *et al.*, 1999) veya doğrudan proteinlere (Wang *et al.*, 2001) transferini katalize eder (Mollicone *et al.*, 2009).



Şekil 2.2 Fukozun glikanlara ve amino asitlere eklenmesi.

Fukozilasyon süreci, hücrelerde çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahiptir:

- Glikoprotein oluşumu: Fukozilasyon, glikoproteinlerin oluşumunda önemlidir. Fukoz molekülleri, proteinlere eklenerek proteinin yapısal ve işlevsel özelliklerini etkileyebilmektedir.
- Hücre yüzeyi tanıma: Fukozilasyon, hücrelerin yüzeyinde yer alan reseptörlerin dışarıdan gelen molekülleri tanımasını etkileyebilir. Bu süreç, hücre-hücre etkileşimleri, immünolojik tepkiler ve enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmalarında önemlidir.
- Patojenlerin hücreye bağlanması ve invazyonu: Bazı patojenler, hücre yüzeyindeki fukozilasyonu hedef alarak hücrelere bağlanabilir ve enfeksiyon oluşturabilir. Fukozilasyon, patojenlerin hücreye tutunmasını etkileyerek enfeksiyonlarla savaşmada önemli bir rol oynamaktadır (Mollicone *et al.*, 2009).
- Biyolojik sinyal iletimi: Bazı proteinlerin fukozilasyonu, hücresel sinyal iletim yollarını düzenleyerek biyolojik tepkilerin kontrolünde rol oynayabilmektedir.

Fukozilasyon süreci, en yaygın post-translasyonel modifikasyonlardan biridir. Fukozillenmiş glikanlar, hücre adezyonu, büyüme faktörü reseptörü modülasyonu, mikrobiyal ve viral enfeksiyonlar, kanser ve ateroskleroz gibi çeşitli biyolojik olaylarda yer alır (Juliant *et al.*, 2014). Fukozilasyon sürecinin bozulması, çeşitli hastalıkların ve bozuklukların oluşmasına neden olabilmektedir.

α 1,2- ve α 1,3/4-FucT'lar, terminal fukosilasyonda (örn. histo-kan grubu antijenleri) yer alırken (Mollicone *et al.*, 1995), α 1,6-FucT (FucT8), en içteki asparagin bağlantılı N-asetilglukozamin'e fukoz ekler (GlcNAc). α 1,6-FucT fukozilasyonu, büyüme faktörü reseptörlerinin aktivasyonu (Liu *et al.*, 2011), *in vitro* ve *in vivo* (Shields *et al.*, 2002) antikora bağımlı hücre aracılı sitotoksitenin (ADCC) modülasyonu gibi birçok glikoprotein fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Memelilerde FucT8'in fizyolojik önemi, FUT8 geninin genetik ablasyonu ile gösterilmiştir: gen çıkarıldığında farelerin %80'i doğumdan üç gün sonra ölmekte (Wang *et al.*, 2005) ve hayatta kalanlarda ise ciddi bir büyüme geriliği görülmektedir (Juliant *et al.*, 2014).

Biyolojik ve tıbbi önemi nedeniyle en iyi bilinen fukozillenmiş glikanlar arasında ABO kan grubu antijenleri bulunur. Klinik öneme sahip bir diğer

fukozillenmiş glikan, N-glikan proksimal N-asetilglukozamine bağlı α 1,3-bağlı fukozdur (Kurz *et al.*, 2016). Bitki glikoproteinlerine, özellikle yaban turpu peroksidazına (HRP) karşı geliştirilen poliklonal antikorlar, çeşitli omurgasız türlerde α 1,3-fukozillenmiş N-glikanları tanımlamak için kullanılmıştır. *D. melanogaster* ve *C. elegans*'ta α 1,3'e bağlı fukozun varlığı kanıtlanmıştır (Kurz *et al.*, 2016). Bu immünojenik glikanın (α 1,3-bağlı fukoz) oluşumundan sorumlu fukoziltransferaz şimdiye kadar *Arabidopsis thaliana*, *C. elegans*, *D. melanogaster*, *Apis mellifera* ve *B. mori* dahil olmak üzere çeşitli organizmalardan tanımlanmış ve karakterize edilmiştir (Fabini *et al.*, 2001; Juliant *et al.*, 2014; Kurz *et al.*, 2016).

Yapılan araştırmalarda *A. mellifera* zehrinin analizi başka bir fukozilasyon ortaya çıkarmıştır. LacdiNAc [N-asetilgalaktozaminil-b1,4-N-asetilglukozamin (Gal NAc b1,4GlcNAc)] yapısı memelilerde bulunmazken, bal arısı ve şistozom parazitlerinde bulunmaktadır (Kurz *et al.*, 2016).

2.3 Fukoziltransferaz Gen Ailesi

FucT aktivitesinin artması, monoklonal antikorlar tarafından tanımlanabilen fukozile glikanların artmasına katkı sağlamaktadır (Shan *et al.*, 2019). FucT'ların çoğu N-bağlı glikanlardır ve Golgi'de bulunurlar. O-fukoziltransferazlar ise endoplazmik retikulumda yer almaktadır. Keşfedilen FucT'lar arasında; FucT1 (H enzimi) ve FucT2 (sekretör enzim), ABH ve Lewis kan grubu antijenlerinin oluşumundan sorumludur ve α 1,2-fukoziltransferaz ailesine dahildirler. FucT3-7 ve FucT9-11 α 1,3-fukoziltransferaz ailesine, FucT3 ve FucT5 aynı zamanda α 1,4-fukoziltransferaz ailesine dahildir. FucT3, Lewis antijenlerinin sentezini katalize eder (Tablo 2.1) ve aşırı ekspresyonu genellikle kanserin ilerlemesi ve kötü prognozu ile ilişkilidir. FucT4 membran proteinleridir. FucT8 α 1,6-fukoziltransferazlardandır ve N-glikan fukozilasyonundan sorumludur, asparajin bağlı GlcNAc kısımlarına fukoz ekler. POFucT1 ve POFucT2 O-fukoziltransferazlardır ve fukoza direkt olarak polipeptitlere eklerler (Vries *et al.*, 2001; Minagawa, 2015; Shan *et al.*, 2019).

Tablo 2.1 FUT genleri, enzimler, enzimlerin hücre içi konumu ve protein sınıfı

Gen	Enzim	Hücre içi konumu	Protein sınıfı
FUT1	Fukoziltransferaz 1 (H kan grubu)		Kan grubu antijen proteini Enzim Varsayılan zar protein
FUT2	Fukoziltransferaz 2	Hücre zarı	Kan grubu antijen proteini
		Sitosol	Enzim
			Varsayılan zar protein
FUT3	Fukoziltransferaz 3 (Lewis kan grubu)		Kan grubu antijen proteini Enzim Varsayılan zar protein Varsayılan hücre içi protein
FUT4	Fukoziltransferaz 4	Veziküller	Varsayılan zar protein
FUT5	Fukoziltransferaz 5		Enzim Varsayılan zar protein
FUT6	Fukoziltransferaz 6	Golgi	Enzim
			Varsayılan zar protein Varsayılan hücre içi protein
FUT7	Fukoziltransferaz 7	Golgi	Varsayılan hücre içi protein
FUT8	Fukoziltransferaz 8	Golgi	Enzim
		Sitosol	Varsayılan hücre içi protein
			Varsayılan zar protein
FUT9	Fukoziltransferaz 9	Nükleoplazma	Varsayılan zar protein
		Mikrotübüller	
		Sitokinetik köprü	
		Sitosol	
FUT10	Fukoziltransferaz 10	Nükleoplazma	Varsayılan hücre içi protein
		Endoplazmik retikulum	Varsayılan salgı protein
		Golgi	
FUT11	Fukoziltransferaz 11	Nükleus membranı	Varsayılan salgı protein
		Golgi	
POFUT1	Protein O-fukosiltransferaz 1	Sentrozom	Hastalıkla ilgili protein
			Enzim
			Potansiyel ilaç hedefi Varsayılan salgı protein
POFUT2	Protein O-fukosiltransferaz 2		Enzim Varsayılan hücre içi protein Varsayılan salgı proteini

2.4 İnsan Fukoziltransferazlarının Kromozomal Lokasyonu ve Ekspresyonu

Kromozomal lokalizasyon çalışmaları, FUT4 geninin 11q21'de, FUT7 geninin 9q34.3'te ve FUT9 geninin 6q16'da bulunduğunu göstermiştir. FUT3, FUT5 ve FUT6 genleri, insanda kromozom 19 (19p13.3) üzerinde bir küme oluşturmaktadır. FucT3 FucT5 ve FucT6 protein dizilerinin yaklaşık olarak %90 oranında benzerlik göstermesi oluşan kümenin duplikasyon olayları tarafından ortaya çıktığını düşündürmektedir. Bu dizilerin polimorfik olması enzimlerde inaktive edici mutasyonların olmasını ve negatif fenotiplerin ortaya çıkmasını açıklamaktadır. FUT3-6'ya ve FUT9'a ait açık okuma çerçeveleri (ORF'ler) tek ekzonlar tarafından kodlanırken, FUT7'nin ORF'si iki ekzondan birleştirilir (Vries *et al.*, 2001).

FucT'lar insan vücudunun birçok dokusunda eksprese edilir, ekspresyon seviyeleri her doku için farklılık gösterir (Shan *et al.*, 2019). Örneğin;

Bazı Fukoziltransferazlar	Eksprese edildiği dokular	Ekspresyon seviyeleri
FucT3	böbreğin epitel hücrelerinde ve gastrointestinal dokularda (özellikle mide, jejunum ve kolonda)	çok
	böbrek, dalak, akciğer ve rahim ağzında	az
	karaciğer beyin, adrenal korteks veya periferik kan lökositlerinde	-
FucT4	çeşitli hücre ve dokularda	çok
FucT5	dalakta ve karaciğer, kolon ve testislerde	az
FucT6	karaciğer ve böbreğin epitel hücrelerinde ve gastrointestinal dokularda (özellikle mide, jejunum ve kolonda)	çok
	beyin, adrenal korteks veya periferik kan lökositlerinde	-
FucT7	lökosit gibi hematopoietik hücrelerde ve venülün endotelial hücrelerinde	çok
FucT9	beyin, mide, dalak ve periferik kan hücrelerinde bol miktarda bulunur	-

FucT4 ve FucT7, selektinler tarafından tanınan fukozillenmiş hücre yüzeyi epitoplalarının sentezlenmesinde görev almaktadır. FucT9, en iyi şekilde korunan FucT'lar arasındadır. Vries ve ark. (2001) çalışmalarında, insan, sıçan ve fare FucT9'ları arasındaki farkı %1 bularak bu durumu en iyi şekilde açıklamaktadırlar.

FUT gen ifadesi dokuya ve gelişime özgü bir düzenlenişe sahiptir. Örneğin, FUT4 ve FUT9, insan embriyogenezinin erken döneminde transkribe edilir. Fakat FUT3 ve FUT6 transkriptlerine gelişimin 10. haftasından sonra rastlanmamaktadır (Vries *et al.*, 2001).

2.5 FucT Katalitik Alanı ve α 1,3-FucT Motifleri

FucT'lar, küçük bir N-terminal sitoplazmik kuyruk, bir membran bölgesi ve Golgi lümenine doğru bir katalitik alandan oluşurlar. Membran bölgesi ile katalitik alan arasında gövde adı verilen bir bölge bulunur. N-terminal bölge (sitoplazmik, transmembran ve gövde bölgesi) en yüksek dizi heterojenliğine sahip alandır. FucT'ların çözünebilir formları doğal olarak oluşan proteazlar tarafından üretilir ve serum, süt, amniyotik sıvı, meni ve diğer vücut sıvılarında bulunmuştur. Bu durum, FucT'ların N-terminalinin bir kısmının enzim aktivitesi için gerekli olmadığını gösterirken, diğer yandan enzim aktivitesi için gerekli olan amino asit dizisinin tam olarak hangi kısmının gerekli olduğu belirlenmemiştir. Protein kesme çalışmaları sonucu enzim formuna bağlı olarak 50-70 amino asitlik bir bölgenin N-terminal bölgeden kesilmesi sonucu katalitik aktivite etkilenmezken, birkaç amino asitlik bir bölgenin C-terminalden kaldırılması enzimin aktivitesini tamamen kaybetmesine yol açmıştır. FucT3'ün katalitik bölgesi 62-361 amino asitten oluşurken, FucT4; 405, FucT5; 374, FucT6; 359, FucT7; 342 ve FucT9; 359 amino asitlik bir katalitik bölgeden oluşmaktadır (Xu *et al.*, 1996; Vries *et al.*, 2001).

α 1,3-fukoziltransferaz ailesinde (FucT3–FucT7 ve FucT9-11) öncelikle iki korunmuş peptit motif bulunmuş, I ve II olarak adlandırılmıştır. Sonra altı amino asitten oluşan üçüncü bir korunmuş motif daha bulunmuş, alıcı motif [(I/V/F)HH(R/W)(D/E)(I/V/L)] olarak adlandırılmıştır (Mollicone *et al.*, 2009). Çalışmalar ilerlediğinde dizinin NH₂ terminal ucunda, alıcı motiftten önce yer alan bir motif daha keşfedilmiş ve motif III olarak adlandırılmıştır (Dupuy *et al.*, 2004 ve 2002). Bu dört korunmuş motifin sırası III, alıcı motif, I ve II olarak düzenlenmiştir. Daha sonraki bir çalışmada ise, alıcı motif ile motif I arasında yer alan korunmuş beşinci bir motif daha bulunmuştur. Karışıklığı önlemek için beş peptit motifi, protein dizisindeki sıralarına göre I'den V'e (Şekil 2.2) yeniden adlandırılmıştır (Mollicone *et al.*, 2009).

2.6 Biyoinformatik ve Biyobilişimin Önemi

Veri tabanı programları bilgiyi depolamak, işlemek ve bilgiye erişmek için kullanılan en etkili yoldur. Biyolojik sistemlerle ilgili toplanan bilgilerin doğru bir şekilde değerlendirilmesi biyoinformatik sayesinde mümkündür. Biyoinformatik, biyolojik problemlerin çözümünde bilişim teknolojilerini kullanmaktadır (Polat-Karahan, 2009).

Motifs	---I---	---II---	---III---	---IV---	---V---	FUT10	FUT11
FUT10							
<i>M.musculus</i>	83	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	307 100 0
<i>R.norvegicus</i>	83	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	307 96 4
<i>H.sapiens</i>	83	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	307 96 4
<i>B.taurus</i>	67	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	291 96 4
<i>C.familiaris</i>	56	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	280 96 4
<i>G.gallus</i>	80	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	304 95 5
<i>X.laevis</i>	88	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	312 91 9
<i>S.tropicalis</i>	49	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	273 91 9
<i>D.tertio</i>	68	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	292 82 18
FUT11							
<i>C.savagnyi</i>	24	VILWWSPL<44>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<90>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	253 19 81
<i>C.intestinalis</i>	44	VILWWSPL<44>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<90>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	273 15 85
<i>T.nigroviridis</i>	87	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	317 15 85
<i>O.laipes</i>	80	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	310 14 86
<i>H.sapiens</i>	73	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	303 12 88
<i>R.norvegicus</i>	77	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	307 10 90
<i>M.musculus</i>	73	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	303 9 91
<i>G.gallus</i>	90	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	319 9 91
<i>S.tropicalis</i>	117	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	345 8 92
<i>X.laevis</i>	58	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	289 7 93
<i>T.rubripes</i>	36	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	266 7 93
FUT10/FUT11							
<i>D.pseudoobsc. A</i>	43	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 56 44
<i>D.pseudoobsc. C</i>	43	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 56 44
<i>D.pseudoobsc. B</i>	43	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 52 48
<i>D.persimilis</i>	43	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 52 48
<i>D.melanogaster</i>	42	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 43 57
<i>D.simulans</i>	42	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 47 53
<i>D.yakuba</i>	42	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	267 47 53
<i>D.erecta</i>	42	ELWWSPL<32>	FYGTDF<12>	HLWALLHEESPK<13>	FNSTATFSRSHSLPLITQ<91>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	268 41 59
FUT3-7 and FUT9							
<i>FUT7_HUMAN</i>	49	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	256 54 46
<i>FUT9_HUMAN</i>	66	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	271 48 52
<i>FUT6_HUMAN</i>	64	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	274 46 54
<i>FUT5_HUMAN</i>	78	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	288 46 54
<i>FUT3_HUMAN</i>	65	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	275 42 58
<i>FUT4_HUMAN</i>	66	IVLWWSPL<33>	FYGTDF<12>	HDWALFHEESPK<13>	FNHTATFSRSHSLPLITQ<89>	YKFLAFENAVCDYITEKFWR-PLKLGVPVYVG	316 36 64

Şekil 2.3 α 1,3-fukoziltransferazların korunmuş peptid motifleri I–V'in ClustalW dizi hizalaması. Klasik monoeksonik α 1,3-fukoziltransferazlarda (FucT3–FucT7 ve FucT9) korunan pozisyonlar (%50) pembe renkle vurgulanmıştır. FucT10 ve FucT11 ailelerinde korunan konumlar sarıdır. FucT10'da korunan konumlar soluk mavi renkle, FucT11'de korunan konumlar ise turuncu renkle gösterilir (Mollicone *et. al.*, 2009).

Biyobilişim, matematik ve biyolojiyi birleştirerek gen ve protein verilerini veri tabanında depolamak için gerekli modelleri araştırır. DNA ve protein dizilimleri, protein-protein ilişkileri, insan genom projesi, genetik faktörlerin hastalık yatkınlığına olan etkileri, etkileşimli genler için bilgi ağları oluşturulması, bilgisayarlı veri analizleri, makromoleküler yapıların üç boyutlu dizilimleri ve üretimi, protein ailelerinin evrim mekanizmasının anlaşılması, hücre ve doku protein haritalarının çıkarılması, protein yapı ve fonksiyonunun belirlenmesi vs. gibi konuların araştırılmasında kullanılmaktadır (Yıldız, 2009).

Yeni genlerin keşfedilmesi, fonksiyonlarının tayini ve genin yapısındaki değişikliğin hastalıklarla ilişkisini araştırmak amacıyla dizi analizleri kullanılmaktadır (Yıldız, 2009).

Biyoinformatiğin henüz yaygın olarak kullanılmadığı dönemlerde genlerle ilgili bilgiye erişmenin yolu *in vitro* izole edilen DNA ile yapılan incelemeler ile sağlanmaktaydı. Bioinformatik sayesinde DNA ve protein bilgisi FASTA formatında diziler şeklinde gösterilebilmekte, istenildiğinde gen ve protein hakkındaki bilgilere ulaşılabilen, gen dizi bilgisi üzerinde bilgisayar yardımı ile araştırmalar yapılabilmekte ve gen grupları arasındaki potansiyel ilişkiler ortaya çıkarılabilmektedir (Yazağan, 2014).

Tüm biyolojik türlerin genomlarına, protein sekanslarına ve proteinlerin üç boyutlu yapılarına ait verilerin toplanması insan genomu projesinin tamamlanmasında büyük önem arz etmektedir. Biyoteknolojiye dayalı ilaç dizaynı, medikal tanı ve tedavi alanında uzun ve maliyeti yüksek olan bu süreçler biyoinformatiğin kullanılmasıyla kolaylaştırılmıştır (Polat-Karahan, 2009).

Proteinlerin yapısını belirlemede kullanılan deneysel yöntemlerin yerine maddiyat ve zamandan kazanmak için istatistiksel ve bilişimsel yöntemlerin kullanılması daha avantajlı hale gelmiştir. Proteinlerin birbirleriyle etkileşimlerini anlamak için veri bankasındaki bilgiler kullanılmakta ve veri seti oluşturulmaktadır. Daha sonra bu veriler kullanılarak istatistiksel araştırmalar yapılmaktadır (Polat-Karahan, 2009).

2.7 Biyoinformatiğin Uygulama Alanları

2.7.1 Homoloji araştırmaları

Biyoinformatiğin temellerinden biri de farklı biyomoleküller arasındaki benzerliklerin araştırılmasıdır. Homoloji özellikle birbiriyle bağlantılı proteinler arasında bilgi transferi açısından önemlidir. Karakterizasyonu yapılmamış bir proteinin, yapısı, fonksiyonu, iyi bilinen diziler ile homolog bölgelerinin araştırılması, sayesinde bilinmeyen protein hakkında bilgi edinilebilmektedir. Homolog proteinler, yeni proteinler için teorik modellerin ve üç boyutlu yapılarının oluşturulmasında kullanılmaktadır. Dizisi yeni analiz edilen genomlarda homolog bölgelerin bulunması kodlama bölgelerinin belirlenmesinde ve fonksiyonel verilerin belirli genlere transferinin gerçekleştirilmesinde kullanılmaktadır (Polat-Karahan, 2009).

2.7.2 Biyolojik veri tabanları

Avrupa tabanlı EBI (European Bioinformatic Institue), Amerika tabanlı NCBI (National Center for Biotechnology Information) ve Japonya tabanlı Japanese Institue of Genetics (NIG) aktif olarak kullanılan veri tabanlarıdır. EBI tarafından geliştirilen ve en çok kullanılan veritabanı ENA (European Nükleotid Archieve), NCBI'ın geliştirdiği GenBank ve NIG'in DDBJ (DNA Data Bank of Japan)'dır. Bu üç veritabanı nükleotid dizi bilgilerinin toplanması ve paylaşılması ile ilgili çalışmalar yapmaktadır (Yazağan, 2014) GenBank, EMBL, PIR International (Protein Identification Resource), Swiss-Prot, (Polat-Karahan, 2009) MIPS (hem nükleotid hem protein verileri) (Yıldız, 2009) ve UniProt protein dizi verileri ile ilgili hizmet sağlayan veri tabanlarındandır.

Dizi ile ilgili bilgiler veritabanında aratılırken iki şekilde bulunabilir. İlk olarak dizi hakkında bilgiyi içeren; kaynak gösterimleri, dizi ile ilgili biyolojik atıflar, dizi bilgisi (intronlar, eksonlar, başlangıç ve bitiş kodonlar v.b.), enzimin fonksiyonu, katalitik aktivitesi gibi bilgiler mevcuttur. İkinci olarak ise homoloji (benzerlik) araştırmaları için kullanılan ve sadece diziyi içeren FASTA formatına ulaşılabilir. Her bir dizi için, diziyeye özgü kimlik numaraları verilir. Bu numara aranan diziyeye erişimi sağlamaktadır. NCBI veri tabanı en önemli biyolojik veri tabanıdır. Birçok genom dizilerini ve PubMed olarak bilinen biyomedikal ve biyoteknoloji ilişkili araştırma makalelerini kapsar (Polat-Karahan, 2009).

Proteinlerin üç boyutlu yapısıyla ilgili Swiss-Model, PDB, I-tasser, PyMOL, AlphaFold gibi araçlar kullanılabilir (Tablo 2.2). Protein dizilerindeki işlevsel motifleri araştırmak için kullanılan bazı veri tabanları ise MEME-Suite, PROSITE ve BLOCKS'tur (Polat-Karahan, 2009).

Tablo 2.2 Sık kullanılan veritabanları

Sınıf	Veritabanları
Nükleik asit dizileri	EMBL
	GenBank
Protein dizileri	PDBSTR
	Swiss-Prot
	PIR
	PRF
Üç boyutlu yapılar	PDB
	Swiss-Model
	I-tasser
	PyMOL
Diziliş motifleri	PROSITE
	TRANSFAC
	EPD
Protein mutasyonları	PMD
Protein/peptid literatürü	LITDB
Protein etkileşimleri	BRITE
Enzimler ve bileşikler	LIGAND

Çalışmanın amacı; böcek genomlarında ortak korunmuş bölgeler olan fukoziltransferaz motiflerinin biyoinformatik yöntemlerle belirlenmesi ve *B. mori*'de bulunan Bma1,6FucT ve Fuc-T C3 gen ekspresyonlarının farklı dokularda gösterilmesidir.

3. GEREKÇE VE YÖNTEM

3.1 Biyoinformatik Yöntemler

Çalışma konusunu oluşturan örneklerin protein dizilerine, genom ve proteom bilgilerinin bulunduğu NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) veri tabanından ulaşılmıştır. NCBI, hesaplama biyolojisi, genom verileri analizi ve biyomedikal bilgileri elde etmede kullanılan, NLM (National Library of Medicine)'nin alt birimidir. Genetik dizilim verileri, tıbbi literatür, protein yapıları ve diğer biyolojik bilgiler NCBI veri tabanlarında bulunmaktadır. NCBI, bu verilere arama, analiz ve görselleştirme araçları sağlar. Bilimsel makalelere, genetik verilere, biyoinformatik araçlara ve diğer kaynaklara erişim sağlayarak bilimsel araştırmalara katkıda bulunan önemli bir veri tabanıdır.

Fukoziltransferaz motifleri amino asit dizisi şeklinde bulunur. Motiflerin en büyük özelliği tüm omurgalı ve omurgasız canlılarda ortak olmalarıdır. Memeli genomundaki fukoziltransferaz motifleri aşağıda gösterilen hesaplamalı yöntemler kullanılarak analiz edilmiş, motif modelleri oluşturulmuş ve bilinen böcek genomlarında aratılmıştır.

3.1.1 Clustal Omega

Çoklu dizi hizalaması için kullanılan bir çevrimiçi araç ve yazılım programıdır. Clustal ile protein, DNA veya RNA dizileri hizalanabilir. Hizalama yapılacak dizi türü seçildikten sonra hizalanmak istenen diziler, dizinin adı ile birlikte girdi kutusuna yapıştırılır. Clustal Omega'ya eklenecek diziler FASTA formatında olmalıdır. Diziler sisteme girildikten sonra, hizalama için istenilen parametreler değiştirilebilir. Varsayılan parametreler, çoğu kullanıcının isteyeceği şekilde düzenlenmiştir (Yazağan, 2014).

Çoklu hizalama algoritması, dizi benzerliklerini tespit ederek, dizileri en iyi şekilde hizalamak için optimize eder. Clustal Omega, büyük veri kümeleri üzerinde hızlı ve hassas hizalamalar yapabilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, uzaktan akrabalık ilişkilerini belirlemek için de kullanılmaktadır. Dizi benzerliklerini analiz ederek, gen veya protein dizileri arasındaki evrimsel ilişkileri tespit eder.

3.1.2 Prosite

Prosite (<https://prosite.expasy.org/>) veri tabanı, protein dizilerinin işlevsel bölgelerini ve motiflerini tanımlayan profil ve patternler kullanır (Bairoch-Bucher, 1994). Motifleri tanımlamak için kısa amino asit dizilerinden faydalanılır. Bu motifler, katalitik bölgeler, ligand bağlama bölgeleri, post-translasyonel modifikasyon bölgeleri gibi proteinin işlevini etkileyen önemli bölgelerdir. Bilinmeyen proteinlerdeki motiflerin aranması, bu proteinlerin, bilinen bir protein ailesi veya işlevi ile ilişkilendirilmesi için ipucu sağlamaktadır.

Pratt, Prosite içinde yer alır ve proteinlerin amino asit diziliminde bulunan motif modellerini tanımlayan bir veri tabanıdır. Programa verilen motif parametrelerinde, motif uzunluğu, yan yana gelebilecek bilinmeyen amino asit sayısı, amino asitin en fazla kaç kere tekrarlayabileceği gibi düzenli ifadelerle bir motif modeli oluşturulmasını sağlamaktadır.

Düzenli ifadeler (regular expressions) bütün modern programlama dillerinin parçasıdır ve programlama dillerinde bu ifadeler aynı söz dizilimine (syntax) sahiptir. Bir dizinin kısa yoldan ve esnek bir biçimde belirlenmesini sağlar. Düzenli ifadeler kullanılarak diziye bir kalıp atanır. Böylece program içinde arama yapmak kolaylaşır. Bazı özel karakterler kullanılır. Amino asitler için ise IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) tarafından belirlenen tek harfli kodlama kullanılır (Tablo 3.1). Bu özel karakterler ve anlamları aşağıdaki gibi sıralanabilir (İTÜBİDB, 2013):

“.”/“x”: Motifte bilinmeyen amino asit için herhangi bir tek karakter ile eşleştirilebilir.

“[]”: Köşeli parantezler içine girilen bütün karakterlerle eşlenir. Örneğin [AST] – A, S veya T’nin temsil ettiği amino asitlerden herhangi biri olabilir.

“()”: İfadeyi gruplandırmaya yarar. Gruplandırılmış ifadelerine denk gelen kalıpları saklar ve en fazla 9 kalıp saklayabilir.

“{ }”: Belirlenilmiş sayıda tekrar anlamındadır.

Tablo 3.1 IUPAC tek harf amino asit kodlama.

IUPAC amino asit kod	Üç harfli kod	Amino asit	IUPAC amino asit kod	Üç harfli kod	Amino asit
K	Lys	Lizin	W	Trp	Triptofan
M	Met	Metionin	I	Ile	İzolösin
L	Leu	Lösin	Y	Tyr	Tirozin
Q	Gln	Glutamin	H	His	Histidin
P	Pro	Prolin	E	Glu	Glutamik asit
N	Asn	Asparajin	G	Gly	Glisin
R	Arg	Arjinin	F	Phe	Fenilalanin
S	Ser	Serin	A	Ala	Alanin
T	Thr	Treonin	D	Asp	Aspartik asit
V	Val	Valin	C	Cys	Sistein

3.1.3 MEME-Suite

MEME Suite (<https://meme-suite.org/meme/>) moleküler biyoloji ve biyoinformatik alanında kullanılan bir dizi araç ve yazılım paketidir. Bu paket, motif arayışı, motif analizi, dizi analizi ve gen düzenleyici bölgelerin keşfi gibi çeşitli moleküler analizler için kullanılan bir dizi yazılım aracını içerir. MEME Suite, özellikle gen düzenleyici bölgelerin motiflerini keşfetmek ve analiz etmek için kullanılır.

FIMO (Find Individual Motif Occurrences), MEME-Suite'in temel araçlarından biridir. Kullanıcı, motif veri tabanlarından seçtiği bir motif modelini veya kendi oluşturduğu bir motif modelini FIMO'ya verir. FIMO, bu motif modelini verilen bir dizi veri kümesine uygular ve motifin dizi veri kümesindeki olası konumlarını bulur (Grant *et al.*, 2011). Her bir potansiyel konum, motifin başlangıç pozisyonunu, bitiş pozisyonunu ve skorunu içerir. Bu çıktı, kullanıcının motifin veri kümesindeki dağılımını analiz etmesine ve potansiyel hedef bölgeleri belirlemesine olanak sağlar.

3.1.4 Swiss-Model

Swiss Model, protein yapısı tahmini ve modellenmesi için kullanılan bir bilgisayar yazılımıdır. Proteinin amino asit dizisi verildiğinde, Swiss Model, çeşitli algoritmalara dayalı protein yapısı tahmininde bulunur. Bu algoritmalarından bazıları:

- Homoloji Modellemesi: Swiss Model, hedef proteinin benzer veya homolog proteinlerin yapısına dayanarak modellemesini gerçekleştirir.

- Şablon Tabanlı Modelleme: Proteinin yapısının daha önce belirlenmiş proteinlerin yapılarına benzemesi durumunda, bu yapıları bir şablon olarak kullanarak modelleme yapar.
- İyileştirme ve Optimizasyon: Elde edilen model, enerji kullanımı azaltılarak ve yapı iyileştirme teknikleri kullanılarak optimize edilir. Böylece, daha doğru bir protein yapısı tahmini elde edilebilir (Kiefer *et al.*, 2009).

Swiss Model, biyoinformatik araştırmaları, ilaç tasarımı, protein fonksiyonları ve etkileşimlerinin anlaşılması gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılan bir araçtır.

3.1.5 PyMOL

PyMOL (Yuan *et al.*, 2017), biyoinformatik ve moleküler modelleme alanında kullanılan grafiksel kullanıcı arayüzüne sahip bir görselleştirme programıdır. Moleküler yapıları ve proteinlerin üç boyutlu modellerini görselleştirmek ve analiz etmek için kullanılır. PyMOL, biyoinformatik, ilaç tasarımı, protein yapı analizi, moleküler biyoloji araştırmaları ve eğitim alanlarında yaygın olarak kullanılan bir araçtır. Kullanıcılar bu program sayesinde kendi analizlerini ve görselleştirmelerini oluşturabilir.

Bilinen omurgalı fukoziltransferaz amino asit dizileri NCBI ve UniProt kullanarak elde edilmiş ve FASTA formatında kaydedilmiştir. Bu dizilerdeki motif bölgelerinin araştırmasını yapabilmek için Clustal Omega kullanılmış ve memeli fukoziltransferazlarında bulunan motif dizileri hizalanmıştır. Hizalama yapılarak belirlenen motif bölgeleri Prosite programında yer alan Pratt uygulaması kullanarak tek bir kalıp haline getirilmiştir. Böcek dizilerinde motif araması için düzenli ifadeler kullanılmıştır. Böylece biyoinformatik açıdan arama kolaylaştırılmıştır. Daha sonra protein dizisi bilinen böcek dizileri NCBI'dan FASTA formatında indirilmiştir. Oluşturulan motifler MEME-Suite'de yer alan FIMO veri tabanı kullanılarak böcek dizilerinde aratılmıştır. Olasılığı yüksek çıkan ve daha önce tanımlanmamış olan böcek dizilerinde Swiss-Model kullanılarak 3 boyutlu yapı oluşturulmuştur. Ardından AlphaFold veri tabanı kullanılarak memelilerin bilinen fukoziltransferaz 3 boyutlu yapıları elde edilmiş ve bulunan fukoziltransferaz protein dizileri PyMOL programında böceklerdeki olası fukoziltransferazlarla hizalanmış ve 3 boyutlu yapılarına bakılarak motif bölgelerinin karşılaştırılması yapılmıştır.

3.2 α 1,6 ve α 1,3-fukoziltransferaz Genlerinin mRNA Ekspresyon Seviyelerinin QPCR ile Belirlenmesi

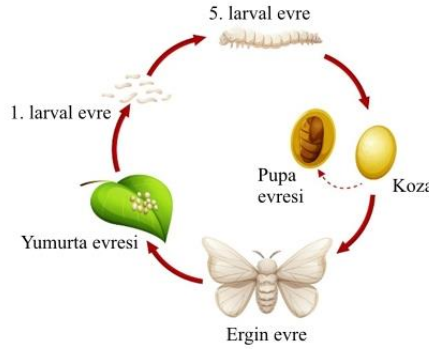
3.2.1 *Bombyx mori*'nin yetiştirilmesi ve diseksiyonu

Bombyx mori hibrid yumurtaları Bursa Koza Birlik'ten temin edilmiştir. Kültür odasının genel temizliği yapılmış, daha sonra ortamın ve kullanılacak malzemelerin sterilizasyonunu sağlamak amacıyla %3'lük formaldehit kullanılmıştır. İpek böceğinin normal gelişimi ve beslenmesi için gerekli optimum sıcaklık $24\pm 1^\circ\text{C}$ olarak ayarlanmış, hastalıkların ortaya çıkışını ve yaprakların kurummasını engellemek amacıyla odanın nemi yaklaşık %70 olarak sağlanmıştır. Solunumla ortaya çıkan CO_2 gazının kültür odasında birikmemesi için havanın düzenli şekilde sirküle edilmesine dikkat edilmiştir. İnkübasyona alınan yumurtalardan yaklaşık 8-10 günde %90'ının çıkmasıyla birlikte kültür odasında larvaların gelişimi takip edilmiştir. Böceklerin çok karanlığı ve fazla ışığı sevmemelerinden dolayı beslenme döneminde doğal fotoperiyot, uzun gün periyodu kullanılarak, karanlık ve aydınlık dengesi sağlanmıştır (Omura, 1967; İpekböcekçiliği ve Dutçuluk Seminer Notları, 1985). Beslenmeleri için günde üç öğün Ege Üniversitesi Kampüsü'nde yetişmiş olan dut ağaçlarının yaprakları kullanılmıştır. Günde bir kez yatak temizliği yapıp, herhangi bir kontaminasyonun olmamasına dikkat edilmiştir.

Yumurtadan çıkan larvaların ergin hale gelinceye kadar geçirdiği metamorfoz süresinde birbirinden oldukça bağımsız olan gelişim evreleri (holometabol) görülmektedir ve yumurta, larva, pupa ve ergin dönem olmak üzere dört dönemden oluşmaktadır (Şekil 3.1). Yumurtadan çıkan larvalar genelde 4 defa deri değiştirerek toplam 5 instarda larval evrelerini tamamlar. Sadece larva evresinde beslenen ipek böcekleri 5. instarın 7. gününden itibaren beslenmelerini durdurarak koza örmeye başlar. Pupa genellikle inaktif geçen bir dönemdir. Bu dönem içerisinde larvaya ait dokular tamamen yıkılır ve ergine ait yapılar meydana gelir. Pupa oluşumundan yaklaşık 15 gün sonra kozadan kelebek olarak dışarı çıkarlar. Çiftleşmeden sonra dişi yumurta bırakır, daha sonra erginler ölür ve böceğin hayat döngüsü tamamlanır (Parlak, 2001).

Çalışmamızda, *B. mori* 5. instar larvalarının 1, 4 ve 7. günlerinde diseksiyon gerçekleştirilmiştir. Her gün için 20 adet dişi 20 adet de erkek olmak üzere toplamda 120 adet ipek böceği disekte edilmiştir. *B. mori*'deki $\text{Bm}\alpha 1,6\text{FucT}$ ve FucTC3 genlerinin ekspresyon profili, QPCR kullanılarak belirlenmiştir. $\text{Bm}\alpha 1,6\text{FucT}$

(Ihara *et al.*, 2014) ve FucTC3 (Minagawa *et al.* 2015), için özel primerler ve *B. mori* 5. instar larvalarından elde edilen cDNA'lar kullanılmıştır.



Şekil 3.1 *B. mori* yaşam döngüsü (<https://byjus.com/question-answer/explain-the-life-cycle-of-silkworm/>)’dan Türkçe’ye çevrilerek).

3.2.2 Total RNA izolasyonu

Disekte edilen 20 ipek böceğinin ovaryumu, testisi, cinsiyete bakılmaksızın yağ dokusu ve hemositleri içinde trizol bulunan ependorflara ayrı ayrı konulmuştur. Diğer işleme geçilinceye kadar tüpler -80°C ’deki soğutucuda saklanmıştır.

RNA izolasyonu için dokular soğutucudan çıkarıldıktan sonra her birinin üzerine son hacim yaklaşık 1000 μl olacak şekilde trizol eklenip vortekslenmiştir. Homojen hale gelen dokularda faz oluşumu elde edebilmek için 200 μl kloroform eklenmiştir. 4°C ’de, 12000 rpm’de 20 dakika santrifüjleme sonunda sırasıyla RNA (sulu faz-renksiz), DNA (beyaz renkli) ve protein (organik faz-kırmızı renkli) olmak üzere 3 faz oluşmuştur. RNA izolasyonu renksiz olan 1. fazdan gerçekleştirilmiştir. RNA’yı safsızlaştırmak için RNA ile aynı hacimde olacak şekilde izopropanol eklenmiştir. Ardından 4°C ’de 10 dakika 12000 rpm’de santrifüjlenmiş ve oluşan çökelek üzerine 900 μl etanol eklenerek 2 dakika 7500 rpm santrifüjlenip 57°C etüvde etanol uçurulmuştur. Kalan çökeleğe RNase free su eklenip karıştırılmıştır.

İzolasyondan sonra RNA konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemler kullanılarak ölçülmüştür. İzole edilen RNA’ların saflığı A260/A280 absorbans oranının 1,8-2,0 olması beklenmektedir.

3.2.3 cDNA sentezi

cDNA sentezi için Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanılmıştır. RNA+RNase free su karışımından 11 µl her örnek için konulmuş ve 2 µl random hekzamer primer eklenmiştir. Tüpler PCR cihazına konularak 65°C’de 10 dakikada RNA’lar denatüre edilmiştir. Cihazdan alınan örnekler soğutma kabına yerleştirilmiştir. Her tüpe 7 µl reaction buffer, protector RNase inhibitor, deoxynucleotide mix, transcriptor reverse transcriptase’den oluşan mastermix karışımı eklenmiştir. Tüpler yeniden PCR cihazına yerleştirilerek uygun olarak ayarlanan programda çalıştırılmıştır.

3.2.4 QPCR analizi

Transferaz enzimlerinden sorumlu genler için nükleaz free su (3,8 µl) son hacim 15 µl olacak şekilde, forward primer (20uM) (0,5 µl), reverse primer (20uM) (0,5 µl), enzim ve deoksinükleotit trifosfat (dNTP) (10 µl) içeren bir karışım hazırlanmıştır. Nükleaz free su (4.0 µl) karışımın son hacmi 15 µl olacak şekilde, primer karışımı (1.0 µl), enzim ve dNTP (10 µl) içeren karışım ise referans gen olan *B. mori* ribozomal protein 49 (Bmrp49) için hazırlanmış ve kullanılmıştır. Her tüpe tek reaksiyon için reaktif eklenip, karışımından 15’er µl platelere transfer edilmiştir. Son reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde 5 µl örnek her kuyuya eklenmiştir. Hazırlanan plateler adaptörleri ile birlikte santrifüjlenmiştir. Test içi duplikasyon yöntemi ile her plate içindeki reaksiyonlar iki defa gerçekleştirilmiştir.

Primerler:

B. mori α1,3 ve α1,6-fukoziltransferaz genleri ve referans geni için kullanılacak primerlerin nükleotid dizileri aşağıda verilmiştir. α1,3-fukoziltransferaz primerleri Minagawa ve arkadaşlarının (2015), α1,6-fukoziltransferaz primerleri ise Ihara ve arkadaşlarının (2014) yaptıkları çalışmalardan alınmıştır.

Kontrol (Bmrp49 gene)

forward: 5'-CAGGCGGTTCAAGGGTCAATAC-3'

reverse: 5'-TGCTGGGCTCTTCCACGA-3'

B. mori α1,3-fucosyltransferase (Fuc-T C3)

forward: 5'-GACCGGTGTC ATCTTACG-3'

reverse: 5'-CGTGTGGTAAGGACATTCC-3'

B. mori α 1,6-fucosyltransferase (Bm α 1,6FucT)

forward: 5'-ATGAAGAATTATTCAAATGGTCACG-3'

reverse: 5'-TTAAACGTTCTTTTGGCTCGTTTCTG-3'

3.2.5 İstatistiksel yöntemler

PCR analizinden elde edilen sonuçlardan Fuc-T C3 ve Bm α 1,6FucT genleri karşılaştırılarak istatistiksel analiz yapılmıştır. Bu analiz için “IBM SPSS Statistics 26” istatistik programında Mann Wihitney U testi uygulanmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Biyoinformatik Sonuçlar

Her fukoziltransferaz enzimi için NCBI ve UniProt veri tabanlarından elde edilen amino asit dizileri, erişim numaraları ve uzunlukları ayrı ayrı tablolarda verilmiştir (Tablo 4.1-4.13).

FucT1 amino asit dizileri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 483 amino asit ile *Cervus elaphus hippelaphus*'a, en kısa amino asit dizisi 359 amino asit ile *Panthera uncia*'ya aittir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 FucT1 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Tür	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera acutorostrata scammoni</i>	XP_007168311.1	365 aa
<i>Bos taurus</i>	AAI34579.1	360 aa
<i>Cervus elaphus hippelaphus</i>	OWK16505.1	483 aa
<i>Choloepus didactylus</i>	XP_037675107.1	362 aa
<i>Dasyurus novemcinctus</i>	XP_004451156.1	369 aa
<i>Eptesicus fuscus</i>	XP_008152615.2	365 aa
<i>Galemys pyrenaicus</i>	KAG8521381.1	358 aa
<i>Globicephala melas</i>	XP_030729504.1	365 aa
<i>Homo sapiens</i>	AXX39110.1	365 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5935929.1	460 aa
<i>Mus musculus</i>	AAF45145.1	377 aa
<i>Orycteropus afer afer</i>	XP_007956312.1	366 aa
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	NP_001075872.1	373 aa
<i>Panthera uncia</i>	XP_049476774.1	359 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH7457844.1	377 aa
<i>Rattus norvegicus</i>	EDM07325.1	376 aa
<i>Saimiri sciureus</i>	AAO43059.1	366 aa
<i>Sus scrofa</i>	NP_999233.1	365 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037372828.1	362 aa
<i>Tursiops truncatus</i>	XP_033700030.1	365 aa

FucT2 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 577 amino asit ile *Panthera uncia*, en kısa amino asit dizisi 338 amino asit ile *Dasyurus novemcinctus*'a aittir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 FucT2 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Tür	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036689978.1	344 aa
<i>Bos taurus</i>	CAA67931.1	344 aa
<i>Choloepus didactylus</i>	XP_037675532.1	339 aa
<i>Dasypus novemcinctus</i>	XP_023442528.1	338 aa
<i>Echinops telfairi</i>	XP_004710700.1	340 aa
<i>Eptesicus fuscus</i>	XP_027985409.1	377 aa
<i>Equus asinus</i>	XP_044615477.1	346 aa
<i>Galemys pyrenaicus</i>	KAG8521370.1	342 aa
<i>Gorilla gorilla</i>	BAA31128.1	343 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_000502.4	343 aa
<i>Loxodonta africana</i>	XP_003406575.2	368 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5935971.1	466 aa
<i>Mirounga angustirostris</i>	XP_045746380.1	350 aa
<i>Mus musculus</i>	AAF45146.1	347 aa
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	NP_001075871.1	354 aa
<i>Panthera uncia</i>	XP_049477742.1	577 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH7458020.1	340 aa
<i>Rattus norvegicus</i>	NP_113823.1	354 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_003940372.1	340 aa
<i>Sus scrofa</i>	NP_999234.1	340 aa

FucT3 amino asit dizleri için memelilerde 10 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 389 amino asit ile *Macaca fascicularis*, en kısa amino asit dizisi 334 amino asit ile *Mandrillus leucophaeus*'a aittir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 FucT3 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	G3RS07	361 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_001369679.1	361 aa
<i>Macaca fascicularis</i>	A0A2K5WCH6	389 aa
<i>Macaca thibetana thibetana</i>	XP_050626565	372 aa
<i>Mandrillus leucophaeus</i>	A0A2K5ZFX4	334 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6061928.1	374 aa
<i>Pan paniscus</i>	XP_034801843.1	372 aa
<i>Pan troglodytes</i>	NP_001009149.1	372 aa
<i>Pongo pygmaeus</i>	AAO15994.1	372 aa
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	A0A2K6PJN2	361 aa

FucT4 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 634 amino asit ile *Leopardus geoffroyi*, en kısa amino asit dizisi 359 amino asit ile *Echinops telfairi*'a aittir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 FucT4 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036717564.1	397 aa
<i>Bos taurus</i>	NP_777161.1	398 aa
<i>Camelus ferus</i>	XP_032344204.1	530 aa
<i>Canis lupus dingo</i>	XP_025274960.1	475 aa
<i>Choloepus didactylus</i>	XP_037694747.1	399 aa
<i>Desmodus rotundus</i>	XP_024430369.1	457 aa
<i>Echinops telfairi</i>	XP_045153664.1	359 aa
<i>Galemys pyrenaicus</i>	KAG8522360.1	390 aa
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	XP_030871811.1	530 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_002024.1	530 aa
<i>Leopardus geoffroyi</i>	XP_045338413.1	634 aa
<i>Macaca mulatta</i>	XP_014970974.2	531 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5934267.1	404 aa
<i>Mus musculus</i>	AAI37589.1	433 aa
<i>Mustela putorius furo</i>	XP_004754572.1	400 aa
<i>Pan troglodytes</i>	NP_001008985.2	530 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH6777446.1	433 aa
<i>Pteropus giganteus</i>	XP_039737952.1	516 aa
<i>Sturnira hondurensis</i>	XP_036885655.1	513 aa
<i>Tursiops truncatus</i>	XP_019779369.1	397 aa

FucT5 amino asit dizleri için memelilerde 11 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 374 amino asit ile *Chlorocebus sabaeus*, *Gorilla gorilla*, *Homo sapiens*, *Hylobates lar*, *Macaca thibetana thibetana*, *Pan troglodytes*, *Pongo abelii* ve *Pongo pygmaeus*, en kısa amino asit dizisi 367 amino asit ile *Cebus imitator*'a aittir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 FucT5 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Cebus imitator</i>	XP_017383848.1	367 aa
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	XP_007993134.1	374 aa
<i>Gorilla gorilla</i>	AAO15992.1	374 aa
<i>Heterocephalus glaber</i>	XP_021100801.1	370 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_002025.2	374aa
<i>Hylobates lar</i>	AAO15996.1	374 aa
<i>Macaca thibetana thibetana</i>	XP_050626560.1	374 aa
<i>Pan troglodytes</i>	CAA74361.1	374 aa
<i>Pongo abelii</i>	XP_009250922.2	374 aa
<i>Pongo pygmaeus</i>	AAO15995.1	374 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_010347815.2	370 aa

FucT6 amino asit dizleri için memelilerde 14 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 547 amino asit ile *Vombatus ursinus*, en kısa amino asit dizisi 278 amino asit ile *Manis javanica*'ya aittir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 FucT6 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Acinonyx jubatus</i>	XP_026905125.1	382 aa
<i>Choloepus didactylus</i>	XP_037680120.1	369 aa
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	Q8HYJ6.1	359 aa
<i>Gracilinanus agilis</i>	XP_044514418.1	384 aa
<i>Homo sapiens</i>	AAC50190.1	364 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5931313.1	278 aa
<i>Odocoileus virginianus texanus</i>	XP_020739422.1	363 aa
<i>Pan paniscus</i>	XP_034801849.1	359 aa
<i>Pan troglodytes</i>	NP_001009150.1	359 aa
<i>Pongo abelii</i>	XP_009250921.1	359 aa
<i>Pongo pygmaeus</i>	BAB18672.1	359 aa
<i>Sarcophilus harrisii</i>	XP_031803643.1	362 aa
<i>Ursus arctos</i>	XP_026347126.3	364 aa
<i>Vombatus ursinus</i>	XP_027707092.1	547 aa

FucT7 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 406 amino asit ile *Cebus imitator*, en kısa amino asit dizisi 310 amino asit ile *Ochotona princeps*'e aittir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7 FucT7 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036711907.1	342 aa
<i>Bos taurus</i>	NP_001091633.1	342 aa
<i>Bubalus bubalis</i>	XP_006062599.1	342 aa
<i>Cebus imitator</i>	XP_017361050.1	406 aa
<i>Cervus elaphus hippelaphus</i>	OWK10234.1	342 aa
<i>Chlorocebus sabaeus</i>	XP_008003732.1	342 aa
<i>Echinops telfairi</i>	XP_004714540.1	370 aa
<i>Galemys pyrenaicus</i>	KAG8518630.1	367 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_004470.1	342 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5935871.1	341 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6060284.1	342 aa
<i>Ochotona princeps</i>	XP_004593678.1	310 aa
<i>Orycteropus afer afer</i>	XP_007945254.1	347 aa
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	XP_045429865.1	340 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH6788692.1	392 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_003941394.1	342 aa
<i>Sus scrofa</i>	XP_020936889.1	342 aa
<i>Sturnira hondurensis</i>	XP_036892358.1	344 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037351286.1	373 aa
<i>Tursiops truncatus</i>	XP_033715024.1	342 aa

FucT8 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 582 amino asit ile *Orycteropus afer afer*'e aittir, diğer amino asit dizilerinin tümü 575 amino asit uzunluğundan oluşur (Tablo 4.8).

Tablo 4.8 FucT8 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036700014.1	575 aa
<i>Bos taurus</i>	NP_803467.2	575 aa
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043776947.1	575 aa
<i>Desmodus rotundus</i>	XP_024423010.1	575 aa
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	XP_004055361.2	575 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5767928.1	575 aa
<i>Homo sapiens</i>	CAA76988.1	575 aa
<i>Macaca mulatta</i>	NP_001253673.1	575 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6071032.1	575 aa
<i>Mus musculus</i>	AAH10666.1	575 aa
<i>Neophocaena asiaeorientalis asiaeorientalis</i>	XP_024606607.1	575 aa
<i>Orycteropus afer afer</i>	XP_042637076.1	582 aa
<i>Pan troglodytes</i>	NP_001008984.1	575 aa
<i>Pongo abelii</i>	XP_024087435.1	575 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_010333467.1	575 aa
<i>Sturnira hondurensis</i>	XP_036887068.1	575 aa
<i>Sus scrofa</i>	NP_999064.1	575 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037359415.1	575 aa
<i>Trachypithecus francoisi</i>	XP_033043603.1	575 aa
<i>Tupaia chinensis</i>	XP_006142475.1	575 aa

FucT9 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 373 amino asit ile *Echinops telfairi*, en kısa amino asit dizisi 358 amino asit ile *Ochotona curzoniae*'ye aittir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 FucT9 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036727869.1	359 aa
<i>Bos taurus</i>	NP_777160.1	359 aa
<i>Bubalus bubalis</i>	XP_006044650.3	359 aa
<i>Cebus imitator</i>	XP_017394378.1	359 aa
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043746443.1	359 aa
<i>Echinops telfairi</i>	XP_004710969.2	373 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5773867.1	359 aa
<i>Homo sapiens</i>	NP_006572.2	359 aa
<i>Macaca fascicularis</i>	XP_005552383.1	359 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6069027.1	359 aa
<i>Mus musculus</i>	NP_034373.1	359 aa
<i>Ochotona curzoniae</i>	XP_040839028.1	359 aa
<i>Ovis aries</i>	XP_027828513.1	359 aa
<i>Pan troglodytes</i>	NP_001008978.1	359 aa

<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH6777411.1	359 aa
<i>Phyllostomus hastatus</i>	XP_045699102.1	359 aa
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	XP_045428862.1	359 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_010332077.1	359 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037376020.1	358 aa
<i>Tursiops truncatus</i>	XP_033723235.1	359 aa

FucT10 amino asit dizleri için memelilerde 21 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 521 amino asit ile *Homo sapiens*, en kısa amino asit dizisi 476 amino asit ile *Talpa occidentalis* ve *Panthera uncia*'ya aittir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10 FucT10 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Arvicola amphibius</i>	XP_038182974.1	481 aa
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036694504.1	478 aa
<i>Bos taurus</i>	CAH05071.1	478 aa
<i>Canis lupus familiaris</i>	NP_001012665.1	478 aa
<i>Castor canadensis</i>	JAV37504.1	481 aa
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043749521.1	478 aa
<i>Dipodomys spectabilis</i>	XP_042556521.1	479 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5767414.1	478 aa
<i>Homo sapiens</i>	AAH63462.1	521 aa
<i>Lemur catta</i>	XP_045391398.1	479 aa
<i>Macaca fascicularis</i>	XP_045254068.1	479 aa
<i>Manis javanica</i>	KAI5934344.1	482 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6061419.1	481 aa
<i>Myodes glareolus</i>	XP_048312483.1	481 aa
<i>Ochotona curzoniae</i>	XP_040850139.1	479 aa
<i>Panthera uncia</i>	XP_049487590.1	476 aa
<i>Phyllostomus hastatus</i>	XP_045677820.1	478 aa
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	XP_045444844.1	478 aa
<i>Rattus norvegicus</i>	Q5F2L1.1	483 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_003938151.1	479 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037381924.1	476 aa

FucT11 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 493 amino asit ile *Talpa occidentalis*, *Tursiops truncatus*, *Balaenoptera musculus*, *Ovis aries*, *Cervus elaphus*, *Bubalus bubalis*, *Desmodus rotundus*, *Phyllostomus hastatus*, *Pipistrellus kuhlii*, *Canis lupus dingo*, *Panthera uncia*, *Rattus norvegicus*, *Lemur catta*, *Marmota monax*, *Gulo gulo luscus* ve *Phodopus roborovskii* türlerine, en kısa amino asit dizisi 476 amino asit ile *Homo sapiens*'e aittir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11 FucT11 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036684433.1	493 aa
<i>Bubalus bubalis</i>	XP_006052721.4	493 aa
<i>Canis lupus dingo</i>	XP_025289960.1	493 aa
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043782844.1	493 aa
<i>Desmodus rotundus</i>	XP_024416855.1	493 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5769228.1	493 aa
<i>Homo sapiens</i>	AAI00996.1	476 aa
<i>Hylobates moloch</i>	XP_031996085.1	492 aa
<i>Lemur catta</i>	XP_045424932.1	493 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6067665.1	493 aa
<i>Nomascus leucogenys</i>	XP_003271307.2	492 aa
<i>Ochotona curzoniae</i>	XP_040831889.1	491 aa
<i>Ovis aries</i>	XP_014959936.2	493 aa
<i>Panthera uncia</i>	XP_049501203.1	493 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH7463244.1	493 aa
<i>Phyllostomus hastatus</i>	XP_045698286.1	493 aa
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	XP_036293676.1	493 aa
<i>Rattus norvegicus</i>	CAD59737.1	493 aa
<i>Talpa occidentalis</i>	XP_037352881.1	493 aa
<i>Tursiops truncatus</i>	XP_019791616.2	493 aa

POFucT1 amino asit dizleri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 441 amino asit ile *Pipistrellus kuhlii*, en kısa amino asit dizisi 351 amino asit ile *Bos taurus*'a aittir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12 POFucT1 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Balaenoptera acutorostrata scammoni</i>	XP_007193360.1	391 aa
<i>Bos taurus</i>	AAI26763.1	351 aa
<i>Cervus elaphus</i>	XP_043739158.1	391 aa
<i>Felis catus</i>	XP_003983677.1	391 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5770646.1	391 aa
<i>Homo sapiens</i>	AAL09576.1	388 aa
<i>Leopardus geoffroyi</i>	XP_045300880.1	391 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6068891.1	391 aa
<i>Meles meles</i>	XP_045837372.1	391 aa
<i>Monodon monoceros</i>	XP_029077221.1	391 aa
<i>Mustela putorius furo</i>	XP_004746712.1	391 aa
<i>Myodes glareolus</i>	XP_048301516.1	394 aa
<i>Odocoileus virginianus texanus</i>	XP_020771619.1	391 aa
<i>Otolemur garnettii</i>	XP_003788132.1	391 aa
<i>Pan paniscus</i>	XP_003814791.1	388 aa
<i>Panthera uncia</i>	XP_049505985.1	391 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH6777062.1	392 aa
<i>Pipistrellus kuhlii</i>	XP_045430592.1	441 aa
<i>Phyllostomus hastatus</i>	XP_045688547.1	391 aa
<i>Sus scrofa</i>	ABA29460.1	391 aa

POFucT2 amino asit dizileri için memelilerde 20 farklı türe ulaşılmıştır. En uzun amino asit dizi 406 amino asit ile *Marmota monax*, en kısa amino asit dizisi 397 amino asit ile *Gulo gulo luscus*'a aittir (Tablo 4.13).

Tablo 4.13 POFucT2 için kullanılan memeli fukoziltransferaz amino asit dizileri.

Adı	Erişim numarası	Dizi uzunluğu (amino asit)
<i>Artibeus jamaicensis</i>	XP_037014099.1	429 aa
<i>Balaenoptera musculus</i>	XP_036707475.1	429 aa
<i>Bos taurus</i>	AAI40501.1	429 aa
<i>Carlito syrichta</i>	XP_008059764.1	429 aa
<i>Delphinapterus leucas</i>	XP_022452614.1	429 aa
<i>Gulo gulo luscus</i>	KAI5760992.1	397 aa
<i>Hylobates moloch</i>	XP_032030530.1	429 aa
<i>Marmota monax</i>	KAI6060869.1	406 aa
<i>Microcebus murinus</i>	XP_012635490.1	429 aa
<i>Mirounga angustirostris</i>	XP_045758296.1	430 aa
<i>Nomascus leucogenys</i>	XP_030662031.1	429 aa
<i>Ochotona curzoniae</i>	XP_040842687.1	429 aa
<i>Otolemur garnettii</i>	XP_023373905.1	429 aa
<i>Phodopus roborovskii</i>	CAH6789859.1	429 aa
<i>Physeter catodon</i>	XP_023976235.1	429 aa
<i>Pteropus giganteus</i>	XP_039696004.1	429 aa
<i>Rhinopithecus roxellana</i>	XP_010368424.1	429 aa
<i>Saimiri boliviensis boliviensis</i>	XP_003939471.1	429 aa
<i>Sturnira hondurensis</i>	XP_036921113.1	429 aa
<i>Ursus americanus</i>	XP_045632914.1	430 aa

Fukoziltransferaz ailelerine ait bulunmuş motiflerin tümü PROSITE veri tabanında yer alan Pratt uygulaması kullanılarak düzenli ifadeler şeklinde modellenmiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14 Tüm fukoziltransferaz motifleri için oluşturulmuş modeller.

Fukoziltransferazlar	Motif	Motif dizisi
FUT1	I	A-T-L-[FL]-A-L-A-[QR]-L
	II	W-K-G-V-V-[AG]-[DN]-x-A-Y-L-[QR]-x-A-M-D-W-F-R
FUT2	I	A-T-L-[FY]-A-L-A-[KR]
	II	W-[KR]-G-V-V-A-[DG]-[QR]-x-Y-L-[EQR]-x-A-L-[DGS]-x-F
FUT3	I	I-L-L-W-T-W-P-F
	II	V-I-V-H-H-x-[DE]-I
	III	Q-R-W-[IM]-W-F-[NS]-[LM]-E-[PS]-P-[PS]
	IV	F-N-L-T-M-S-Y-R-S-D-S-D-[IV]-F-T-[LP]-Y-G
	V	Y-K-F-Y-L-A-F-E-N-S-x(3)-D-Y-I-T-E-K
FUT4	I	L-L-x(0,2)-E
	II	A-V-L-F-H-H-R-D-[FL]
	III	Q-x-W-V-W-M-N-F-E-S-P-[ST]
	IV	F-N-W-T-L-S-Y-R-[ATV]-D-S-D-[IV]-F-V-P-Y-G
	V	Y-K-F-Y-L-A-F-E-N-S-Q-H-x-D-Y-I-T-E-K

FUT5	I	I-L-L-W-T-W-P-F
	II	A-V-I-V-H-H-x-[DE]-[IV]
	III	Q-R-W-[IV]-W-[FL]-S-[LM]-E-S-P-S
	IV	F-N-L-T-M-S-Y-R-S-D-S-D-I-F-T-P-Y-G
	V	Y-K-F-Y-L-A-F-E-N-S-x-H-[LP]-D-Y-I-T-E-K
FUT6	I	L-[LV]-W-T-W-P-F
	II	A-V-[IL]-[IMV]-H-H-x-[DE]-[IV]
	III	W-[ILV]-W-x-[NS]-[LM]-E-S-P-S
	IV	F-N-L-T-M-[ST]-Y-[HR]-x-D-S-D-[IV]-F-x-P-Y-G
	V	Y-K-F-x-L-A-F-E-N-S-x-H-x-D-Y-I-T-E-[KR]
FUT7	I	L-[IV]-W-x-W-P-F
	II	A-V-V-F-H-H-R-E-L
	III	Q-[LP]-W-[IV]-W-A-S-[LM]-E-S-P-S
	IV	F-N-x-V-L-S-Y-R-[RS]-D-[AS]-D-[IV]-x-[MV]-P-Y-G
	V	Y-x-F-Y-L-[AS]-[FL]-E-N-S-[EQ]-H-x-D-Y-[IV]-T-E-K
FUT8	I	N-W-R-Y-A-T-G-G-W
	II	D-P-[AST]-L-L-x-E-A-K-T-K-Y-[PS]-x-Y-E-F-I-S
FUT9	I	L-[IV]-W-[LV]-W-P-F
	II	A-V-L-I-H-H-R-D-I
	III	Q-K-W-I-W-M-N-L-E-S-P-T
	IV	F-N-L-T-L-T-Y-R-R-D-S-D-I-Q-V-P-Y-G
	V	C-K-F-Y-L-S-F-E-N-S-I-H-[KR]-D-Y-I-T-E-K
FUT10	I	W-W-S-P-L
	II	A-[FLV]-L-F-Y-G-T-D-F
	III	H-[DE]-W-A-[LV]-F-H-E-E-S-P-K
	IV	F-N-[HY]-T-A-T-F-S-R-H-S-[DH]-L-P-L-T-T-Q
	V	Y-K-F-I-L-A-F-E-N-A-[IV]-C-x(0,1)-D-x(0,1)-Y-[IV]-T-E-K
FUT11	I	V-L-L-W-W-S-P-G
	II	A-L-L-F-Y-G-T-D-F
	II	Q-[NST]-W-A-L-L-H-E-E-S-P-L
	IV	F-N-L-T-[AS]-T-F-S-R-[HY]-S-D-Y-P-L-[APS]-L-Q
	V	Y-K-F-H-L-A-L-E-x-A-I-C-[DNS]-D-Y-M-T-E-K
POFUT1	I	Y-H-R-[IV]-[IV]-S-L
	II	L-K-D-G-T-A-[DG]-[AS]-H-F-M-A-S-P-Q-C-V-G-Y
POFUT2	I	N-[IV]-P-V-[IMV]-E-[HY]
	II	L-E-L-[FY]-[KR]-D-G-G-[AV]-A-I-[IV]-D-Q-W-[IV]-C-[AS]-H

Memeli fukoziltransferaz amino asit dizilerinden Pratt uygulamasında oluşturulan motif modelleri 5 farklı böcek türünün protein dizilerinde aratılmıştır. Böcek türleri ve referans genom erişim numaraları tablo halinde verilmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.15 Böcek türlerinin protein dizileri

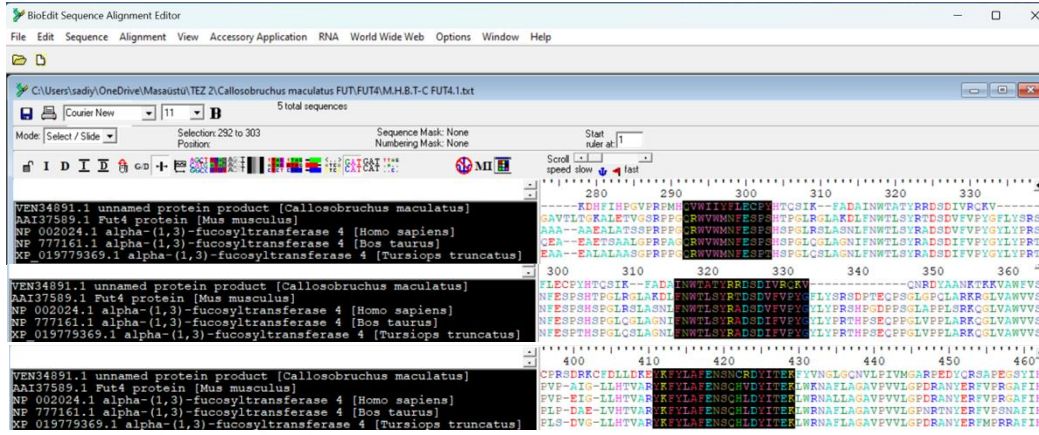
Tür	NCBI RefSeq sequence
<i>Bombyx mori</i>	GCF_014905235.1
<i>Callosobruchus maculatus</i>	GCA_900659725.1
<i>Galleria mellonella</i>	GCF_026898425.1
<i>Manduca sexta</i>	GCF_014839805.1
<i>Myzus persicae</i>	GCF_001856785.1

Fukoziltransferaz motifleri FIMO'da aratılırken her bir amino asit ayrı incelenmektedir. Dizilerin Genbank erişim numaraları, eşleşen dizinin başlangıç ve bitiş amino asit sıraları, p-değeri, q-değeri ve eşleşen motif dizileri tablolar halinde verilmiştir. Program, her bir dizi pozisyonuna göre her motif için bir logaritmik olasılık oran skoru hesaplar ve dinamik programlama kullanarak bu skorları p-değerlerine dönüştürür. FIMO yanlış bulunan oranları (FDR'ler) tahmin etmek için bootstrap metodunu (açık kaynak kodlu, web sayfaları veya uygulamaları geliştirmek için kullanılabilecek araçlar bütünü) kullanır (Vikipedia, 2023). Çıktı olarak her biri log-olasılık oran skoru olan p- ve q-değerlerine göre motiflerin sıralanmış bir listesini verir (Grant *et al.*, 2011).

Böcek protein dizilerinde fukoziltransferaz gen aileleri bulunmaktadır. Araştırılan 5 böceğin 4'ünün protein dizilerinde tanımlanmış oldukları görülmüştür. Sadece *C. maculatus* türünün NCBI'dan elde edilen protein dizilerinde herhangi bir tanımlanmış proteine rastlanmamıştır. Bakılan 5 böcek türünde de fukoziltransferaz olabilecek diziler bulunmuştur. *C. maculatus* türünde 13 fukoziltransferazın tamamı, *G. mellonella* türünde FucT1 ve FucT9, *M. sexta* türünde FucT1, FucT4, FucT5, FucT8 ve FucT11, *M. persicae* türünde FucT2, FucT3, FucT5, FucT6, FucT7, FucT9, FucT10 ve FucT11, *B. mori* türünde FucT1, FucT3, FucT5, FucT6 ve FucT9 olabileceği öngörülen diziler tanımlanmıştır. Bu dizilere Clustal Omega'da bilinen memeli dizileriyle çoklu hizlama yapılmıştır (Şekil 4.1). Motif kısımları karşılaştırıldığında, α 1,3-fukosiltransferazlarda genellikle motif II-V arasındakiler olmak üzere yüksek oranda motif V'in korunmuş olabileceği görülmesine rağmen, bakılan böcekler arasında sadece *G. mellonella*'da motif I'in korunmuş olduğu bulunmuştur.

Beş böcekteki fukoziltransferaz olabilecek dizilerin 3 boyutlu yapıları *H. sapiens*, *P. troglodytes*, *B. taurus*, *C. lupus familiaris* ve *M. musculus* fukoziltransferaz dizilerinin 3 boyutlu yapılarıyla karşılaştırılmıştır. Bu memelilerin fukoziltransferaz dizilerinin 3 boyutlu yapısı Alphafold veri tabanından alınmıştır (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>). *M. sexta*, *G. mellonella*, *B. mori*, *M. persicae* ve *C. maculatus* dizilerinin 3 boyutlu yapılarını oluşturmak için Swiss-Model veri tabanı kullanılmıştır (<https://swissmodel.expasy.org/>). Böcek dizilerinin FASTA formatları sisteme girilmiş ve uygun olan 3 boyutlu yapı programının homoloji modellemesinin başarı oranına göre seçilmiştir. PyMOL (<https://pymol.org/2/>) bir görselleştirme programıdır. Bu program kullanılarak hizlaması yapılan böcek ve memeli protein motif kısımlarının benzerlikleri, FIMO

olasılıkları verilen dizilerle (Tablo 4.16-4.44) aynı sıralamada ve motif bölgeleri farklı renklerde olacak şekilde gösterilmiştir.

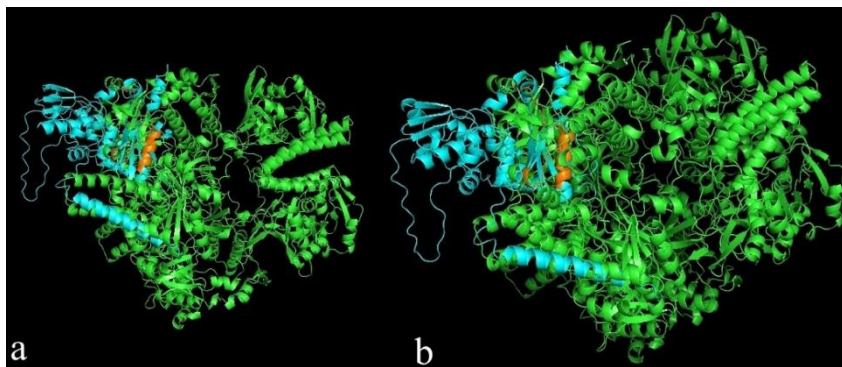


Şekil 4.1 *C. maculatus*, *M. musculus*, *H. sapiens*, *B. taurus* ve *T. truncatus*'un Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)' da hizalanması. Sırasıyla motif III, motif IV ve motif V kısımlarının gösterimi.

C. maculatus'ta VEN42375.1 ve VEN42374.1 proteinleri (Tablo 4.16) *H. sapiens* FucT1 proteiniyle karşılaştırılmış ve iki motiften sadece motif II ile (Şekil 4.2) benzerlik görülmüştür.

Tablo 4.16 *C. maculatus* FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	P-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN42375.1	249	267	1.6e-06	1	WGEDRGEKGYLLMTTDWFK
VEN42374.1	394	412	1.6e-06	1	WGEDRGEKGYLLMTTDWFK

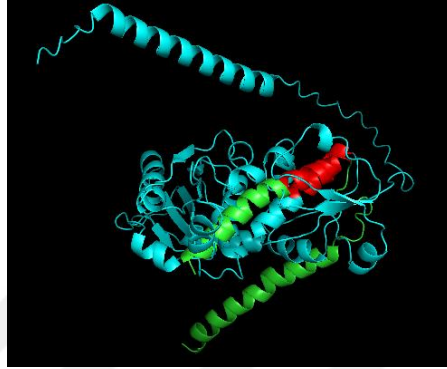


Şekil 4.2 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; ikisinde de ortak olan motif II kısmı.

C. maculatus VEN51608.1 proteini (Tablo 4.17) *H. sapiens* FucT2 proteiniyle karşılaştırıldığında (Şekil 4.3), benzer olan motiflerin birbirleriyle çakışmaları sonucu motif I ve II'den sadece motif I'in korunmuş olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.17 *C. maculatus* FucT2 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p- değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN51608.1	396	413	5.81e-06	1	LKTIKADREDLEDALADK

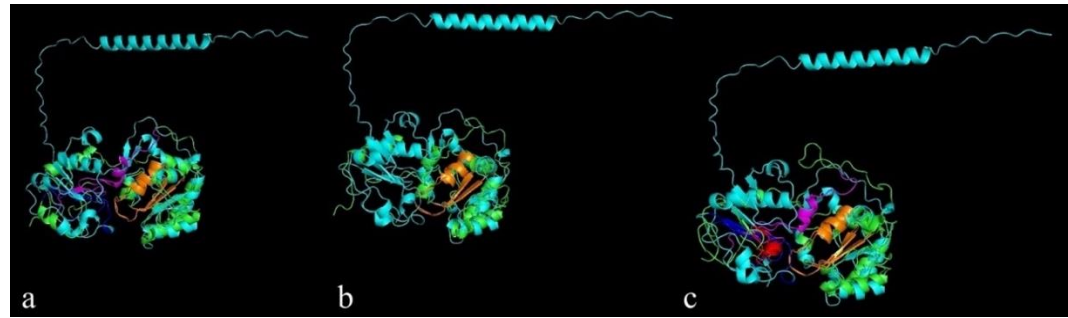


Şekil 4.3 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT2 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; ikisinde de ortak olan motif I kısmı.

FucT3'e bakıldığında ise *C. maculatus*'un VEN34891.1 proteininde (Tablo 4.18) insan FucT3 proteini ile çakışan 3 motif bölgesinin korunmuş olduğu görülürken (Şekil 4.4 a), VEN34890.1 proteininde tek motif bölgesinin (Şekil 4.4 b), VEN58850.1 proteininde ise 4 motif bölgesinin korunmuş olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4 c).

Tablo 4.18 *C. maculatus* FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34891.1	181	197	2.43e-10	0.000932	YKFYLA FENSNCRDYIT
VEN34890.1	291	307	2.43e-10	0.000932	YKFYLA FENSNCRDYIT
VEN58850.1	222	238	2.35e-09	0.00674	YKFYLSFENS YCTDYVT

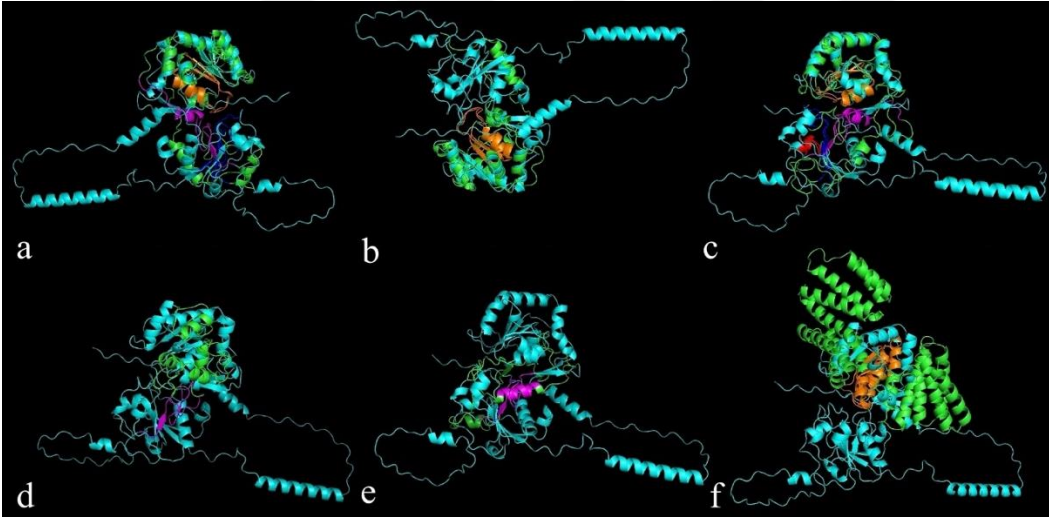


Şekil 4.4 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34891.1 proteini (Tablo 4.19) *M. musculus* FucT4 proteini ile karşılaştırıldığı motif III-V bölgeleri olmak üzere 3 tane benzer motif göze çarpmaktadır (Şekil 4.5 a). VEN34890.1 proteininde motif V bölgesi korunmuştur (Şekil 4.5 b). VEN58850.1 proteininde motif II-V bölgeleri olmak üzere *M. musculus* ile benzeyen 4 motif bulunmaktadır (Şekil 4.5 c). VEN50351.1 (Şekil 4.5 d) ve VEN50349.1 (Şekil 4.5 e) proteinlerinde sadece motif IV ve VEN53775.1 proteininde (Şekil 4.5 f) ise sadece motif V bölgesi belirlenmiştir.

Tablo 4.19 *C. maculatus* FucT4 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34891.1	181	199	1.56e-19	5.83e-13	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN34890.1	291	309	1.56e-19	5.83e-13	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN58850.1	222	240	7.96e-16	2.23e-09	YKFYLS FENS YCTDYVTEK
VEN50351.1	396	414	6.04e-06	0.56	ISFYLTTEYIKRKDYVAQK
VEN50349.1	427	445	6.04e-06	0.56	ISFYLTTEYIKRKDYVAQK
VEN53775.1	343	361	9.59e-06	0.582	GRFYHARENAERSMRIMER

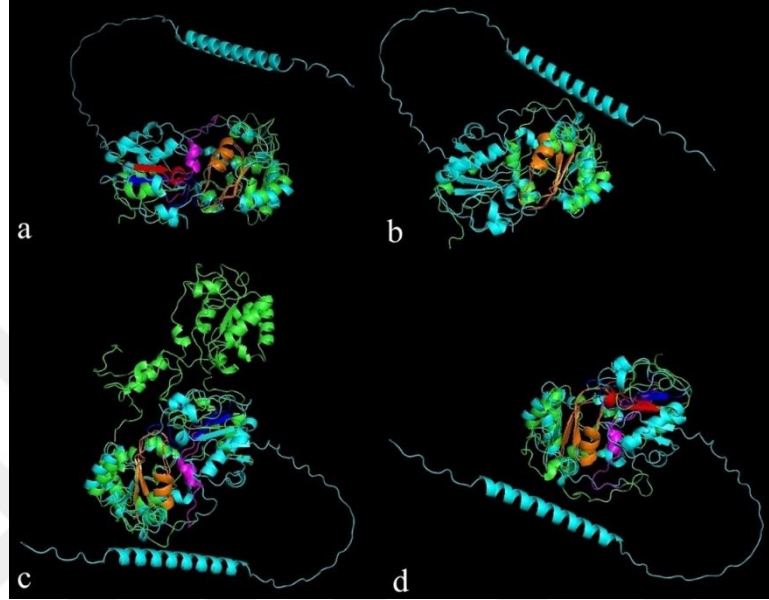


Şekil 4.5 *C. maculatus* ve *M. musculus* FucT4 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *M. musculus* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34891.1 proteini (Tablo 4.20) *H. sapiens* FucT5 proteini ile karşılaştırıldığında, PyMOL'dan elde edilen sonuçlara göre motif II-V bölgeleri benzerlik göstermektedir (Şekil 4.6 a). VEN34890.1 protein dizisinde ise sadece motif V bölgesinin benzerliği belirlenmiştir (Şekil 4.6 b). VEN34889.1 proteininde motif III-V (Şekil 4.6 c), VEN58850.1 proteininde ise motif II-V bölgelerinin benzerlikleri göze çarpmaktadır (Şekil 4.6 d).

Tablo 4. 20 *C. maculatus* FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

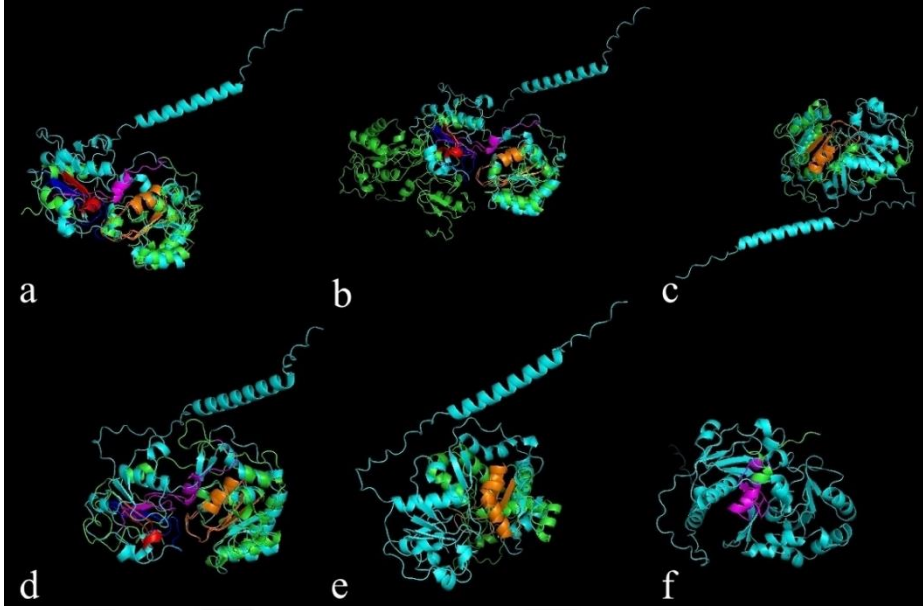
Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34891.1	181	199	1.01e-19	3.76e-13	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN34890.1	291	309	1.01e-19	3.76e-13	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN34889.1	308	326	1.01e-19	3.76e-13	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN58850.1	222	240	1.97e-16	5.48e-10	YKFYLSFENS YCTDYVTEK

**Şekil 4.6** *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34891.1 proteiniyle (Tablo 4.21) *H. sapiens* FucT6 proteini hizalandığında motif II-V bölgelerinin benzerliği bulunmuştur (Şekil 4.7 a). VEN34889.1 proteiniyle karşılaştırmasında motif II-V bölgelerinin (Şekil 4.7 b), VEN34890.1 proteininde sadece motif V bölgesinin (Şekil 4.7 c), VEN58850.1 proteininde ise motif II-V bölgelerinin benzerlikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.7 d). *C. maculatus*'ta bulunan ve FIMO sonuçlarına göre sadece FucT6'ya benzeyen iki dizi daha tespit edilmiştir. İlki VEN40379.1 proteini, *H. sapiens* ile sadece motif V bölgesi benzerlik gösterirken (Şekil 4.7 e), diğer dizi olan VEN40380.1 proteini ise sadece motif IV bölgesi benzerlik göstermiştir (Şekil 4.7 f).

Tablo 4.21 *C. maculatus* FucT6 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34891.1	181	199	6.17e-19	2.32e-12	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN34889.1	308	326	6.17e-19	2.32e-12	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN34890.1	291	309	6.17e-19	2.32e-12	YKFYLA FENSNCRDYITEK
VEN58850.1	222	240	3.09e-15	8.7e-09	YKFYLSFENS YCTDYVTEK
VEN40379.1	315	333	8.35e-06	0.675	LNVTDYIENMLGEDYITDK
VEN40380.1	673	691	8.35e-06	0.675	LNVTDYIENMLGEDYITDK

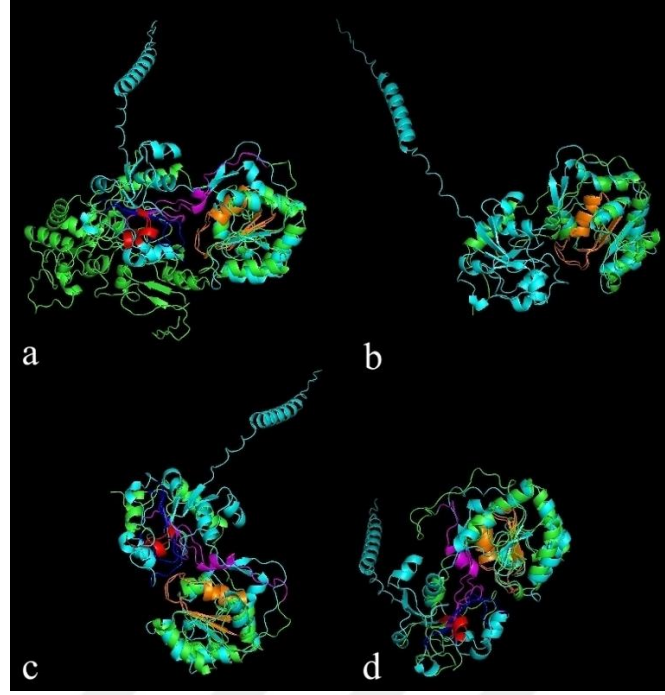


Şekil 4.7 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT6 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34889.1 proteiniyle (Tablo 4.22) *H. sapiens* FucT7 proteini hizalandığında motif II-V bölgelerinin benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.8 a). VEN34890.1 proteiniyle yapılan karşılaştırmada sadece motif V bölgesinin (Şekil 4.8 b), VEN34891.1 proteininde motif II-V (Şekil 4.8 c), VEN58850.1 proteininde ise motif II-V bölgelerinin benzerlikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.8 d).

Tablo 4.22 *C. maculatus* FucT7 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34889.1	308	326	1.67e-17	6.29e-11	YKFYLAFENSNCRDYITEK
VEN34890.1	219	309	1.67e-17	6.29e-11	YKFYLAFENSNCRDYITEK
VEN34891.1	181	199	1.67e-17	6.29e-11	YKFYLAFENSNCRDYITEK
VEN58850.1	222	240	2.27e-17	6.42e-11	YKFYLSFENSYCTDYVTEK



Şekil 4.8 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT7 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

H. sapiens'in FucT8 protein yapısında belirlenen motif I ve motif II'nin, *C. maculatus* VEN62377.1 protein dizisinin (Tablo 4.23) 3 boyutlu protein yapısıyla karşılaştırılması sonucu, iki motifin de insanla benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.9).

Tablo 4.23 *C. maculatus* FucT8 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN62377.1	419	437	1.19e-12	6.59e-06	DPKVLLEAKKKYPHYEIIIG

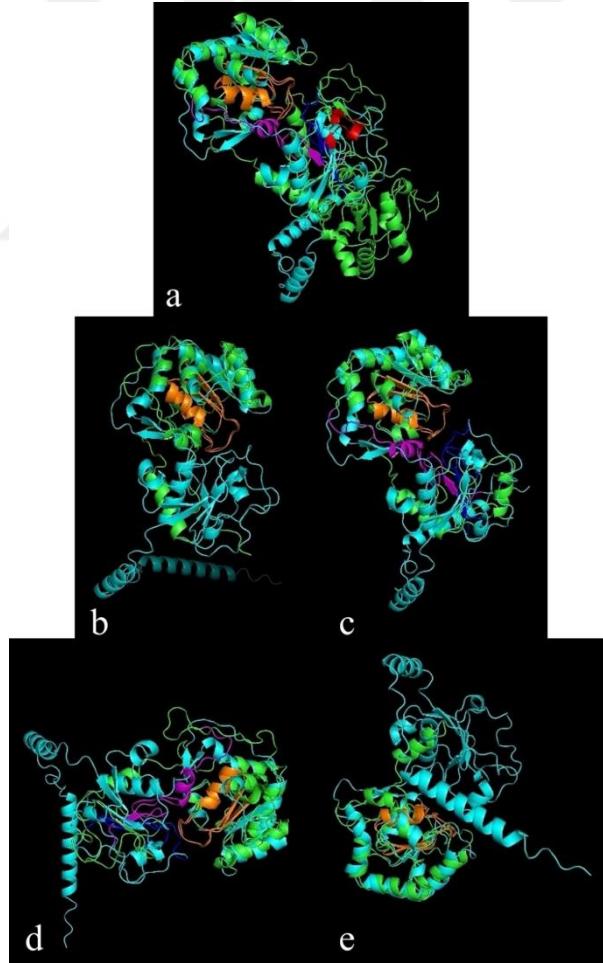


Şekil 4.9 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT8 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif I ve turuncu; motif II ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34889.1 proteiniyle (Tablo 4.24) *H. sapiens* FucT9 proteini hizalandığında, motif II-V bölgelerinin benzerliği dikkat çekmiştir (Şekil 4.10 a). VEN34890.1 proteiniyle olan karşılaştırmada sadece motif V bölgesinin (Şekil 4.10 b), VEN34891.1 proteininde motif III-V bölgelerinin (Şekil 4.10 c), VEN58850.1 proteininde ise motif III-V bölgelerinin benzerlikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.10 d). *C. maculatus*'ta bulunan ve FIMO sonuçlarına göre sadece FucT9'a benzeyen bir dizi daha bulunmuştur. VEN58429.1 protein dizisi *H. sapiens* ile sadece motif V bölgesiyle benzerlik göstermiştir (Şekil 4.10 e).

Tablo 4.24 *C. maculatus* FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34889.1	308	326	1.21e-16	4.51e-10	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN34890.1	219	309	1.21e-16	4.51e-10	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN34891.1	181	199	1.21e-16	4.51e-10	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN58850.1	222	240	4.91e-15	1.37e-08	YKFYLS FENS YCTDYVTEK
VEN58429.1	105	123	1.69e-10	0.000378	YKFII SIENAACYDYITEK

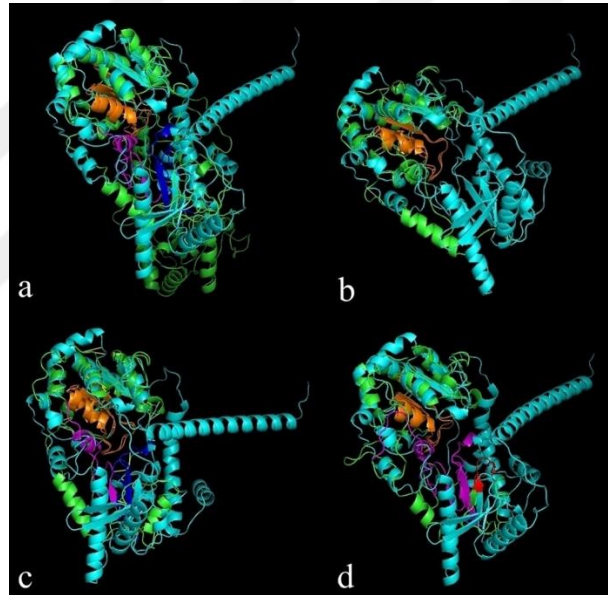


Şekil 4.10 *C. maculatus* ve *H. sapiens* FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *H. sapiens* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34889.1 proteiniyle (Tablo 4.25) *B. taurus* FucT9 proteini hizalandığında motif III-V bölgelerinin benzerlikleri dikkat çekmiştir (Şekil 4.11 a). VEN34890.1 proteiniyle olan karşılaştırmada sadece motif V bölgesinin (Şekil 4.11 b), VEN34891.1 proteininde motif III-V bölgelerinin (Şekil 4.11 c), VEN58850.1 proteininde ise motif II, IV ve V bölgelerinin benzediği tespit edilmiştir (Şekil 4.11 d).

Tablo 4.25 *C. maculatus* FucT10 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q- değeri	Eşleşen diziler
VEN34889.1	308	327	5.7e-10	0.00217	YKFYLA FENSNC RDYITEKF
VEN34890.1	219	310	5.7e-10	0.00217	YKFYLA FENSNC RDYITEKF
VEN34891.1	181	200	5.7e-10	0.00217	YKFYLA FENSNC RDYITEKF
VEN58850.1	222	241	1.31e-08	0.0299	YKFYLS FENS YCTDYVTEKM

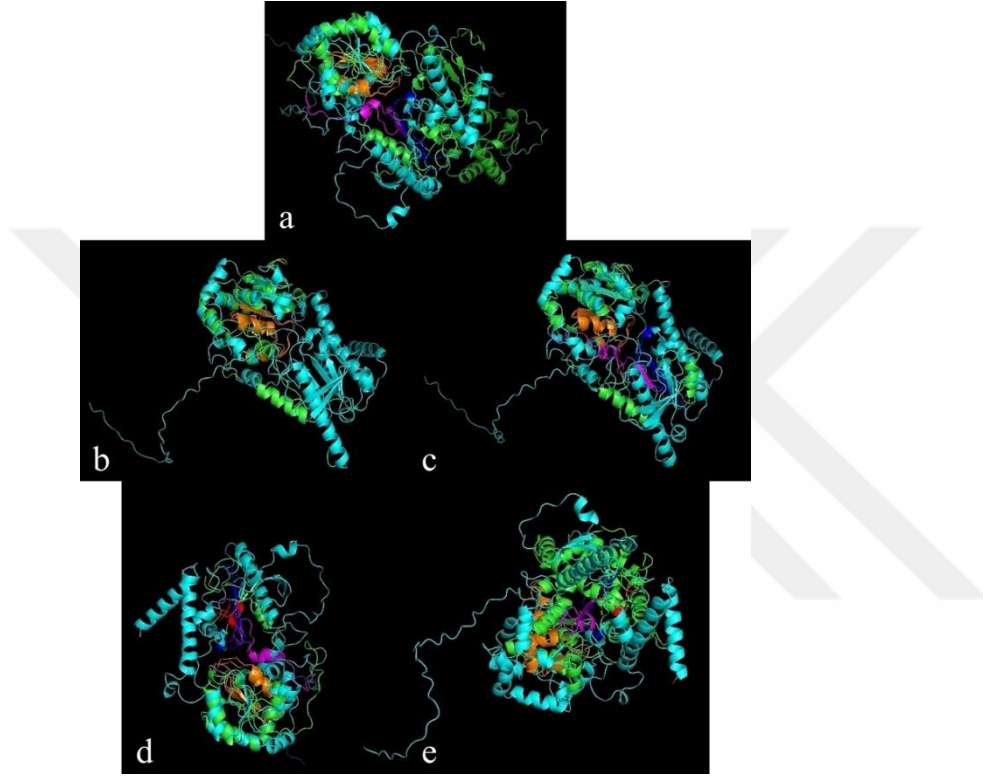


Şekil 4.11 *C. maculatus* ve *B. taurus* FucT10 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *B. taurus* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

C. maculatus'un VEN34889.1 proteiniyle (Tablo 4.26) *M. musculus* FucT9 proteini hizalandığında motif III-V bölgelerinin benzerliği görülmüştür (Şekil 4.12 a). VEN34890.1 proteiniyle olan karşılaştırmada sadece motif V bölgesinin (Şekil 4.12 b), VEN34891.1 proteininde motif III-V bölgelerinin (Şekil 4.12 c), VEN58850.1 proteininde ise motif II-V bölgelerinin benzerlikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.12 d). *C. maculatus*'ta bulunan ve FIMO sonuçlarına göre sadece FucT11'e benzeyen bir dizi daha tespit edilmiştir. VEN53344.1 protein dizisi *M. musculus* ile motif II-V bölgeleriyle benzerlik göstermiştir (Şekil 4.12 e).

Tablo 4.26 *C. maculatus* FucT11 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN34889.1	308	326	6.53e-13	2.49e-06	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN34890.1	291	309	6.53e-13	2.49e-06	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN34891.1	181	199	6.53e-13	2.49e-06	YKFYLA FENSNC RDYITEK
VEN58850.1	222	240	1.69e-11	3.85e-05	YKFYLS FENS YCTDYVTEK
VEN53344.1	268	286	7.18e-06	0.812	PAFHEAVGEAIGLSVGTPK

**Şekil 4.12** *C. maculatus* ve *M. musculus* FucT11 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *M. musculus* ve kırmızı; motif II, lacivert; motif III, eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

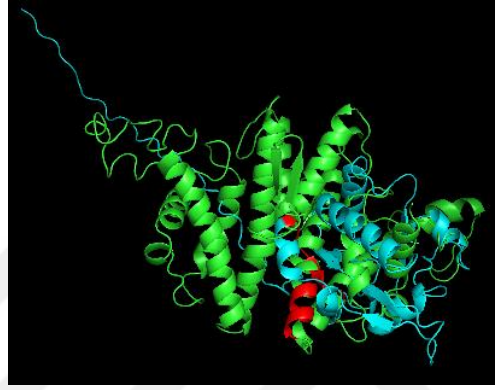
FIMO'dan elde edilen sonuçlara göre *C. maculatus*'un FucT3-7 ve FucT9-11 protein dizilerinde VEN34891.1, VEN34890.1, VEN58850.1, VEN34889.1 dizileriyle ortaklık belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.18-4.26, 4.23 hariç). Bu doğrultuda protein 3 boyutlu yapısında, belirtilen 4 dizinin tüm α 1,3 fukoziltransferaz motiflerle eşleşen bölgeleri tespit edilmiştir.

α 1,3 fukoziltransferazlar FucT3-7 ve FucT9-11 proteinlerinin dahil olduğu gruplardır ve bu 8 fukoziltransferaz dizisinde 5 motif bölgesi keşfedilmiştir. Motif IV ve motif V (Bkz Şekil 4.4-12, 4.9 hariç) yüksek oranda korunmuş motiflerdir. *C. maculatus*'ta motif I dışında diğer motiflerin tümüne rastlanmıştır.

C. lupus familiaris'in POFucT1 protein yapısında keşfedilen motif I ve motif II'nin *C. maculatus* VEN42220.1 dizisinin (Tablo 4.27) 3 boyutlu protein yapısıyla karşılaştırıldığında, sadece motif I bölgesinde *C. l. familiaris* ile benzerlik gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.13).

Tablo 4.27 *C. maculatus* POFucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN42220.1	450	468	7.65e-06	1	DKCLLTKAHFVVCPCCYGG

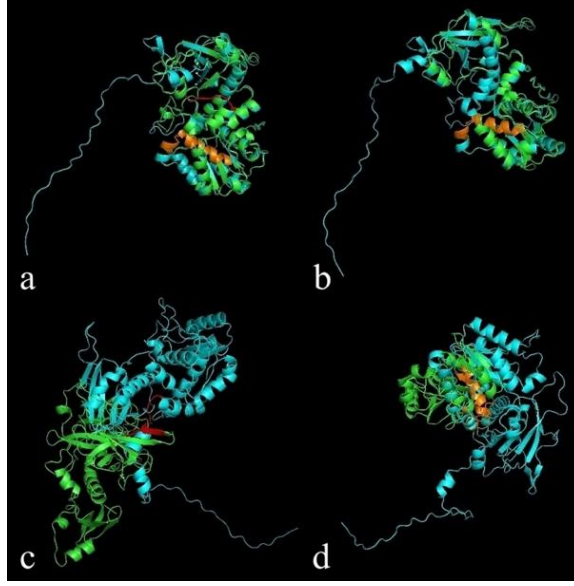


Şekil 4.13 *C. maculatus* ve *C. lupus familiaris* POFucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *Canis lupus familiaris* ve kırmızı; motif I ikisinde de ortak olan kısım.

C. maculatus'un VEN54366.1 proteiniyle (Tablo 4.28) *B. taurus* POFucT2 proteini hizalandığında motif I ve II bölgelerinin benzerliği görülmüştür (Şekil 4.14 a). VEN54367.1 proteiniyle olan karşılaştırmada sadece motif II bölgesinin (Şekil 4.14 b), VEN56986.1 proteininde sadece motif I (Şekil 4.14 c), VEN42219.1 proteininde ise sadece motif II bölgesinin benzerlikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.14 d).

Tablo 4.28 *C. maculatus* POFucT2 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
VEN54366.1	350	368	1.47e-15	8.42e-09	RSKYKDGGVAIVDQIICSH
VEN54367.1	236	254	1.47e-15	8.42e-09	RSKYKDGGVAIVDQIICSH
VEN56986.1	322	340	5.85e-06	1	KESYKVLGMDLIDSTCAG
VEN42219.1	480	498	7.46e-06	1	SEKYKKLGITYEDYLVLAH

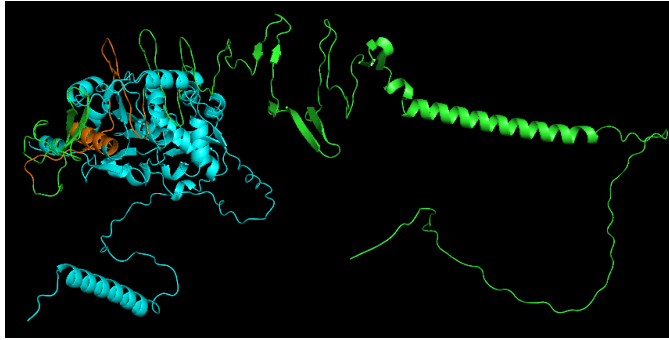


Şekil 4.14 *C. maculatus* ve *B. taurus* POFucT2 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *C. maculatus*, mavi; *B. taurus* ve kırmızı; motif I ve turuncu; motif II ikisinde de ortak olan kısımlar.

B. mori'de XP_037875820.1 proteini (Tablo 4.29) *H. sapiens* FucT1 proteiniyle karşılaştırılmış ve iki motiften sadece motif II ile benzerlik saptanmıştır (Şekil 4.15).

Tablo 4.29 *B. mori* FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_037875820.1	266	284	6.25e-07	0.776	KEGVYVDVRYLPIAMPLNR

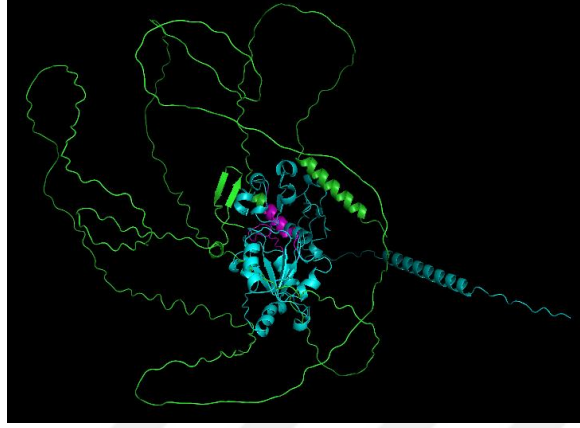


Şekil 4.15 *B. mori* ve *H. sapiens* FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *B. mori*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif II ikisinde de ortak olan kısımlar.

B. mori'de XP_037874673.1 proteini (Tablo 4.30) *P. troglodytes* FucT3 proteiniyle karşılaştırılmış ve beş motiften sadece motif IV ile benzerlik görülmüştür (Şekil 4.16).

Tablo 4.30 *B. mori* FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

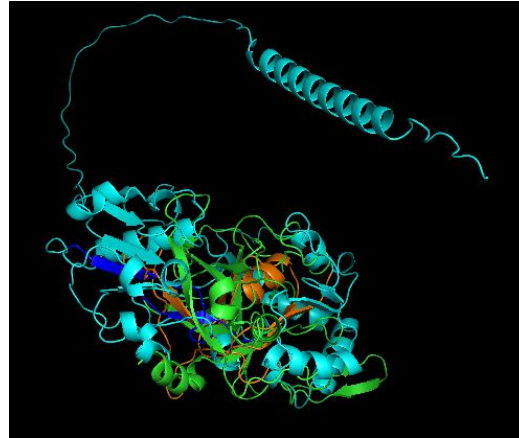
Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_037874673.1	308	326	3.26e-06	0.372	YDSQLGFDHKE SIDYIKIK

**Şekil 4.16** *B. mori* ve *P. troglodytes* FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *B. mori*, mavi; *Pan troglodytes* ve eflatun; motif IV ikisinde de ortak olan kısımlar.

B. mori'de XP_021207495.1 proteini (Tablo 4.31) *H. sapiens* FucT3 proteiniyle karşılaştırılmış ve beş motiften motif III ve motif V ile benzerlik belirlenmiştir (Şekil 4.17).

Tablo 4.31 *B. mori* FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

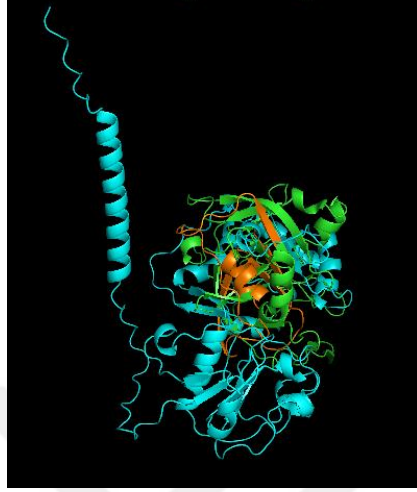
Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_021207495.1	308	326	5.45e-06	0.449	YDSQLGFDHKE SIDYIKIK

**Şekil 4.17** *B. mori* ve *H. sapiens* FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *B. mori*, mavi; *H. sapiens* ve lacivert; motif III ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

B. mori'de XP_021207495.1 proteini (Tablo 4.32) *H. sapiens* FucT6 proteiniyle karşılaştırılmış ve beş motiften motif V ile benzerlik bulunmuştur (Şekil 4.18).

Tablo 4.32 *B. mori* FucT6 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

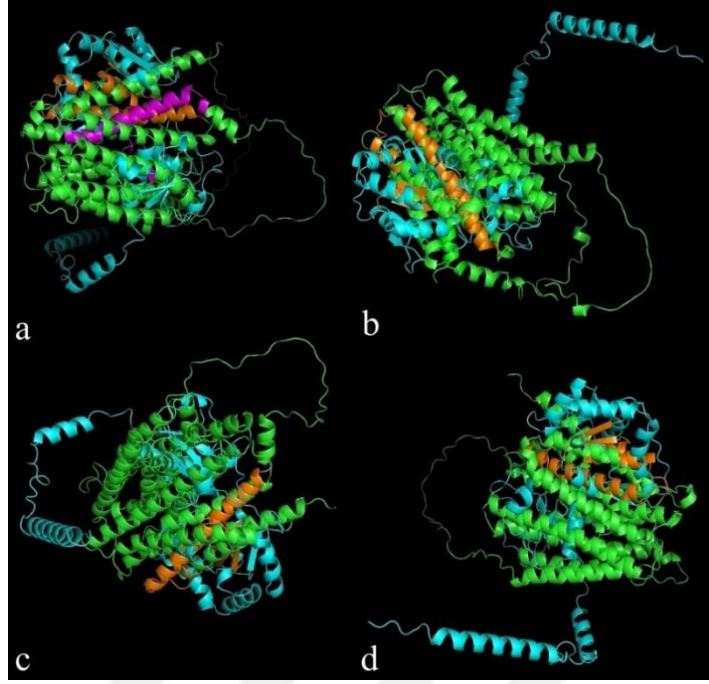
Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_021207495.1	308	326	3.6e-06	0.443	YDSQLGFDHKEIDYIKIK

**Şekil 4.18** *B. mori* ve *H. sapiens* FucT6 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *B. mori*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

B. mori'de NP_001266428.1 proteini (Tablo 4.33) *H. sapiens* FucT9 proteiniyle karşılaştırılmış ve motif IV ve motif V bölgeleriyle benzerlik görülmüştür (Şekil 4.19 a). *B. mori* XP_021206172.1 (Şekil 4.19 b), XP_021206173.1 (Şekil 4.19 c) ve XP_021206174.1 (Şekil 4.19 d) proteinlerine karşılaştırıldığında ise sadece motif V bölgelerinin benzerliği tespit edilmiştir.

Tablo 4.33 *B. mori* FucT9 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
NP_001266428.1	150	158	4.2e-05	0.606	AVLIHFFQI
XP_021206172.1	143	151	4.2e-05	0.606	AVLIHFFQI
XP_021206173.1	130	138	4.2e-05	0.606	AVLIHFFQI
XP_021206174.1	92	100	4.2e-05	0.606	AVLIHFFQI

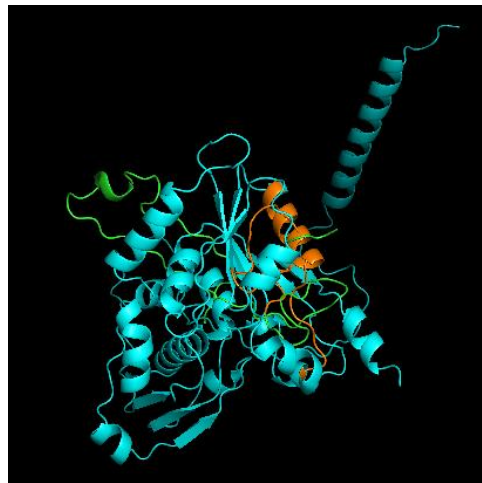


Şekil 4.19 *B. mori* ve *H. sapiens* FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *B. mori*, mavi; *H. sapiens* ve eflatun; motif IV, turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısımlar.

G. mellonella XP_031767290.1 proteini (Tablo 4.34) *H. sapiens* FucT1 proteiniyle PyMOL programında hizalanmış ve dizilerin motif kısımları karşılaştırılmıştır. Çıkan sonuca göre sadece motif II bölgesinin benzerliği belirlenmiştir (Şekil 4.20).

Tablo 4.34 *G. mellonella* FucT1 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_031767290.1	187	205	5.43e-06	1	TSGVVCDGIKNCGVSDWFD

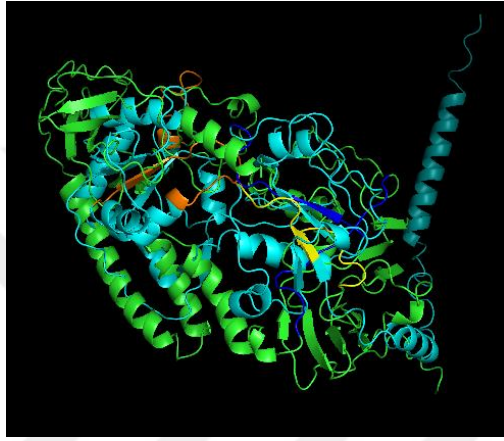


Şekil 4.20 *G. mellonella* ve *H. sapiens* FucT1 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *G. mellonella*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif II ikisinde de ortak olan kısım.

G. mellonella XP_026757326.1 protein dizisi (Tablo 4.35) *H. sapiens* FucT9 protein dizisiyle hizalanmış ve motif kısımları karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılan diğer dizilerden farklı olarak *G. mellonella*'nın XP_026757326.1 protein dizisinde ilk kez motif I bölgesine benzer bir bölgeye rastlanılmıştır (Şekil 4.21). Ayrıca motif III ve motif V bölgeleriyle de benzerliği, motif dizilerinin çakışmasından anlaşılmaktadır (Şekil 4.21).

Tablo 4.35 *G. mellonella* FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_026757326.1	262	280	4.89e-06	0.46	DSSVSSFENSLHECYHNNM

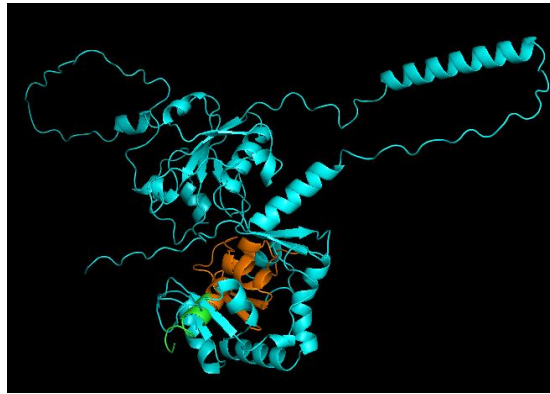


Şekil 4.21 *G. mellonella* ve *H. sapiens* FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *G. mellonella*, mavi; *H. sapiens* ve sarı; motif I, lacivert; motif III ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. sexta XP_030033298.2 protein dizisi (Tablo 4.36) *M. musculus* FucT4 protein dizisiyle karşılaştırılmış ve XP_030033298.2 protein dizisi kısa olmasına rağmen motif V bölgesinde bir eşleşme görülmüştür (Şekil 4.22).

Tablo 4.36 *M. sexta* FucT4 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_030033298.2	212	230	3.45e-06	0.624	NKYDYDYLENDKHSDKVFFHK

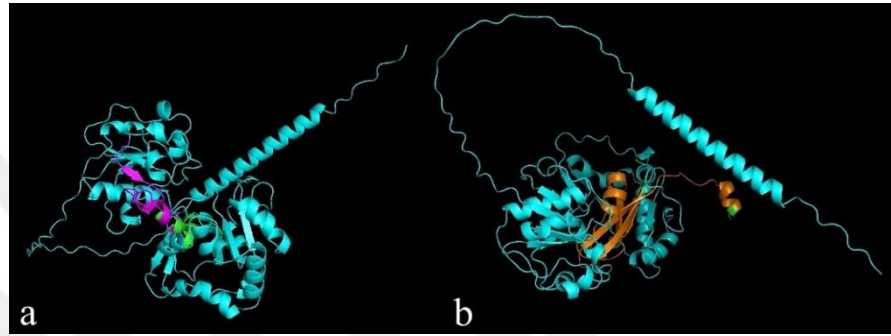


Şekil 4.22 *M. sexta* ve *M. musculus* FucT4 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. sexta*, mavi; *M. musculus* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. sexta'nın XP_030033298.2 protein dizisiyle (Tablo 4.37) *M. musculus* FucT5 protein dizisi hizalandığında, motif IV bölgesinin benzerliği görülmüştür (Şekil 4.23 a). XP_030032388.2 protein dizisiyle olan karşılaştırmada ise motif V bölgesinin benzerliği tespit edilmiştir (Şekil 4.23 b).

Tablo 4.37 *M. sexta* FucT5 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_030033298.2	212	230	3.25e-06	0.628	NKYYDYLENDKHSDKVFBK
XP_030032388.2	228	248	5.36e-06	0.628	EECYLTIEYRIHHDRIIFS

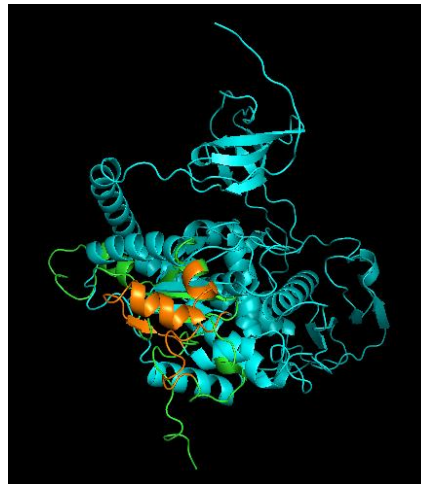


Şekil 4.23 *M. sexta* ve *M. musculus* FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. sexta*, mavi; *M. musculus* ve eflatun; motif IV ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. sexta'nın XP_037296652.1 protein dizisiyle (Tablo 4.38) *M. musculus* FucT8 protein dizisi hizalandığında, motif V bölgesinde bir benzerliği bulunmuştur (Şekil 4.24).

Tablo 4.38 *M. sexta* FucT8 motif II'nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_037296652.1	418	436	8.76e-06	0.46	GSPDTEEDKKIYPRYETII

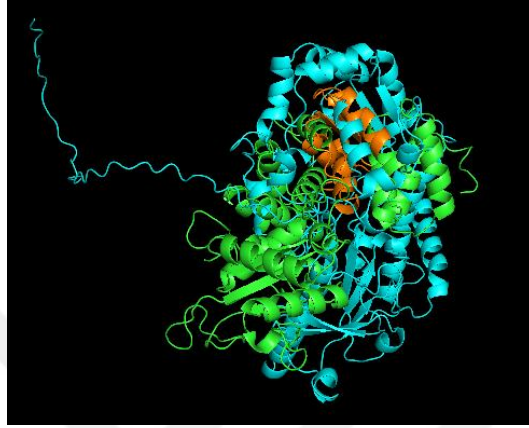


Şekil 4.24 *M. sexta* ve *M. musculus* FucT8 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. sexta*, mavi; *M. musculus* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. sexta'nın XP_030023128.1 protein dizisiyle (Tablo 4.39) *M. musculus* FucT11 protein dizisi hizalandığında, motif V bölgesiyle bir benzerlik belirlenmiştir (Şekil 4.25).

Tablo 4.39 *M. sexta* FucT11 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_030023128.1	238	256	6.19e-06	0.729	NFPDPVLLDRICNDVMTCL

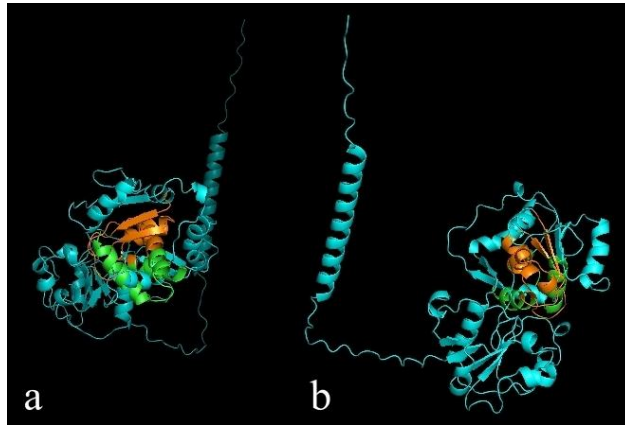


Şekil 4.25 *M. sexta* ve *M. musculus* FucT11 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. sexta*, mavi; *M. musculus* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. persicae'nin XP_022182156.1 (Şekil 4.26 a) ve XP_022182157.1 (Şekil 4.26 b) protein dizileriyle (Tablo 4.40) *P. Troglodytes* FucT3 protein dizisi hizalandığında motif V bölgesinin ikisinde de benzer olduğu görülmüştür.

Tablo 4.40 *M. persicae* FucT3 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_022182156.1	302	320	9.04e-06	0.583	IALGLAIENNKSTDDLTEL
XP_022182157.1	297	315	9.04e-06	0.583	IALGLAIENNKSTDDLTEL

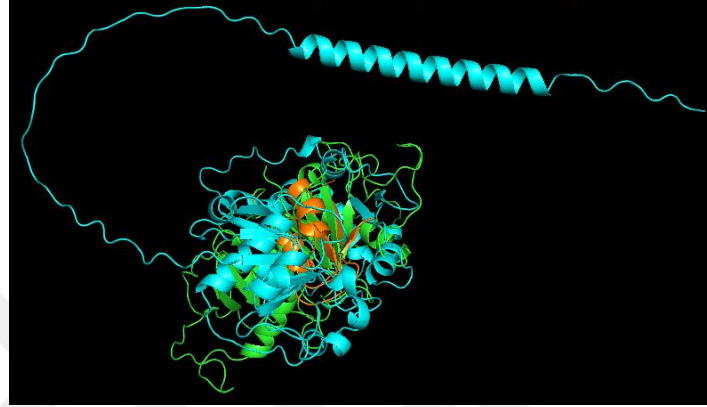


Şekil 4.26 *M. persicae* ve *P. troglodytes* FucT3 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. persicae*, mavi; *P. troglodytes* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. persicae XP_022180514.1 protein dizisi (Tablo 4.41) ve *P. Troglodytes* FucT5 protein dizisi birbiriyle hizalanmış ve motif dizileri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.27’de görüleceği üzere motif V bölgesi her iki dizide de ortaktır.

Tablo 4.41 *M. persicae* FucT5 motif V’nin FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_022180514.1	259	277	8.22e-06	0.615	YGIYIAKDCAGFPTYKLEK

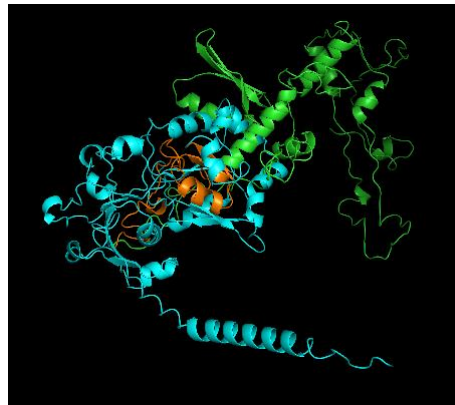


Şekil 4.27 *M. persicae* ve *P. troglodytes* FucT5 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. persicae*, mavi; *P. troglodytes* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. persicae XP_022180830.1 protein dizisi (Tablo 4.42) ve *H. sapiens* FucT5 protein dizisi birbiriyle hizalanmış ve motif dizileri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.28’den anlaşılacağı üzere dizilerin motif V bölgeleri ortaktır.

Tablo 4.42 *M. persicae* FucT7 motif V’in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_022180830.1	267	285	8.65e-06	0.586	FYSSLTDENITDDDYIHAK

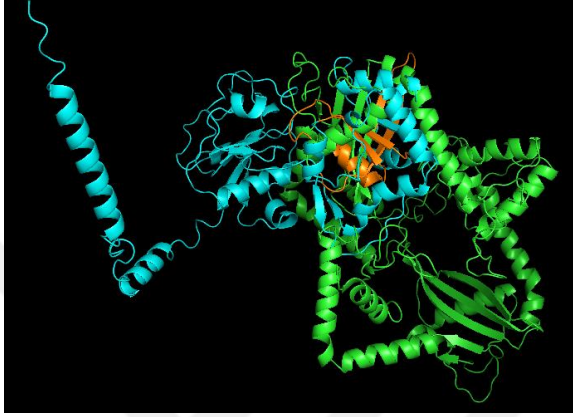


Şekil 4.28 *M. persicae* ve *H. sapiens* FucT7 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. persicae*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. persicae XP_022160661.1 protein dizisi (Tablo 4.43) ve *H. sapiens* FucT9 protein dizisi birbiriyle hizalanarak motif dizileri karşılaştırılmış ve motif V bölgelerinin ortak olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.29).

Tablo 4.43 *M. persicae* FucT9 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_022160661.1	491	509	3.14e-06	0.404	CDRYICLLNSLHILGYDEK

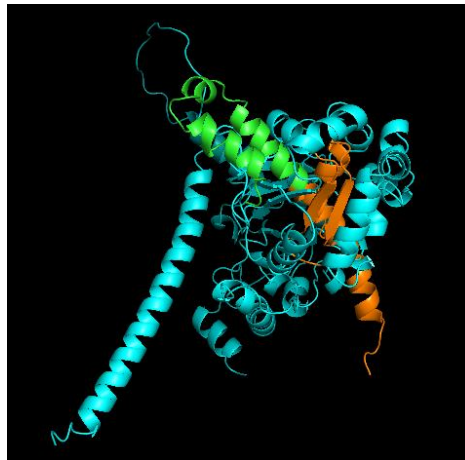


Şekil 4.29 *M. persicae* ve *H. sapiens* FucT9 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. persicae*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

M. persicae XP_022175331.1 protein dizisi (Tablo 4.44) ve *H. sapiens* FucT10 protein dizisi birbiriyle hizalanmış ve motif dizileri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılan dizilerin motif V bölgelerinin ortak olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.30).

Tablo 4.44 *M. persicae* FucT10 motif V'in FIMO sonuçlarına göre olasılığı yüksek verileri.

Dizi ismi	Başlangıç	Bitiş	p-değeri	q-değeri	Eşleşen diziler
XP_022175331.1	260	279	2.24e-06	0.587	KEDILRFEDQVQDDIISTFK



Şekil 4.30 *M. persicae* ve *H. sapiens* FucT10 3 boyutlu yapı karşılaştırılması. Yeşil; *M. persicae*, mavi; *H. sapiens* ve turuncu; motif V ikisinde de ortak olan kısım.

FIMO'ya girilen motif modelleri FucT5, FucT6 ve FucT7 için oldukça benzerdir (Tablo 4.45). Ayrıca bilindiği üzere FucT5 ve FucT6 protein dizilerinin yaklaşık olarak %90 oranında birbirine benzemektedir. Birbirleriyle aynı sonuçları vermelerinin sebebinin bu olduğu düşünülmektedir. Farklı memelilerle karşılaştırılsa da FucT3, FucT4, FucT9, FucT10 ve FucT11'de aynı motiflerin (III, IV ve V) benzediği görülmüştür. FucT5, FucT6 ve FucT7'de ise bu motiflere ek olarak motif II'de de benzerlik göstermiş ve böylece VEN34891.1 dizisinde en fazla motif benzerliği bu 3 fukoziltransferazda bulunmuştur.

Tablo 4.45 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan *C. maculatus* VEN34891.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri.

Karşılaştırıldığı memeli FucT proteini	Benzer bulunan motif bölgeleri
<i>H. sapiens</i> FucT3	motif III, IV ve V
<i>M. musculus</i> FucT4	motif III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT5	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT6	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT7	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT9	motif III, IV ve V
<i>B. taurus</i> FucT10	motif III, IV ve V
<i>M. musculus</i> FucT11	motif III, IV ve V

VEN34890.1 protein dizisi ortak olarak α 1,3 fukoziltransferazlarda bulunan diziler içinde en az eşleşen motife sahip dizidir. Elde edilen bu bulgu FIMO sonuçlarında verilen VEN34890.1 dizisi en çok korunan motiflerden olan motif V ile benzer olsa da (Tablo 4.46) diğer dizilere kıyasla sadece bir motifle benzerlik göstermesi fukoziltransferaz motiflerinin bazı böceklerde daha fazla sayıda korunurken bazılarında daha az korunmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 4.46 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan *C. maculatus* VEN34890.1 proteininin memeli FucT'larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri.

Karşılaştırıldığı memeli FucT proteini	Benzer bulunan motif bölgeleri
<i>H. sapiens</i> FucT3	motif V
<i>M. musculus</i> FucT4	motif V
<i>H. sapiens</i> FucT5	motif V
<i>H. sapiens</i> FucT6	motif V
<i>H. sapiens</i> FucT7	motif V
<i>H. sapiens</i> FucT9	motif V
<i>B. taurus</i> FucT10	motif V
<i>M. musculus</i> FucT11	motif V

VEN34889.1 dizisinde en fazla motif benzerliği FucT6, FucT7 ve FucT9 dizilerinde tespit edilmiştir (Tablo 4.47). FucT5, FucT10 ve FucT11’de motif II ile benzerlik bulunamasa da diğer 3 motifle (III, IV ve V) hepsinde benzerlik bulunmuştur.

Tablo 4.47 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan *C. maculatus* VEN34889.1 proteininin memeli FucT’larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri.

Karşılaştırıldığı memeli FucT proteini	Benzer bulunan motif bölgeleri
<i>H. sapiens</i> FucT5	motif III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT6	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT7	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT9	motif II, III, IV ve V
<i>B. taurus</i> FucT10	motif III, IV ve V
<i>M. musculus</i> FucT11	motif III, IV ve V

PyMOL’daki verilere göre VEN58850.1 protein dizisinde (Tablo 4.48) *M. musculus* FucT4 ve FucT11 protein dizileriyle karşılaştırıldığında 4, *H. sapiens* FucT5, FucT6 ve FucT7 protein dizileriyle ise yine 4 motifin (II, III, IV ve V) benzediği tespit edilmiştir. FucT9 ve FucT10 protein dizilerindeki motiflere kıyasla daha fazla benzer motif bulunmuştur.

Tablo 4.48 α 1,3 fukoziltransferaz motiflerinde ortak olan *C. maculatus* VEN58850.1 proteininin memeli FucT’larıyla karşılaştırılması ve benzer bulunan motif bölgeleri.

Karşılaştırıldığı memeli FucT proteini	Benzer bulunan motif bölgeleri
<i>M. musculus</i> FucT4	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT5	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT6	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT7	motif II, III, IV ve V
<i>H. sapiens</i> FucT9	motif III, IV ve V
<i>B. taurus</i> FucT10	motif II, IV ve V
<i>M. musculus</i> FucT11	motif II, III, IV ve V

4.2. Fuc-T C3 ve Bma1,6FucT Genlerinin mRNA Ekspresyon Seviyeleri

RNA izolasyonları yapılan hemosit, yağ dokusu, ovaryum ve testis dokularının RNA miktar ölçümleri nanodrop kullanılarak elde edilmiştir (Tablo 4.45). A260/A280 absorbands oranlarına bakıldığında hemosit 1. gün (H-1), 4. gün (H-4), 7. gün (H-7), yağ doku 1. gün (Y-1), 4. gün (Y-4) ve 7. gün (Y-7), testis 1. gün (T-1), 4. gün (T-4) ve 7. gün (T-7) ve ovaryum 1. gün (Ov-1), 4. gün (Ov-4), 7. gün (Ov-7) için RNA miktarları genel olarak ideal saflıkta çıkmıştır (Tablo 4.46).

Tablo 4.49 *B. mori* gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait RNA miktarları

Günler Dokular	5. instar 1. gün	5. instar 4. gün	5. instar 7. gün
Hemositler	249 ng/μl	350,3 ng/μl	48,6 ng/μl
Yağ doku	135,3 ng/μl	341,0 ng/μl	-
Ovaryum	86,3 ng/μl	-	328,3 ng/μl
Testis	140,8 ng/μl	219,2 ng/μl	-

Tablo 4.50 *B. mori* gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait RNA miktarlarının 260 nm/280 nm'deki saflık değerleri.

Gruplar	A260/A280
H-1	2,05
Y-1	1,80
T-1	1,88
Ov-1	1,62
H-4	1,94
Y-4	1,83
T-4	1,75
Ov-4	1,77
H-7	1,99
Y-7	1,56
T-7	2,02
Ov-7	1,94

RNA izolasyonu sonucu çıkan miktarlar RNAase free water ile 20 μl toplam hacimde 100 nanogram olacak şekilde seyreltilmiştir. QPCR analizinde Bmal,6FucT için elde edilen ortalama target gen CT, referans gen CT ve Delta CT değerleri Tablo 4.47 ve benzer değerler Fuc-T C3 için ise Tablo 4.48'de verilmiştir.

QPCR sonuçları ipek böceğinin farklı gün ve farklı dokularında Bmal,6FucT ve Fuc-T C3 ekspresyon seviyelerindeki farklılıkları göstermektedir. Hemosit dokusunun 1, 4, ve 7. günlerdeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Fuc-T C3 ve Bmal,6FucT ekspresyon seviyeleri 1. gün en yüksek iken 4. günde düşmüş ve 7. günde biraz artmıştır (Şekil 4.31). Yağ dokuda Fuc-T C3 ekspresyon seviyesi 1. günde en yüksek olarak görülmüştür ve 4. günde düşüş ortaya çıkmıştır. Bmal,6FucT ise 4. günde dokudaki ekspresyonu yükselmiştir (Şekil 4.32). Ovaryum dokusunda yapılan uygulamada 5. instarın 1. gününde Bmal,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ekspresyonları 7. güne göre dokuda daha yüksek miktarda belirlenmiştir (Şekil 4.33). Testis dokusunda ise 1. ve 4. günde Fuc-T C3 geni ekspresyon seviyesi giderek düşmüştür. Ekspresyon seviyelerinde

farklılıklar olsa da Bma1,6FucT ve Fuc-T C3 genleri için ekspresyon aktivitesi gözlemlenmiştir (Şekil 4.34).

Bma1,6FucT için:

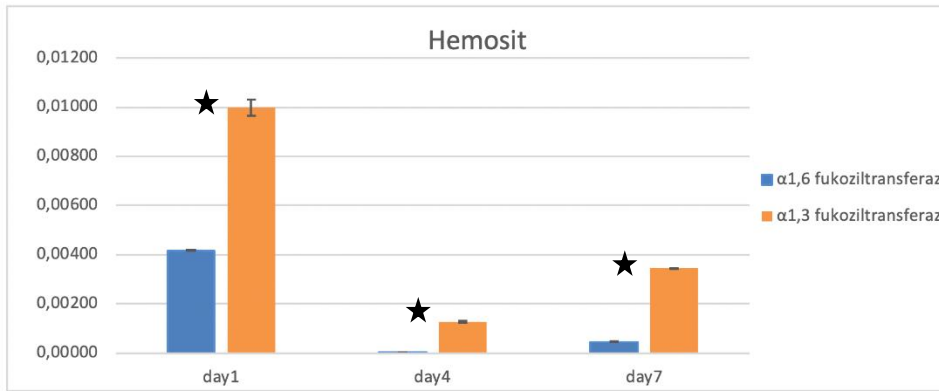
Tablo 4.51 *B. mori* gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait QPCR target gen CT, referans gen CT ve Delta CT değerleri.

Gruplar	Ortalama Target CT	Ortalama Referans CT	Delta CT
H-1	29,22507	21,32344	0,00418
H-4	32,44114	17,89455	0,00004
H-7	31,3527	20,27889	0,00046
Y-1	32,88088	23,29344	0,00130
Y-4	31,41858	23,30451	0,00361
Ov-1	28,79684	22,63753	0,01400
Ov-7	31,10582	19,22442	0,00027
T-1	30,37833	24,5255	0,01730
T-4	31,55375	22,69733	0,00216

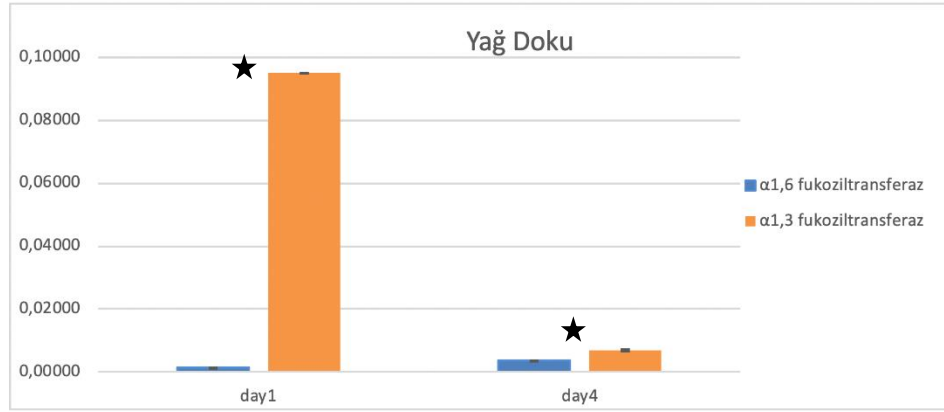
Fuc-T C3 için:

Tablo 4.52 *B. mori* gelişiminin farklı günlerindeki dokulara ait QPCR target gen CT değerleri.

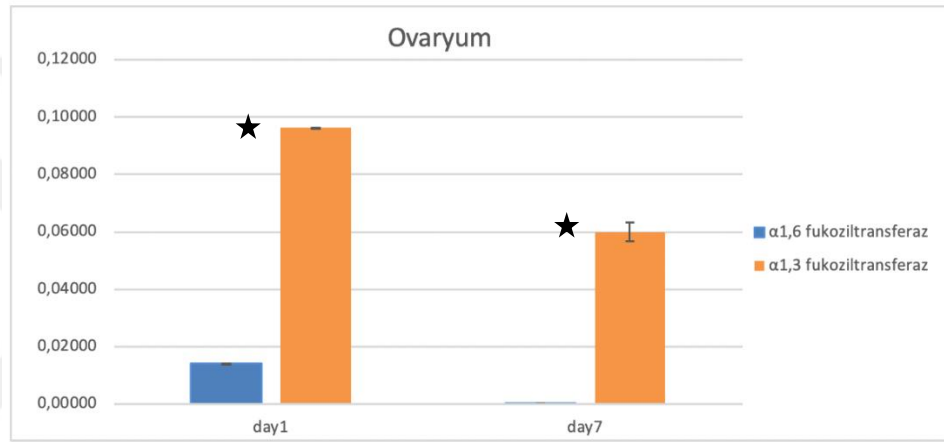
Gruplar	Target Ortalama CT	Referans Ortalama CT	Delta CT
H-1	27,96905	21,32344	0,0100
H-4	27,51162	17,89455	0,0013
H-7	28,46271	20,27889	0,0034
Y-1	26,68588	23,29344	0,0952
Y-4	30,46726	23,30451	0,0070
Ov-1	26,01393	22,63753	0,0963
Ov-7	23,28317	19,22442	0,0600
T-1	24,0346	24,5255	1,4050
T-4	24,65929	22,69733	0,2567



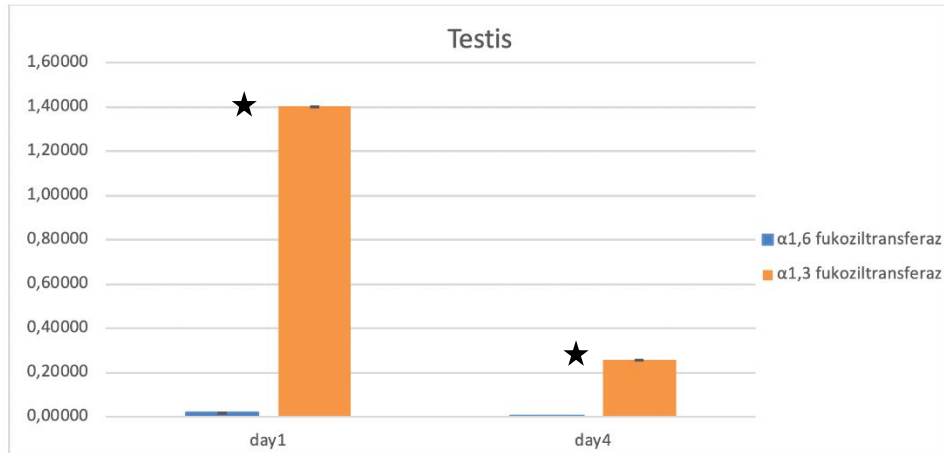
Şekil 4.31 Hemositlerde Bma1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması (*p<0,05).



Şekil 4.32 Yağ dokuda Bmα1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması (*p<0,05).



Şekil 4.33 Ovaryumlarda Bmα1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması (*p<0,05).



Şekil 4.34 Testislerde Bmα1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması (*p<0,05).

5.TARTIŞMA

Literatürdeki mevcut çalışmalara rağmen, birçok fukoziltransferazın organizmalardaki çeşitliliği hala bilinmemektedir. Model nematod *Caenorhabditis elegans*'ta N-bağlı oligosakkaritler dahil olmak üzere çok çeşitli fukozillenmiş glikanlar bulunmaktadır. Bu N-glikanların standart N,N-diasetilkitobiyoz biriminde üç taneye kadar fukoz şekeri bulunabilir, ancak bunlardan yalnızca ikisinin transferinden sorumlu fukoziltransferazlar (FucT1 ve FucT8) daha önce karakterize edilmiştir (Yan *et al.*, 2013).

N-glikan proksimal N-asetilglukozamine bağlı α 1,3-bağlı fukozun polen, gıda ve zehir alerjenleri dahil olmak üzere bitki ve böcek glikoproteinlerinde bulunduğu gösterilmiştir (Kurz *et al.*, 2016).

Sivrisinek *Anopheles gambiae* ile yapılan çalışmada böceklerde diğer glikomik çalışmalara kıyasla hem yeni hem de bilinen fukozillenmiş N-glikanlar tanımlanabilmiştir. MALDI-TOF MS tabanlı yöntemler uygulanarak bu böcek türünde tüm α 1,3 ve α 1,6-fukoziltransferaz homologları için enzimatik aktivite ve özellikleri gösterilebilmiştir. *A. gambiae* genomunda FucT6, FucTA, FucTC fukoziltransferazlar tanımlanmış, klonlanmış ve *Pichia pastoris*'te rekombinant olarak eksprese edilebilmiştir. *D. melanogaster*'de ayrıca α 1,3-fukoziltransferaz (FucTA) da belirlenmiştir (Kurz *et al.*, 2016).

Omurgasızlarda bulunan α 1,6 fukoziltransferazın omurgalılarıdaki FucT8 ve *B. mori*'deki α 1,3-fukoziltransferazın *D. melanogaster*'deki FucTA geni ile homolog oldukları ortaya çıkarılmıştır (Ihara *et al.*, 2014). Biyoinformatik yöntemlerle elde edilen homoloji analizinde aynı atadan gelen canlılarda ortak genetik özelliklerin yanı sıra yeni oluşmuş özellikler (mutasyon veya rekombinasyon gibi) tespit edilebilmektedir. Homoloji analizinde, iki farklı amino asit dizisi veya iki farklı DNA dizisi arasında meydana gelen eşleşmeleri karşılaştırarak ve hizalamada gerçekleşen eşleşmelere puan atayarak ölçüm yapılır. Nükleik asitler arasındaki homoloji iki ana tiptedir: ortolog ve paralog. Homolog genler, türleşmeyle ayrıldıysa ortolog olarak adlandırılırlar. Ortolog genler, farklı türlerde bulunur, ancak aynı atalardan geldikleri için birbirlerine benzerler, fonksiyonları birbirine benzeyen homolog dizilerden oluşurlar. Paralog genler ise, bir gen duplikasyonu ile ayrılan genlerdir, aynı organizmada bulunan, benzer fakat özdeş-olmayan fonksiyonlara sahip homologlardır (İnal, 2011; Kara, 2016).

α -L-fukozillenmiş glikan metabolizmasında yer alan proteomu tanımlamak için *D. melanogaster* genomunda biyoinformatik yaklaşımlar kullanılarak, böceğin fukoziltransferazları ve insan FucT10 ve FucT11'i kodlayan iki ortolog gen tanımlanmıştır (Roos *et al.*, 2002). Korunan iki ana motifin varlığı nedeniyle α 1,3-fukoziltransferazlar oldukları öngörülmüş (Breton *et al.*, 1998), ancak aktiviteleri, insanlar (Roos *et al.*, 2002), fareler (Baboval-Smith, 2002), sinekler (Fabini *et al.*, 2001; Paschinger *et al.*, 2005) veya bal arıları (Rendic *et al.*, 2007) dahil hiçbir türde henüz deneysel olarak kanıtlanmamıştır. İlk olarak *D. melanogaster* (Fabini *et al.*, 2001; Paschinger *et al.*, 2005)'de dört tane α 1,3-fukoziltransferaz (Fuc-TA, Fuc-TB, Fuc-TC ve Fuc-TD) tanımlanmıştır. Fuc-TA'nın, bir α 1,3-fukoziltransferaz olduğu (Fabini *et al.*, 2001), Fuc-TB'nin, insan FucT10 ve FucT11 ile ortolog olduğu, Fuc-TC'nin, muhtemelen Le^x antijeninin sentezinde yer aldığı (Rendic *et al.*, 2007) belirlenmiş ancak Fuc-TD için henüz herhangi bir fonksiyon saptanamamıştır (Mollicone *et al.*, 2009).

α 1,6 fukozilasyon, hem omurgalıların hem de omurgasızların N-glikanlarında yaygın olarak gözlenmesine rağmen, sorumlu enzim olan α 1,6-fukoziltransferaz, omurgalılara kıyasla omurgasızlarda çok daha az karakterize edilmiştir. Memelilerde α 1,6-fukozillenmiş glikanlar, doku gelişimini ve sinyal iletimini etkilemekte, ancak böceklerde fukozillenmiş glikanların rolü pek bilinmemektedir (Namakura *et al.*, 2020). α 1,6-fukoziltransferazın böceklerdeki fonksiyonlarını araştırmak için, *B. mori*'den (Bm α 1,6FucT) α 1,6-fukoziltransferaz için cDNA klonlanmış ve böcek hücre hatları kullanılarak hazırlanan rekombinant enzim karakterize edilmiştir. Bm α 1,6FucT'nin kodlama bölgesi, diğer α 1,6-fukoziltransferazlarla önemli benzerlik göstermekte ve amino asit dizisinin 578 amino asidini kodlayan 1737 baz çiftinden oluşmaktadır. Enzim aktivite deneyleri, Bm α 1,6FucT'nin insan enzimine kıyasla daha az olmasına rağmen enzimatik olarak aktif olduğunu göstermektedir. Ihara ve ark. (2014) α 1,6-fukoziltransferazın böceklerdeki fonksiyonlarını tam olarak ortaya koyamamalarına rağmen, Bm α 1,6FucT için mRNA'nın nükleotit sekansını belirleyebilmiş ve kısmen de karakterize edebilmişlerdir.

α 1,6 fukozilasyonunun omurgasız N-glikan sentezinde α 1,3 fukozilasyonu tarafından inhibe edildiği ileri sürülmüştür. α 1,6 fukozilasyonu, Lepidoptera'nın larvalarında veya kültür hücre dizilerinde üretilen rekombinant proteinlerde de gözlenmiştir. İpek böceği genom diziliminde Bm α 1,6FucT için varsayılan nükleotid dizisi bulunmuştur. Clustal W kullanılarak bir hizalama analizi yapılmıştır. Omurgasızlar ve omurgalılarından çeşitli türler arasında α 1,6-

fukoziltransferaz dizileri hizalanmıştır (Paschinger, 2005; Ihara *et al.*, 2014). Yaptığımız çalışmada omurgasız ve omurgalıları arasında hizalaması yapılabilen α 1,6-fukoziltransferazlara ek olarak α 1,2-, α 1,3-, α 1,4- ve protein -O-fukoziltransferazların da memeliler ve *Bombyx mori*, *Callosobruchus maculatus*, *Galleria mellonella*, *Manduca sexta* ve *Myzus persicae* türleri arasında Clustal Omega ile hizalaması yapılabilmüş ve en az 1, en fazla 4 korunmuş motif bölgesinin saptanmış olması, katalitik bölgenin böceklerden memelilere kadar değişen enzimlerde yüksek oranda korunduğunu göstermektedir.

Kuşlar ve memelilerdeki aynı fukoziltransferaz genleri arasında yaklaşık %30'luk (farklılığın 120 milyon yıl önce olduğu tahmin edilmektedir), farklı memeli türlerindeki aynı fukoziltransferaz genleri arasında ise yaklaşık %20'lik bir dizi farkı tespit edilmiştir. Bu fark insan ve şempanze fukoziltransferaz genleri arasında yaklaşık %2 (ayrışmanın yaklaşık 5 milyon yıl önce olduğu tahmin edilmektedir)'dir. 10 milyon yıldan fazla bir süre önce ayrılan FUT3, FUT5 ve FUT6 genleri arasında ise yaklaşık %10'luk bir fark bulunmaktadır (Costache *et al.*, 1997). Fukoziltransferaz dizileri arasındaki benzerliklerin fazla olması *C. maculatus* türünde FIMO sonuçlarına göre VEN34891.1, VEN34890.1, VEN58850.1, VEN34889.1 protein dizilerinin tüm α 1,3 fukoziltransferazlarda ortak olarak bulunmasını açıklamaktadır. Bu protein dizileri memelilerle karşılaştırıldığında korunmuş motif bölgelerinde benzerlikler görülmüştür.

Memelilerde fukozil glikokonjugatları, α 1,2, α 1,3, α 1,4 ve α 1,6 bağ tipleriyle bir oligosakkarit alıcısına veya protein-O-fukozilasyonuyla doğrudan serine veya treonine bağlı olarak bulunur (Costache *et al.*, 1997). α 1,2 ve 1,3/4-fukoziltransferazlar, terminal fukozilasyonda görev alır (Petit *et al.*, 2006) ve monoekzonik genler tarafından kodlanırlar (Oriol *et al.*, 1999). FUT8 geni tarafından kodlanan α 1,6-fukoziltransferaz, α -L-fukoza glikoproteinlerin kitobiyoz disakarit biriminin en içteki asparagin-bağlı GlcNAc'sine aktarır (Yanagidani *et al.*, 1997; Javaud *et al.*, 2003). İnsan FucT8'inin kristal yapısına bakıldığında, kısa bir N-terminal sitoplazmik kuyruğu, bir transmembran alanı, bir kök bölgesi ve bir C-terminali katalitik alanı olan tip II glikoprotein olduğu bilinmektedir (Luo *et al.*, 2006). Ayrıca nükleotitlere bağlanan bir protein motifi olan Rossmann kıvrımında (Rao-Rossmann, 1973) bulunan üç peptidik ortak dizi (motif I, motif II ve motif III) içermektedir (Becker-Lowe, 2003; Luo *et al.*, 2006; Juliant *et al.*, 2014). Bu üç ana peptid motifi α 1,2, α 1,6 ve protein-O-fukoziltransferazlar (O-FucT) arasında korunduğu ve yeni bir üst aile oluşturduğu bulunmuştur (Mollicone *et al.*, 2009). Ortak ve korunmuş olmaları motiflerin fukozun transferinde etkili olduğunu

düşündürmektedir (Breton *et al.*, 1998; Oriol *et al.*, 1999; Okajima *et al.*, 2005). Bölgeye yönelik mutagenез, yüksek oranda korunmuş amino asitlerin çoğunun enzimatik aktivite için gerekli olduğunu gösteren bu hipotezi doğrulamıştır (Takahashi *et al.*, 2000; Ihara *et al.*, 2007). Bilinen tüm FucT8 dizilerinin C-terminalinde bir de SH3 alanı (kinaz bölgesi) mevcuttur (Javaud *et al.*, 2000; Javaud *et al.*, 2003), ancak rolü henüz bilinmemektedir (Juliant *et al.*, 2014).

α 1,3-fukoziltransferaz ailesinin sahip olduğu beş korunmuş motif bölgesi bulunmaktadır. Korunmuş iki ana motif (IV ve V) tüm α 1,3-fukoziltransferazlarda mevcuttur (Mollicone *et al.*, 2009). Tez kapsamında yapılan araştırmada 3 boyutlu yapıya bakıldığında literatürü doğrulayıcı nitelikte iki ana motif, motif V çoğunlukta olacak şekilde gözlenmiştir. Bu iki motif, GDP-fukozun tanınmasını ve bağlanmasını sağlamaktadır. İlk üç motif ise, alıcı substratın tanınmasında yer almakta ve dizinin NH₂ ucuna doğru konumlanmaktadır (Mollicone *et al.*, 2009).

Alıcı motif II FucT3–7 ve FucT9'da bulunur, ancak FucT10 ve FucT11 dizilerinde gözlenmemektedir. Fakat, FucT10 ve FucT11'in eşdeğer konumlarında farklı bir korunmuş peptit motifi (FYGTDF) mevcuttur (Bkz Şekil 2.3). Klasik alıcı motif II, FucT10 ve FucT11'deki yeni alıcı motifi II ile 5. pozisyonda (Asp veya Glu) sadece bir negatif yüklü amino asidi paylaşmaktadır (Bkz Şekil 2.3. Alıcı motif II'yi çevreleyen motif I ve III, FucT10 ve FucT11'e özgü altı korunmuş amino asit içerir. Motif I, II, III, IV ve V arasındaki mesafe, tüm α 1,3-fukoziltransferaz ailelerinde iyi korunmuştur. Motif IV ve V'in çok iyi korunması ve motif I ve III'ün önemli ölçüde korunması, tüm α 1,3-fukoziltransferazların ortak ata genden türediğini göstermektedir (Mollicone *et al.*, 2009).

Böcek FucT10/11 enzimlerinde FucT10 ve FucT11'in spesifik pozisyonlarının eşdeğer oranlarda (%50,9) bulunması, genetik uzunluklarının aynı olduğunu ve bu nedenle ortak atadan gelebileceklerini gösterir. Aynı kavram, Petit ve arkadaşları (2006) tarafından FucT10 veya FucT11'den belirli konumların yüzdesi (%50,14) ile değerlendirildiğinde, aynı genetik mesafede bulunan klasik monoekzonik α 1,3-fukoziltransferazlar (FucT3-7 ve FucT9) için de geçerlidir (Mollicone *et al.*, 2009).

α 1,3/4-fukoziltransferazlar, omurgasız hayvanlarda ve bitkilerde karakterize edilmiştir ve tümünde büyük korunmuş motifler olan IV ve V vardır, ancak önemli sayıda FucT10 veya FucT11'e özgü konum bulunamamıştır. Ayrıca omurgasız, bitki ve Le^a bitki enzimlerinin motif I, II ve III dizimleri FucT10 ve FucT11'e

kıyasla FucT3-7 ve FucT9 aileleri ile daha yakından ilişkilidir. Bununla birlikte, FucT10 ve FucT11 α 1,3/4-fukoziltransferazların FucT3-7 ve FucT9 ailelerinin hiçbirine atfedilemediğinden FucT3-7 ve FucT9 enzimlerinin her birine benzer genetik mesafelerde oldukları düşünülür. Bu nedenle, FUT3-7 ve FUT9 genlerinin kökenindeki duplikasyon olaylarından önce mevcut olan ortak bir ataya ortolog olabilecekleri düşünülmektedir (Mollicone *et al.*, 2009).

FucT'lar için deneysel olarak belirlenmiş 3D yapı gösterimi literatür kaynaklarında pek mevcut değildir. Ayrıca, protein veri bankasında (PDB) doğrudan homoloji modellemesi için kullanılacak, FucT'larla yeterli dizi benzerliğine sahip yapı bulunmamaktadır. Swiss-Model ile oluşturulan böcek protein dizileri, memeli fukoziltransferazlarıyla karşılaştırıldığında görülen dizi benzerlikleri homoloji çalışmaları için faydalı olacak niteliktedir.

FucT'ların doku ve hücrede ekspresyon seviyelerinin farklılıkları yapılan araştırmalarda belirtilmiştir (Vries *et al.*, 2001). Dokulardaki bu ekspresyon farklılıkları *B. mori*'de Bm α 1,6FucT ve Fuc-T C3 genlerinde de gözlenmiştir. 5. instarın ilk gününde tüm dokularda Fuc-T C3 geninin en yüksek seviyede eksprese olduğu, daha sonra düşüş gösterdiği görülmüştür. Bm α 1,6FucT gen ekspresyonu için de yağ doku harici durum aynıdır. Yağ dokuda iki genin de ekspresyonlarının diğer dokulara oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Yağ doku, böceklerde önemli bir yapıdır. Bağışıklık, endokrin ve detoksifikasyon süreçlerinde temel rol oynar (Turgay-İzzetoğlu and Gülmez, 2019; Zülfikaroğlu *et al.*, 2022). Fukoziltransferazın *B. mori*'de diğer dokulardan daha yüksek ifade edilmesi, enzimin yağ dokusu fonksiyonlarında önemli bir yeri olduğunu göstermektedir.

Literatürlerde (Kurz *et al.*, 2016) verilen böcek fukoziltransferazlarından farklı olarak; NCBI'dan elde edilen *B. mori* protein dizisinde; 4 tip, *G. mellonella*'da 5 tip, *M. sexta*'da 6 tip, *M. persicae*'da 3 tip tanımlanmış FucT bilinmekte, *C. maculatus*'ta ise herhangi bir tanımlanmış enzime rastlanılamamaktadır (Ek 1). Yapılan tez çalışmasında bu bulgulardan farklı olarak *B. mori* türünde memelilerde bulunan FucT1, FucT3, FucT5, FucT6 ve FucT9 motifleri, *G. mellonella*'da FucT1 ve FucT9, *M. sexta*'da FucT1, FucT4, FucT5, FucT8 ve FucT11, *M. persicae*'da FucT2, FucT3, FucT5, FucT6, FucT7, FucT9, FucT10 ve FucT11 ve *C. maculatus*'ta memelilerde bilinen 13 fukoziltransferazın tümü karakterize edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada, fukoziltransferazların protein dizileri ve 3 boyutlu yapıları evrimsel açıdan incelenmiştir. Amino asit dizilerinde yer alan korunmuş bölgeler tüm fukoziltransferaz dizilerinde aynı bölgede bulunduğu ve aynı fonksiyonu gösterdiğinden enzimi tanımlamada önemlidir. Böcek genomlarına bakıldığında korunmuş motif bölgelerinin bulunması, böceklerde fukoziltransferazları tanımlayabilmek için önemlidir. Yapılan biyoinformatik araştırmalar sonucunda *B. mori* türünde memelilerde bulunan FucT1, FucT3, FucT5, FucT6 ve FucT9 motifleri, *G. mellonella*'da FucT1 ve FucT9, *M. sexta*'da FucT1, FucT4, FucT5, FucT8 ve FucT11, *M. persicae*'da FucT2, FucT3, FucT5, FucT6, FucT7, FucT9, FucT10 ve FucT11 ve *C. maculatus*'ta memelilerde bilinen tüm fukoziltransferazların (13 tane) motifleri bulunabilmiştir. Omurgasızlarda bulunan α 1,6 fukoziltransferazın omurgalılardaki FucT8 ile homolog olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Model nematod *Caenorhabditis elegans*'ta ise FucT1 ve FucT8 karakterize edilmiştir. Evrimsel açıdan bakıldığında bu enzimin nematodlar ve eklembacaklılar arasında ortolog yapı oluşturduğu düşünülebilir.

Biyoinformatik olarak ön bilgileri elde edilmemiş böcek gen havuzuna bakmak çalışmaları hem gereksiz uzatmakta hem de sağlıklı bilgi almayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle biyoinformatik yaklaşım günümüzde laboratuvar çalışmalarının öncüsüdür. Elde edilen bilgiler omurgasızlarda fukoziltransferazlar üzerine çalışmalara devam edilmesi için önemlidir. Böcekler üzerine araştırmalar yapıldıkça yeni fukoziltransferaz enzimleri keşfedilecek, çeşitlendirilecek ve fonksiyonları araştırılacaktır. Bu konu üzerine yapılan çalışmalar sonucunda omurgasızlarla omurgalıları arasında homolog olan birçok dizinin bulunacağı açıktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Baboval, T. and Smith, F. I.**, 2002, Comparison of human and mouse Fuc-TX and Fuc-TXI genes, and expression studies in the mouse, *Mammalian Genome*, 13: 538–541 pp.
- Bairoch, A. and Bucher, P.**, 1994, PROSITE: Recent developments, *Nucleic Acids Research*, 22: 3583–3589 pp.
- Becker, D. J. and Lowe, J. B.**, 2003, Fucose: Biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology*, 13(7): 41–53 pp.
- Breton, C., Oriol, R. and Imberty, A.**, 1998, Conserved structural features in eukaryotic and prokaryotic fucosyltransferases, *Glycobiology*, 8: 87–94 pp.
- Candelier, J. J., Mollicone, R., Mennesson, B., Coullin, P. and Oriol, R.**, 2000, Expression of fucosyltransferases in skin, conjunctiva, and cornea during human development, *Histochem. Cell Biol.*, 114: 113–124 pp.
- Costache, M., Cailleau, A., Fernandez-Mateos, P., Oriol, R. and Mollicone, R.**, 1997, Advances in molecular genetics of α 3/4-fucosyltransferases, *Transfus. Clin. Biol.*, 4: 367–382 pp.
- Dupuy, F., Germot, A., Julien, R. and Maftah, A.**, 2004, Structure/function study of Lewis α 3- and α 3/4-fucosyltransferases: The α 1,4 fucosylation requires an aromatic residue in the acceptor-binding domain, *Glycobiology*, 14: 347–356 pp.
- Dupuy, F., Germot, A. M., Oriol, R., Blancher, A., Julien, R. and Maftah, A.**, 2002, α 1,4-Fucosyltransferase activity: A significant function in the primate lineage has appeared twice independently, *Mol. Biol. Evol.*, 19: 815–824 pp.
- Fabini, G., Freilinger, A., Altmann, F. and Wilson, I. B. H.**, 2001, Identification of core α 1,3-fucosylated glycans and cloning of the requisite fucosyltransferase cDNA from *Drosophila melanogaster*, *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 28058–28067 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Grant, C. E., Bailey, T. L. and Noble, W. S.,** 2011, FIMO: Scanning for occurrences of a given motif, *Bioinformatics Applications Note*, 27: 1017–1018 pp.
- Ihara, H., Ikeda, Y., Toma, S., Wang, X., Suzuki T., et al.,** 2007, Crystal structure of mammalian α 1,6-fucosyltransferase, FUT8, *Glycobiology*, 17: 455–466 pp.
- Ihara, H., Okada, T. and Ikeda, Y.,** 2014, Cloning, expression and characterization of *Bombyx mori* α 1,6-fucosyltransferase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 450: 953–960 pp.
- İTÜBİDB,** 2013, “[https://bidb.itu.edu.tr/sevir-defteri/blog/2013/09/08/d%C3%BCzenli-i-fadeler-\(regular-expressions\)](https://bidb.itu.edu.tr/sevir-defteri/blog/2013/09/08/d%C3%BCzenli-i-fadeler-(regular-expressions))”
- İnal, B.,** 2011, Bitki moleküler filogenisinde kullanılan bazı gen ve yöntemlerin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- İpekböcekçiliği ve Dutçuluk Seminer Notları,** 1985, İpekböceği Araştırma Enstitüsü Yayınları, 82, Bursa.
- Javaud, C., Dupuy, F., Maftah, A., Michalski, J. C., Oriol, R., et al.,** 2000, Ancestral exonic organization of the FUT8, the gene encoding the α 6-fucosyltransferase, reveals successive peptide domains which suggest a particular three dimensional core structure for the α 6-fucosyltransferase family, *Mol. Biol. Evol.*, 17: 1661–1672 pp.
- Javaud, C., Dupuy, F., Maftah, A., Julien, R. and Petit, J.,** 2003, The Fucosyltransferase gene family: An amazing summary of the underlying mechanisms of gene evolution, *Genetica*, 118: 157–170 pp.
- Juliant, S., Harduin-Lepers, A., Monjaret, F., Catieau, B., Violet, M. L., Cerutti, P., Ozil, A. and Duonor-Ceutti, M.,** 2014, The α 1,6-Fucosyltransferase gene (fut8) from the Sf9 Lepidopteran insect cell line: Insights into fut8 evolution. *PLoS ONE*, 9(10): e110422 pp.

- Kara, S.**, 2016, Lea (late embryogenesis abundant) genlerinin kavun (*Cucumis melo*) ve karpuz (*Citrullus lanatus*) türlerinde tanımlanması, biyoinformatik analizleri ve kuraklık stresi altında gen ifade analizlerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kiefer, F., Arnold, K., Künzli, M., Bordoli, L. and Schwede, T.**, 2009, The SWISS-MODEL repository and associated resources, *Nucleic Acids Research*, 37: 387–392 pp.
- Kurz, S., King, J.G., Dinglasan, R. R., Paschinger, K. and Wilson, I. B. H.**, 2016, The fucomic potential of mosquitoes: Fucosylated N-glycan epitopes and their cognate fucosyltransferases, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 68: 52–63 pp.
- Liu, Y. C., Yen, H. Y., Chen, C. Y., Chen, C. H., Cheng, P. F., et al.**, 2011, Sialylation and fucosylation of epidermal growth factor receptor suppress its dimerization and activation in lung cancer cells, *PANAS*, 108(28): 11331–11337 pp.
- Luo, Y., Nita-Lazar, A. and Haltiwanger, R. S.**, 2006, Two distinct pathways for o-fucosylation of epidermal growth factor-like or thrombospondin type 1 repeats, *J. Biol. Chem.*, 281: 9385–9392 pp.
- Minagawa, S., Sekiguchi, S., Nakaso, Y., Tomita, M., Takahisa, M. and Yasuda, H.**, 2015, Identification of core alpha 1,3-fucosyltransferase gene from silkworm: An insect popularly used to express mammalian proteins, *Journal of Insect Science*, 15(1): 110.
- Mollicone, R., Cailleau, A. and Oriol, R.**, 1995, Molecular genetics of H, Se, Lewis and other fucosyltransferase genes, *Transfus. Clin. Biol.*, 2: 235–242 pp.
- Mollicone, R., Candelier, J. J., Mennesson, B., Couillin, P., Venot, A. P. and Oriol, R.**, 1994, Molecular basis for plasma α 1,3-fucosyltransferase gene deficiency (FUT6), *The Journal of Bio. Chem.*, 269: 12662–12671 pp.
- Mollicone, R., Moore, S., Bovin, N., Rosasco, M., Candelier, J., Duncker, I., and Oriol, R.**, 2009, Activity, splice variants, conserved peptide motifs, and phylogeny of two new α 1,3-fucosyltransferase families (FUT10 and FUT11), *The Journal of Biological Chemistry*, 284: 4723–4738 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Nakamura, S., Miyazaki, T. and Park, E. Y.**, 2020, α -L-Fucosidase from *Bombyx mori* has broad substrate specificity and hydrolyzes core fucosylated N-glycans, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 124: 103427 doi: <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103427>.
- Okajima, T., Xu, A., Lei, L. and Irvine, K. D.**, 2005, Chaperone activity of protein O-fucosyltransferase 1 promotes notch receptor folding, *Science*, 307: 1599–1603 p.
- Omura, S.**, 1967, Introduction to Silkworm Rearing, The Japan Silk Association, Inc., Tokyo.
- Oriol, R., Mollicone, R., Cailleau, A., Balanzino, L. and Breton, C.**, 1999, Divergent evolution of fucosyltransferase genes from vertebrates, invertebrates, and bacteria, *Glycobiology* 9: 323–334 pp.
- Parlak, O.**, 2001, İpekböceği Biyolojisi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, 171, İzmir, Türkiye, 127 s.
- Paschinger, K., Staudacher, E., Stemmer, U., Fabini, G. and Wilson, I. B. H.**, 2005, Fucosyltransferase substrate specificity and the order of fucosylation in invertebrates, *Glycobiology*, 15: 463–474 pp.
- Petit, D., Maftah, A., Julien, R. and Petit, J. M.**, 2006, En bloc duplications, mutation rates, and densities of amino acid changes clarify the evolution of vertebrate α -1,3/4-fucosyltransferases, *J. Mol. Evol.*, 63: 353–364 pp.
- Polat, M. ve Karahan, A.**, 2009, Multidisipliner yeni bir bilim dalı: Biyoinformatik ve tıpta uygulamaları, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, 16(3): 41-50 s.
- Rao, S. T. and Rossmann, M. G.**, 1973, Comparison of super-secondary structures in proteins, *Journal of Molecular Biology*, 76: 241–250 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Rendic, D., Klaudiny, J., Stemmer, U., Schmidt, J., Paschinger, K. and Wilson, I. B. H.,** 2007, Towards abolition of immunogenic structures in insect cells: characterization of a honey-bee (*Apis mellifera*) multi-gene family reveals both an allergy-related core α 1,3-fucosyltransferase and the first insect Lewis-histo-blood-group-related antigen-synthesizing enzyme, *Biochem. J.*, 402: 105–115 pp.
- Roos, C., Kolmer, M., Mattila, P. and Renkonen, R.,** 2002, Composition of *Drosophila melanogaster* proteome involved in fucosylated glycan metabolism, *J. Biol. Chem.*, 277: 3168–3175 pp.
- Shan, M., Yang, D., Dou, H. and Zhang, L.** 2019, Fucosylation in cancer biology and its clinical applications, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 162: 1877-1173 pp.
- Shields, R. L., Lai, J., Keck, R, O’Connell, L. Y., Hong, K, et al.,** 2002, Lack of fucose on human IgG1 N-linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc Gamma RIII and Antibody-Dependent Cellular Toxicity, *J. Biol. Chem*, 277: 26733– 26740 pp.
- Stacke, C., Ziegelmuller, P. and Hahn, U.,** 2010, Comparison of expression systems for human fucosyltransferase IX, *European Journal of Cell Biology*, 89: 35–38 p.p
- Staudacher, E., Altmann, F., Wilson, I. B. H. and Marz, L.,** 1999, Fucose in N-glycans: From plant to man, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1473: 216-236 pp.
- Takahashi, T, Ikeda, Y, Tateishi, A, Yamaguchi, Y, Ishikawa, M, et al.,** 2000, A sequence motif involved in the donor substrate binding by alpha1,6-fucosyltransferase: the role of the conserved arginine residues, *Glycobiology*, 10: 503–510 pp.
- Turgay-İzzetoğlu, G., and Gülmez, M.,** 2019, Characterization of fat body cells at different developmental stages of *Culex pipiens*, *Acta Histochemica*, 121(4): 460-471 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

Vikipedi, özgür ansiklopedi

“[https://tr.wikipedia.org/wiki/Bootstrap_\(%C3%B6ny%C3%BCz_k%C3%BCt%C3%BCphanesi\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Bootstrap_(%C3%B6ny%C3%BCz_k%C3%BCt%C3%BCphanesi))” (Erişim tarihi: 19.06.2023)

Vries, T., Knegt R., Holmes E. and Macher B. 2001, Fucosyltransferases: Structure/function studies, *Glycobiology*, 11: 119-128 pp.

Wang, X, Inoue S, Gu J, Miyoshi E, Noda K, et al., 2005, Dysregulation of TGF-beta1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice, *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 15791– 15796 pp.

Wang, Y., Shao L., Shi S., Harris R.J., Spellman M.W., Stanley P. and Haltiwanger S., 2001, Modification of Epidermal Growth Factor-like Repeats with O-Fucose, *J. Biol. Chem.* 276, 40338–40345 p.

Xu, Z., Vo L. and Macher B.A., 1996, Structure-Function Analysis of Human α 1,3-Fucosyltransferase, *The Journal of Biological Chemistry*, 271: 8818–8823 pp.

Yan, S., Serna, S., Reichardt, NC., Paschinger, K. and Wilson I.B.H., 2013, Array-assisted Characterization of a Fucosyltransferase Required for the Biosynthesis of Complex Core Modifications of Nematode N-Glycans, *The Journal of Biological Chemistry*, 288: 21015–21028 pp.

Yanagidani, S., Uozumi, N., Ihara, Y., Miyoshi, E., Yamaguchi N. and Taniguchi, N., 1997, Purification and cDNA cloning of GDP-L-Fuc: N-Acetyl- β -D-Glucosaminide: α 1-6 Fucosyltransferase (α 1-6 FucT) from Human Gastric Cancer MKN45 Cells, *J. Biochem. (Tokyo)*, 121: 626–632 pp.

Yazağan, A., 2014, Biyolojik veritabanları ve biyoinformatik analiz araçları, XVI. Akademik Bilişim, Mersin Üniversitesi.

Yıldız, K., 2009, Düzenleyici DNA motiflerinin tahmini, Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

Yuan, S., Chan, H.C.S. and Hu Z., 2017, Using PyMOL as a platform for computational drug design, *WIREs Comput Mol Sci.*, 7: e1298.

Zhao, Y., Sato, Y., Isaji, T., Fukuda T., Matsumoto A., Miyoshi E., Gu J. and Taniguchi N., 2008, Branched N-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins, *FEBS Journal*, 275: 1939–1948 pp.

Zülfikaroğlu, T., Turgay-İzzetoğlu, G., Yikilmaz, M. S., and İzzetoğlu, S., 2022, Demonstrating the general structure and cell types of the fat body in *Blatta orientalis* (Oriental Cockroach), *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 51(1): 23-35 pp.

TEŞEKKÜR

Bölümümüzün imkanlarından faydalanmamı sağlayan Bölüm Başkanımız sayın Prof. Dr. Kerim ÇİÇEK'e, Dekanımız ve aynı zamanda Zooloji Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Dinçer AYAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu uzun ve meşakkatli süreçte desteğini her zaman hissettiğim, tezimi büyük bir sabır ve dikkatle okuyan, her ince ayrıntısıyla uğraşan ve benim için danışmandan çok daha fazlası, bir anne olarak gördüğüm, yeri her zaman ap ayrı olacak canım danışman hocam Doç. Dr. Gamze TURGAY İZZETOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Tez konum hakkında bana fikir veren ve heyecanımla beni motive eden Doç. Dr. Savaş İZZETOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Maddi mavevi desteklerini benden esirgemeyen, aldığım her karara saygı duyan, bu hayattaki en büyük amacı çocuklarının kendi ayakları üzerinde durması olan, başarımla gurur duyup, hüznümle üzülen aileme, özellikle babama teşekkürü borç bilirim. Zorlandığım zamanlarda arayıp uzun uzun konuştuğum, uzak kaldığımız yıllar boyu çok özlediğim küçük kız kardeşim, seni çok seviyorum. Canım dedem yaşasaydın benimle çok gurur duyardın, bugün azimle çalışan, kolay kolay pes etmeyen ve sevdiği şeylerin peşinden koşan biri olduysam senin sayende. Seni sonsuza kadar seveceğim ve özleyeceğim.

“Ceren sana bir şey sormam gerek” sorusunu benden milyon kere duymuştur herhalde. Her başım sıkıştığında orada olduğu, bana sabırla yardım ettiği ve hem arkadaşlığı hem bilgisiyle bana destek olduğu, İzmir'den giderken geri dönüp baktığımda burada her daim bir arkadaşımın olduğunu hissettirdiği için hocamın doktora öğrencisi Ceren ERSOY'a çok teşekkür ederim. Laboratuvarda dokularla beraber boyadığımız ve sıcak parafinle yaktığımız ellerimizi, ocakla başımızın dertte olduğu zamanları hiç unutmayacağım. Ayrıca bu süreçte tanıdığım ve çok sevdiğim yüksek lisans öğrencimiz ve yakın arkadaşım Selin YILDIZ'a destekleri için çok teşekkür ederim. İyi ki tanışmışız.

Aramızda koca bir deniz olsa da, görüşmesek hatta bazen konuşmasak da bana gerçek sevginin her zaman kalpte olduğunu ve mesafelerin birini kalpten sevmeye engel olmadığını gösteren, bazen çok yorulduğum ve başaramamaktan korktuğum zamanlar elimden tutan ve beni başaracağıma inandıran, her zaman dinleyen, acımı da mutluluğumu da kalpten paylaşan, bu yoldaki en büyük destekçilerimden biri olan ve bana sonsuz güvenen hayat arkadaşım Serdar DAŞAYAK'a çok teşekkür ederim.

18 / 07 / 2023

Sadiye OYLUM

ÖZGEÇMİŞ

EĞİTİM

2021-2023 Fen Bilimleri Enstitüsü-Biyoloji-Zooloji-Tezli Yüksek Lisans Programı

2016-2021 Ege Üniversitesi-Fen Fakültesi-Biyoloji Bölümü (Bölüm birinciliği)

2012-2016 Fen Bilimleri-20 Temmuz Fen Lisesi

SERTİFİKALAR-EĞİTİMLER

- Biyolojik Çeşitliliğin Tür, Taksonomik, Fonksiyonel ve Yapısal Özelliklere Dayalı Tespiti (18-24/10/2022) (TÜBİTAK 2237 A)
- Bioinfocongress II (18-20/03/2022)
- Karışık Kültür Fermentasyonları Sertifikası (14/04/2021)
- Adli Entomoloji Eğitim Sertifikası (11/02/2021)
- Adli Kimya Eğitim Sertifikası (10/02/2021)
- Adli Genetik Eğitim Sertifikası (08/02/2021)
- Adli Biyoloji Eğitim Sertifikası (05/02/2021)
- Adli Bilimler ve Kriminalistik Eğitim Sertifikası (04/02/2021)
- Doğa Tarihi Müzesi Sertifikası (22/01/2021)
- Memeli Evrimi Sertifikası (20/01/2021)
- Yeşil Ekonomi Sertifikası (19/01/2021)
- İklim Değişikliği Eğitim Sertifikası (12-18/01/2021)
- İşaret Dili Sertifikası (2021)
- Populasyon Genetiği Sertifikası (29/12/2020)
- ISO 9001 :2015 Kalite Yönetimi Sistemi Temel Eğitimi (29/12/2020)
- İlk Yardım Sertifikası (29/11/2018)

BİLİMSEL AKTİVİTELER

OYLUM S., İZZETOĞLU S. ve TURGAY-İZZETOĞLU G., Bazı Böcek Türlerinde Olası Fukoziltransferazların Biyoinformatik Belirlenmesi ve Karakterizasyonu, 25. Ulusal Biyoloji Kongresi, 13-15 Temmuz 2023, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü.

OYLUM S. ve İŞİSAĞ-ÜÇÜNCÜ S., Türkiyede Gözlenen Cetacea Türleri, Tehdit Eden Faktörler ve Koruma Çalışmaları, 5th International Congress on Zoology and Technology, çevrimiçi (19/12/2021).

OYLUM S., Bazı Böceklerde Olası Fukoziltransferazların Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Seminer Sunumu, 9 Haziran 2023, EÜ Fen Fak. Biyoloji Bölümü, İzmir.

EKLER

NCBI'dan elde edilen böcek protein dizilerinde bilinen FucT'lar;

B. mori'de;

GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 2 öncül,
 alpha-(1,6) fukoziltransferaz-benzeri/izoform,
 alpha-(1,3) fukoziltransferaz C,
 alpha-(1,3) fukoziltransferaz 10 izoform,
 GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 1 izoform, glikoprotein 3-alpha-L-fukoziltransferaz A
 alpha- (1,3)-fukoziltransferaz 7 protein dizilerinin varlığı gözlenmiştir.

G. mellonella'da;

GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 2,
 alpha-(1,3)-fukoziltransferaz 9-benzeri izoform,
 alpha-(1,3)-fukoziltransferaz C-benzeri/C-benzeri izoform,
 alpha-(1,6)-fukoziltransferaz,
 alpha-(1,3)-fukoziltransferaz 10,
 GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 1 (POFucT1)
 glikoprotein 3-alpha-L-fukoziltransferaz A izoformuna rastlanmıştır.

M. sexta'da;

alpha-(1,3)-fukoziltransferaz 7-benzeri,
 4-galaktozil-N-asetilglikozamid-3-alpha-L-fukoziltransferaz 9,
 GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 1 izoform,
 alpha-(1,3)-fukoziltransferaz C / izoform/benzeri,
 alpha-(1,3)-fukoziltransferaz 10 izoform,
 alpha-(1,6)-fukoziltransferaz izoform,
 glikoprotein 3-alpha-L-fukoziltransferaz A
 GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 2 bulunmuştur.

M. persicae'de;

GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 2 izoform/izoform x1/izoform x2,
glikoprotein 3-alpha-L- fukoziltransferaz A-benzeri izoform/izoform
x1/izoform x2/izoform x3/izoform x4,
GDP-fukoz protein O-fukoziltransferaz 1
alpha-(1,6)-fukoziltransferaz-benzeri protein dizisi görülmüştür.

C. maculatus'ta ise herhangi bir tanımlanmış fukoziltransferaza rastlanmamıştır.