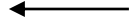


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra eğer basılacak ise yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak

Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

ARRAY-CGH ÇALIŞMASINDA SAPTANAN KOPYA
SAYISI DEĞİŞİMLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

SELEN AYŞE ÇERÇİ

DANIŞMAN
PROF. DR. BİRSEN KARAMAN

2. DANIŞMAN
DOÇ. DR. BİLGE ŞADAN ÖZSAİT SELÇUK

GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI

İSTANBUL-2023

İTHAF

Sevgili aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyuncaengin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini her zaman yanımda hissettiğim, tez çalışmamın her satırında emeği olan sevgili danışman hocam sayın Prof. Dr. Birsen KARAMAN'a,

Tez çalışmam boyunca SPSS analizlerinde tecrübe ve bilgileriyle yardım edip yol gösteren sevgili danışman hocam Doç. Dr. Bilge Şadan SELÇUK'a

Yol gösterici ve anlayışlı tavrıyla her zaman destek olan ve muhteşem bir ekip lideri olan sevgili hocam sayın Prof. Dr. Z. Oya UYGUNER'e,

Engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığımız değerli hocamız sayın Prof. Dr. Seher BAŞARAN'a,

Eğitimim boyunca hep destekleyen, her birinin emeği olan tüm Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına ve arkadaşlarıma,

En önemlisi de beni her konuda her şekilde destekleyen ve her an yanımda olan sevgili, kıymetli canım aileme ve dostlarıma,

teşekkür ederim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 38090

İÇİNDEKİLER

İTHAF	İİ
TEŞEKKÜR	İİİ
İÇİNDEKİLER.....	İV
TABLolar LİSTESİ	Vİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Vİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	İX
ÖZET	X
ABSTRACT	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kromozom Anomalileri	7
2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri	9
2.1.2. Yapısal Kromozom Anomalileri	11
2.2. Genomda Gözlenen Diğer Varyasyonlar	19
2.3. KOPYA SAYISI VARYASYONLARI.....	26
2.3.1. KSD Hastalık İlişkisi.....	27
2.3.1.1. KSD Patojenite skorlaması.....	28
2.3.2. KSD Oluşumundan Sorumlu Mekanizmalar.....	31
DNA Tamir Mekanizması	32
2.3.2.1. Non-Allelik Homolog Rekombinasyonlar (NAHR).....	34
2.3.2.2. Homolog olmayan uçların birleşmesi (NHEJ)	34
2.3.2.3. Replikasyon Kayması (Replication Slippage).....	35
2.3.2.4. Tek Zincir Birleşmesi (Single Strand Annealing, SSA).....	36
2.3.3. KSD'lerin Araştırılma Teknikleri.....	38
2.3.3.1. Klasik Sitogenetik Yöntemler	38
2.3.3.2. Moleküler Sitogenetik Teknikler	43
2.4. ARRAY TEMELLİ KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK HİBRİDİZASYON	45
2.4.1. A-CGH ve Heterozigosite Kaybı.....	53
2.4.2. A-CGH Prob Tasarımları	58
2.4.2.1. KSD Problemlerinin Özellikleri	58

2.5. KSD Sınıflandırılması.....	62
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	65
3.1. Hasta Grubu	65
3.2. Kullanılan Malzemeler.....	65
3.2.1. Kullanılan Taşınabilir Cihazlar.....	65
3.2.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri.....	66
3.2.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	66
3.2.4. Kullanılan Kitler	66
3.3. Uygulanan Teknikler	66
3.3.1. DNA İzolasyonu	66
3.3.2. Array-CGH.....	68
3.3.2.1. DNA'nın kesilmesi.....	69
3.3.2.2. DNA'nın işaretlenmesi.....	70
3.3.2.3. Saflaştırma.....	70
3.3.2.4. Hibridizasyon	71
3.3.2.5. Slaytların Yıkanması	72
3.3.2.6. Slaytların Taranması	72
3.3.2.7. Array-CGH Analizi.....	73
3.4. Araştırma Verisinin oluşturulması	74
3.5. Verilerin Analiz Algoritması	76
4. BULGULAR.....	78
5. TARTIŞMA	100
KAYNAKLAR	120
HAM VERİLER	130
İNİTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	164

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Yapısal kromozom anomalileri ve açıklamaları.....	12
Tablo 2-2: DGV KSD örtüşme bölgeleri	23
Tablo 2-3: KSD’lerin klinik etkilerinin sınıflandırması ve açıklaması.....	28
Tablo 2-4: KSD’lerin patojenik ve benign sınıflandırılması.....	30
Tablo 2-5: Kromozom Bantlama Teknikleri	41
Tablo 2-6: Imprinting bozukluklarıyla ilişkilendirilen UPD bölgeleri	54
Tablo 2-7: Yaygın olarak kullanılan mikroarray prob türleri ve özellikleri	60
Tablo 2-8: Yaygın mikroarray türleri ve özellikleri.....	61
Tablo 3-1: A-CGH çalışmasında kullanılan mikroarrayin özellikleri.....	68
Tablo 3-2: Kesim aşamasında kullanılan solüsyonlar ve miktarları	69
Tablo 3-3: DNA işaretlenmesi aşamasında kullanılan solüsyon ve miktarları	70
Tablo 3-4: Hibridizasyon aşamasında kullanılan solüsyon ve miktarları	71
Tablo 3-5: KSD analizinde kullanılan bazı açık erişimli veri tabanları	74
Tablo 4-1: KSD verisinin özellikleri.....	78
Tablo 4-2: Çalışma grubu ve saptanan KSD’lerin başvuru evrelerine göre sınıflandırılması.....	79
Tablo 4-3: Olgu endikasyonlarının dağılımı	79
Tablo 4-4: Olgu sayılarının ek endikasyonlara göre dağılımı.....	80
Tablo 4-5: Değişimlerin prenatal ve postnatal gruplarda sınıflandırılması.....	81
Tablo 4-6: KSD’lerin prenatal ve postnatal gruplarda boyut dağılımı.....	85
Tablo 4-7: Kromozomlardaki KSD’lerin boyut dağılımı.....	86
Tablo 4-8: Frekansı %0.5 ve üzeri KSD’lerin dağılımı	88
Tablo 4-9: KSD kümelerindeki genler ve ilişkili endikasyonların frekansları	92
Tablo 4-10: KSD küme bölgelerindeki değişimlerin gösterimi	97
Tablo 4-9: KSD kümelerindeki genler ve ilişkili endikasyonların frekansları.....	93
Tablo 4-10: KSD küme bölgelerindeki değişimlerin gösterimi	99

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Varyasyon tipleri	6
Şekil 2-2: Varyasyon çeşitlerinin boyutları ve araştırılma metodları	7
Şekil 2-3: Sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinin genel görüntüsü	8
Şekil 2-4: Trizomi çeşitleri	9
Şekil 2-5: 45,X (Turner sendromu) karyotip örneği	10
Şekil 2-6: Normal mayoz bölünme ve nondisjunction gösterimi	11
Şekil 2-7: Delesyon ve duplikasyon örneği	13
Şekil 2-8: Perisentrik inversiyon ve parasentrik inversiyon	14
Şekil 2-9: Resiprokal translokasyon örneği	14
Şekil 2-10: Robertsonyan tipi translokasyon örneği	15
Şekil 2-11: İnsersiyon görüntüsü	15
Şekil 2-12: İzokromozomların gösterimi	16
Şekil 2-13: Marker kromozom karyotipi	17
Şekil 2-14: Ring kromozomlu karyotip	18
Şekil 2-15: SNP'e göre bireylerin ilaçlara yanıt gösterimi	19
Şekil 2-16: SNP türlerinin gösterimi	21
Şekil 2-17: İnsersiyonun şematik gösterimi	22
Şekil 2-18: Delesyonun şematik gösterimi	22
Şekil 2-19: Duplikasyonun şematik gösterimi	23
Şekil 2-20: Ebeveynlerden bireylere kalıtımda kopya sayısı farklılıkları	24
Şekil 2-21: Parasentrik inversiyonun şematik gösterimi	25
Şekil 2-22: İnsersiyonel translokasyonun şematik gösterimi	25
Şekil 2-23: Tekrar eden ve tekrar etmeyen KSD bölgeleri	27
Şekil 2-24: Paternal ve maternal homolog kromozomlarda crossing over	33
Şekil 2-25: Non allelik homolog rekombinasyonlarının gösterimi	34
Şekil 2-26: DNA'da homolog olmayan uçların birleşmesinin gösterimi	35
Şekil 2-27: Replikasyon kayması ile oluşan delesyon ve duplikasyonların gösterimi ...	36
Şekil 2-28: DNA onarım mekanizması sonucu gerçekleşen tek zincir birleşmesi	37
Şekil 2-29: Klinefelter sendromu (47,XXY) karyotip görüntüsü	39
Şekil 2-30: Bantlama teknikleri	42

Şekil 2-31: HRBT ile çalışılmış bir olguya ait normal dişi karyotipi	43
Şekil 2-32: Farklı problarla FISH görüntüsü.....	44
Şekil 2-33: a-CGH akış ve analiz şeması	47
Şekil 2-34: Normal hastada array-CGH analiz görüntüsü	48
Şekil 2-35: Cytogenomics programında delesyonlu olgu görüntüsü	49
Şekil 2-36: Cytogenomics programında duplikasyonlu olgu görüntüsü.....	50
Şekil 2-37: Aynı kromozomunda farklı değişimler bulunan olgu görüntüsü.....	51
Şekil 2-38: Farklı kromozomunda farklı değişimler bulunan olgu görüntüsü	52
Şekil 2-39: Akriba evliliğinde LOH görüntüsü	55
Şekil 2-40: 18q21.33q23 delesyon bölgesindeki LOH görüntüsü	56
Şekil 2-41: UPD bölgesinde LOH görüntüsü.....	57
Şekil 2-42: Farklı a-cgh tasarımları.....	58
Şekil 2-43: Prob düzeylerine göre array kataloğu.....	59
Şekil 3-1: A-CGH laboratuvar akış şeması	69
Şekil 3-2: Array CGH çalışmasında kullanılan cihazlar	73
Şekil 3-3: Olguların gruplanmış başvuru endikasyonları.....	75
Şekil 3-4: KSD analizinde kullanılan algoritma	77
Şekil 4-1: Saptanan değişimlerin kromozomlardaki dağılımı.....	80
Şekil 4-2: KSD boyutlarının delesyon ve duplikasyon frekansına göre dağılımları.....	84
Şekil 4-3: KSD'lerdeki delesyon ve duplikasyonların boyutlarına göre yüzdeleri.....	85
Şekil 4-4: Kromozom bant bölgesine göre KSD grupları	90
Şekil 4-5: Genom koordinatlarına göre KSD grupları	91
Şekil 4-6: DGV'deki KSD haritası ve çalışmamızda saptanan KSD karşılaştırması	92
Şekil 5-1: 1000 genom projesinin kıtalararası varyasyon haritası	101
Şekil 5-2: DGV KSD verilerindeki yıldan yıla artış grafiği.....	103
Şekil 5-3: DGV KSD değişimlerini gösteren grafik	103

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- KSD:** (Copy Number Variations); Kopya Sayısı Değişimleri
- CNP:** (Copy Number Polymorphism); Kopya Sayısı Polimorfizmi
- KSDR:** (Copy Number Variant Regions); Kopya Sayısı Varyantı Bölgeleri
- SNP:** (Single Nucleotide Polymorphisms); Tek Nükleotidlik Polimorfizmler
- LCR:** (Low Copy Repeat); Düşük Tekrar Dizileri
- LINE:** (Long Interspersed Nuclear Repeat); Uzun Serpiştirilmiş Nükleer Element
- SINE:** (Short Interspersed Nuclear Repeat); Kısa Serpiştirilmiş Nükleer Element
- LTR:** (Long Terminal Repeat); Uzun Terminal Tekrarları
- NAHR:** Non-alleliek Homolog Rekombinasyon
- NHEJ:** (Non-homologous End Joining); Homolog Olmayan Uçların Birleşmesi
- SSA:** (Single Strand Annealing); Tek Zincir Birleşmesi
- a-CGH (Array CGH):** Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu Mikroarray Tipi (Comparative Genome Hybridization)
- MLPA:** Çoklu Ligasyonla Prob Amplifikasyonu (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification)
- FISH:** Floresan in Situ Hibridizasyon
- DNA:** Deoksiribonükleik Asit
- PCR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- OMIM:** İnsan Genleri ve Genetik Hastalıkları Çevrimiçi Kaynağı (Online Mendelian Inheritance in Man)
- Ng:** Nanogram
- µl:** Mikrolitre
- Kb:** Kilobaz
- Mb:** Megabaz
- µg:** Mikrogram
- ml:** Mililitre

ÖZET

Çerçi, A.S. (2023). Array-CGH Çalışmasında Saptanan Kopya Sayısı Değişimlerinin Sınıflandırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Bu tez projesinde, a-CGH (array temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon) çalışması yapılan 1680 olguda saptanan ve klinik ilişkisi gösterilmemiş olan kopya sayısı değişimlerinin (KSD) sınıflandırılması ile bir in-house KSD veri tabanı oluşturulması amaçlanmıştır. Veri tabanından genotip-fenotip korelasyonunun yapılması, hastalıklar ve varyantlar arasında bağlantı kurulması hedeflenmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında 2000 olgunun verileri çalışmaya dahil edilme kriterleri doğrultusunda filtrelendi. Olguların başvuru evresi ve endikasyonlarına göre gruplandı. Çalışmaya dahil edilen 1680 olgunun kopya sayısı değişimleri IBM SPSS Statistics (ver.28.0, IBM Corp., Armonk, New York) programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm veriler, kromozom bant bölgesi ve KSD koordinatlarına göre kümelenerek analiz edildi.

Araştırma algoritması oluşturuldu ve tüm endikasyonlar sistemlere göre gruplandığında 13 ana, yedi ek grup oluşturuldu. Bu endikasyon grupları prenatal (n=1014) ve postnatal (n=666) gruplarda ayrı şekilde incelendi. Saptanmış olan 4794 KSD kümelenilerek 791 küme bölgesi elde edildi. Küme bölgeler frekanslarına göre değerlendirip, %0,5 ve üzeri bölgeler literatürdeki başka çalışmalarla karşılaştırılmalı olarak analiz edildi.

Bu çalışmada, bir KSD veri bankası oluşturulup, tespit edilen kümelenmiş değişim bölgeleri ile olguların klinik sonuçları karşılaştırılarak fenotip-genotip korelasyonu yapılmaya çalışılmıştır. Ancak, olgulardaki bulgular ile değişim bölgelerindeki genler arasında bir korelasyon gösterilememiştir. Bu sonuç, polimorfik olarak sınıflandırdığımız değişikliklerin klinikle ilişkili olmadığını gösterse de, spesifik gruplarda yapılacak analizler, olgu sayılarında artış veya yeni tanı tekniklerinin geliştirilmesi ile ilerleyen zamanda bir ilişkilendirme yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: varyantlar, kopya sayısı varyasyonları, veritabanı, array-CGH, polimorfizm

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 38090

ABSTRACT

Çerçi, A.S. (2023). Classification of Copy Number Changes Detected in the Array-CGH Study. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Genetics. Master Thesis. İstanbul.

This thesis project aimed to classify the copy number variations (CNV), which were detected in 1680 patients who had undergone a-CGH (array-comparative genomic hybridization) study and showed non-clinical relevance and constituted an in-house CNV database. The goal of the project was to generate a genotype-phenotype correlation and discovering connections between diseases and variations.

In the first stages of the study, the data of 2000 patients were filtered out according to the inclusion criteria. The cases are grouped according to their application stages and their indications. The copy number variations of 1680 patients included in the study are analyzed statistically by IBM SPSS Statistics (ver.28.0, IBM Corp., Armonk, New York). All data is analyzed by clustering based on their chromosome bands and CNV coordinations.

After all indications were grouped according to systems, 13 main and seven additional indication groups were formed. These indication groups are analyzed separately in prenatal (n=1014) and postnatal (n=666) groups. The identified 4794 CNVs are grouped in 791 cluster regions. The cluster regions are evaluated by their frequencies, and the 0.5% and higher regions are compared with other studies in the literature.

A CNV bank is created. However, the findings in the cases and the variant regions could not be shown to be correlated. Although this result demonstrates the variations in which are categorized as polymorphic and do not indeed have clinical importance, a connection may be conceivable with analysis of more specific groups, the rise in the number of cases or the development of new diagnostic techniques.

Key Words: variants, copy number variations, database, array-CGH, polymorphism

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.

Project No: 38090

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bireylerin ve popülasyonların gen alelleri arasında gözlenen farklılıklar genetik varyasyon olarak adlandırılmaktadır. Bu varyasyonlar kişinin fenotipinde bir değişikliğe yol açmayan benign varyasyonlar olabildiği gibi, hastalık oluşumuna direkt ya da dolaylı katkı sağlayan zararlı varyasyonlar da olabilmektedir. Klinik bir etkilenme olmadan sadece çeşitliliğe neden olan ve toplumdaki frekansı %1'den yüksek olan varyasyonlar polimorfizm olarak tanımlanırken, popülasyondaki frekansı %1'in altında olan ve klinik ile ilişkili bulgulara yol açan genetik varyasyonlar ise mutasyon olarak tanımlanmaktadır (1, 2).

Referans genomla karşılaştırıldığında farklı kopya sayısı olan, boyutu 1 kb ve üzeri değişimler kopya sayısı değişimi (KSD; copy number variation, KSD) olarak adlandırılmaktadır. Kopya sayısı varyasyonları bireyler arasında ve türler arasında değişim göstermektedir. Öyle ki, monozigotik ikizlerin genomlarında dahi KSD farklılıklarının olduğu gösterilmiştir. Bireyler arasındaki çeşitliliğin oranı %0,2 kadardır. Her bireye özgü olan bu değişimler fenotipik farklılıklara katkı sağlamaktadır. Bu farklılıkların altında yatan moleküler mekanizmaların tanımlanması, KSD'ler ile doğal seçim ve çeşitli hastalıklar arasındaki ilişkinin anlaşılması açısından önem taşımaktadır. Aynı zamanda daha gelişmiş tanı yaklaşımlarının geliştirilmesine de yardımcı olabilecektir (3, 4, 5).

Kopya sayısı değişimlerinin fenotipik çeşitlilik, evrim ve hastalık oluşumundaki önemlerine rağmen bu değişimlerin oluşum mekanizması ve popülasyonlarda nasıl seçildikleri tam olarak aydınlatılmış değildir. KSD'nin doğru sınıflandırılması araştırmalar ve klinik tanı için oldukça önem taşımaktadır. Bu varyantların hastalık ilişkilerinin tanımlanması Mendeliyan ve nadir hastalıklarda *de novo* ve kalıtsal kopya sayısı varyantlarının önemini anlaşılır kılacaktır (6).

Kopya sayısı değişimlerinin oluşumunda, replikasyon kayması (replication slippage), non-allelik homolog rekombinasyon (non-allelic homologous recombination), non-homolog uçların birleşmesi (non-homologous end joining) ve tekrar dizileri gibi mekanizmalar rol oynamaktadır. İnsanlarda KSD'lerin oluşumundaki en yaygın mekanizma non-allelik homolog rekombinasyonlardır. İkinci sırada homolog olmayan uçların birleşmesi gelmektedir. Bunlardan sonra replikasyon kayması bulunmaktadır. Retrotranspozisyonlar ise daha az sıklıkta görülmektedir. Bu değişimlerin yaygın olduğu yerler genom boyunca değişim gösterebilmektedir (6,7).

Kopya sayısı varyasyonlarının mikrodelsiyon ve mikroduplikasyon sendromlarıyla, Mendeliyan hastalıklarla ve pek çok multifaktöriyel hastalıkla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Telomer uçlarında gözlenen KSD'lerin, subtelomerik yeniden düzenlemeler yoluyla hastalık oluşumunda rol aldığı gösterilmiştir (Nature, 2006 yayını) (2,4,8).

Bu güne kadar, patojenik KSD değişimlerinin kardiyak hastalıklar, kanser türleri, immün yetmezlik hastalıkları, işitme kaybı ve obezite ile bağlantısı kurulmuş, ancak en sık olarak gelişimsel genler ile ilişkilendirilmişlerdir. Gelişim geriliklerinin ve zihinsel yetersizliklerin %14'ünden fazlası KSD'ler ile ilişkilendirilmiştir (2,9).

DNA değişimlerinin hastalıklar üzerine etkileri beş sınıfta değerlendirilmektedir. Bunlar; zararlı, olası zararlı, etkisi bilinmeyen değişim (VUS), olası benign ve benign olarak sınıflandırılmaktadır. VUS kategorisindeki KSD'ler, hastalıklarla ilişkisi hakkında kesin ve net bir bilgi bulunmaması nedeni ile şüphe ile yaklaşılmalı ve ilerleyen dönemde tekrar analiz edilerek değerlendirilmeleri gereken değişimlerdir. VUS'ların etkileri hakkında kesin bilgi olmaması, etkilenmiş genom bölgesinde gen içermemesi, popülasyonda polimorfizm sıklığına ulaşmaması ve genom aralığında bulunan genlerin dozaj farklılığına duyarlı olup olmadığının bilinmemesi ve klinik etkisine dair kesin sonuçlarına ulaşılmamış olmasına kadar çeşitli sebeplerden kaynaklanmaktadır (10).

Kopya sayısı varyasyonlarının araştırılmasındaki zorluklardan biri heterojen popülasyonlarda düşük frekanslarda kopya sayısı varyantlarının belirlenmesinin zor olmasıdır. Heterojen popülasyonlarda *de novo* kopya sayısı varyantları ancak yüksek frekansa ulaştıklarında gözlenmektedir. Bu sebeple KSD verilerinin birden fazla algoritma ile değerlendirilmesi önemlidir (8).

Kopya sayısı varyantları kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (Quantitative Polymerase Chain Reaction; qPCR), southern blotting, array temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (Array Comparative Genomic Hybridization; array-CGH), tek nükleotid polimorfizm array (Single nucleotide polymorphism array; SNP-array) ve yeni nesil dizileme teknikleri ile tespit edilebilmektedir. Bu yöntemler arasında, a-CGH yöntemi günümüzde genom boyu kopya sayısı varyantlarının araştırılmasında en etkili ve maliyet açısından en uygun yöntemdir. Ayrıca tüm genom dizileme yönteminde yüksek miktardaki ham verilerin depolanması ve işlenmesi için gerekli olan kaynaklar standart bir laboratuvarın iş akışını oldukça zorlayabilmektedir. A-CGH yöntemi ile tüm genom tek testle ve kısa sürede incelenebilmekte ve submikroskobik delesyon ve duplikasyonlar belirlenebilmektedir.

Kullanılan platform ve kit çözünürlüğüne bağlı değişmekle beraber, yaklaşık 1 kb'a kadar çözünürlüğünün olması klasik karyotipleme teknikleri ile karşılaştırıldığında büyük bir avantaj sağlamaktadır (5).

Bu tez çalışmasında, a-CGH çalışması yapılan olgularda saptanan polimorfik kopya sayısı varyantlarının sınıflandırılması ile oluşturulan in-house KSD veri tabanında genotip-fenotip korelasyonunun yapılması amaçlandı. Çalışma kapsamında, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına çeşitli sebeplerle başvuran 1680 bireyin a-CGH verilerinden klinik etkisi belirlenmemiş olan kopya sayısı varyantları analiz edildi. Bu yaklaşım ile, Türkiye'de kopya sayısı varyantları sınıflandırılarak bir KSD veritabanı oluşturulması yönünde yapılan ilk çalışmadır. Ayrıca projede ulaştığımız verilerin ulusal/uluslararası alanlarda yapılacak yeni projelerin önünü açması ve bu konuda çalışan bilim insanlarına yeni veri ve farklı bir bakış açısı sağlaması da hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Genetik, yeryüzündeki yaşamın milyarlarca yıllık evrimsel süreçte nasıl yol kat ettiğini gösteren kalıtım bilimidir. Tek bir hücreden kompleks yapılara giden süreci ve aynı şekilde hastalık mekanizmalarını aydınlatmaktadır. Her zaman insanların ilgisini çeken kalıtımla ilgili bilimsel çalışmalar ise henüz çok yenidir. 1953'te Rosalind Franklin'in doktora öğrencisiyle DNA'nın çift sarmal yapısını X-ray ile görüntülemesinin ardından, doktora öğrencisi Maurice Wilkins'in x-ray görüntüsünü Watson ve Crick'e göstermesiyle Watson ve Crick DNA'nın moleküler bir modelini oluşturabilmişlerdir. Ancak 60'larda Friedrich Miescher'in birçok keşfinin yanı sıra başta nükleik asidi ilk kez izole etmesiyle ve Erwin Chargaff'ın Chargaff's Rules beyan etmesinin ardından genetik ile ilgili çalışmalar daha anlamlı şekilde hız kazanmıştır. Bu kurala göre; DNA'da her zaman pürin guanin ve adenine, pirimidin ise sitozine ve timine bağlanmaktadır. Bu sebeple guanin miktarı her zaman sitozine, adenin miktarı da her zaman timine eşittir (11).

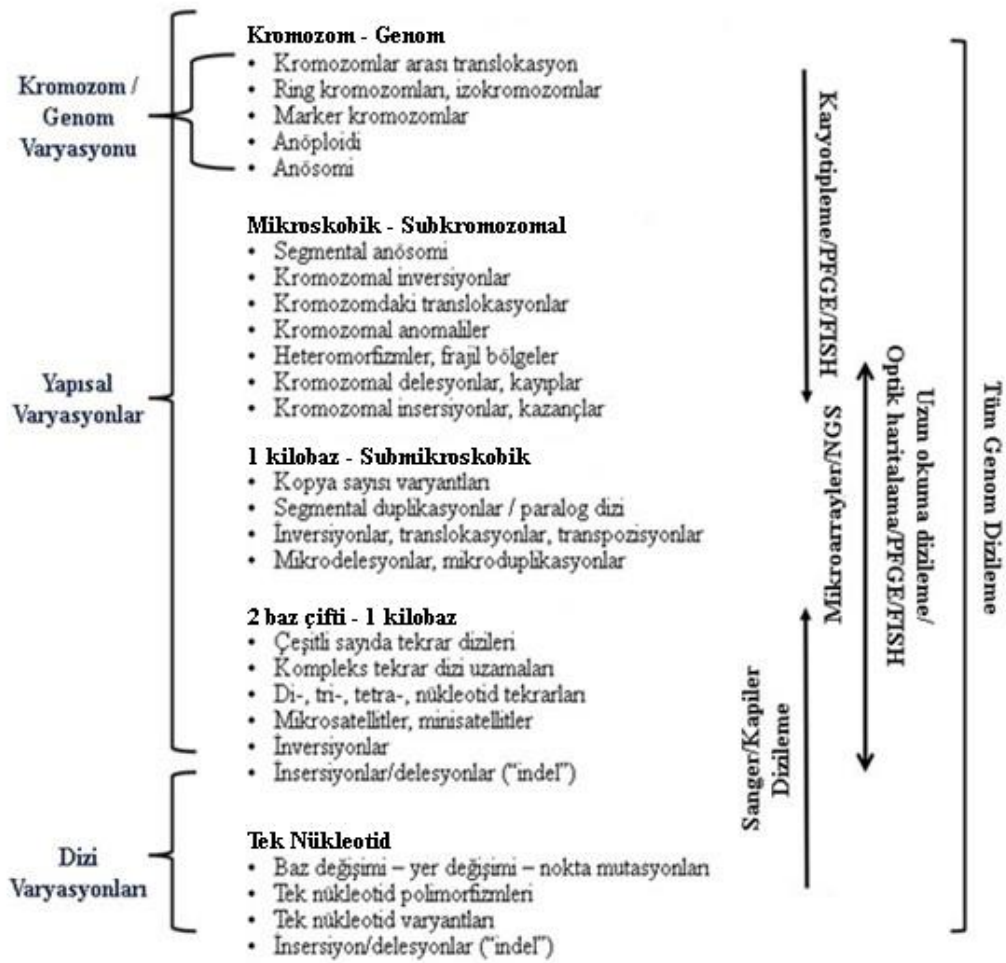
Bir canlıdaki genetik bilginin tamamına genom, anlamlı bir RNA ve proteine dönüşen kalıtım ünitesi ise gen olarak tanımlanmaktadır. DNA her hücrenin nükleusunda paketlenerek, kromozomlarda saklanmaktadır. Her canlının türüne özel bir kromozom seti bulunmaktadır ve aynı türdeki canlılarda bu sayı sabittir. Bu sayı insanlarda çift halinde kırkaltıdır. Dişilerde ve erkeklerde aynı olan 22 kromozoma otozomlar, farklı olan cinsiyet (X ve Y) kromozomlarına cinsiyet kromozomları denmektedir. İşlevi olan tüm hücrelere ise somatik hücreler denmektedir. Aynı kromozom çiftlerine homolog kromozomlar denmektedir. Kromozomların eşsiz morfolojik yapıları vardır ve her biri farklı genleri taşımaktadır. Kromozomlardaki kodlayıcı bölgelere ökrömatin bölgeler, kodlamayan bölgelere ise heterokromatin bölgeler denmektedir. Genomda kodlayan bölgelere ise ekzon ve kodlamayan bölgelere intron denmektedir. İntronlar kodlayan bölgeler olmasalar da, sayıları ekzonlardan fazladır ve genomda düzenleyici olarak işlevleri bulunmaktadır (12).

Genom içerisindeki varyasyonların tanımlanması genomik farklılıkların kökeninin anlaşılması açısından önem taşımaktadır. Genetik varyasyon aynı türe ait bireylerin genomları arasındaki farklılıklardır. Genetik varyasyon popülasyon içinde ya da popülasyonlar arasında ortaya çıkabilen, tür içerisinde veya gen alellerinde gözlemlenen farklılıklardır. Bu varyasyonlar benign olduğu gibi, hastalık oluşumuna direkt ya da dolaylı katkı sağlayan zararlı varyasyonlar da bilinmektedir. Bu varyasyonların birçoğu fenotipik olarak fark

edilebilir bir değişim göstermemektedir. Genomda en sık gözlenen varyasyonlar tek nükleotid değişimleri, kopya sayısı varyantları, insersiyonlar, delesyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, heterozigosite kaybı ve fonksiyon kayıp/kazanç mutasyonlarıdır (Şekil 2-1).

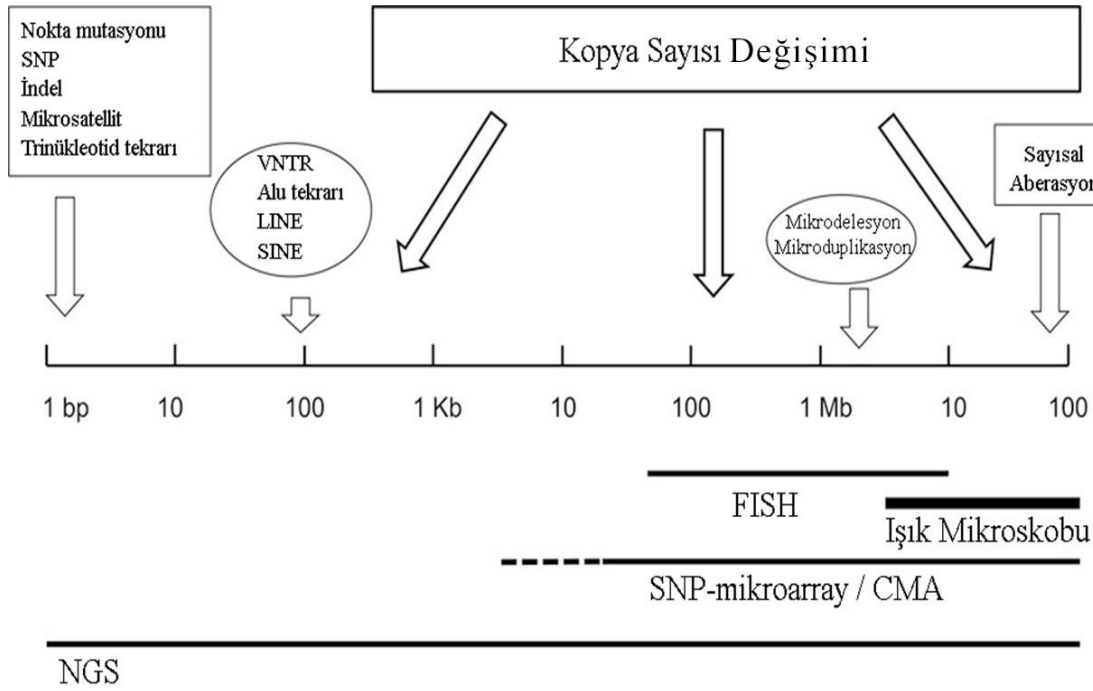
Varyasyonların benign olanları klinik bir etkilenme olmadan sadece çeşitliliğe neden olduğunda ve toplumdaki frekansı %1'den fazla olduğunda polimorfizm olarak sınıflandırılmaktadır. Popülasyondaki frekansı %1'in altında olan genetik varyasyonlar ise mutasyon olarak sınıflandırılmaktadır. Mutasyonlar nokta mutasyonu veya kromozomal mutasyon olarak görülebilmektedir (13). Genetik alanındaki araştırmalardaki en büyük değişimlerden biri tek gen analizinden tüm genom analizine geçiş yapılması olmuştur (Şekil 2-2).

Tüm genom analizi ile birçok etkisi henüz bilinmeyen yeni varyant keşfedilmiştir. İnsan genomunun daha kapsamlı anlaşılması ve hastalıklarla ilişkili varyantların tanımlanabilmesi için farklı toplumlardaki farklı bireylerin genetik varyantlarının araştırılması kapsamlı veritabanlarının oluşturulması açısından önemlidir. Bu sebeple özellikle kapsamlı bir veritabanı henüz oluşturulmamış ve genetik çeşitliliği fazla olan toplumlarda bu araştırmalar önem kazanmaktadır (14).



Şekil 2-1: Varyasyon tipleri (15)

Şekilde varyasyonlar boyutlarına ve çalışılma metodlarına göre sınıflandırılmıştır. Birçok farklı boyutta saptanabilen yapısal varyasyonlar ayrılarak gösterilmektedir.



Şekil 2-2: Varyasyon çeşitlerinin boyutları ve araştırılma metodları (16)

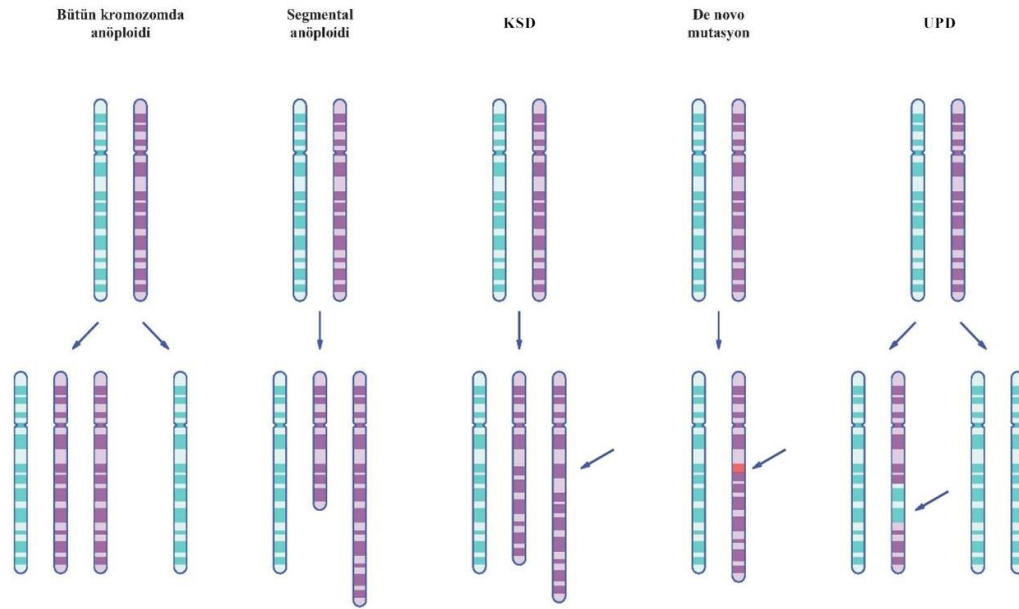
Varyasyon çeşitlerinin baz çiftinden Mb'a kadar sıklıkla görüldükleri boyutlar ve araştırılma metodları gösterilmektedir.

2.1. Kromozom Anomalileri

Kromozomal hastalıklar kromozom üzerinde sayısal ya da yapısal meydana gelen değişimler sonucu ortaya çıkan hastalıklar olarak tanımlanmaktadır ve genetik hastalıkların büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar. Hastalığın tekrarı, seyri, gelecek planları ve düzgün genetik danışma için kromozom anomali mekanizmasının doğru anlaşılması kritik rol oynamaktadır. Kromozomal anomaliler genellikle dengesiz bir değişim ile gen dozajını etkilemesi sonucu fenotipe yansiyarak hastalık oluşumunu sağlamaktadır. Dengeli kromozom anomalileri dozaj aynı kaldığından sahip olan bireyin fenotipine direkt olarak yansımazken, ileride bu bireylerin dengesiz anomalili çocuklara sahip olma olasılığı artmaktadır. Şekil 2–3’de kromozomal anomaliler genel haliyle gösterilmektedir.

Sitogenetik ve moleküler sitogenetik çalışmaları bu hastalıklara tanı koymak amacıyla yapılmaktadır. Kromozom anomalileri yenidoğan döneminde 154’de 1 oranında görülmektedir (17). Bu anomalilerin yaşamla bağdaşmayacak kadar ağır olanları spontan abortus ya da ölü doğumla sonuçlanmaktadır. Ancak, cinsiyet kromozomlarında meydana gelen sayısal ve yapısal varyasyonlar hayatta kalabilmektedir.

Kromozom anomalileri ilk olarak 1959 yılında Down sendromlu olgularda 47. kromozomun varlığı ile tanımlandı. 1968 yılında kromozom bantlama teknikleri geliştirildikten sonra ekstra kromozomun 21 olduğu belirlendi. Kromozom anomalileri klasik bantlama tekniklerinin yanı sıra gerektiği durumlarda daha hedefe yönelik/yüksek rezolüsyonlu moleküler sitogenetik tekniklerle de incelenebilmektedir. Kromozom anomalilerinin incelenebileceği moleküler sitogenetik teknikler, floresan in situ hibridizasyon (FISH), PZR (qRT-PCR), array temelli karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (a-CGH), Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonudur (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification, MLPA).



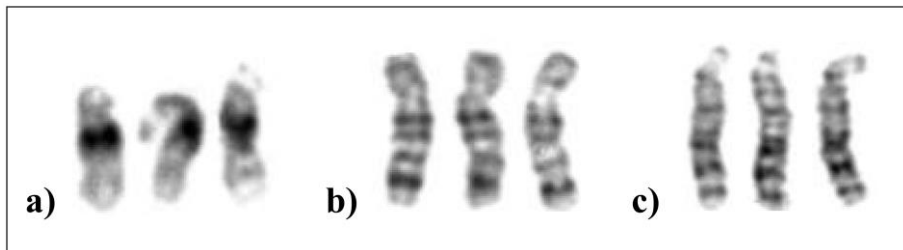
Şekil 2-3: Sayısal ve yapısal kromozom anomalilerinin genel görüntüsü

Şekil (Liang SH, Bennett RJ., 2019 yayınından)'dan uyarlanmıştır (18). Sol baştan şekilde ilk görselde tüm kromozomda olan sayı değişimini gösterilirken, ikinci görselde segmental anöploidi olan kromozom parçasındaki değişim gösterilmektedir. Üçüncü görsel KSD kromozom bölgesindeki kopya sayısı çeşitliliğini gösterirken, dördüncü görsel *de novo* mutasyon doğal olmayan şekilde oluşan değişimi göstermektedir. UPD kısmındaki ok UPD bölgesini göstermektedir.

2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri

Haploid (n) tek kromozom setinin sayısıdır ve genelde gametler haploid halde bulunmaktadır. Her kromozomdan iki kopyanın bulunduğu kromozom setine ise diploid ($2n$) hücre denmektedir. Haploid halde bulunan gametler fertilizasyondan sonra diploid olarak bulunmaktadır. Somatik hücreler genellikle diploid set içermektedir. Haploid kromozom sayısında tam katları şeklinde olan değişimlere öploidi isimlendirilmektedir. Kromozom setinin tamamında kayıp ya da artış olmaktadır. Kromozom setinin tamamında artış poliploidi olarak isimlendirilmektedir. Poliploidiler triploidi ($3n$), tetraploidi ($4n$) ve hexaploidi ($6n$) olarak görülebilmektedir. Triploidiler, mayotik bölünmelerdeki hatalardan ya da iki spermin bir yumurtayı döllemesinden (dispermi) kaynaklanmaktadır. Tetraploidi oluşumunda ise DNA duplikasyonu sonrasında hücre bölünmesinin olmadığı düşünülmektedir. Triploidiler genellikle ilk trimesterde kayıpla sonuçlanmakta, doğum gerçekleşse bile yaşamla bağdaşmamaktadır. Tetraploidilerin triploidilerden daha gözlenme sebebi olarak, tetraploidilerin düşük materyalinde gözlenebilecek kadar bile hayatta kalamadığı ve daha erken dönemde kaybedildiği düşünülmektedir.

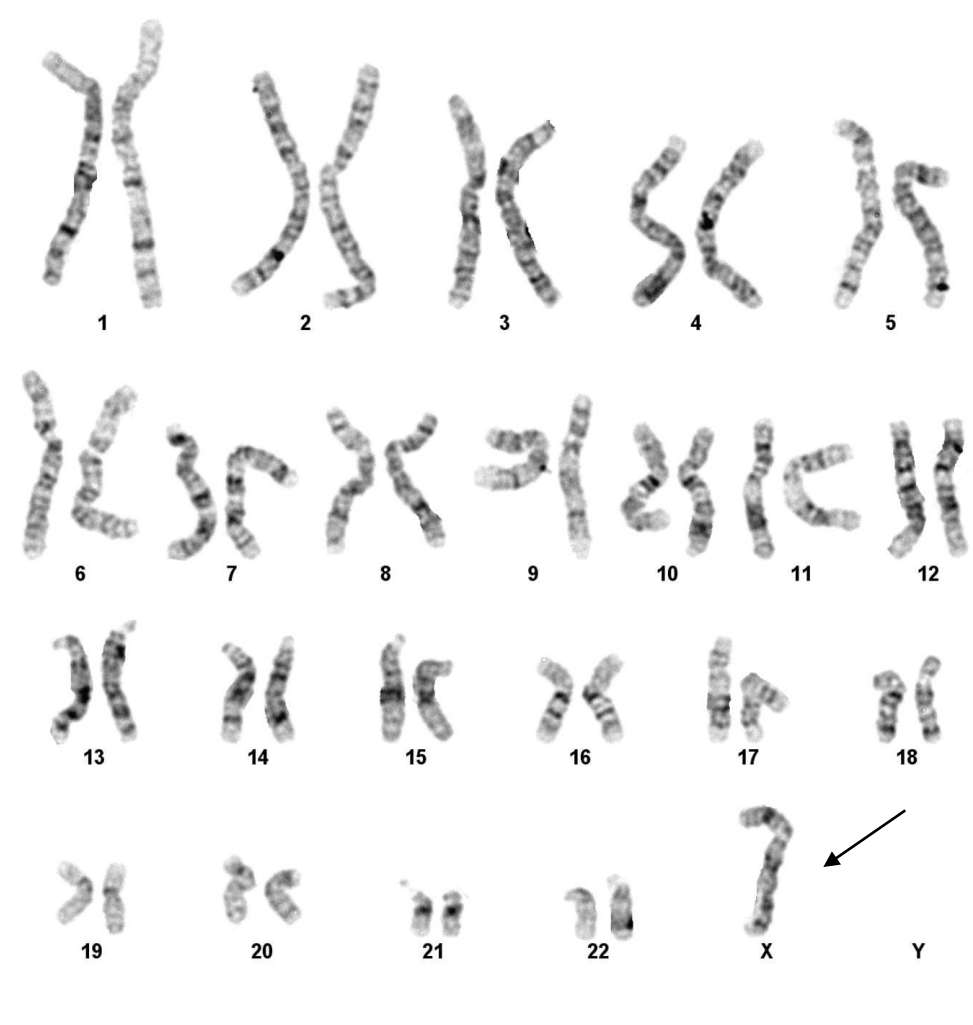
İnsanlarda sayısal kromozom anomalileri genellikle anöploidi olarak görülmektedir (19). Anöploidi bir ve birden fazla kromozomun kaybı veya kazancından kaynaklanmaktadır. Genelde hamileliğin ilk trimesterinde kayıpla sonuçlanmaktadır ve tüm gebeliklerin %5'inde görülmekte ve çoğu yaşamla bağdaşmamaktadır. Trizomi ($2n+1$) ya da monozomi ($2n-1$) şeklinde görülebilmektedirler. Trizomi, aynı kromozomun üç kopyasının bulunması, monozomi ise kromozom kopyalarından birinin kayıp olmasıdır. Yenidoğan döneminde en sık görülen trizomiler gen içeriği en düşük olan kromozomların trizomisidir (trizomi 21, 18 ve 13) (Şekil 2–4).



Şekil 2-4: Trizomi çeşitleri a) Serbest trizomi 21, b) Trizomi 18 c), Trizomi 13 parsiyel karyotip örneği

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

Genellikle delesyonların duplikasyonlardan daha ciddi klinik etkileri gözlenir (1). Tüm kromozom kayıp ve kazançlarında ise, otozom kromozomların monozomileri yaşamla bağdaşmazken, cinsiyet kromozomlarının monozomileri hayatla bağdaşabilir. Cinsiyet kromozomu monozomisine tek örnek ise Turner sendromuna yol açan monozomi X'tir. Ancak, Turner sendromu olgularında da yaşayanların büyük bir bölümünün mozaik yapıda olduğu düşünülmektedir (Şekil 2-5).

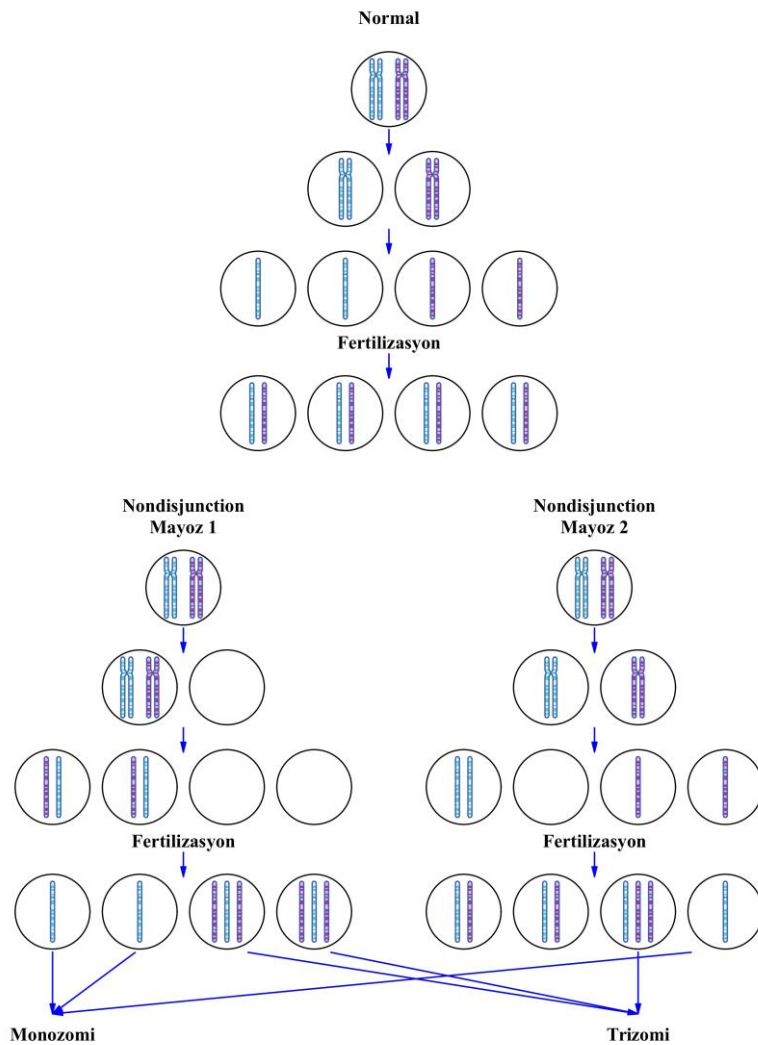


Şekil 2-5: 45,X (Turner sendromu) karyotip örneği

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

Doğru bir genetik danışma verilebilmesi için anöploidilerin mekanizmalarının anlaşılması önem taşımaktadır. Bu mekanizmalardan ikisi ayrılama (non-disjunction) ve

anafazda geri kalmadır (Anafaz Lag). Ayrılamama genellikle Mayoz 1’de oluşur, mitozda gerçekleşirse mozaikizmle sonuçlanmaktadır. Anafazda geri kalma ise hem mayozda hem mitozda görülebilmektedir. Mayoz bölünmede homolog kromozom, mitozda ise kromatid hücreye ulaşamaz. Yavru hücrelerde monozomi ve trizomi olması beklenmektedir (Şekil 2–6).



Şekil 2-6: Normal mayoz bölünme ve nondisjunction gösterimi

Sırasıyla Mayoz 1 ve Mayoz 2’deki nondisjunction hatalarından sonra monozomi ve trizomi oluşumları gösterilmektedir.

2.1.2. Yapısal Kromozom Anomalileri

Kromozom yapısal anomalileri kromozomda meydana gelen kırıklar ve yeniden düzenlenmeler sonucu oluşur. Klinik etkilerine göre dengeli ve dengesiz olmak üzere ikiye

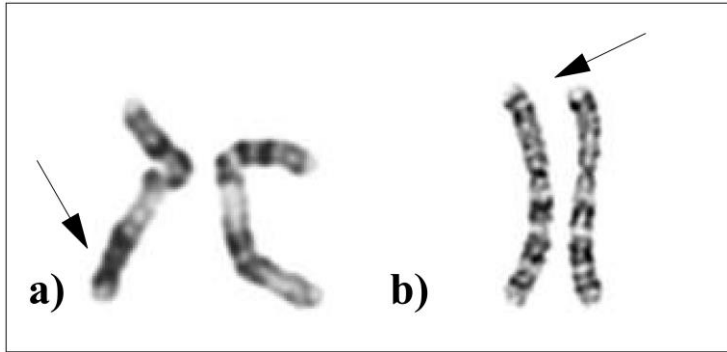
ayrılmaktadırlar. Kromozom yapısında meydana gelen değişim gen dozajında değişime yol açmadıysa dengeli yapısal değişim olarak isimlendirilmektedir. Dengesiz anomalilerde gen dozajının değişmesi (artma, eksilme, bazen de ikisi birden) nedeni ile klinik etki görülmektedir. Dengeli değişimler fenotipte ortaya çıkmaya bile dengeli değişime sahip ebeveynlerin çocuklarında dengesiz değişimlere yol açması nedeni ile önem taşımaktadır. Protein kodlayan genler veya düzenleyici genleri etkilediklerinde hastalık oluşumunda rol oynayabilmektedirler (16).

Yapısal kromozom anomalileri delesyon, duplikasyon, inversiyon, translokasyon, insersiyon, izokromozom, marker kromozom, disentrik kromozom ve ring kromozom olarak görülmektedirler (Tablo 2–1) (20).

Tablo 2-1: Yapısal kromozom anomalileri ve açıklamaları

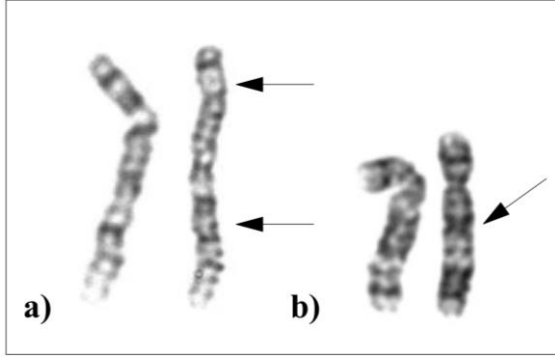
Delesyon	Delesyonlar intersitisyel ya da telomerik şekilde olmaktadır ve kromozom bölgesinde kayıp nedeni ile dozaj etkilenerek haployetersizliğe yol açmaktadır (Şekil 2–7).
Duplikasyon	Duplikasyonla bir kromozom bölgesinde meydana gelen artış nedeni ile gen dozajı etkilenir ve delesyonlardan daha az zararlıdır. Delesyonlar gibi intersitisyel ve telomerik şekilde görülebildikleri gibi tandem ve inverted şekilde de görülebilmektedirler (Şekil 2–7).
İnversiyon	Kromozomda oluşan iki kırık sonucu kromozom parçasının 180 derece dönerek aynı kromozomda aynı bölgeye dahil olmasıyla oluşmaktadır (Şekil 2–8).
Translokasyon	Translokasyonlar, reziprokal (Şekil 2–9) ve Robertsonyan (Şekil 2–10) olmak üzere iki tipe ayrılmaktadır. Reziprokal translokasyonlar dengeli kromozom anomalileridir ve kromozomlar arası karşılıklı parça değişimi olarak toplam kromozom sayısı sabit kalmaktadır. Robertsonyan translokasyon akrosentrik kromozomların (13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomların) uzun kollarının birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Toplam kromozom sayısında azalış olmasıyla birlikte kromozomlarda kayıp olmaz.
İnsersiyon	Başka bir kromozomdan kopan kırık kromozom bölgesinin bir kromozoma dahil olmasıyla gerçekleşmektedir (Şekil 2–11).

İzokromozom	İzokromozom, hücre bölünmesinde bir kromozomun boyuna değil enine ayrışması sonucu oluşmaktadır. Kromozomda sadece bir kolun iki doz ve ayna görüntüsü bulunmaktadır. En sık X kromozomunun uzun kolunda görülmektedir (Şekil 2–12).
Marker kromozom	Marker kromozomlar klasik sitogenetik tekniklerle tanımlanamayan küçük kromozomlardır ve genellikle mozaik olarak görülmektedirler. Marker kromozomun doğru tanımlanması ve kökeninin tanımlanması kromozomal sendromların değerlendirilmesi açısından kritiktir (Şekil 2–13).
Disentrik kromozom	Disentrik bir kromozom iki sentromer taşıması durumudur, sentromerlerden birisi aktif diğeri ise inaktiftir (Şekil 2–12).
Ring kromozom	Ring kromozomda kromozomun terminal kısımları kırılarak birleşmektedir ve kromozomun terminal bölgelerinde delesyon olmaktadır (Şekil 2–14).



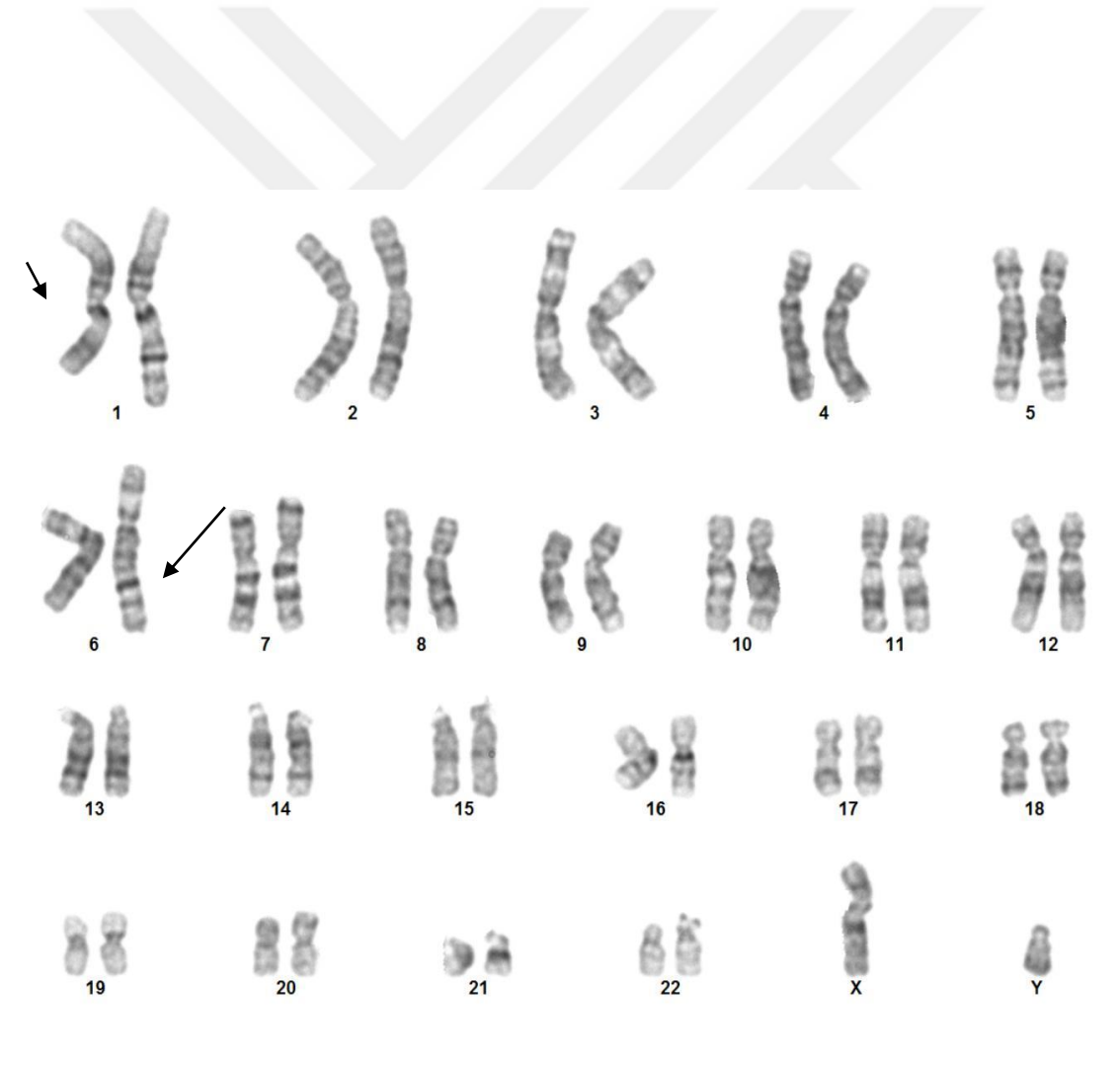
Şekil 2-7: Delesyon ve duplikasyon örneği (21) (Ok işaretleri a) 11. kromozomun uzun (q) kolunda gerçekleşen terminal delesyonu b) 7. kromozomun p kolunda gerçekleşen duplikasyonu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



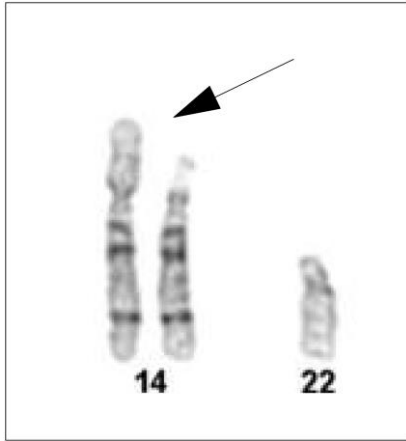
Şekil 2-8: Perisentrik inversiyon ve parasentrik inversiyon a) 9. kromozomdaki perisentrik inversiyonu (22) b) 5. kromozomdaki parasentrik inversiyonu göstermektedir (ok işaretleri)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



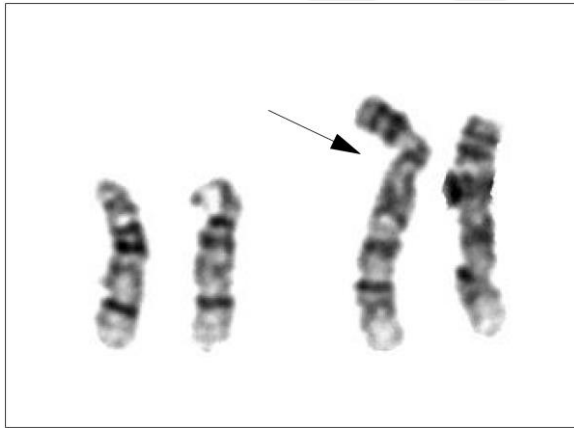
Şekil 2-9: Resiprokal translokasyon örneği (Ok işaretleri 1. ve 6. kromozomların uzun (q) kolları arasındaki parça değişimi sonucu oluşan resiprokal translokasyonu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



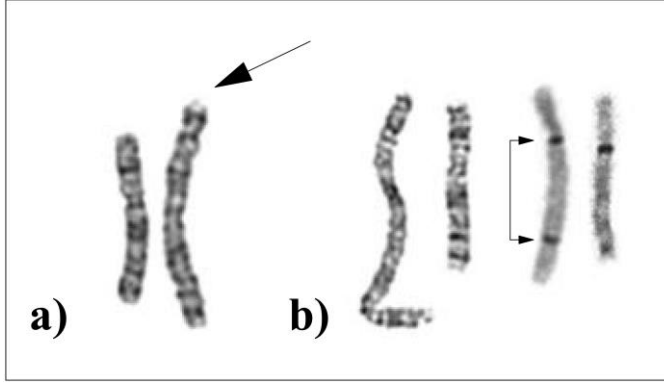
Şekil 2-10: Robertsonyan tipi translokasyon örneği (Ok işareti 14 ve 22. kromozom arasında gerçekleşen Robertsonyan tipi translokasyonu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-11: İnsersiyon görüntüsü (Ok annedeki dengeli anomali şeklinde olan 9;14 insersiyonunun çocuğun 9. kromozomunda insersiyon olarak aktarımını göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

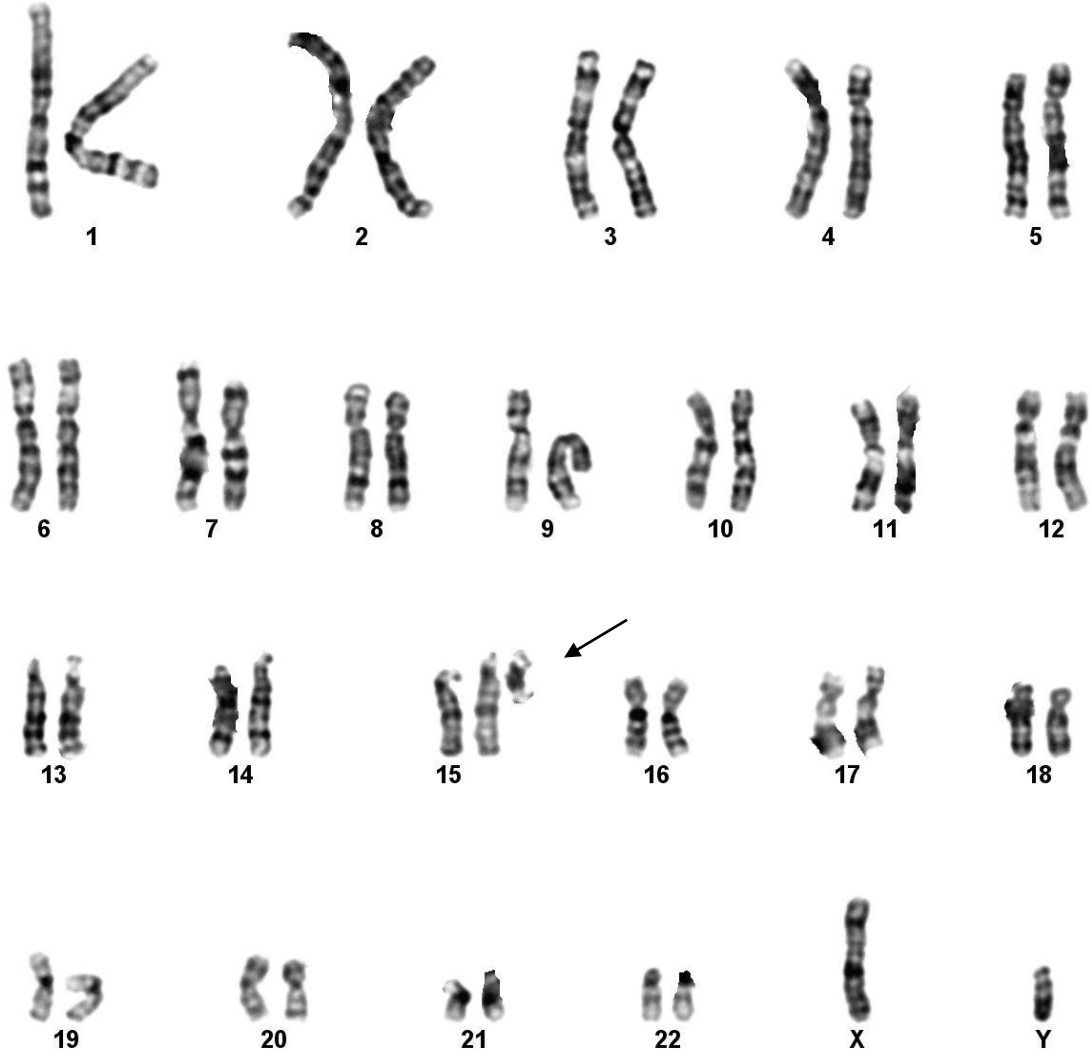


Şekil 2-12: İzokromozomların gösterimi

a) X izokromozomu b) İzodisentrik X kromozomunun sırasıyla G ve C bantlama teknikleriyle gösterimi (21)

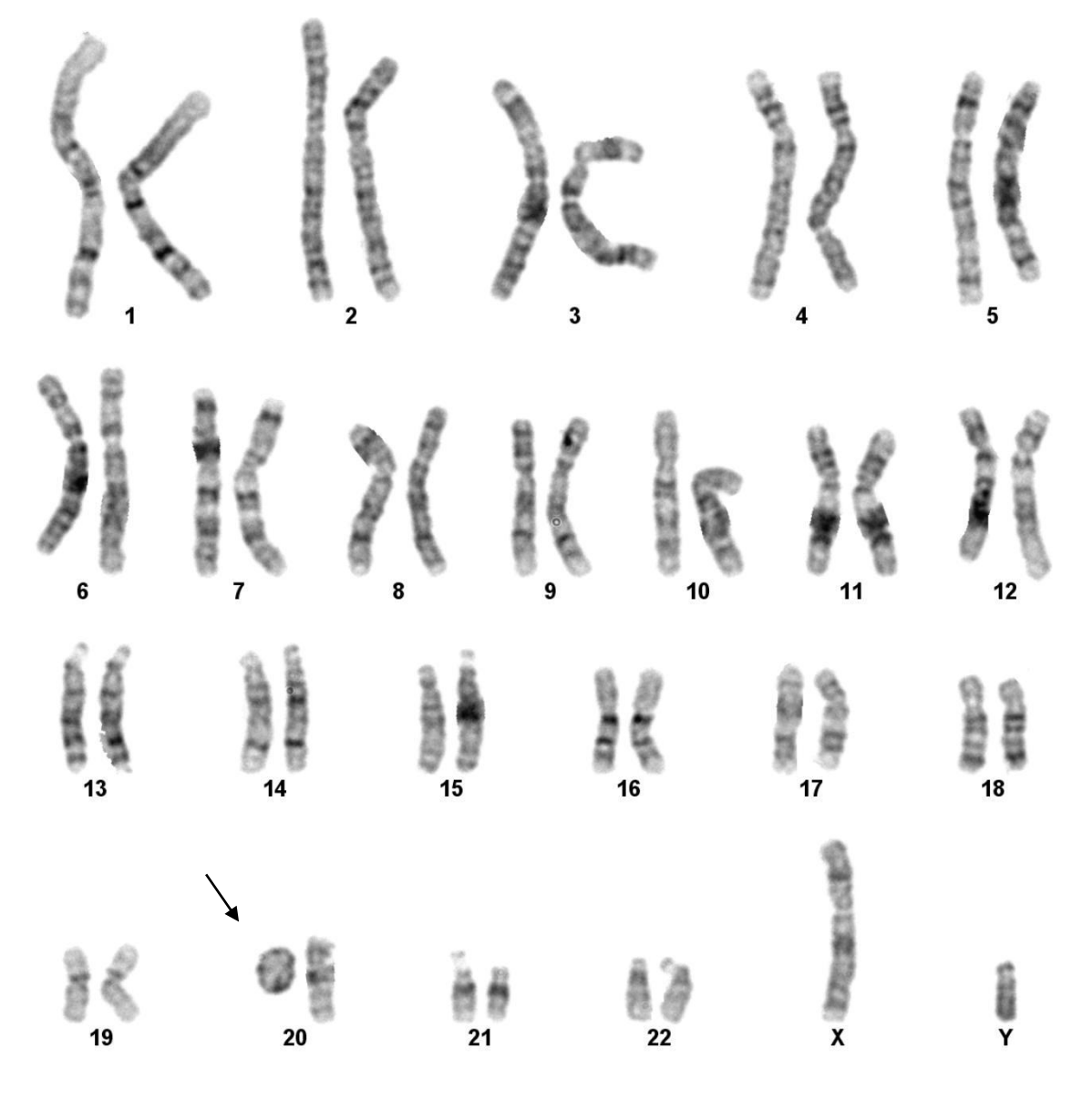
(Ok işaretleri a) X'in p kolunun kaybı ve uzun (q) kolunun fazla kopyası ile oluşan X izokromozomunu b) İzodisentrik X kromozomundaki sentromerleri göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-13: Marker kromozom karyotipi (Ok işareti 15. kromozomdan köken aldığı belirlenen bir marker kromozomu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



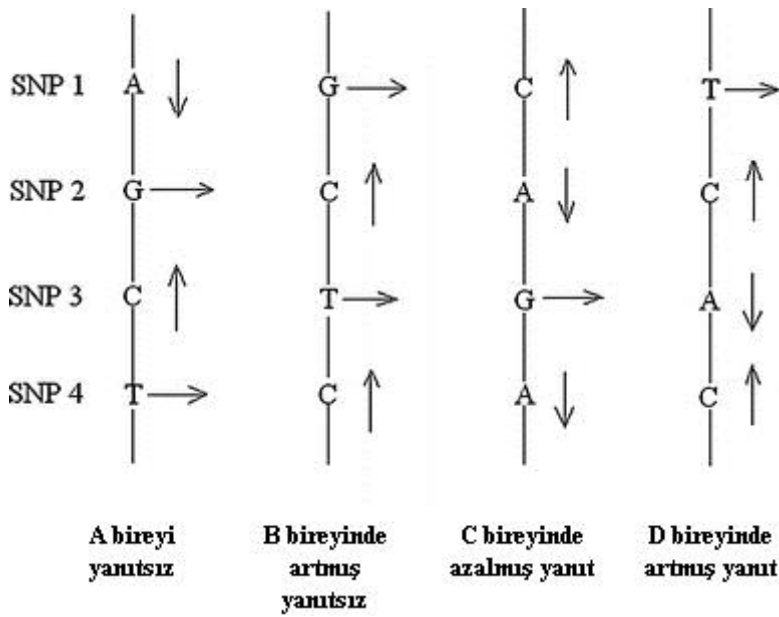
Şekil 2-14: Ring kromozomlu karyotip (Ok işareti 20. kromozomdan oluşan ring kromozomu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

Tüm bu sayısal ve yapısal anomalilerin yanı sıra bir de chromoanagenesis ismi verilen yeniden düzenlemeler bulunmaktadır. Genellikle tek bir kromozomda, kromozomun bütününde ya da bir parçasında meydana gelmektedir. Bu yeniden düzenlemelerin karmaşık ve sık gerçekleşmesinden ötürü kromozom son halinde tanımlanamayacak durumdadır. Genellikle kanser karyotiplerinde gözükmemektedir (23).

2.2. Genomda Gözlenen Diğer Varyasyonlar

- Tek Nükleotid Polimorfizmleri (Single Nucleotid Polymorphism, SNP'ler): SNP'ler insan genomunda en sık gözlenen varyasyon tipidir. İnsersiyon, delesyon ya da nükleotid değişimi sonucunda meydana gelirler ve genom boyunca her 1000 bazda bir gözlenirler. SNP'lerin %25'i anlamsız mutasyonlardan kaynaklıdır. (22) SNP'ler hastalıklara yatkınlık ve ilaç cevabında majör etkiye sahiptir (Şekil 2-15).



Şekil 2-15: SNP'e göre bireylerin ilaçlara yanıt gösterimi (24)

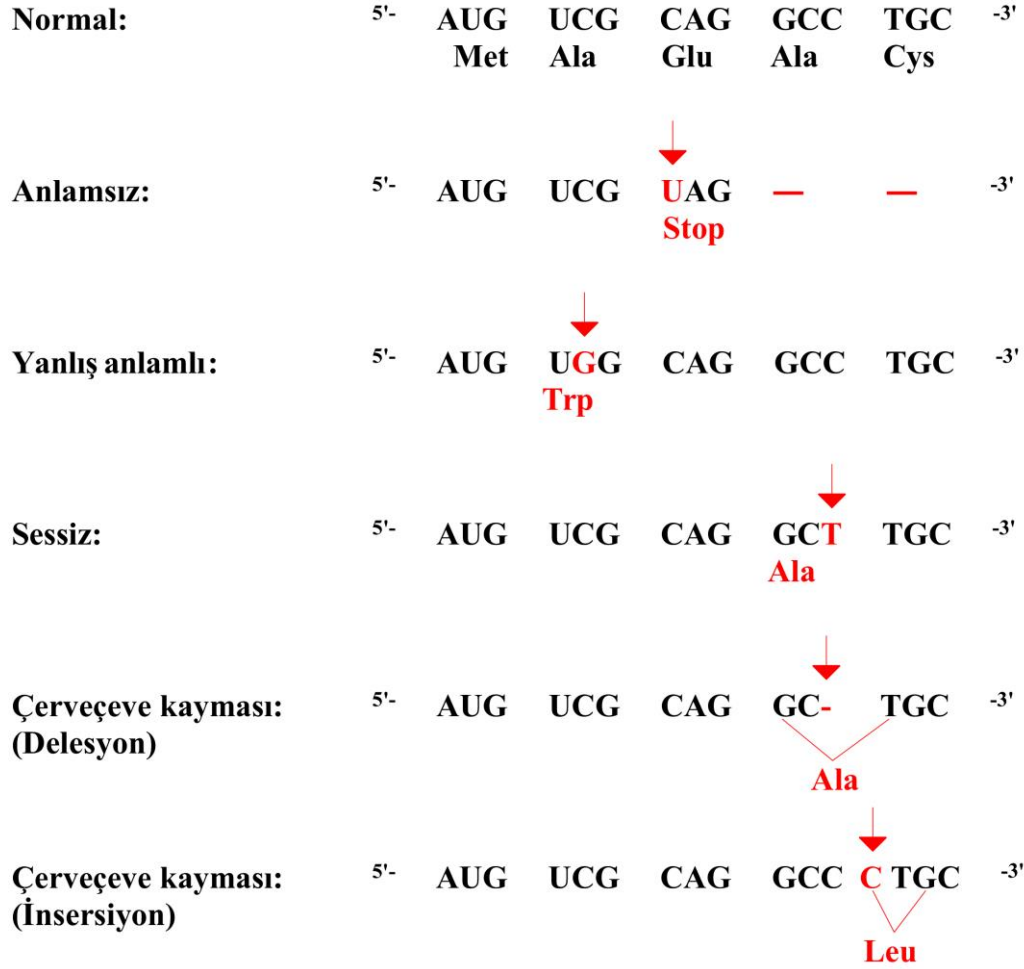
Shastri, B.S. (2007) makalesinden çevrilen görselde A, B, C ve D bireylerinin aynı ilaca farklı tepkileri gösterilmektedir. SNP'lerdeki yatay oklar ilaca cevap vermeyen değişimleri göstermektedir. Yukarı oklar ilaca artmış yanıtı gösterirken, aşağı oklar ilaca azalmış yanıtı göstermektedir.

Proteine etkilerine göre SNP'ler iki gruba ayrılmaktadır.

- Sessiz (Sinonim) SNP'ler gen fonksiyonlarını etkilemezler. SNP'lerin büyük bölümü bu gruba dahildir.
- Protein fonksiyonunu etkileyen SNP'ler etkilerine göre ikiye ayrılmaktadır. Aminoasit dizisini değiştiren SNP'ler direkt etkiye sahiptir. Promotör ve bağlantı bölgeleri etkileyen ve regülatör dizinin fonksiyonunu değiştiren SNP'ler ise indirekt etkiye sahiptir.

Kodlanan aminoasit dizisinin değişmesine yol açan nokta mutasyonlarına yanlış anlamlı mutasyonlar tanımlanmaktadır. Gen dizisinde tek bir bazı değiştirerek aminoasit için olan diziyi stop kodonuna dönüştüren nokta mutasyonları ise anlamsız mutasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Gen dizisindeki farklılaşma gen ürününü değiştirmiyorsa bu nokta mutasyonları sessiz mutasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Çerçeve kayması mutasyonları ise baz delesyonu veya insersiyonu sonucunda gözlenmektedir. Delesyon ve insersiyon sonucu bir/daha fazla bazın azalması ya da artması sonucunda üçlü baz grubu değişmekte ve okuma çerçevesinde kayma olmaktadır. Takip eden diğer üçlü baz grupları da etkilenmektedir (25).

Günümüzde SNP'ler tanı ve risk profillemesi, aday gen tayini ve haritalaması, polimorfizm testleri ve epidemiyolojik çalışmalar, farmakogenetik ve adli genetik gibi pek çok uygulama alanında kullanım imkanına sahiptir. Tek nükleotid polimorfizmleri tek bir nükleotiddeki değişim anlamına gelmektedir. Bu değişim baz insersiyonu, delesyonu ya da yer değişimi varyasyonları sonucunda olabilmektedir (26).



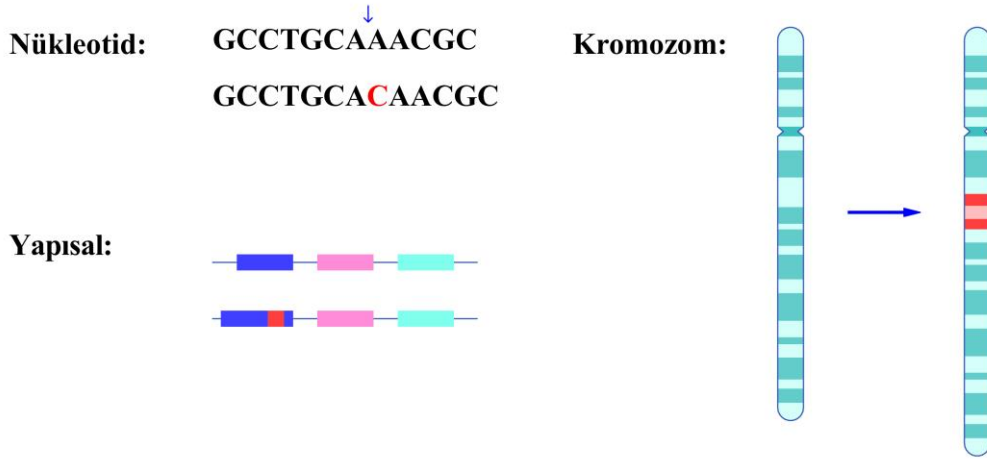
Şekil 2-16: SNP türlerinin gösterimi

Sessiz SNP'ler oluşan ürün proteine herhangi bir etkisi olmazken, anlamsız SNP durma kodonunu erkenden oluşturarak başka diğer nükleotid dizilerinin protein oluşumunu engeller ve yanlış anlamlı SNP bulunduğu nükleotidin başka bir protein ürününün oluşmasına yol açar. Çerçeve kaymaları delesyon ya da duplikasyon sonucu tüm nükleotid dizilerinin bir baz çifti kayarak başka ürünler oluşturmasıyla oluşur.

- İnsersiyon/Delesyonlar (INDEL'ler): DNA dizisinde meydana gelen kısa insersiyon ve delesyonlardır. DNA dizisindeki nükleotid sayısı değişmekte ve gen ürünü olan proteinin yapısı etkilenebilmektedir. İnsersiyon ve delesyonlar oldukça kısa olabildikleri gibi yüzlerce nükleotid uzunluğunda da olabilmektedir. Genellikle 1000 baz çifti üstü KSD olarak kabul edilmektedir. DNA dizisine fazla nükleotid dahil

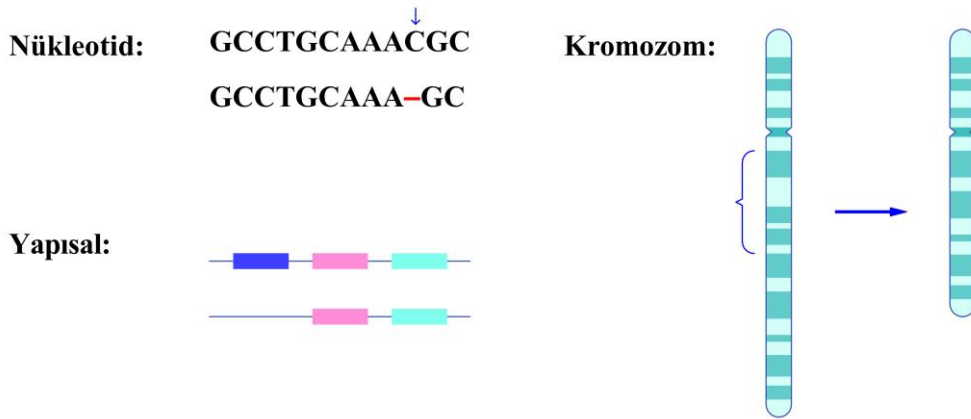
olmasına insersiyon (Şekil 2–17), DNA dizisinden nükleotid eksilmesine ise delesyon (Şekil 2–18) denmektedir.

İNSERSİYON



Şekil 2-17: İnsersiyonun şematik gösterimi

DELESYON

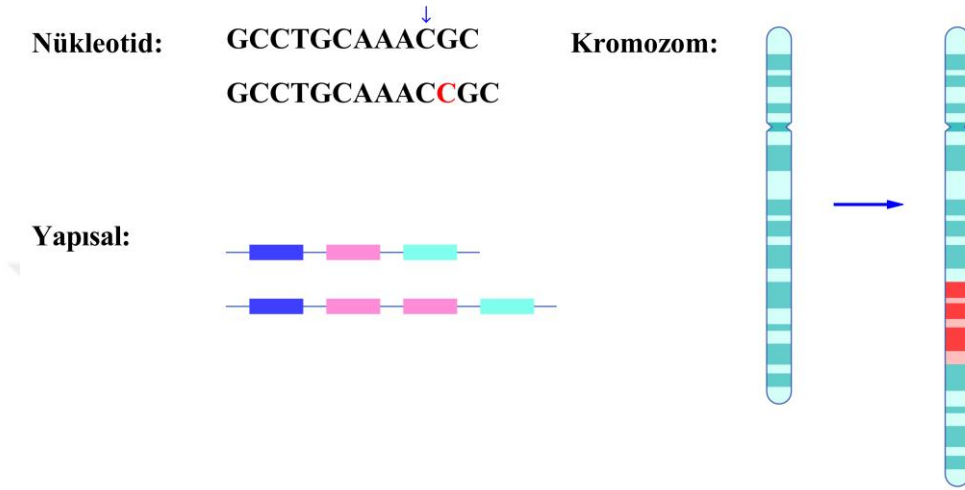


Şekil 2-18: Delesyonun şematik gösterimi

- Kopya Sayısı Varyantları (Copy Number Variations, KSD'ler): DNA dizisinde ek kopya (duplikasyon) (Şekil 2–19) ya da dizi kaybı (delesyon) sonucu olmaktadır

(Şekil 2–20). Büyüklüğüne bağlı olarak etkilenen gen sayısı değişebilmektedir. Kopya sayısı varyasyonlarının bir kısmı protein kodlayan bölgelere denk gelebilmektedir (Tablo 2–2).

DUPLİKASYON



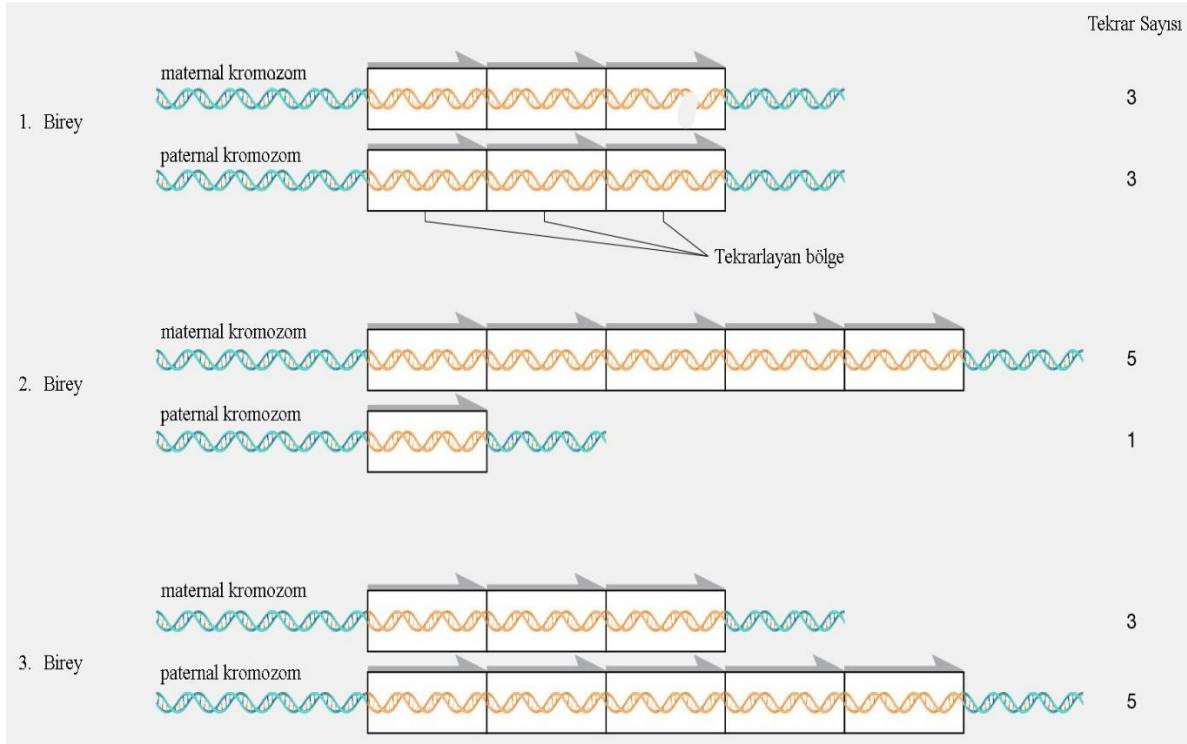
Şekil 2-19: Duplikasyonun şematik gösterimi

Tablo 2-2: DGV KSD örtüşme bölgeleri (27)

Özellik	KSD'lerin kapsadıkları	KSD'leri kapsayanlar
Transkriptler (45532)	44851 (98,5%)	577063 (46,13%)
Ekzonlar (440637)	401116 (91,03%)	202484 (16,18%)
microRNA (1341)	1231 (91,8%)	10136 (0,81%)
OMIM (2785)	2752 (98,82%)	92098 (7,36%)
Segmental Duplikasyonlar (51375)	49814 (96,96%)	218515 (17,47%)

Bu sebeple kompleks hastalıkların gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar. Popülasyonda %1'den az görülen kopya sayısı değişimleri kopya sayısı polimorfizmi (KSP) olarak adlandırılmaktadır. KSD'lerin evrim ve adaptasyondaki rollerinin yanı sıra hastalık oluşumunda da büyük etkileri bulunmaktadır. Otizm spektrum hastalıkları, kanser, nörolojik hastalıklar, mikrolelesyon/duplikasyon sendromları ve immün sistemle alakalı birçok

hastalığa yol açabilmektedirler (28, 29). KSD'ler dozaj ya da haployetersizliğe hassas genlerde görüldüklerinde genellikle hastalıklara yol açmaktadırlar (30, 31). Bazı genlerin normal işlev gösterebilmesi için iki allelinin de vahşi tipte olması gerekmektedir. Allerden birinin mutasyon sonucunda işlevini kaybetmesi haployetersizlik olarak adlandırılmaktadır (8).

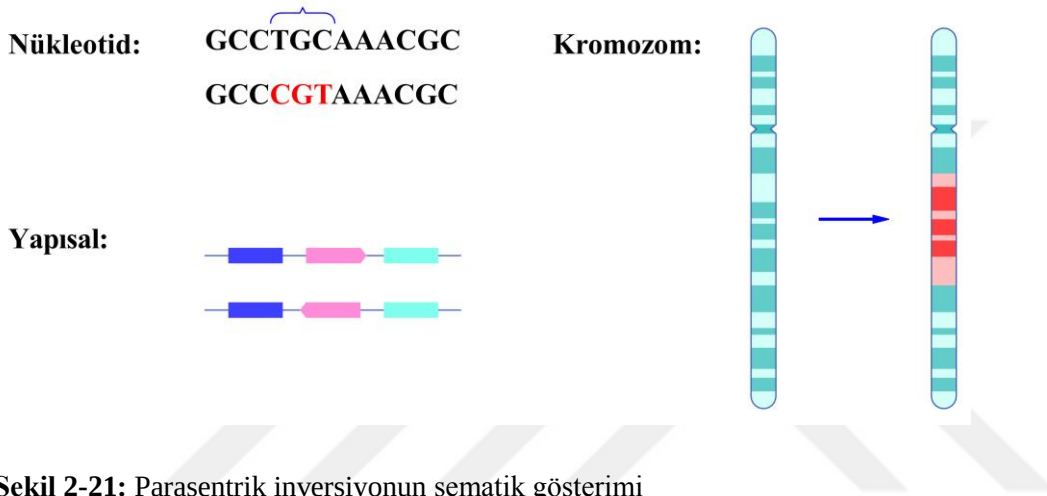


Şekil 2-20: Ebeveynlerden bireylere kalıtımda kopya sayısı farklılıkları (32)

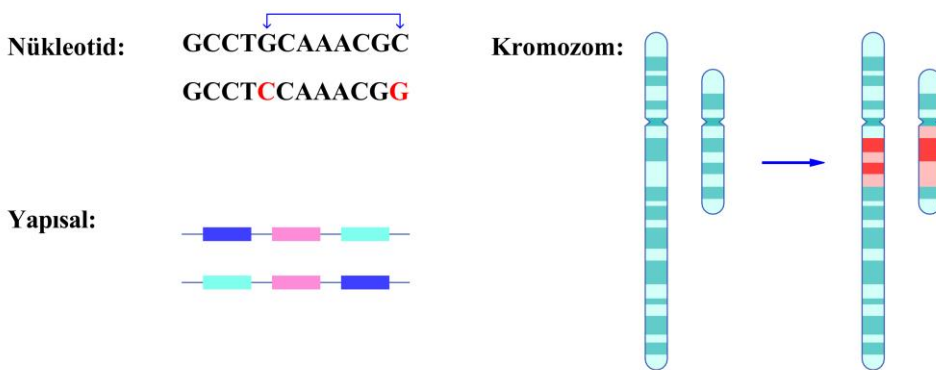
İnversiyonlar ve translokasyonlar; kopya sayısını değiştirmeyen, kromozomdaki yer değişimi varyasyonlarıdır. Translokasyonlar kromozomda kırık sonucu kopan parçanın yer değişimidir. Translokasyonlar meydana geliş şekillerine göre temelde iki gruba ayrılmaktadırlar. İki kırık sonucu kopan parça aynı kromozom üzerinde başka pozisyonda yerleşiyor ise bunlar inversiyon translokasyonlarıdır. İnversiyonlar bir kromozomda oluşan iki kırık noktası ile kromozomun kendi içinde kromozom parçasının pozisyon değiştirmesidir (Şekil 2-21). İnversiyonlar parasentrik ve perisentrik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kromozomda kırık sonucu dönen parçanın sentromer içermesi perisentrik inversiyon, sentromer içermemesi ise parasentrik inversiyon olarak tanımlanmaktadır.

Kopan kromozom bölgesinin başka bir kromozoma dahil olması ise insersiyon translokasyonlarıdır. İnsersiyon şeklinde olan translokasyonlar karşılıklı (dengeli) ya da tek taraflı (dengesiz) olmaktadır. Dengeli translokasyonlar resiprokal ve Robertsonyan tipi translokasyonlardır. (Şekil 2–22).

İNVERSİYON



TRANSLOKASYON



Şekil 2-22: İnsersiyonel translokasyonun şematik gösterimi

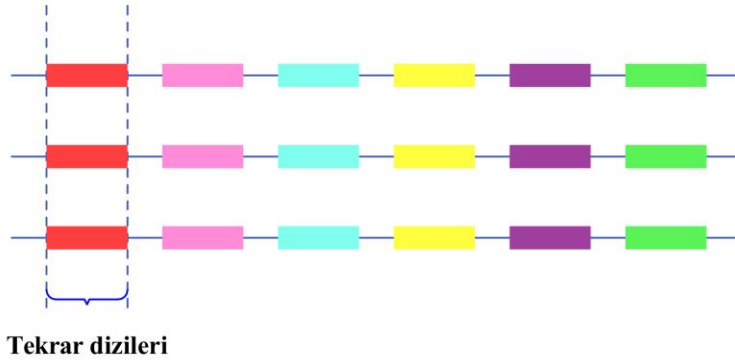
2.3. KOPYA SAYISI VARYASYONLARI

Kopya sayısı varyasyonlarına yönelik araştırmalar son 15 yılda tekniklerin gelişmesiyle yoğunluk kazanmıştır. Sitogenetik çalışmalarla kromozomal değişimler 1960'larda tanımlanmaya başlanmıştır. Ancak sınırlı rezolüsyondan kaynaklı nedenlerle ancak 5-10 Mb büyüklüğündeki aberasyonlar saptanabilmiştir (13). KSD oluşumunda genomik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörler de etkili olmaktadır. Kimyasal ve fiziksel mutajenlere maruziyet sonucunda replikasyon çatalında gecikme ve hatalar olabilmektedir (4, 9, 13).

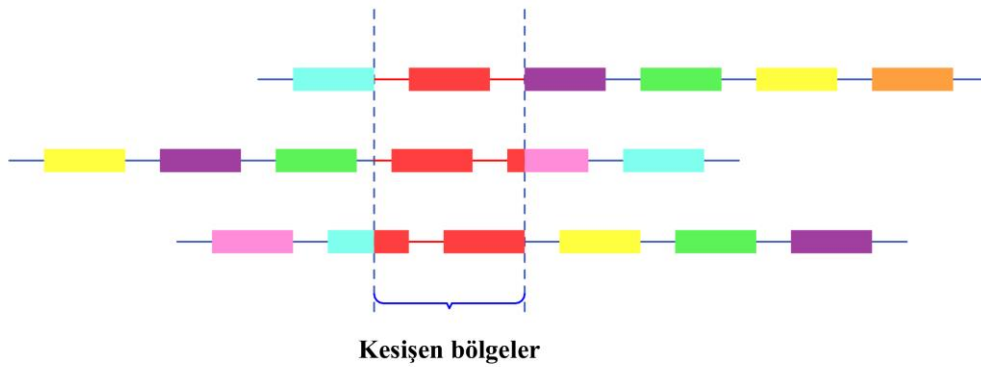
Kopya sayısı varyasyonları genomda gerçekleşen dengesiz yapısal değişimlerdir. KSD'ler insanlarda, bitkilerde, bakterilerde, arkelerde vb. birçok canlıda görülen yapısal varyantlardır. Genellikle bölgeye özgü eksprese olan genlerde görülmektedirler. Daha önceki çalışmalarda KSD'ler 1 kb ve üzeri yapısal değişimler olarak tanımlanmıştır, ancak güncel teknikler ile 50 baz çifti kadar küçük KSD'ler de tanımlanabilmektedir (4, 16, 28). Bu sebeple KSD boyutuyla ilgili kesin bir tanım yoktur. Ayrıca, KSD boyutlarıyla oluşum mekanizmaları arasında da belli bir ilişki bulunmamaktadır (9).

Kopya sayısı varyasyonları kalıtılmış ve *de novo* olarak sınıflandırılabilceği gibi, tekrar eden ve tekrar etmeyen olarak da ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2-23). Tekrar eden KSD'ler aynı kırık noktalarına ve aynı boyuta sahiptirler. Tekrarlamayan KSD'lerin ise kırık noktaları farklıdır ve boyutları değişiklik göstermektedir. KSD'lerin özgün yapılarından dolayı genellikle tekrarlamayan şekilde görülebilmektedirler. Tekrarlamayan KSD yapıları aynı zamanda başka mekanizmalar sonucu oluşabilmektedir (33).

Tekrar eden KSD bölgeleri



Tekrar etmeyen KSD bölgeleri



Şekil 2-23: Tekrar eden ve tekrar etmeyen KSD bölgeleri

Kopya sayısı varyantlarının boyutları farklı olmakla birlikte gen içermeyen bölgelerdeki farklılıklar benign olarak kabul edilmektedir. Bunun sebebi az gen içeren ya da hiç yapısal gen içermeyen KSD'lerin genomik hastalıklara yol açmadan sadece fizyolojik değişime sebep olmalarıdır. Büyük ve klinik etkiye sahip genlerin değişimlerini içeren KSD'ler ise ciddi malformasyonlara sebep olabilmektedir. Değişimin etkisi genlerin dozaj hassasiyetinin olup olmadığına da bağlıdır. Büyük değişimler genellikle dozaj hassasiyeti olan genleri içermektedir.

2.3.1. KSD Hastalık İlişkisi

Kopya sayısı varyasyonları genomik ve multifaktöriyel hastalıklara yol açabilmektedirler. Hastalık oluşumunda KSD'ler kodlama dizisine direkt etki ederek gen

fonksiyonunu bozabilmektedirler. Ancak kodlama yapmayan bölgelerde yer alan KSD'lerin de fonksiyonel etkisi olabilmektedir. Postnatal otizm spektrum bozuklukları, öğrenme güçlüğü, bilişsel yetersizlik ve dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu gibi bir çok sendrom KSD'lerle ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda KSD'lerin hastalık oluşumunda etkisini lokus heterojenitesi, allelik heterojenite, klinik heterojenite, penetrans yokluğu, ekspresivite değişkenliği ve yaş gibi faktörler de etkileyebilmektedir (4).

Genomdaki varyantlar klinik etkilerine göre 5 grupta değerlendirilmektedir: Patojenik, olası patojenik, etkisi bilinmeyen değişim (variant of uncertain significance, VUS), olası benign, benign. Herhangi bir mikroleksyon ve mikroduplikasyon sendromuyla ilişkili önceden bildirilmiş bir bölgedeki varyantlar patojenik olarak değerlendirilmektedir. Klinik ile ilişkilendirilmiş genlerin daha önceden bildirilmemiş olan varyantları olası patojenik olarak değerlendirilmektedir. Önceden bildirilmemiş ve klinik etkisi bilinmeyen varyasyonlar ise VUS olarak tanımlanmaktadır. Bilinen genlerdeki polimorfik olarak kabul edilen varyasyonlar benign olarak değerlendirilmektedir.

Klinik etkilerinin yanı sıra bu varyasyonların *de novo*, ebeveynin soy hattından ya da mitotik bölünmedeki hatalardan kaynaklandığının bilinmesi genetik danışma için oldukça kritiktir (4). Aynı zamanda aynı bölgede olan delesyon ve duplikasyonların sonuçları farklı olabileceğinden ötürü değişim türüne dikkat etmek gerekmektedir. Örnek olarak duplikasyonu benign olarak kabul edilen bir bölge haployetersiz olabilmekte ve delesyonu patojenik sonuç verebilmektedir.

2.3.1.1. KSD Patojenite skorlaması

Kopya sayısı varyasyon sınıflandırması için aynı zamanda bir derecelendirme yapılmaktadır. 0,15/-0,15 destekleyici kanıt olarak kabul edilirken, 0,30/-0,30 orta derece kanıt, 0,45/-0,45 güçlü kanıt, 0,90/-0,90 oldukça güçlü kanıt olarak kabul edilmektedir (Tablo 2-3) (34) (35).

Tablo 2-3: KSD'lerin klinik etkilerinin sınıflandırması ve açıklaması (34) (35)

Patojenik	KSD birbirlerini destekleyen çeşitli literatürlerde patojenik etkileri kesin gösterilen genleri içeriyorsa patojenik kabul edilmektedir. En az %99
-----------	--

	kesinliği olması gerekmektedir.
Olası Patojenik	Olası patojenik varyantlar çeşitli sebeplerle patojenik olduğu düşünülen VUS'lardır. Bu sebepler VUS kalıtsal olarak gösterildiyse ve aynı fenotiple etkilenmiş bir ebeveyn var ise, <i>de novo</i> mutasyon bölgesi aynı bölge ve aynı fenotiple literatürde yayınlandıysa olası patojenik kabul edilmektedir. Aynı fenotipe sahip aile üyelerinde lokus heterojenitesine dikkat etmek gerekmektedir. Bu sebeple ebeveyndeki mutasyonu keşfetmek ve mümkünse birden fazla aile üyesine test yapmak önemlidir. 0,90 – 0,98 aralığında olması gerekmektedir.
VUS	VUS'lar klinik önemi belirsiz varyasyonlardır. Etkisi henüz tam bilinmeyen genleri içeren bölgeler ve birbiriyle çelişen literatüre sahip bölgeler VUS olarak tanımlanmaktadır. Klinik olarak VUS'un <i>de novo</i> ya da kalıtsal olduğunu ayırt etmek oldukça önem taşımaktadır. -0,89 ve 0,89 aralığındadır.
Olası Benign	Varyasyonun polimorfizm olarak kabul edilecek kadar yeterli literatürde yayınlanmamış olması ve patolojik gen içermese de boyutunun fazla büyük olmasından kaynaklı olmaktadır. Aynı zamanda kalıtsal VUS'u olanlarda ebeveyn etkilenmemiş ise VUS olası benign olarak kabul edilmektedir. Ancak etkilenmemiş ebeveyne göre karar vermek de penetrans eksikliği, ekspresivite değişkenliği, allelik heterojenite, X kromozom kökenli ve annede X inaktivasyonu gibi sebeplerden dolayı risklidir. Penetrans eksikliği hastalıkla ilgili genotipe sahip olmasına rağmen bireyin fenotipte bunu göstermemesi durumudur. Ekspresivite değişkenliği ise hastalık ilişkili genotipin farklı fenotiplere yol açabilmesi durumundan kaynaklanmaktadır. Allelik heterojenite aynı lokusta oluşan farklı mutasyonların X inaktivasyonu dozaj aşımı olmaması amacıyla dişilerde iki X kromozomundan birinin rastgele inaktif hale gelmesi durumudur. X inaktivasyonu sonrası yalnızca psödogenler aktif kalmaya devam etmektedir. Bu psödogenler Y kromozomu ile ortak bölgelerdir. -0,90 ve -0,98 aralığındadır.
Benign	Literatürde benign olduğu gösterilmiş, polimorfik kabul edilen varyantlar bu gruba dahil olmaktadır. En az -0,99 olması gerekmektedir.

Patojenik varyantlar için kriterler çok güçlü (PVS1), güçlü (PS1-4), orta (PM1-6) ve destekleyici (PP1-5) olmak üzere ayrılmaktadır. Benign varyantlar için kriterler bağımsız (BA1), güçlü (BS1-4) ve destekleyici (BP1-6) olarak ayrılmaktadır (Tablo 2–4) (36).

Tablo 2-4: KSD’lerin patojenik ve benign sınıflandırılması (36)

Patojenik	<u>Cok güçlü:</u> • PVS1: hastalıkta fonksiyon kaybının bilindik bir mekanizma olduğu bir gende gerçekleşiyorsa <u>Güçlü:</u> • PS1: nükleotid değişiminden bağımsız önceden patojenik varyant olarak bildirilmiş aynı aminoasit değişimi • PS2: Aile hikayesi olmayan hastada <i>de novo</i> değişim • PS3: Gende ya da gen ürününde zarar verici etkiyi destekleyen fonksiyonel çalışmalar • PS4: Etkilenen bireylerdeki varyant prevalansı kontrol gruplarındaki prevalansa göre artmış bulunmaktadır. <u>Orta:</u> • PM1: Mutasyonel açıdan bir hot spot bölgesinde ya da kritik ve iyi bilinen bir fonksiyonel bölgede bulunuyorsa • PM2: Kontrol gruplarında bulunmuyorsa • PM3: Çekinik hastalıklarda patojenik varyanta trans konumda tespit edildiyse • PM4: Çerçeveve tekrar bölgesi dışında delesyon/insersiyon sonucu ya da hasar yüzdesi fazla olan varyantlardan kaynaklı protein uzunluğunda değişim sonucu • PM5: Önceden farklı yanlış anlamlı bir mutasyonun patojenik olarak saptandığı bir aminoasit dizisinde yeni yanlış anlamlı mutasyon • PM6: Annelik ya da babalık konfirme edilmeden <i>de novo</i> farz edilenler <u>Destekleyici:</u> • PP1: Hastalığa sebep olduğu bilinen bir gende birden fazla etkilenmiş aile üyelerinde hastalığın kosegregasyonu • PP2: Benign yanlış anlamlı varyasyon için düşük oranı olan bir gende yanlış anlamlı mutasyon ve yanlış anlamlı varyantların hastalığın bilindik bir mekanizmasının bir arada bulunması • PP3: Gen ya da gen ürününde zararlı etki olduğunu gösteren birçok hesaba dayalı kanıt
-----------	---

	• PP4: Tek genetik etyolojisi olan bir hastalık için hasta tipinin ya da aile hikayesinin fazla spesifik olduğu durumlar • PP5: Saygıdeğer bir kaynak yakın zamanda bir varyantı patojenik olarak raporlarsa ancak laboratuvarın bireysel değerlendirmesi için yeterince kanıt bulunmuyorsa
Benign	<u>Bağımsız:</u> • BA1: Allel frekansı %5'ten fazlaysa <u>Güçlü:</u> • BS1: Allel frekansı hastalık için beklenenden fazlaysa • BS2: Erken yaşta tam penetrans ile homozigot resesif, heterozigot dominant ve X'e bağlı hemizigot hastalıkları için sağlıklı yetişkin bireyde gözlenirse • BS3: Protein fonksiyonunda ya da birleşmede zarar verici etkisinin olmadığını gösteren iyi bilinen fonksiyonel çalışmalar varsa • BS4: Bir ailenin etkilenen bireylerinde segregasyon olmaması <u>Destekleyici:</u> • BP1: Genellikle hastalığa kısaltma varyantlarının yol açtığı bir gende yanlış anlamlı mutasyon • BP2: Tam penetranslı dominant bir gen ya da hastalık için patojenik olan bir varyantla trans şekilde ya da herhangi bir kalıtım modelinde patojenik saptanan varyantla cis şeklinde gözlenirse • BP3: Bilindik fonksiyonu olmayan tekrar bölgesinde çerçevede delesyonlar/insersiyonlar • BP4: Gen ya da gen ürünüde herhangi bir etki olmadığını doğrulayan çeşitli işlemsel kanıt • BP5: Bir hastalık için alternatif moleküler zemini olabilecek bir vakada varyant bulunması • BP6: Saygıdeğer bir kaynak yakın zamanda bir varyantı benign olarak raporlarsa ancak laboratuvarın bireysel değerlendirmesi için yeterince kanıt bulunmuyorsa • BP7:Regülatör dizilerin yakınlığına ve boyutuna bağlı olmaksızın gen ürünüde herhangi bir değişime yol açmayan sinonim mutasyonlar

2.3.2. KSD Oluşumundan Sorumlu Mekanizmalar

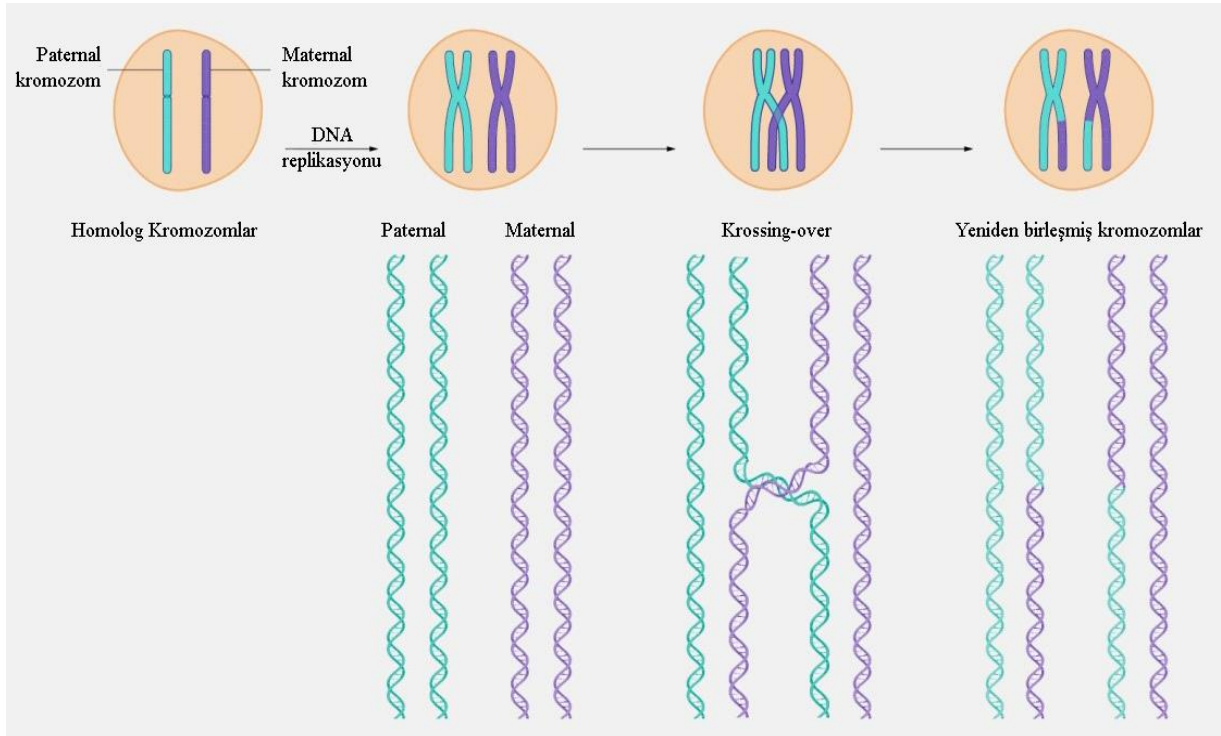
Kopya sayısı varyasyonlarına oluşumuna neden olan mekanizmaların büyük çoğunluğu DNA'da meydana gelen rekombinasyon, replikasyon ve tamir mekanizmalarında oluşan hatalarla meydana gelmektedir. Genellikle rekombinasyon ve replikasyonda oluşan hatalar DNA tamir mekanizması ile düzeltilmektedir. Ancak bazen DNA tamir mekanizmasında da

hatalar meydana gelebilmektedir. DNA tamiri sırasındaki hatalar özellikle NAHR mekanizmasında rol oynamaktadır. Ayrıca, aşağıda sıralan mekanizmalar da KSD oluşumunda rol oynamaktadır (1, 10, 37).

1. Non-alleliek homolog rekombinasyon (non-allelic homologous recombination; NAHR)
2. Non-homolog uçların birleşmesi (non-homologous end joining; NHER)
3. Replikasyon kayması (replication slippage)
4. Tek zincir birleşmesi (SSA) yer almaktadır. Bu değişimlerin yaygın olduğu yerler genom boyunca değişim gösterebilmektedir.

DNA Tamir Mekanizması

Kopya sayısı varyasyonlarının başlıca sebeplerinden biri DNA tamir mekanizmasında oluşan hatalardan kaynaklıdır. DNA replikasyonunu kontrol amaçlı ve DNA çift zincirinde meydana gelen kırıkların tamir edilmesi amacı ile bazı kontrol noktaları ve metabolik yollar evrimleşmiştir. Replikasyon sürecinde oluşan hatalar normalde DNA proofreading denilen bu mekanizmayla tespit edilip, onarılmaktadır. DNA’da gerçekleşen bu kırıklar tespit edildiğinde hücre bölünmesi M fazında durdurulmaktadır. Hasar tamir edildiğinde DNA replikasyonu kaldığı yerden devam etmektedir. Tamir edilemeyecek kadar büyük bir DNA hasarı olduğunda ise apoptotik hücre ölümü gerçekleşmektedir. DNA tamir mekanizmaları yaygın olarak homolog olmayan uçların birleşmesi ve homolog rekombinasyon şeklinde olmaktadır. Homolog rekombinasyon mayozda gamet üretiminde ve DNA tamir sürecinde rol oynayan bir mekanizmadır. Homolog rekombinasyon genellikle DNA’nın çift zincirinde meydana gelen kırılmaları tamir amaçlı hücreler tarafından kullanılmaktadır. Homolog rekombinasyon için genellikle prokaryotlarda *RecA* ve ökaryotlarda *Rad51* isimli proteinlere ihtiyaç duyulmaktadır. Replikasyon hatalarının dışında hücrelerin her birinde depürinasyon, deaminasyon, demetilasyon gibi kimyasal olaylar da rastgele şekilde gerçekleşebilmektedir. DNA proofreading aşamasındaki hatalardan kaynaklı KSD oluşumu gerçekleşmektedir (38).



Şekil 2-24: Paternal ve maternal homolog kromozomlarda crossing over (39)

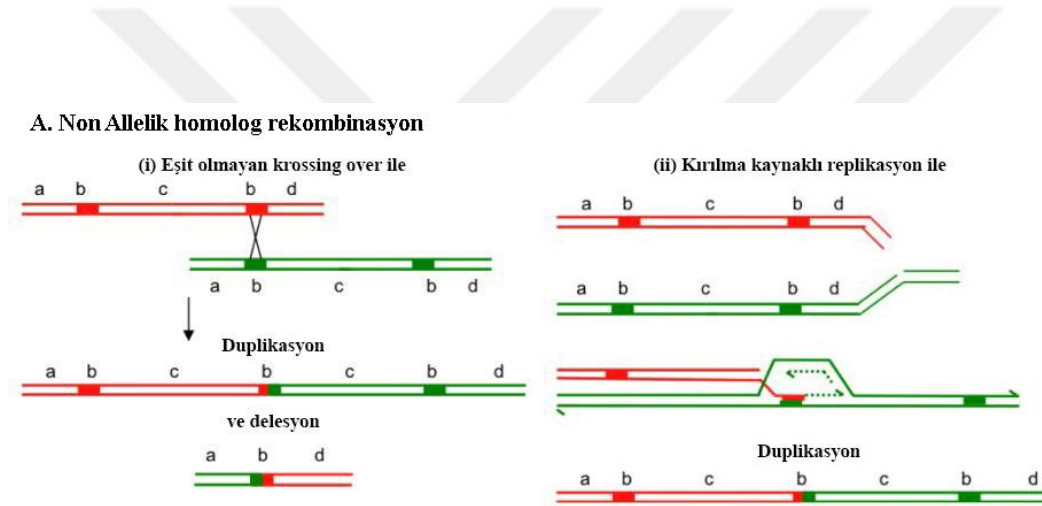
Mayozda meydana gelen crossing-over doğru bir kromozom ayrışması açısından önem taşımaktadır. DNA sarmalı açılır ve homolog zincir kalıp olarak kullanılmaktadır. Mekanizma, evrimsel açıdan korunmuştur ve genom bütünlüğü için önemlidir.

Kopya sayısı varyasyonları hem delesyon hem duplikasyon şeklinde görülmektedir. Delesyon türündeki KSD'ler işlev kaybına yol açabilmektedir bu nedenle de fenotipik etkilenme ağır olabilmektedir. Duplikasyonlar genelde delesyonlardan daha zararsız olsa da dozaja duyarlı genleri etkilediklerinde oldukça zararlı olabilmektedir. KSD'lerin oluşumunda da farklı replikasyon ve onarım mekanizmalarının yer aldığı gösterilmiştir (33).

2.3.2.1. Non-Allelik Homolog Rekombinasyonlar (NAHR)

İnsanlarda KSD'lerin oluşumundaki en yaygın mekanizma non-allelik homolog rekombinasyonlardır (9). Bunun sebepleri arasında memeli hücrelerinde tekrar dizilerinin yaygınlığı düşünülmektedir. Rekombinasyona dayalı çift zincirli kopma onarımı sırasında DNA onarımından veya mayoz sırasında anormal homoloji oluşumundan kaynaklanan eşit olmayan değişimdir (Şekil 2–25). Tekrar bölgelerinde yaygındır ve tekrar dizileri arasında karşılıklı delesyona neden olmaktadır. Önemli bir tandem çoğaltma ve silme kaynağıdır (33).

Holliday junction'da eşit olmayan krossing-over sonucu homolog kromozomlar arası gen alışverişi sonucu iki homolog kromozomda da DNA'nın belli bölgesi tekrar edilmektedir. Tekrar bölgeleri ayrılamadığından bu şekilde kalıtılmaktadırlar.

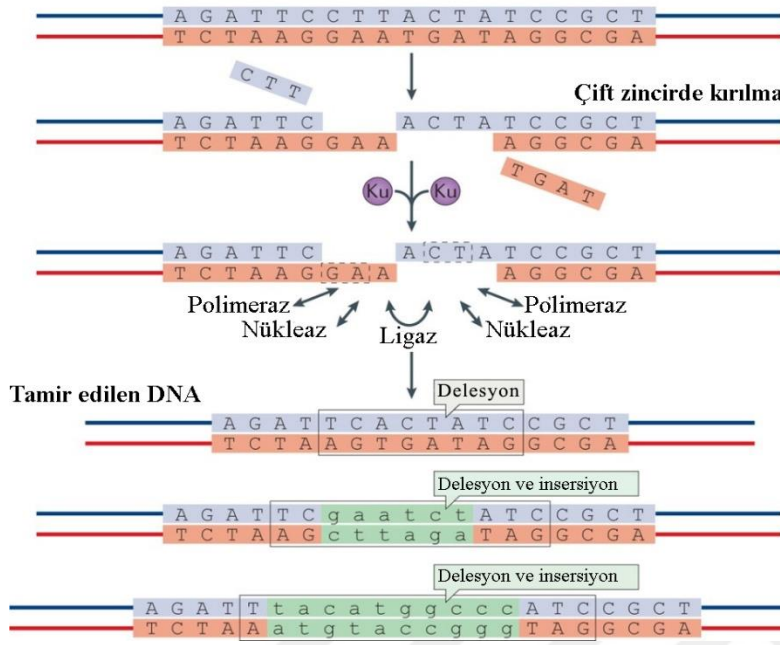


Şekil 2-25: Non allelik homolog rekombinasyonlarının gösterimi (40)

2.3.2.2. Homolog olmayan uçların birleşmesi (NHEJ)

Kromozomal ayrılma hataları zayıf ya da tamamen inaktif mitotik kontrol noktalarından kaynaklıdır. Kromozomda ayrılma hatası olduğunda bir yavru hücrede kromozomun bir kopya eksik olmaktadır, diğerinde ise fazla kopya olmaktadır. Mitotik kontrol noktaları aktif değilse iki yavru hücrenin ayrı bir kromozom seti vardır. Her iki kutuptan gelen mikrotübüller bir kinetokora bağlandıklarında dengesiz kromozomal ayrışma meydana gelmektedir. Telomeraz olmadığında ya da işlevsiz olduğunda kromozomal uçlar

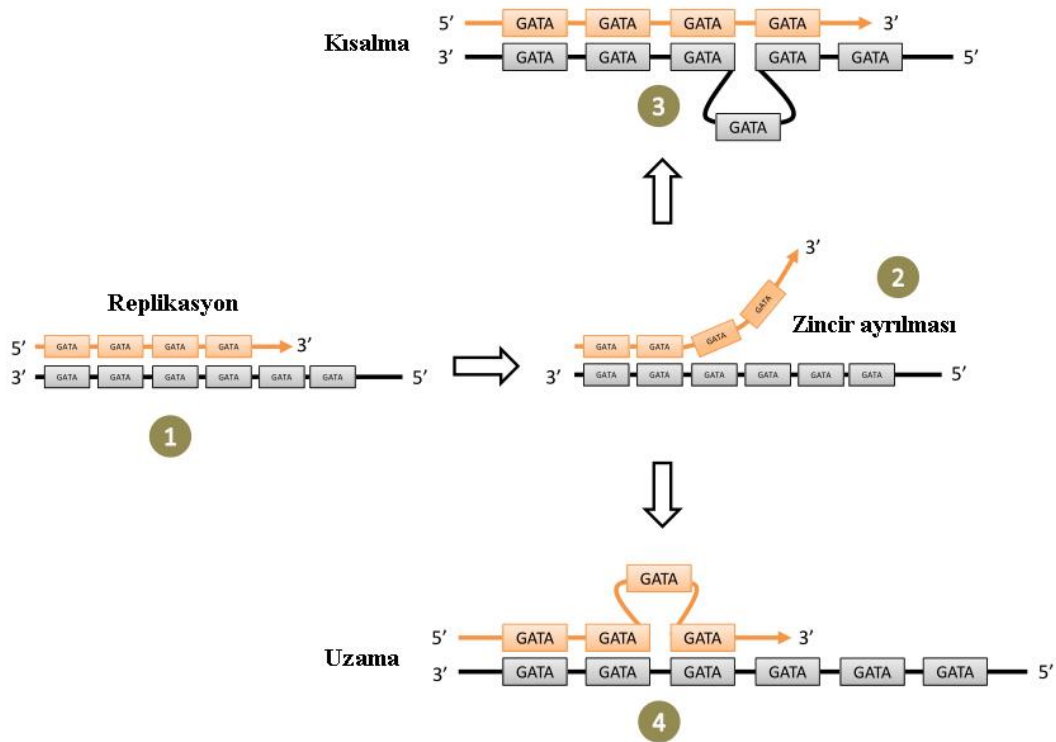
açılmamaktadır. Bu olay ile NHEJ DNA onarım mekanizması aktive olmaktadır. İki kromozom arasında telomer füzyonu olur ve disentrik kromozom gelişmektedir (Şekil 2–26).



Şekil 2-26: DNA’da homolog olmayan uçların birleşmesinin gösterimi (41)

2.3.2.3. Replikasyon Kayması (Replication Slippage)

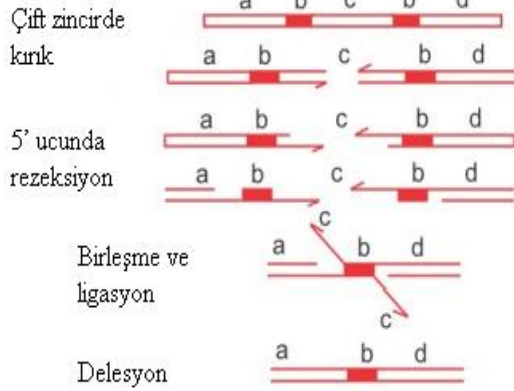
DNA sentezi sırasında DNA zincirlerinin replikasyon çatalında baz çiftlerinin yanlış eşleşmesinden kaynaklı ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde kalıp DNA’nın belli bölgeleri daha kısa kopyalanarak delesyon ya da daha uzun kopyalanarak duplikasyon oluşmaktadır (Şekil 2–27). Genellikle replikasyon kayması DNA yanlış eşleşme tamir düzeneğinde tamir edilmektedir. Ancak bazen tekrar dizilerinin replikasyon bölgelerinde fazla bulunmasından kaynaklı olan yanlış eşleşme tamir mekanizmasından kaçabilmektedir.



Şekil 2-27: Replikasyon kayması ile oluşan delesyon ve duplikasyonların gösterimi (42)

2.3.2.4. Tek Zincir Birleşmesi (Single Strand Annealing, SSA)

Çift iplikte kopma onarımı sırasında, kopmanın her iki tarafındaki tamamlayıcı dizileri ortaya çıkarmak için 50 iplik kesilmektedir. Genellikle 30 baz çiftinden fazla homoloji gerektirmektedir. Bu şekilde delesyon oluşan zincirlerdeki birleşme Şekil 2-28'de gösterilmektedir.

Tek Zincir Birleşmesi

Şekil 2-28: DNA onarım mekanizması sonucu gerçekleşen tek zincir birleşmesi (40)

Ayrıca KSD oluşumunda tekrar dizileri, retrotranspozonlar da rol oynamaktadır:

Tekrar Dizileri: Frajil X ve Myotonik Distrofi gibi sendromlar tekrar dizilerindeki uzamalardan kaynaklanmaktadır. Ardışık ya da ardışık olmayan tekrar dizilerini taşıyan kardeş kromatidlerin yanlış eşleşmesi ile NAHR mekanizması tetiklenir ve bu şekilde oluşan delesyon/duplikasyon olayları ile kopya sayısı varyasyonu oluşmaktadır. Ardışık tekrar dizileri replikasyon sırasında yeni DNA zincirinin kalıp DNA'dan ayrılması ile iki zincir arası baz eşleşmesi ile DNA zincirinin uzamaya devam etmesi sonucu oluşmaktadır. Tekrar dizisinin boyutuna göre farklı mekanizmalarla varyasyonlara yol açmaktadırlar. Ardışık diziler mikrosatellitler, minisatellitler, değişken sayıda ardışık tekrar dizileri (VNTRs), rRNA genleri ve satellit DNA'dır. Ardışık olmayan diziler retrotranspozonlar, LINE, SINE, LTR elementleri ve DNA transpozonlarıdır (43).

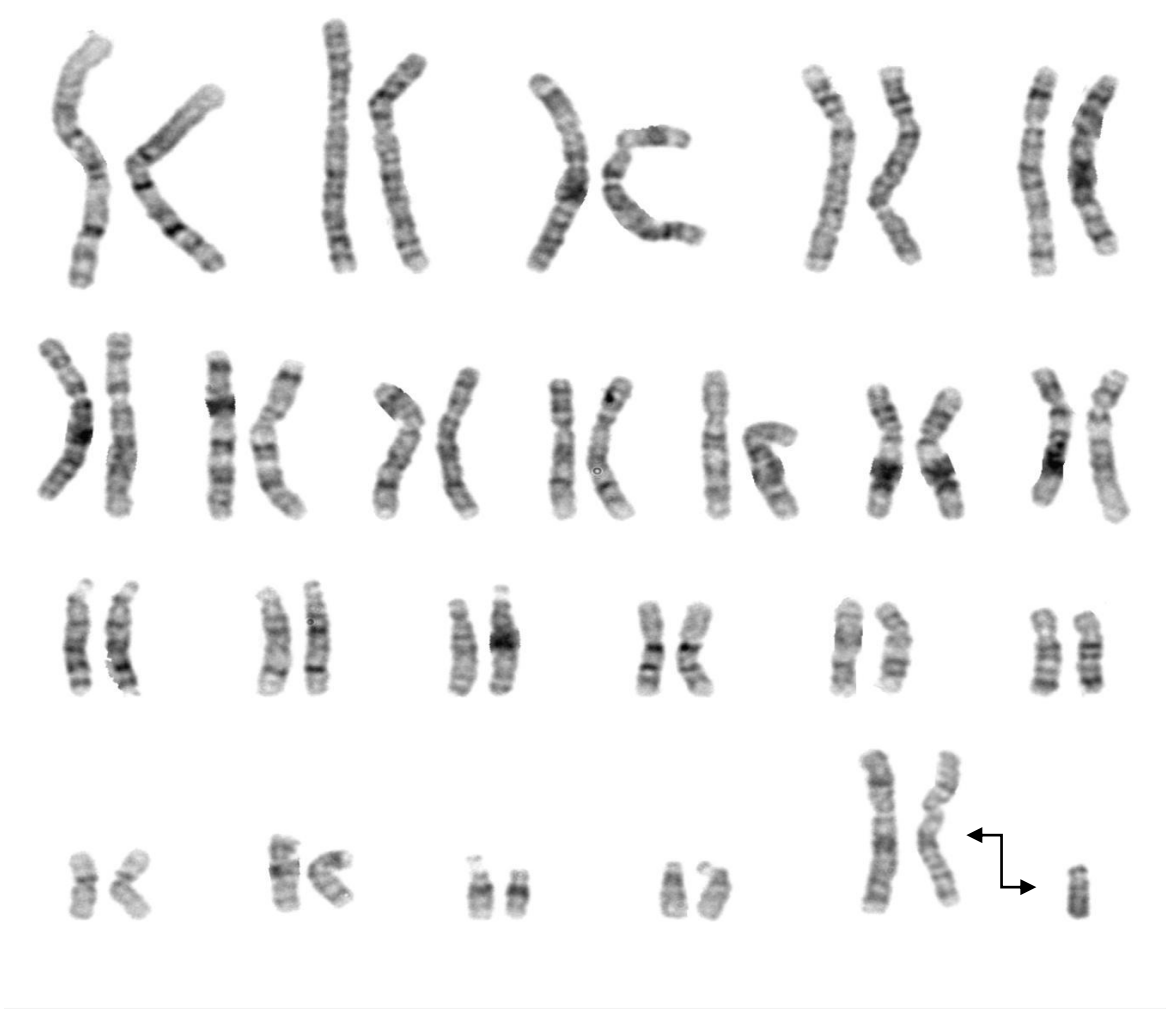
Retrotranspozonlar: Ardışık olmayan tekrar dizileridir. KSD oluşum mekanizmasında daha da az yaygın olarak retrotranspozisyonlar yer almaktadır. Genomda en çok yer değiştirebilen elementler retrotranspozonlardır. Ters kopyalanmış mRNA'dan kaynaklı genomda oluşan insersiyonlardır ve genomun bu hareketli elemanları ters transkripsiyon aracılığıyla genomun farklı bölgelerine yerleşebilmektedirler. Retrotranskripsiyona uğrayan genler aracılığı ile retrogenler üzerinden KSD'leri oluşturabilmektedir. Bu olay yeni bir fonksiyon ya da kimerik gen oluşumuna yol açmaktadır. Tüm genomda dağılmış durumda, genelde intronlarda ve UTR'lerde bulunmaktadır.

Kırılma noktalarında tekrar dizileri oldukça yaygındır. Bu tekrar dizileri düşük kopyalı tekrarlar ile SINE, LINE ve endojen retrovirüsler gibi yüksek kopyalı tekrarlar şeklinde olmaktadır. LINE’larda en sık görülen L1’dir ve SINE’larda en sık görülenler Alu elementleridir. Alu’lar genomda G-C zengin bölgelerde ve delesyon kırık noktalarında görülmektedir. Tekrar dizilerinin kırılma noktalarında yaygın görülmeleri KSD’lerin instabilitesinde önemli bir etkidir (6,9).

2.3.3. KSD’lerin Araştırılma Teknikleri

2.3.3.1. Klasik Sitogenetik Yöntemler

Kromozomların yapısal ve sayısal olarak incelendiği ve klinik ile ilişkisinin araştırıldığı genetiğin alt bilim dalı Sitogenetik olarak isimlendirilmektedir. Genetik 1800’lü yıllardan beri araştırılırken ismi ancak 1900’lerde konmuştur. Sitogenetik çalışmalar da ilk olarak 1842’de bitkiler üzerinde yapılmıştır. 1956 yılında insan karyotipinin 46 kromozomdan oluştuğu gösterilmiştir. 1959’da ilk kromozomal anomali sendromu olan Down sendromu, arkasından Turner (45,X) ve Klinefelter sendromu (47,XXY) tanısı konmuştur (Şekil 2–29).



Şekil 2-29: Klinefelter sendromu (47,XXY) karyotip görüntüsü

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

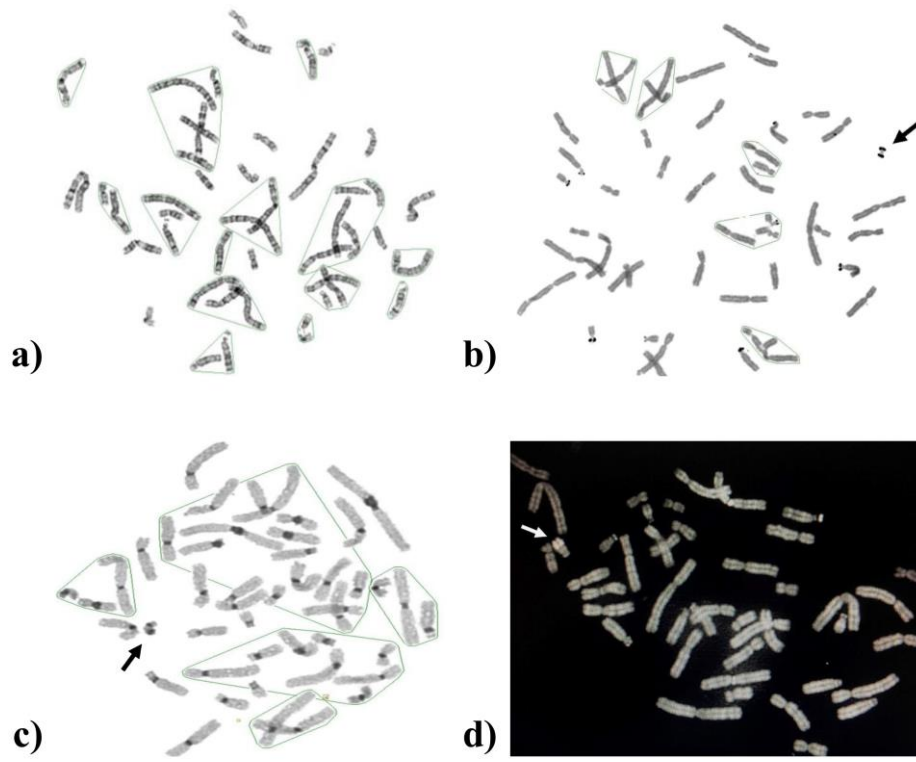
Kromozomların eldesi ve detaylı incelenebilmesi için genellikle kültür edilmeleri gerekmektedir. Klinik sitogenetikte materyale göre kısa süreli hücre kültürü, uzun süreli hücre kültürü ya da direkt preparasyon yapılmaktadır. Endikasyona uygun doku ve dokuya özgün koşullarda kültür edilerek çoğaltılan hücreler metafaz/prometafaz evresinde durdurularak preparasyon ve bantlama işlemlerinden sonra kaydedilen metafazlar analiz edilir. Karyotipleme bir hücredeki metafaz kromozomlarının homolog çiftler halinde International System for Human Cytogenomic Nomenclature (ISCN) kurallarına göre set halinde sıralanmasıdır (44). Kromozomların boyutu, sentromerleri, kolları ve bantları değerlendirilebilmektedir. Kromozom analizinde amniyon sıvısı, koryon villus materyali, fetal kan, kemik iliği, periferik kan ve plasental hücreler kullanılabilmektedir.

Kan materyallerine 72 saatlik kısa süreli hücre kültürü yapılırken, amniyon sıvısı, koryon villuslar ve plasenta gibi solid dokularda ise uzun süreli hücre kültürleri yapılmaktadır. Ancak bazı materyaller kültür yapılmadan direkt preparasyon yöntemiyle de incelenebilmektedir. Spontan mitotik aktivitesi olan koryon villus ve kemik iliği gibi dokularda direkt preparasyon yapılabilir. Direkt preparasyonda mitotik indeks ve kromozom boyutu kültürdeki kadar kaliteli olmamakla birlikte, hızlı sonuç alınmakta, sayısal anomaliler ve büyük yapısal anomaliler incelenebilmektedir. Aynı zamanda materyal kontaminasyon olasılığını dışlamak için koryon villus materyali uzun süreli kültürü yapılırken eş zamanlı çalışılması önerilmektedir.

Kromozomlar boylarına ve sentromer konumlarına göre metasentrik, submetasentrik, akrosentrik ve telosentrik olarak ayrılmaktadır. Kısa kolu hiç olmayan telosentrik kromozom insanlarda görülmez. Kromozomlar aynı zaman da daha detaylı şekilde Denver sınıflandırılmasına göre A (1, 2, 3), B (4, 5), C (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X), D (13, 14, 15), E (16, 17, 18), F (19, 20) ve G (21, 22, Y) şeklinde sınıflandırılmaktadır. Kromozom bölgelerinin detaylı şekilde incelenebilmesi için çeşitli bantlama yöntemleri geliştirilmiştir. Kromozomların bantlama teknikleri ile incelenmesi kromozom analizi olarak tanımlanmaktadır. Kromozom boyları, bant düzeyleri ve kromozom bölgeleri dikkate alınarak analiz yapılmaktadır. Araştırılacak bölgeye göre uygulanacak bantlama tekniğine karar verilmektedir (Tablo 2–5).

Tablo 2-5: Kromozom Bantlama Teknikleri

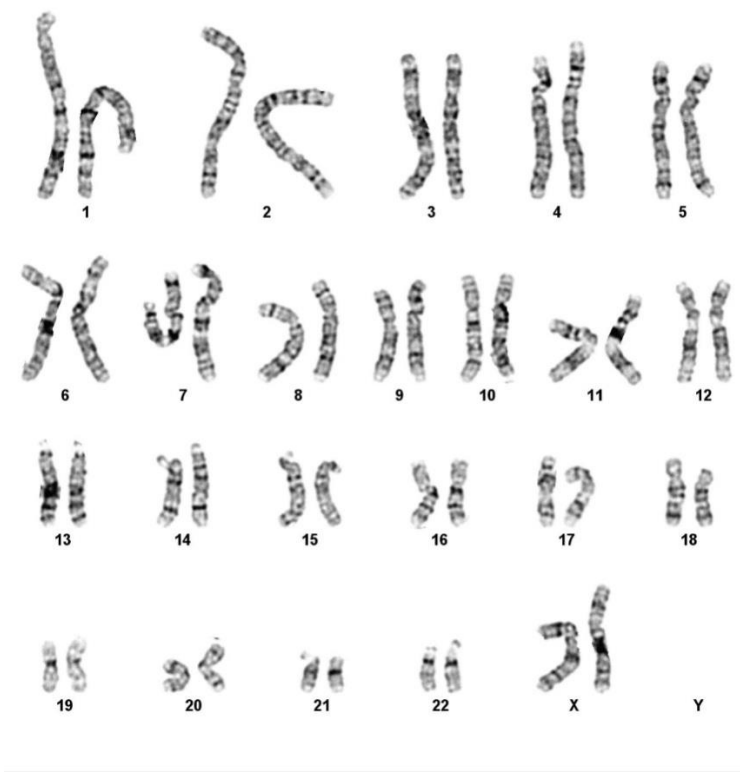
GTG Bantlama (Giemsa Pankreatin Leishman)	Genellikle en sık kullanılan bantama yöntemidir ve DNA'nın geç replike olan A-T zengin bölgeleri koyu boyanırken (heterokromatin), gen içeriği açısından zengin erken replike olan C-G bölgeleri açık renk (ökromatin) boyanmaktadır (Şekil 2-30 a).
CBG (Sentromer) Bantlama	Bu yöntem ile alfa satellit DNA içeren bölgeleri koyu boyamaktadır. Işık mikroskopuyla incelenmektedir. C bantlama ile tüm kromozomlardaki sentromerler ve heterokromatin bölgeler bantlanmaktadır. Aynı zamanda Y kromozomunun q kolunun bir kısmını da boyamaktadır (Şekil 2-30 c).
QFA bantlama (Quinacrine, floresan, atebrin)	İlk uygulanan bantlama tekniği olmakla beraber günümüzde floresan mikroskopta incelemede floresan boyaların yarılanma ömrünün kısa olması ve karanlıkta analiz etme gibi olumsuzluklar nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Giemsa yönteminin tersi şekilde heterokromatin bölgeler parlak gözükmektedir. Polimorfik bölgeler ve Y kromozomu bu yöntemle araştırılabilmektedir (Şekil 2-30 d).
NOR (Nucleolar Organizing Region)	Bu boyama tekniğinde ise gümüş nitrat ile akrosentrik kromozomların satellit bölgeleri boyanmaktadır. 13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomlarda transkripsiyonel olarak aktif RNA bölgeleri boyanır. Marker kromozomların tanımlanmasında yardımcı bir yöntemdir. Işık mikroskopunda incelenmektedirler (Şekil 2-30 d).
High Resolution Banding Technique (HRBT)	Bu yöntemde kromozomlar prometafaz evresindedir ve standart 500 bant düzeyinden fazla bant düzeyi olacağından daha küçük yapısal anomaliler fark edilebilmektedir. HRBT ile 800 bant düzeyine kadar görülmektedir (Şekil 2-31).



Şekil 2-30: Bantlama teknikleri

a) G Bantlama (Giemsa Pankreatin Leishman), b) NOR (Nucleolar Organizing Region) boyama, c) CBG (Sentromer) bantlama, d) QFA bantlama (Quinacrine, floresan, atebrin) (Ok işaretleri b) ve c) marker kromozomu, d) parlak boyanan Y kromozomunun uzun kolunu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



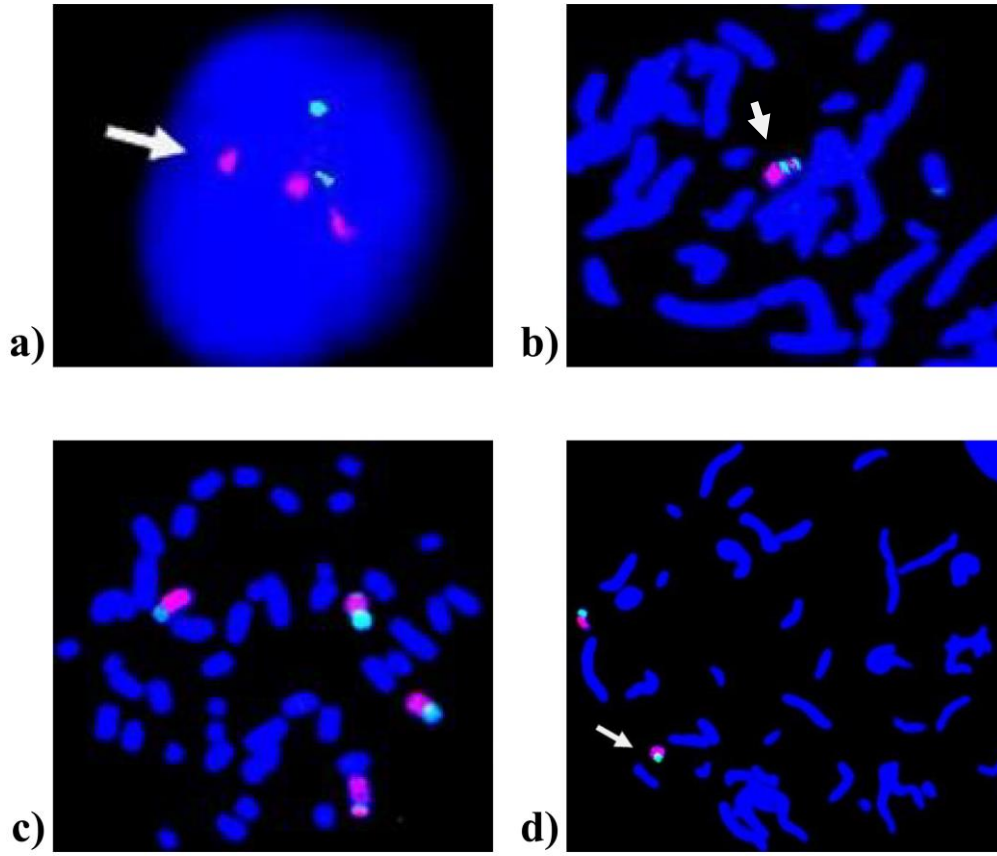
Şekil 2-31: HRBT ile çalışılmış bir olguya ait normal dişi karyotipi

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

2.3.3.2. Moleküler Sitogenetik Teknikler

Tüm bantlama yöntemlerinin kullanılmasına karşın bazı kromozom anomalilerinin tanısında yetersiz kalınması sonucu 1980’lerde submikroskopik kromozomal anomalilerin, derivatif kromozomların ya da kanser gibi kromozom elde etmenin zor olduğu dokularda hedefe yönelik analiz edebilme olanağı sağlayan Floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği kullanılmaya başlanmıştır. Floresan DNA problemleri ile hibridize edilen metafaz ya da interfaz hücreleri hibridizasyon sonrası oluşan hibrit sinyallerin floresan mikroskop altında değerlendirilerek sinyal sayısı, lokalizasyonuna göre değerlendirilmektedir. Araştırılan anomalinin ne olduğuna göre, sentromer, lokus spesifik, subtelomerik ve tüm ya da bir kromozomun p/q kollarını boyayan (painting) (Şekil 2–32) problemler de bulunmaktadır. Lokusa özgü problemler bir gen ya da gen bölgesine özel olarak tasarlanmakta ve klinik olarak mikrodelsiyon/duplikasyon tanısı alan olgularda kullanılmaktadır. Sentromerik problemler kromozomlardaki sentromerik pozisyon ya da interfaz hücrelerinde sayısal anomalileri dışlamakta, Subtelomerik problemler bu bölge yeniden düzenlenmelerinin araştırılmasında,

painting probolar ise genellikle de novo yapısal kromozom anomalilerinin aydınlatılmasında kullanılmaktadır (13).



Şekil 2-32: Farklı probolarla FISH görüntüsü

a) Interfaz FISH 3 kırmızı sinyal ile görülen Trizomi 21 FISH görüntüsü. Yeşil sinyaller 13. kromozomu kırmızı sinyaller ise 21. kromozomu göstermektedir. b) Arm spesifik probolarla işaretlenen Y kromozomunda inversiyon FISH görüntüsü. c) Arm spesifik probolarla işaretlenen 4. ve 7. kromozomlar arasında translokasyon FISH görüntüsü. d) Ring kromozom FISH görüntüsü (Ok işaretleri a) Ekstra 21. kromozom sinyalini b) Y kromozomunda inversiyon bölgesini d) ring kromozomu göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

FISH sonrasında 1990’larda CGH teknolojisi özellikle kanser genetiğinde uygulanmaya başladı. CGH tekniği test ve referans DNA’sının farklı floresan boyalarla boyanıp hibridize olduktan sonra floresan mikroskop ile incelenmesi yöntemidir. Ancak uygulamanın zorluğu, kromozomun terminal bölgelerinde hassasiyetin düşüklüğü ve rezolüsyonun yeterli olmaması

gibi sebeplerle uzun süre kullanılmamıştır. Bu teknolojiye yola çıkılarak bir slayt üzerine fikse edilen DNA'ya hibridize edilerek genomik dengesizliklerin araştırıldığı a-CGH teknolojisi kullanılmaya başlanmıştır. Hücre kültürü ve araştırılan bölgelerin önceden bilinmesi gerekmediği gibi, kilobazlar düzeyindeki değişimlerin de tespit edilebilmesi sebebiyle a-CGH oldukça avantajlı bir yöntemdir.

2.4. ARRAY TEMELLİ KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK HİBRİDİZASYON

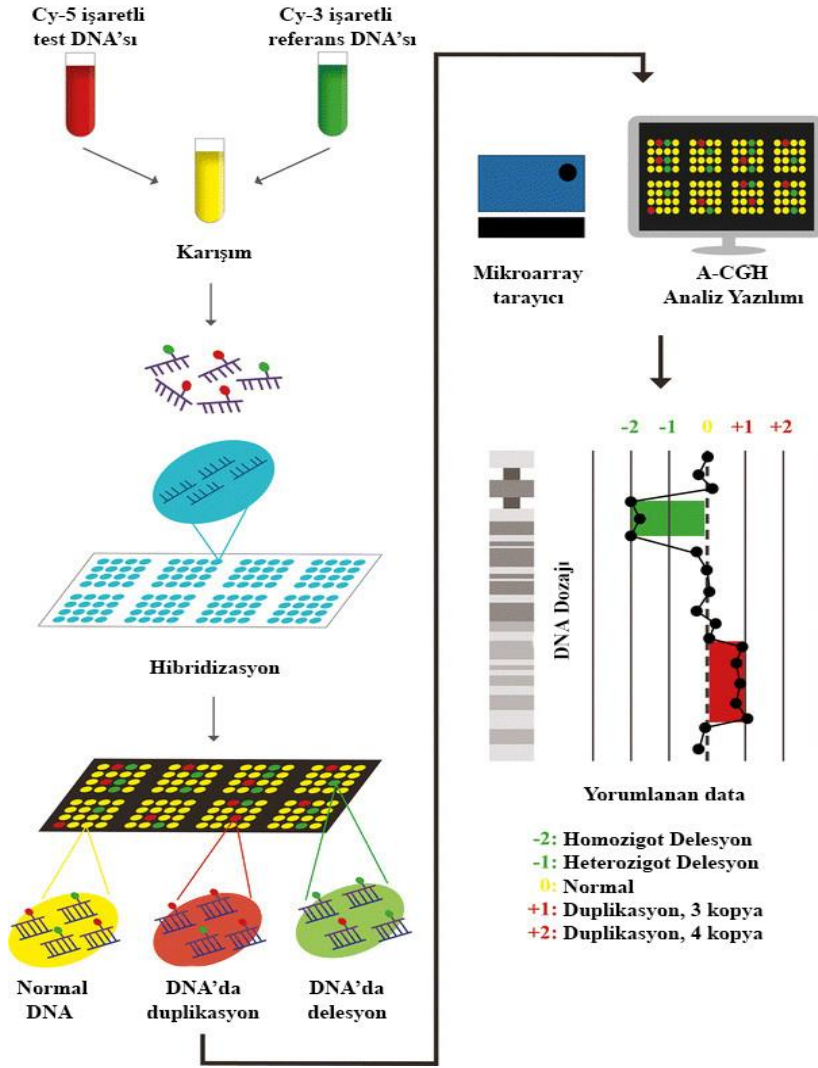
A-CGH, mikroarray ve CGH tekniklerinin birleştirilmesiyle ortaya çıkan bir yöntemdir. CGH'in yerini alan a-CGH İlk başlarda kanser, mental retardasyon ve konjenital anomalilerde uygulanan bu yöntem, prenatal çalışmalarda da uygulanmaya başlanmıştır. A-CGH genom araştırmaları, KSD tespiti, submikroskopik delesyon/duplikasyon sendromlarının analizi ve onkogen ve tümör supressör gen bölgelerinin araştırılması için kullanılmaktadır. Aynı zamanda a-CGH kopya sayısındaki değişimleri tespit ettiği gibi fenotip-genotip korelasyon çalışmaları için de tercih edilmektedir. Bu yüzden birçok konjenital anomali, öğrenme güçlüğü ve bilişsel yetersizlikle seyreden durumlarda sitogenetik yöntemlerin yanı sıra olası submikroskopik kromozom anaomalilerinin araştırılması amacıyla a-CGH yöntemi de uygulanmaktadır. International Standards for Cytogenomic Arrays (ISCA) konsorsiyumu, konjenital anomalili ve entelektüel yetersizliği olan hastalarda a-CGH'in ilk aşama testi olması gerektiğini belirtmiştir (7).

A-CGH genomdaki submikroskopik delesyon ve duplikasyonları tespit etmek amaçlı kullanılmaktadır. A-CGH ile tüm genom analizi ve problemlerin kapsadığı oranda spesifik gen bölgelerinin analizi yapılabilmektedir. Bu yöntem ile tüm genom tek testle ve kısa sürede incelenebilmektedir. Rezolüsyonu konvensiyonel 5-8 Mb arası büyüklüğünde incelemeyi mümkün kılan G bantlamadan çok daha fazladır. Array formatı ve kullanılan problemlerin kapsama alanına bağlı olarak çözünürlüğü değişmektedir. Problemlerin uzunluğu, aynı gen bölgesine bağlanan prob sayısı, problemlerin birbiri ile örtüşmesi çözünürlük açısından önem taşımaktadır. Yüksek çözünürlüklüdür ve yaklaşık 1 kb'a kadar olan KSD'ler tespit edilebilmektedir (45).

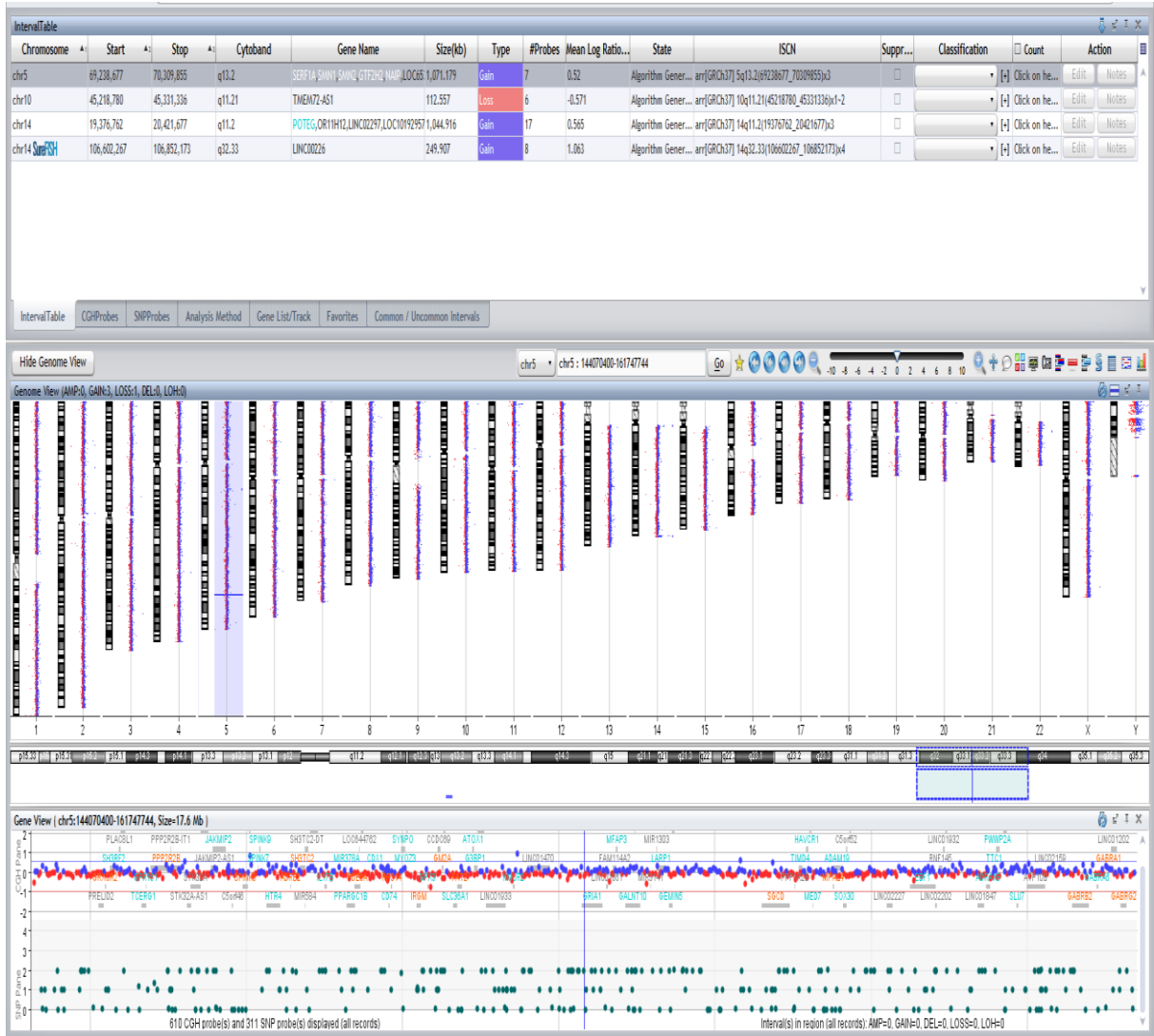
A-CGH tekniğinde normal referans genom ile hasta genomu karşılaştırmalı olarak analiz yapılmaktadır. Referans genom insan genom projesi sırasında standart bireylerden elde edilen rastgele genom dizileridir. Hasta DNA'sı ve referans DNA'sı farklı floresan boya ile işaretlendikten sonra eşit oranda birleştirilirler ve array üzerindeki problemler ile hibridize olurlar. Taranan dizide herhangi bir değişim yoksa eşit derecede yeşil ve kırmızı sinyal

olacağı için, sarı sinyal gözükmemektedir. Duplikasyon olan durumlarda daha çok hasta DNA'sının boyasından kaynaklı yeşil renk yoğun gözükürken, delesyon olan durumlarda daha çok kırmızı renk yoğun gözükmemektedir (Şekil 2-33). Standart sapmanın fazla olmaması için kullanılan prob ve cot-1 oranı da önemlidir. Problar genomdaki tekrar dizilerini içerebilmektedir. Bu sebeple a-CGH'de prob ile hibridizasyon aşamasından önce hedef DNA ticari satılan Cot-1 DNA ile birleştirilmektedir. Cot-1 DNA tekrar dizileriyle hibridize olup, tekrar dizilerinin kapanmalarını sağlamaktadır ve cross hibridizasyonu kısıtlayarak arka plan kirliliğinin oluşumunu engellemektedir. Cot-1 yetersizliği de fazlalığı da standart sapmada artışa yol açmaktadır.

Analiz programı hasta ve referans genomu arasındaki sinyal yakınlığını yansıtan log2 oranını vermektedir. Prob düşen tüm bölgeler için bir log2 oranı vardır ve log2 oranının 0 olması iki genomun sinyallerinin arasında yoğunluk farkı olmadığı ve o bölgede değişim olmadığı anlamına gelmektedir. Bu sebeple normalde log2 oranının sıfıra yakın olması beklenmektedir. Analizlerde log2 değeri 0.5/-0.5 dışında değerlendirilmeye başlanmaktadır. Artan log2 artış, azalan log2 kayıp şeklinde değerlendirilmektedir. Log2 oranı için araştırılan bölgeye düşen problemlerin değerlerinin ortalaması alınmaktadır. Bu değer LOH bölgelerinde 0'dan çok daha fazla uzaklaşarak çıkmaktadır. Bu değerlendirme metilasyon arrayde 0/1 şeklinde gerçekleşmektedir. Şekil 2-34'de normal a-cgh olgusunun görüntüsü, Şekil 2-35'de delesyonlu olgunun a-cgh görüntüsü, Şekil 2-36'da duplikasyonlu olgunun a-cgh görüntüsü, Şekil 2-37'de aynı kromozomda delesyon ve duplikasyona sahip olgunun a-cgh görüntüsü, Şekil 2-38'de farklı kromozomlarda delesyon ve duplikasyona sahip olgunun a-cgh görüntüsü gösterilmektedir.



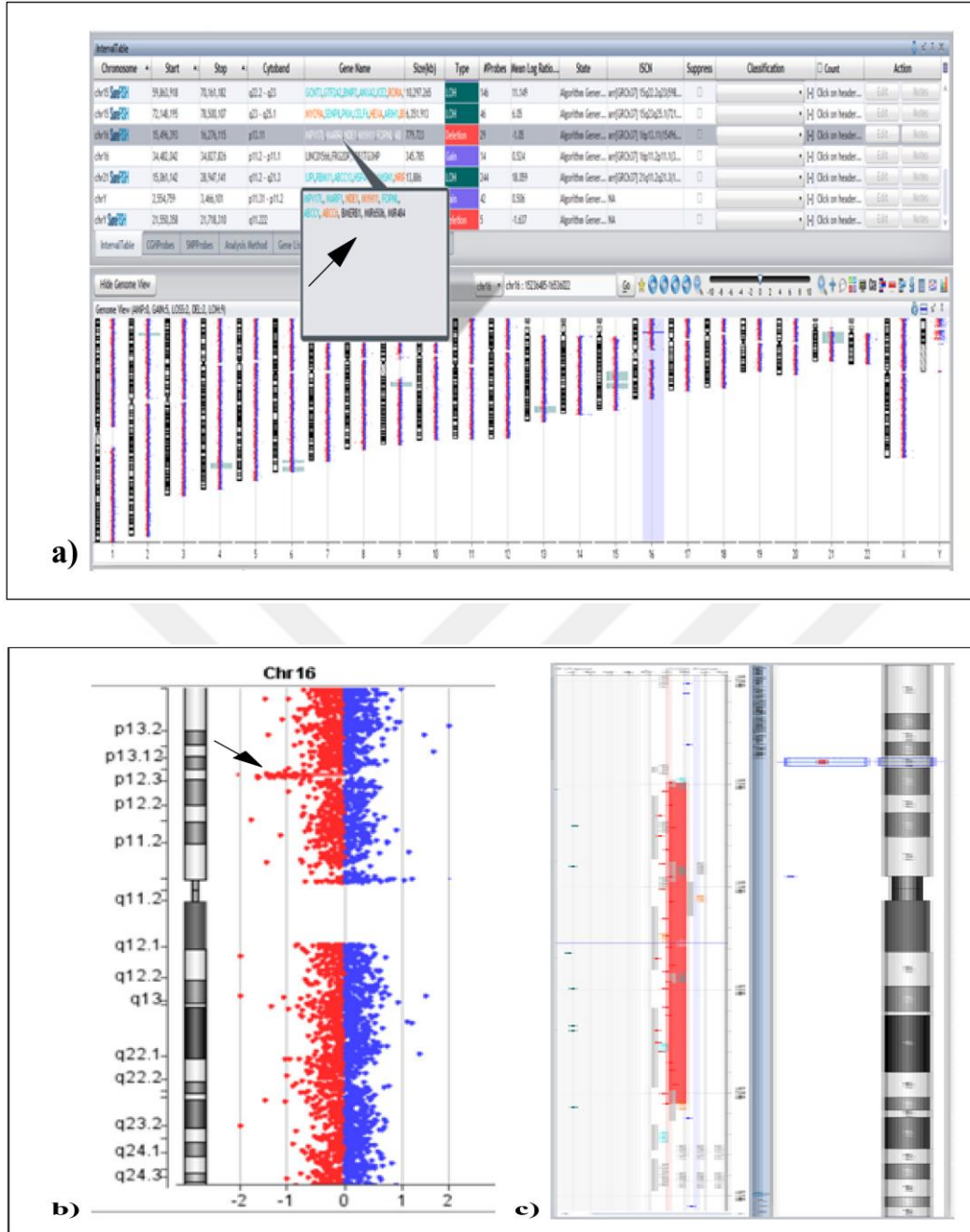
Şekil 2-33: a-CGH akış ve analiz şeması (46)



Şekil 2-34: Normal hastada array-CGH analiz görüntüsü

Sırasıyla kromozom, başlama kodonu, bitiş kodonu, kromozom bantı, yer alan genler, boyut, değişim tipi, bağlanan prob sayısı, log2 ratio değeri ve nomenklatür gösterilmektedir.

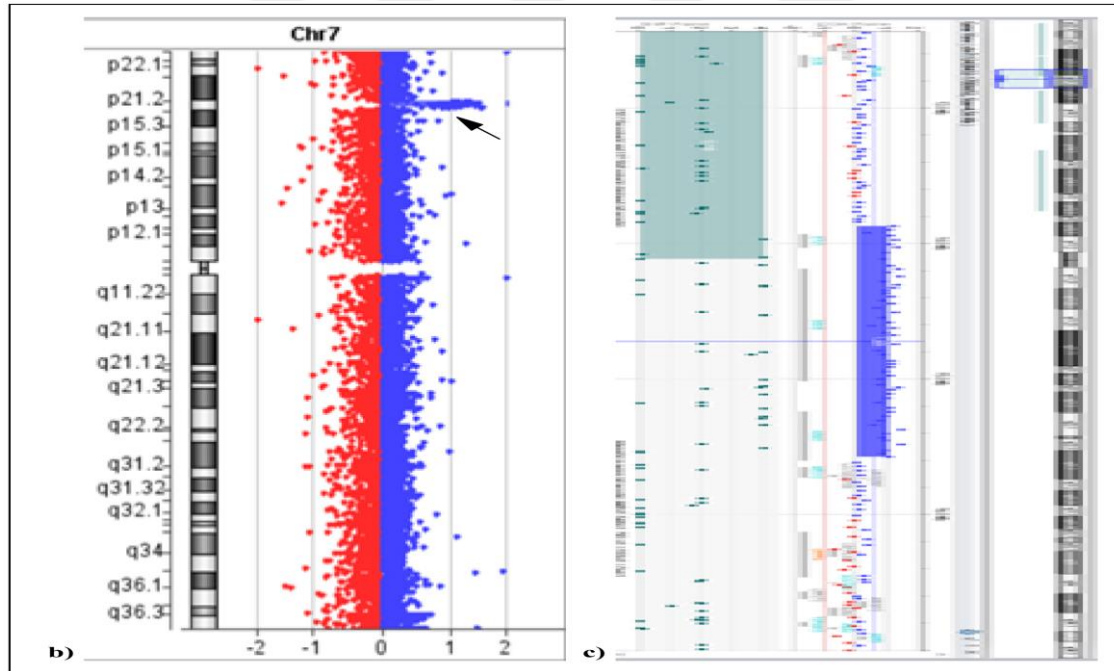
(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-35: Cytogenomics programında delesyonlu olgu görüntüsü

a) 16. kromozomda p13.11 bandının delesyon bölgesinde bulunan genlerin a-CGH analiz programında görüntüsü. Patojenik ilişkisi bilinen genler kırmızı gösterilirken, kesin patolojik olmayan genler mavi renkle gösterilmektedir b) 16. kromozomdaki delesyon bölgesinin prob dağılımı ve problemlerin -1'e yaklaşımının detaylı görüntüsü c) 16. kromozomda p13.11 bandının delesyon bölgesinde bulunan problemlerin dağılımının a-CGH analiz programında görüntüsü (Okla a) Patojenik ilişkisi bilinen kırmızı renklendirilen genleri ve kesin patolojik olmayan mavi renk genleri b) Delesyon bölgesini göstermektedir)

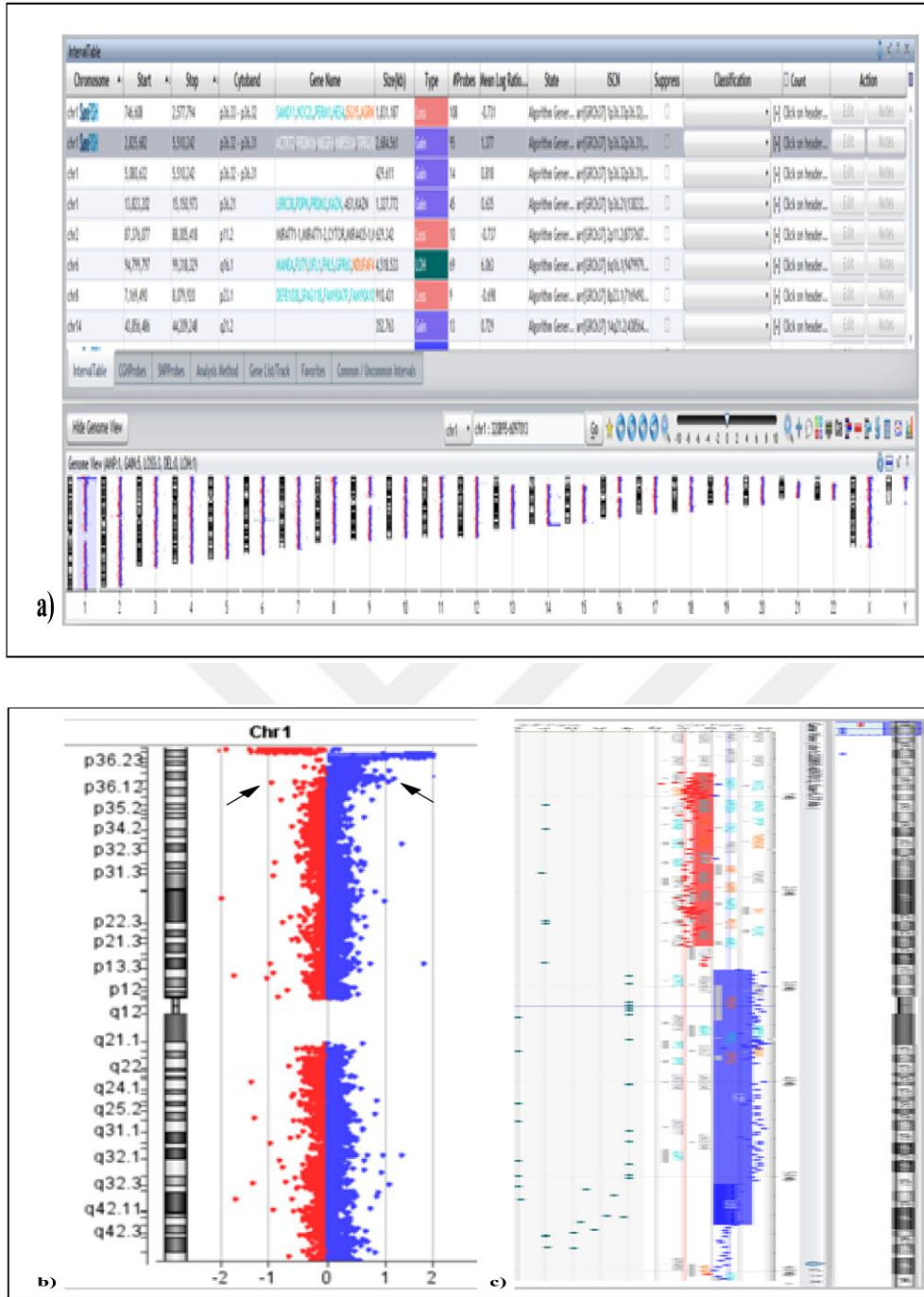
(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-36: CytoGenomics programında duplikasyonlu olgu görüntüsü

a) Duplikasyona sahip bir hastanın kromozomlarının CytoGenomics programında analiz görüntüsü b) 7p21.2 bölgesinde 1.7 Mb büyüklüğünde homozigot parsiyel tetrazomi, c) bölgedeki prob dağılımını göstermektedir. (Ok duplikasyon bölgesini göstermektedir)

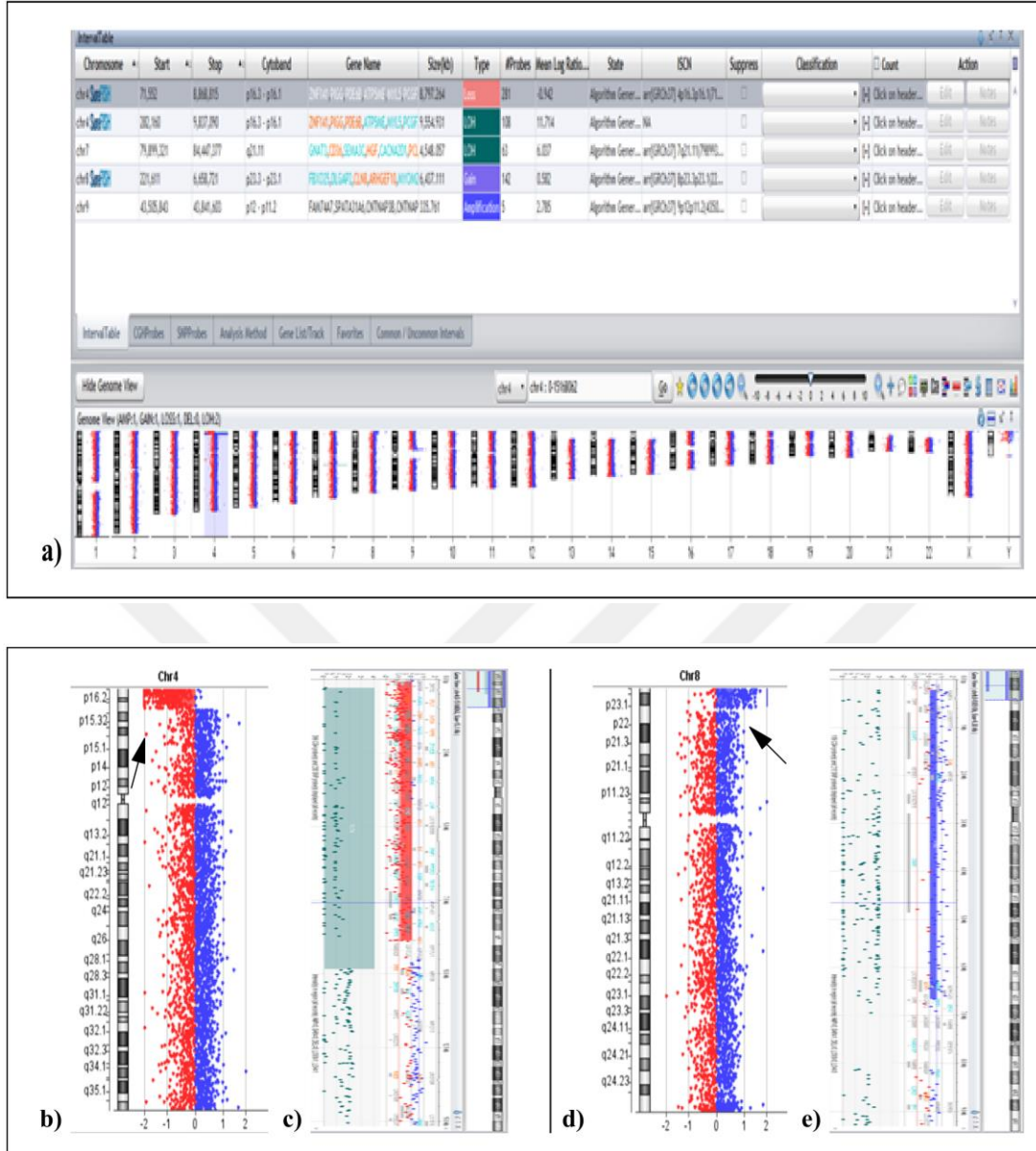
(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-37: Aynı kromozomunda farklı değişimler bulunan olgu görüntüsü

a) Aynı kromozomunda delesyon ve duplikasyon saptanan bir hastanın CytoGenomics programında analiz görüntüsü b) 1p36.33p36.32 bölgesinde 1.8 Mb büyüklüğünde bir delesyon ve 1p36.32p36.32 bölgesinde 2.7 Mb büyüklüğünde bir duplikasyon c) Bölgelerdeki prob dağılımı ve bulunan genler

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-38: Farklı kromozomunda farklı değişimler bulunan olgu görüntüsü

a) Farklı kromozomlarında delesyon ve duplikasyon saptanan hastanın CytoGenomics programında analiz görüntüsü b) 4p16.3p16.1 bölgesinde 8.797 Kb büyüklüğünde delesyon c) Delesyon bölgesindeki prob dağılımı d) 8p23.3p23.1 bölgesinde 6.437 Kb büyüklüğünde duplikasyon e) Duplikasyon bölgesindeki prob dağılımı (Oklar b) Delesyon bölgesini c) Duplikasyon bölgesini göstermektedir)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

2.4.1. A-CGH ve Heterozigosite Kaybı

Heterozigosite kaybı (LOH) allellerden birinin kaybı sonucu oluşmaktadır. A-CGH’de LOH bölgeleri SNP problemlerinin kullanımıyla üç durumda gözükmemektedir.

- Akralılık durumu
- Delesyon olan kromozom bölgesinin yanı sıra
- Kanseri
- UPD

Çiftlerin akrabalık durumlarında eşler çok sayıda ortak alleli taşıdıklarından LOH’lar olmaktadır (Şekil 2–39). LOH oranı akrabalık derecesine göre değişmektedir. Delesyonlarda allel kaybı olması sebebiyle aynı bölgede LOH gözükmemektedir (Şekil 2–40). Kanseri’lerde ise LOH’lar rekombinasyon hataları sonucu oluşmaktadır.

Uniparental Dizomi (UPD) kaynaklı LOH’larda bireyde sadece tek bir ebeveyn’den olan kromozom çiftleri bulunmaktadır Şekil (2–41). Mayoz bir bölünme hatasından kaynaklı heterodizomi, bir ebeveyn’in kromozomları alınmaktadır. Mayoz II’deki bölünme hatasından kaynaklı ise bir ebeveyn’in tek kromozomu kopyalanarak (izodizomi) aktarılmaktadır. Mayoz bölünme hatalarından kaynaklı UPD sonucu diğer ebeveyn’den allel kalıtılmaz. Kayıp allelin klinik etkisi imprinting bölgesinin varlığına göre ve kayıp olan allele göre değişse de genellikle nadir hastalıkların görünmesinde artış olmaktadır ve anneden gelmeyen allelin etkisi babadan gelmeyen allelden etkisinden daha şiddetli olmaktadır. Bu duruma en bilindik örnekler olarak Angelman sendromu ve Prader Willi sendromu gösterilebilir. İkisi de aynı 15. kromozomu etkileyen dizomiler kayıp kromozom parçası anneden kaynaklı olduğunda daha ağır bir sendrom olan Angelman sendromuna yol açarken, kayıp babadan kaynaklıyken daha az ağır bir sendrom olan Prader Willi sendromu görülmektedir (47).

Array-CGH LOH bölgeleri akrabalık durumlarına göre ve olası UPD durumuna göre dikkatli değerlendirilmesi gereken bölgelerdir. Hastalıkla bağlantılı UPD bölgeleri raporlandırılmıştır ve analizler bu bölgeler dikkate alınarak yapılmalıdır (Tablo 2–6).

Tablo 2-6: Imprinting bozukluklarıyla ilişkilendirilen UPD bölgeleri (48)

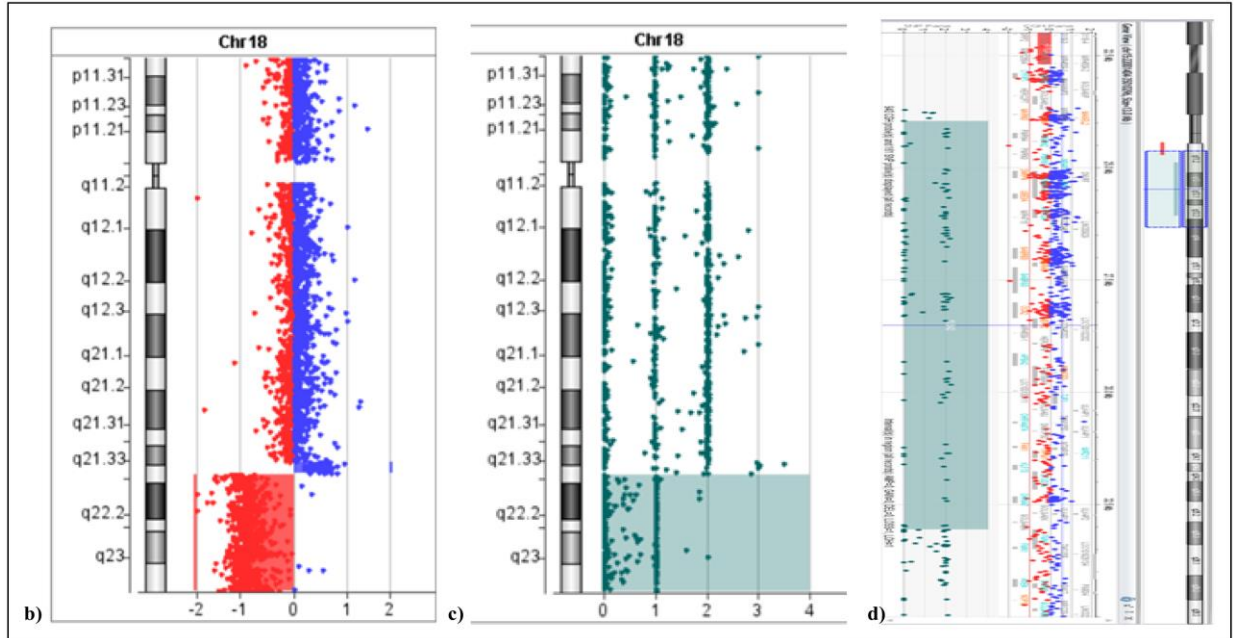
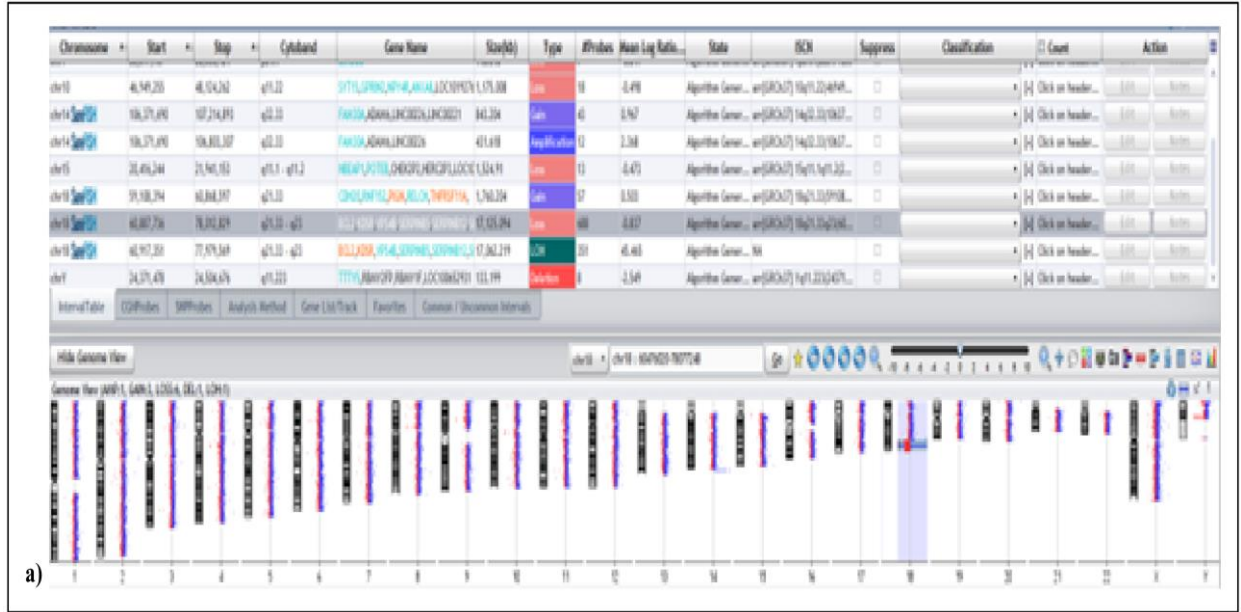
Kr	Lokus	Mat/Pat UPD	İlişkili Hastalık	Majör Klinik Özellikler	Genler
6	q24	Paternal	Diyabet, 6q24 ilişkili geçici neonatal hiperglisemi	Intrauterin gelişim geriliği, neonatal hiperglisemi	<i>PLAG1, HYMAI</i>
7	p11.2-p12 & q32.2	Maternal	Russel Silver sendromu	Intrauterin postnatal gelişim geriliği, üçgen yüz görünümü	<i>GRB10, MEST</i>
11	p15.5	Paternal (segmental)	Beckwith Wiedemann Sendromu	Makrozomi, makroglosi, viseromegali, omfalosel	<i>IGF2, H19, CDKN1C, KCNQ1, KCNQ1OT1</i>
		Maternal	Russel Silver sendromu	Intrauterin postnatal gelişim geriliği, üçgen yüz şekli	<i>IGF2, H19, CDKN1C, KCNQ1, KCNQ1OT1</i>
14	q32.2	Maternal	Maternal UPD14 sendromu	Erken püberte, hipotoni, eklem gevşekliği	<i>RTL1, DLK1</i>
		Paternal	Paternal UPD14 sendromu	İskelet anomalileri, eklem kontraktürleri, entelektüel yetmezlik	<i>RTL1, DLK1</i>
15	q11-q13	Paternal	Angelman sendromu	İleri entelektüel gerilik, konuşma bozukluğu	<i>UBE3A</i>
		Maternal	Prader Willi sendromu	Hipotoni, hipogonadizm, obezite	<i>SNRPN, MKRN, MAGEL2, NDN, U5snoRNAs</i>
20	q13.3	Paternal	Psödohipoparatiroidizm tip 1b	Neonatal hiperbilirubinemia, paratiroid hormon	<i>GNAS</i>

Kr: kromozom



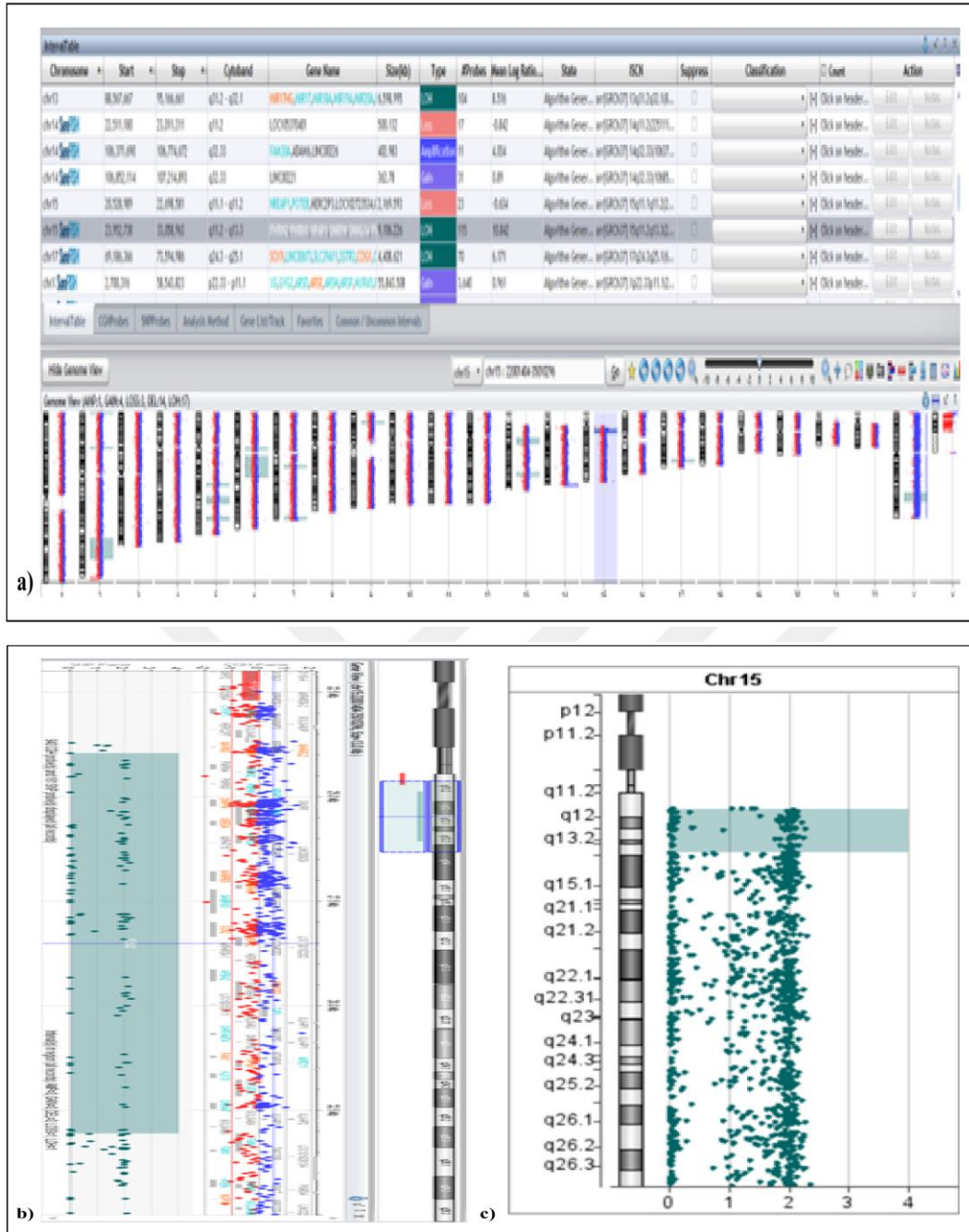
(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



Şekil 2-40: 18q21.33q23 delesyon bölgesindeki LOH görüntüsü

(İ.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi)



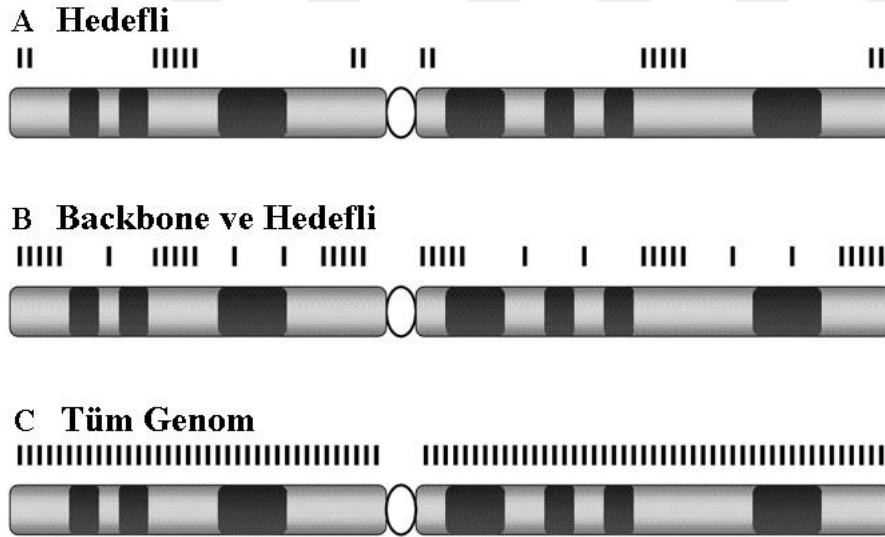
Şekil 2-41: UPD bölgesinde LOH görüntüsü

15q11.2q13.3 kromozom bandında imprinting genleri içeren UPD bölgesindeki LOH görüntüsü

(*I.Ü., İTF, Tıbbi Genetik AD, Moleküler Sitogenetik Laboratuvarı arşivi*)

2.4.2. A-CGH Prob Tasarımları

A-CGH aynı zaman da backbone a-cgh ve targeted a-cgh olarak da ayrılmaktadır. *Backbone* a-cgh ile tüm genomda belirli yerler 400 kb'a kadar araştırılabilmektedir ve belirli hastalık bölgelerinin yanı sıra diğer bölgelere de prob yerleşmiştir. Hedefli a-cgh ile ise araştırılacak bölge/hastalığa göre belirlenen spesifik bölgelere prob yerleştirilerek belirli hastalık ilişkili bölgelerin daha yüksek rezolüsyonda çalışılmasını mümkün kılmaktadır. Hedefli ve *backbone* birlikte kullanımında kromozomal anomaliler ve tek gen sendromları beraber araştırılabilmektedir. Aynı zamanda genomda problemlerin eşit aralıklarla yerleştirildiği bir a-cgh prob dağılımı da bulunmaktadır (Şekil 2–42). Genellikle hastalık araştırılan a-cgh platformlarında hedefli model kullanılmaktadır (5, 49).



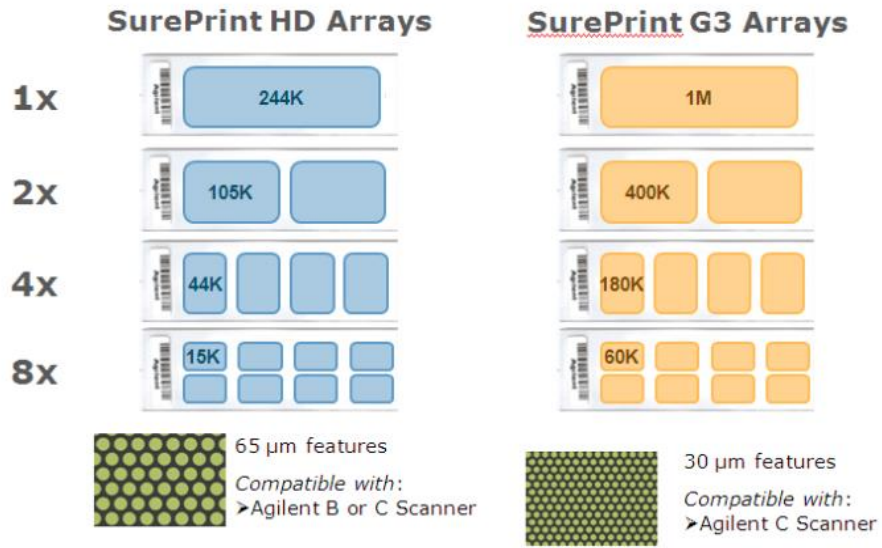
Şekil 2-42: Farklı a-cgh tasarımları

a) Hedefli b) *Backbone* ve hedefli c) Tüm genom array gösterimi (50)

2.4.2.1. KSD Problemlerinin Özellikleri

Problar genellikle 25–80 baz çifti uzunluğundadır. Tüm genomu kapsayacak ve genomdaki önemli bölgelere daha sık gelecek şekilde dizayn edilmişlerdir. Problar bazen genomdaki tekrar dizilerini içerebilmektedir. Mikroarrayler 60K, 44K, 180K, 400K ve 720K vb. şekilde prob içerme sayısına göre isimlendirilmektedir (Şekil 2–43).

K sayısı tasarımı kaç bin prob olduğunu göstermektedir (K=1000). Slayt dizaynları buna göre yapılmaktadır. Tarama yapılacak slaytta her kuyucukta belli problemler bulunmaktadır. Kapsadığı problemlerin yoğunluğundan dolayı 400K formatında bir slaytta iki hasta analiz edilebilirken 180K formatında bir slaytta 4 hasta analiz edilebilmektedir. K sayısı yani genomu kapsayan prob sayısı arttıkça daha çok bölge incelenebilirken, düşük prob sayısı olan arraylerde araştırılan daha çok önem taşıyan bölgeler gözetilerek tasarım yapılmıştır. Yüksek çözünürlüklü array platformlarında daha fazla varyant bilgisinin elde edilmesi ile beraber tespit edilen VUS sayısında da artış olmaktadır ve bilgi kirliliğine neden olabilmektedir. Bu sebeple 400K ve 720K platformları genellikle araştırmalar için kullanılırken, daha düşük çözünürlüklü ve hastalık bölgelerine daha yoğun prob gelecek şekilde tasarlanmış olan arrayler klinik tanı amacı ile kullanılmaktadır (5, 28).



Şekil 2-43: Prob düzeylerine göre array kataloğu (51)

Analiz sırasında problemlerin sayısı kadar, boyutları, aralıkları ve genomda nereye denk geldikleri de önemlidir. Prob boyutu ve problemler arası mesafe araştırılan geni ve bölgeyi ne kadar kapsadığını görmek için önemlidir. Değerlendirme yapılırken problemlerin uzunluğu, birbirleriyle üst üste çıkışması ve probun kaç bölgeye denk geldiği dikkate alınmaktadır. Her gene tek bir prob denk gelen platformlar olduğu gibi, birden

fazla prob denk gelen platformlar da bulunmaktadır. Problemlerin kapsadığı alan arttıkça hatalı bağlanmalar daha önemsiz olup, polimorfik bölgelerin değerlendirilmesi kolaylaşmaktadır. DNA mikroarrayleri olduğu gibi protein mikroarrayleri de bulunmaktadır. Oligonükleotid array ve cDNA mikroarray’de DNA kullanılmaktadır. Aşağıdaki tabloda mikroarray problemleri sınıflandırılmaktadır (Tablo 2–7) (49).

Tablo 2-7: Yaygın olarak kullanılan mikroarray prob türleri ve özellikleri (5, 28)

Prob Çeşitleri	Prob Özellikleri
cDNA mikroarray	cDNA’daki binlerce genin çip üzerinde denk gelen hedef bölgelere hibridize edilmesiyle yapılmaktadır. RT-PZR analiziyle aynı metod uygulanmaktadır. Reverse transkripsiyon ile RNA’dan tek zincirli DNA elde edilmektedir. Genellikle gen ekspresyon çalışmaları ve hücrede genlerin işlevini araştırmak için kullanılır. 500–2000 baz çifti arasındadır.
BAC (Bakteriyel yapay kromozom)	Array prob için bakteri hücrelerindeki DNA dizileri kullanılmaktadır. Genellikle DNA dizilemek için kullanılır. BAC DNA bakteri hücrelerinin gerisinden izole edilir ve memeli genomlarını dizilemede kullanılmaktadır.
YAC (Maya yapay kromozom)	Array prob için maya hücrelerinden DNA dizileri elde edilerek kullanılmaktadır. 200–500 kb arası değişmektedir.
Oligonükleotid array	Tek zincirli oligonükleotid içeren problemlerdir. In situ sentez ya da önceden sentezlenerek kullanılmaktadır. 25-80 baz prob genişliği vardır. Oligonükleotid array’de nükleotidler array çipinin üzerindeki gömülü bulunmaktadır. Cross kontaminasyonlardan endişelenmeye gerek yoktur. Aynı zamanda SNP’leri de saptayabilmektedir. Bazı array platformlarında çipin üzerindeki bu monomerleri phosphoramidit kimyasıyla kopyalayarak 60-mer oligonükleotid array oluşturmuştur.

SNP + CGH Array: SNP + CGH Array ile a-CGH’e kıyasla daha fazla rezolüsyon sağlanmaktadır. A-CGH ile tüm genomdaki mikrodelsiyonlar ve mikroduplikasyonlar

görülebilen, SNP array ile genomda belli bölgedeki alellere denk gelecek şekilde prob tasarlanmaktadır. A-CGH'e SNP array eklenmesiyle aynı zamanda LOH'lar, UPD'ler ve poliploidi ve mozaikizmler de araştırılabilmektedir. A-CGH ile de SNP array'deki genomda çok spesifik bölgelere denk gelen problemlardan dolayı oluşan kısıtlılık ortadan kalkmaktadır. SNP + CGH array ile aynı zamanda SNP'lerle beraber sık görülen KSD'ler de ayırt edilebilmektedir. HapMap projesinde SNP + CGH array kullanılmış ve popülasyon odaklı varyasyon çalışması yapılabilmektedir (6).

Tablo 2-8: Yaygın mikroarray türleri ve özellikleri (2)

Mikroarray Türleri	Mikroarray Özellikleri
SNP Array	DNA'da tek bölgede olan varyasyonları tespit etmek için kullanılmaktadır. Bireylerdeki tek bir baz çiftindeki değişimleri gösterecek problemler kullanılmaktadır. Flüoresan ışımalarının yoğunluğuna bakılmaktadır. Düşük seviyedeki mozaikizmleri, kimerizmleri, maternal kontaminasyonu, zigosityi, poliploidiyi, uniparental dizomiyi tespit edilebilmektedir. Referans olarak in silico kıyaslama yapılmaktadır.
Kromatin İmmünopresipitasyon (CHIP) Array	CHIP array ile araştırılacak proteini içeren kromatin saflaştırılarak canlılardaki gen ekspresyonu araştırılmaktadır.
Metilasyon Array	Epigenom boyu çalışmalar için kullanılmaktadır. Genom boyunca metilasyon bölgelerine, CpG adalarına, miRNA promotör bölgelere ve transkripsiyonun regüle edildiği bölgelere bakılmaktadır.
Ekspresyon Array	Belli genlerdeki ya da tüm genomdaki mRNA ekspresyonuna bakılarak sendromlara yol açan marker genleri araştırmak amaçlı kullanılmaktadır. cDNA problemleri kullanılmaktadır.
miRNA Array	Bu array metodunda binlerce miRNA aynı anda incelenebilmektedir. Non-coding RNA'ların ekspresyon düzeylerine tek seferde bakılabilmektedir ve genellikle kanser araştırmalarında kullanılmaktadır.

KSD araştırılmasındaki yeni teknikler arasında aynı zamanda tüm hibridizasyon temelli dizileme ve paired end dizileme bulunmaktadır. Hibridizasyon temelli dizilemede hasta genomundaki belli bir bölge referans genomdaki aynı bölgeye kıyaslanarak analiz yapılmaktadır. Paired end temelli dizilemede ise hasta ve referans genomdaki bölgelerin dalga boyları arasındaki fark okunarak oluşan dizi boyutu okunmaktadır. Her iki yöntemin de benzer avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Ortak avantaj olarak tüm genom analizi sağlanabilirken, ortak dezavantaj ise hasta genomundaki bölgenin incelenmesi için referans genomda o bölgenin biliniyor olması gerekmektedir. Paired end dizileme tekniğinin kendi dezavantajı ise polimorfik duplikasyonları da insersiyon olarak okumasından kaynaklıdır. Yeni nesil dizilemede paired end dizileme sık kullanılan bir yöntemdir. YND aracılığıyla DNA'daki tüm fragmanlar tek seferde yüksek yoğunlukta dizilenerek tüm genom taranmasına olanak sağlamaktadır ve hastalık bölgesinin önceden bilinmesine gerek yoktur. Kendi içinde temelde tüm ekzom dizileme ve tüm genom dizileme olarak ayrılmaktadır. Tüm ekzom dizilemede sadece ekzomlar dizilenirken, tüm genom dizilemede ekzomlar, intronlar ve tekrar bölgeleri araştırılabilmektedir. Bir de daha özelleştirilmiş olan klinik ekzom dizileme vardır ve bu yöntemde veritabanlarında hastalık ilişkisi bilinen bölgeler seçilerek sadece bu bölgeler incelenmektedir (1, 7, 28).

A-CGH ve FISH ise hibridizasyon temelli teknikler olup, A-CGH hibridizasyon temelli dizileme tekniğidir. A-CGH ve YND teknikleri KSD araştırması için ideal teknikler olurken, FISH, PCR VE MLPA keşfedilmiş KSD'lerin doğrulanması için kullanılan tekniklerdir.

2.5. KSD Sınıflandırılması

Kopya sayısı varyasyonları (KSD), insan genomundaki en yaygın yapısal varyasyon türüdür ve genetik heterojeniteye önemli ölçüde katkıda bulunur. Kopya sayısı varyasyonu, DNA segmentlerinde artış veya kayıp içeren bir yapısal genetik varyasyon içerir. Kopya sayısı varyasyonları > 50 bp boyutundadır ve bir genin bir parçasını, bir genin tamamını veya daha uzun bir genomik bölgeyi içerebilir. KSD'ler, otizm spektrum bozuklukları, nörogelişimsel bozukluklar ve otoimmün hastalıklar dahil

olmak üzere bir dizi genetik bozuklukla ilişkilidir. Mikroarray analizlerine ek olarak yeni nesil dizileme teknolojisindeki gelişmeler ve NGS verilerini analiz etmek için geliştirilen biyoinformatik araçların kullanımı ile klinik laboratuvarlar artık ekzom, genom ve gen panel çalışmalarındaki KSD'leri de tanıyabilir hale geldi. Hastaların doğru tanı ve uygun takip alabilmesi için varyantların patojenitelerinin doğru olarak belirlenmesi esastır (19).

Bazı KSD'lerin nadir genomik bozukluklar ve Mendel hastalıkları dahil olmak üzere insan fenotipik değişikliklerinin oluşumuna katkıda bulunabileceği zaten kabul edilmiş bir gerçektir. Diğer KSD'lerin ise insan fenotipik çeşitliliği ve hastalık duyarlılıkları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi üzerine bazı çalışmalar bulunmaktadır ve bu çalışmalar geniş insan popülasyonlarında devam etmektedir. Referans veritabanları oluşturmak ve KSD frekansları hakkında bilgi kaynağı sağlamak için hastalıkla ilişkili örnekler üzerinde çalışmalar yapmak gereklidir. Bu çalışmalar gerek hastalık ilişkileri, gerekse fenotipik farklılıkların anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. KSD'lerin popülasyon sıklığı ve dağılımı, özellikle nadir olanlar için hala çok az veri bulunmaktadır.

Genellikle bu tür çalışmaların maliyetinin yüksek oluşu ve teknolojiye ulaşımın zor olması nedeniyle kontrol çalışmaları büyük popülasyonlarda yapılamamaktadır. Bu nedenle farklı endikasyonlarla yapılmış büyük ölçekli çalışmaların verileri kullanılarak elde edilen mevcut genotip verileri ile birlikte hastalık ya da ortak bulgulara saptanacak ortak KSD verilerinden yola çıkılarak fenotip-genotip korelasyonu kurulabilir. Ayrıca, farklı popülasyona dayalı kohortlarda KSD veritabanlarını oluşturarak o topluma özgün KSD sınıflaması yapmak mümkün olabilir.

2019'un sonlarında ACMG, KSD'lerin 5 klinik sınıflandırması için güncellenmiş kılavuzlar yayınladı. Her bir KSD aşağıdaki kategorilerden birinde sınıflandırılır: benign, olası benign, önemi belirsiz bir değişken, olası patojenik veya patojenik. Yeni yönergeler, çok çeşitli KSD özelliklerini hesaba katar ve kapsamlı analizlere ve varyantların doğru sınıflandırılmasına olanak tanır. Bununla birlikte, her bir KSD, bir klinisyenin nihai bir patojenite skoru elde etmesi için önemli bir süre gerektirdiğinden, kılavuzların büyük ölçekte uygulanması zordur. Her ne kadar son yıllarda yapay zeka

temelli analiz teknikleri geliştirilmiş olsa da günümüzde hala değerlendirmeler manuel yapılmaya devam etmektedir.

Bu çalışma kapsamında a-CGH çalışması yapılan ancak mevcut veri tabanlarında ve güncel literatürde herhangi bir hastalık ilişkisi saptanmayan kopya sayısı varyantları manuel olarak sınıflandırılarak ortak değişim sıklığı, değişimlerin klinik bulgu birlikteliği araştırılmıştır. Bu çalışmadaki diğer bir hedef ise, bu verilerden yola çıkılarak in house bir veri tabanı oluşturulmasıdır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalına 2015–2022 tarihleri arasında çeşitli endikasyonlar ile başvurmuş olan ve olası submikroskopik genomik dengesizlikleri araştırmak amacı ile yapılan a-CGH çalışmasında klinik ilişkili kopya sayısı değişimi saptanmayan (ACMG kriterlerine göre) 2000 olgu çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

-saptanan değişimin ACMG’de patojenik/olası patojenik olarak sınıflandırılmamış,

-değişimin klinik bulgularla uyumsuz olması idi.

Çalışmaya alınan 2000 olgunun 230’u yeterli analiz kalitesinde olmadığından değerlendirme dışı bırakıldı. Kalan 1680 olgunun 1014’ü prenatal dönemde, 666’sı ise postnatal dönemde başvuran olgulardı.

Bu tez çalışması İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 26.06.2021 ve Sayı: 13). Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi (Proje tarih 15.10.2021 ve 38090). Tez çalışmasında değerlendirilmiş her olgudan bilgilendirilmiş onam formu alındı.

3.2. Kullanılan Malzemeler

3.2.1. Kullanılan Taşınabilir Cihazlar

- Tam otomatik DNA izolasyon cihazı (Genovision, Qiagen)
- Termal döngü cihazı (T100, Biorad)
- Mikrosantrifüj (5415R, Eppendorf)
- Spektrofotometre (Nanodrop 2000, Thermo Scientific)
- Mikropipet Seti (Gilson, Finpette)
- Masaüstü santrifüj (Allegra X22R, Beckman)
- +4°C soğutucu (Samsung)
- -20°C derin dondurucu (Real)

- 70°C Hibridizasyon fırını (Heraues)
- Masaüstü ısıtıcı blok (Accublock, Stuart)
- Vorteks (V-1 plus, BioSan)
- Bilgisayar
- DNA bankalama programı (File Maker Pro V 8)

3.2.2. Kullanılan Sarf Malzemeleri

- PZR tüpleri (Axygen)
- Mikropipet uçları

3.2.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Etanol (%99, Merck)
- Proteinaz K (Roche)
- Fosfat Tuz Tamponu (PBS, 1X)
- Asetonitril (Merck)
- Kurutma ve stabilizasyon solusyonu (Agilent)
- Tris EDTA (TE tamponu, 1 M)

3.2.4. Kullanılan Kitler

- Kandan DNA izolasyon kiti (Qiagen EZ1&2 DNA Blood Kit)
- DNA izolasyon kiti (High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti, Roche)
- GenetiSure Cyto 4x180K Microarray kit (Agilent)

3.3. Uygulanan Teknikler

3.3.1. DNA İzolasyonu

A-CGH çalışmasının ilk aşamasında hastanın endikasyonuna ve başvuru evresine göre alınan dokudan DNA izolasyonu yapıldı. Kandan otomatik DNA izolasyon cihazı ve EZ1&2 DNA Blood Kit kiti (Qiagen) kullanılarak izolasyon yapıldı. Dokudan izolasyon, High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti (Roche) kiti ile aşağıdaki yöntem kullanılarak gerçekleştirildi.

Dokudan DNA İzolasyonu:

- DNA elüsyonunda kullanılacak olan tampon 70°C etüve konuldu. Blok ısıtıcı 56°C'ye ayarlandı.

- Hasta sayısı kadar çıkarılan 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerinin üzerlerine hasta isimleri yazıldıktan sonra tüplüğe dizildi.

- Kit talimatlarında önerilen uygun miktardaki hasta dokusu 1000 µL'lik pipet ile hastanın tüpüne aktarıldı. Tüplerdeki toplam sıvı miktarı 1000 µL olacak şekilde PBS eklendi.

- 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.

- Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Elde edilen pelletin üzerine 1000 µL PBS eklendikten sonra yavaşça pipetleme yapıldı.

- 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.

- Santrifüj sonrası süpernatant atılalark pelletin üzerine 200 µL tissue lysis buffer ve 40 µL proteinaz K eklendi. Tüpler vorteks yapıldıktan sonra 56°C'ye ayarlanmış olan blok ısıtıcıya yerleştirildi. Amniyon ve koryonik villus hücrelerinin kültüründen elde edilen hücreler için yaklaşık 30-45 dakika ve deri dokusu için yaklaşık 1 saat inkübasyon yapıldı. Çözünme sürecini mekanik olarak hızlandırmak için 15 dakika aralıklarla vorteks yapıldı.

- İnkübasyon süresinin sonunda her tüpe 200 µL binding buffer eklendi ve 70°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Süre sonunda her tüpün üzerine 100 µL izopropanol eklendi ve köpürtmeden pipetleme yapıldı.

- Kit içeriğinde bulunan toplama tüplerinin içerisine filtreli kolonlar yerleştirildi. Hastaların isimleri yazılarak işaretleme yapıldı. Hasta örnekleri tüplere aktarıldı.

- 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası toplama tüplerinde biriken sıvılar uzaklaştırıldı.

- Kolonlara 500 µL Inhibitor Remover Buffer eklendi.

- 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası toplama tüplerinde biriken sıvılar uzaklaştırıldı.

- Kolonlara 500 µL Yıkama Tamponu eklendi. 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası toplama tüplerinde biriken sıvılar uzaklaştırıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı.

- Tüpler boş şekilde 13.000 g'de 20 saniye santrifüj yapıldı.

- Hasta sayısı kadar steril 1,5 µL'lik mikrosantrifüj tüplerinin üzerine hasta bilgileri yazıldı. Filtreler dikkatli şekilde tüplere aktarıldı. Doku miktarının yoğunluğuna bağlı olarak 80 – 120 µL 70°C sıcaklığındaki Elution buffer eklendi. Oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika inkübasyonun ardından 8000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.

Elde edilen DNA örneklerin yoğunluk ve saflığı spektrofotometrik olarak (Nanodrop 2000c, Thermo Scientific) değerlendirildi. DNA saflığı, A260/280 nm ve A260/230 nm dalga boylarındaki ölçümler ile değerlendirildi. Dalga boyları için ideal değerler 1,60 ve 2,00 arasındır.

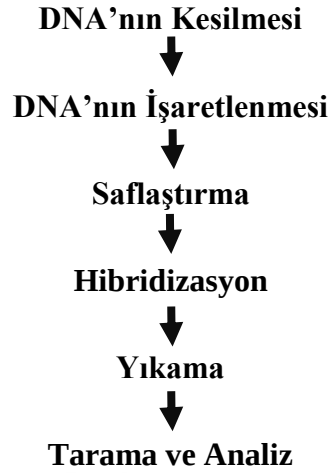
3.3.2. Array-CGH

Tüm olgularda a-CGH çalışması GenetiSure Cyto 4x180K Microarray kit (Agilent) kiti kullanılarak yapıldı. Kullanılan array kiti tasarımına ait özellikler Tablo 3-1'de belirtildiği gibidir.

Tablo 3-1: A-CGH çalışmasında kullanılan mikroarrayin özellikleri

Parametreler	Özellikler
Array tipi	4x180K
Prob tipi	CGH+SNP
Prob sayısı	180K
prob mesafesi (median)	7,3 Kb

Array-CGH yöntemindeki temel basamaklar aşağıdaki akış şemasında özetlendiği gibidir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1: A-CGH laboratuvar akış şeması

3.3.2.1. DNA'nın kesilmesi

Array-CGH çalışmasında DNA'nın etkin bir şekilde işaretlenebilmesi amacıyla uygun uzunlukta DNA parçaları elde edilmesi için RSA ve AluI restriksiyon enzimleri kullanılarak kesilmektedir. Bu aşamada hasta ve hasta ile aynı cinsiyetteki referans örnekleri için 0,2 µL'lik PZR tüpleri hazırlanarak soğuk blok üzerine yerleştirildi. Her örnek için 500 ng DNA ve kit içeriğinde bulunan solusyonlar kullanılarak Tablo 3-2'de belirtilen reaksiyon karışımı kullanıldı.

Tablo 3-2: Kesim aşamasında kullanılan solüsyonlar ve miktarları

Solüsyonlar	Her reaksiyon için hacim
Nükleaz içermeyen dH ₂ O	2 µl
10x restriksiyon enzim tamponu	2,6 µl
Bovine serum albumin	0,2 µl
Alu I	0,5 µl
Rsa	0,5 µl

Enzim kesimi için 37°C'de 2 saat ve ardından 65°C'de 20 dakika inkübasyon yapıldı. Örnekler buza alındıktan sonra -20°C'ye kaldırıldı.

3.3.2.2. DNA'nın işaretlenmesi

Hasta ve hasta ile aynı cinsiyetteki referans örnekleri için 0,2 µL'lik PZR tüpleri hazırlanarak soğuk blok üzerine yerleştirildi. Hasta ve referans DNA'ları ayrı florokromlu (Cyanine-3 (Cy-3') ve Cyanine-5 (Cy-5')) dUTP kullanılarak işaretlendi.

İlk basamakta DNA kesim örnekleri ve primerler aynı tüpe alınarak 95°C'de 3 dakika denatüre edildi ve hemen ardından buz üzerinde 5 dakika inkübe edildi. Süre sonunda Tablo 3-3'te belirtilen reaksiyon karışımı tüplere eklendi.

Tablo 3-3: DNA işaretlenmesi aşamasında kullanılan solüsyon ve miktarları

Solüsyonlar	Her reaksiyon için kullanılan miktar
Nükleaz içermeyen dH ₂ O	2 µl
5x reaksiyon tamponu	10 µl
10x dNTPs	5 µl
Cy-3' veya Cy-5'	3 µl
Exo (-) Klenow enzimi	1 µl

Örnekler termal döngü cihazında 37°C'de 2 saat, 65°C'de 10 dakika kalır. Süre sonunda sonra tüpler buza alındıktan sonra -20'ye kaldırılır.

3.3.2.3. Saflaştırma

Bu işlem floresan boya ile işaretlenmiş olan DNA'ları saf bir şekilde elde etmek amacı ile ve High Pure PCR Template Preparation kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntem, aşağıda açıklandığı şekilde uygulandı:

- Örnek sayısı kadar mikrosantrifüj tüpü çıkartıldı ve her bir tüpün içerisine filtreli kolon yerleştirildi.
- Kolonun içerisinde 430 ul TE tamponu ve işaretlenmiş DNA örnekleri eklenerek pipetaj yapıldı.
- 14.000 g'de 10 dakikalık santrifüj sonrasında filtreden süzülen sıvı atıldı ve kolonlara 480 ul TE tamponu eklendi.

- 14.000 g'de 10 dakika santrifüj edilen kolonlar ters çevrilerek yeni tüplere yerleştirilerek 1000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında kolonlar atıldı ve saflaştırılmış DNA örneğini içeren tüpler buza alındı.
- Nanodrop cihazının programında mikroyarray seçeneği kullanılarak DNA'ların konsantrasyon ve floresan boya absorpsiyon değerleri ölçüldü.

3.3.2.4. Hibridizasyon

Saflaştırma aşamasından sonra absorbans değerlerine ve DNA konsantrasyonuna göre örneklerin spesifik aktiviteleri ve hibridizasyon karışımında kullanılması gereken hacim hesaplandı. Her hasta için 0,2 mL'lik PZR tüpünün içerisine hesaplanmış olan hasta örneği, uygun cinsiyetteki referans örneği eklendi ve üzerlerin toplam hacim 39 µl olacak şekilde nükleaz içermeyen su eklendi. Bu örneklerin üzerine aşağıdaki bileşenler kullanılarak hazırlanan hibridizasyon karışımı eklendi (Tablo 3-4).

Tablo 3-4: Hibridizasyon aşamasında kullanılan solüsyon ve miktarları

Solüsyonlar	Her reaksiyon için kullanılan miktar
Cot-1 DNA (1 mg/mL)	5 µl
10x a-CGH Blocking Agent	11 µl
2x HI-RPM	55 µl
Toplam	71 µl

A-CGH slaytlarına yüklenmeden önce 95°C'de 3 dakika ve 37°C'de 30 dakika inkübasyon yapıldı. Süre sonunda yükleme slaytı (gasket) metal slayt haznesi içine yerleştirildi. Her hasta için yükleme slaytı üzerindeki konum belirlendikten sonra toplam 100 µl örnek ilgili bölmeye yüklendi. Yükleme slaytı üzerine problemleri içeren a-CGH slaytı barkod konumuna dikkat edilerek kapatıldı ve slayt haznesinin üst parçası kapatılarak önceden ısıtılmış olan hibridizasyon fırınında 67°C'de ve 20 rpm rotasyonda yaklaşık 20 saat inkübe edildi.

3.3.2.5. Slaytların Yıkınması

İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra slaytlar yıkandı. Bu işlem için kit içeriğindeki aşağıdaki solusyonlar kullanıldı:

Yıkama-1 solusyonu (oda ısısı)

Yıkama-2 solusyonu (37°C’de)

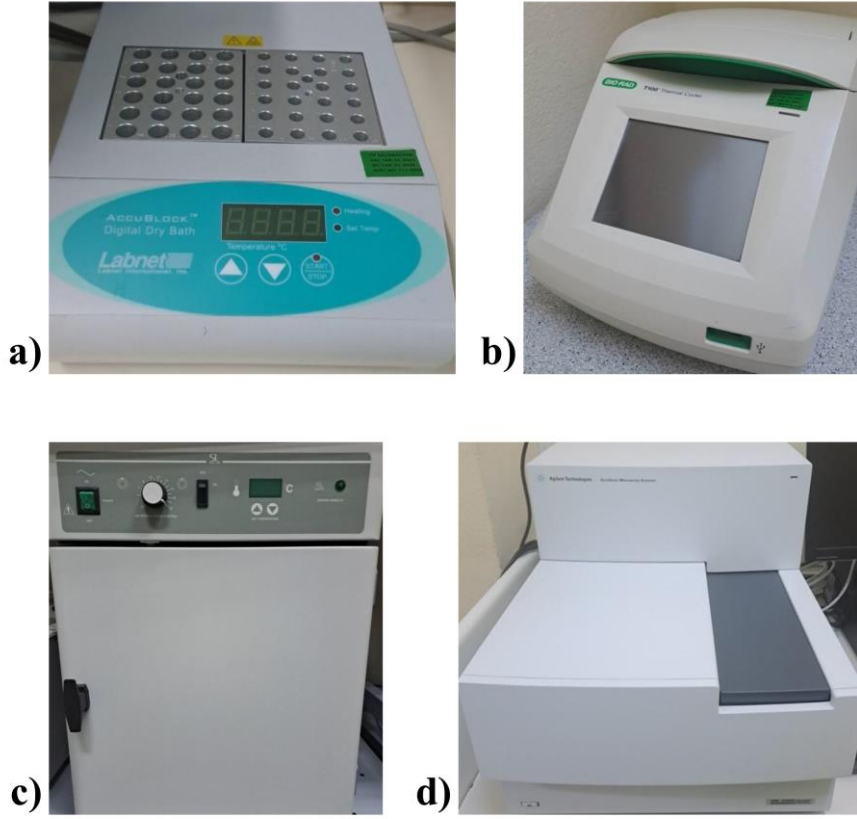
Asetonitril (oda ısısı)

Stabilize edici ve kurutucu solusyon (oda ısısı)

- Slayt haznesi içerisinde çıkartılan yükleme slaytı ve a-CGH slaytı bir penset yardımı ile dikkatlice birbirinden ayrıldı. Bu işlem Yıkama-1 solusyonu içerisinde yapıldı. Slaty tutucuya yerleştirildi.
- Slayt tutucu manyetik karıştırıcı üzerindeki Yıkama-1 solusyonunda 5 dakika yıkandı.
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerindeki Yıkama-2 solusyonunda 1 dakika yıkandı.
- Manyetik karıştırıcı üzerindeki asetonitrilde 10 saniye yıkandı.
- Manyetik karıştırıcı üzerindeki stabilize edici ve kurutucu solusyon içeridnde 30 saniye süresince yıkandı.
- Slaytlar tarama cihazına yerleştirildi.

3.3.2.6. Slaytların Taranması

a-CGH slaytları Agilent Technologies SureScan Microarray Scanner cihazı ve uygun program kullanılarak tarandı. Elde edilen görüntü dosyası Agilent Feature Extraction for CytoGenomics analiz programı kullanılarak .txt dosya formatına dönüştürüldü. Prob bağlantı bilgilerini içeren bu dosya CytoGenomics (ver.5.1.2.1, Agilent) kullanılarak analiz edilebilir a-CGH verisine dönüştürüldü. A-CGH için kullanılan bazı temel cihazlar Şekil 3–2’de gösterilmektedir.



Şekil 3-2: Array CGH çalışmasında kullanılan cihazlar

a) Blok ısıtıcı b) PZR cihazı c) inkübasyon cihazı d) Array tarama cihazı

3.3.2.7. Array-CGH Analizi

KSD verileri, array taraması yapıldıktan sonra elde edilen prob bağlantılarına ve log2 değerlerine bağlı olarak ADM-2 algoritmasını kullanan program ile elde edildi. Bu tezde kullanılan platformun KSD saptama prensibi, değişim bölgelerindeki ortalama değerlerin kıyaslanmasına dayanır. Bunun için varyasyona en yakın değişim bölgeleri saptanarak prob ortalamaları karşılaştırılır. Tespit edilen değişim bölgeleri medyanından ortalananak yeni bölgeler eklenir. Yeni bölümlerin eklenmesinin ardından standart hata ve log2 ratio değerleri belirlendikten sonra düşük kaliteli prob bağlantılı bölgeler dışlanır (normalizasyon). Ham verinin bu şekilde program tarafından işlenmesinin ardından elde edilen KSD verilerinin analizleri standart filtreleme kullanılarak yapıldı. Filtrelemede log2 oranı $+0,5/-0,5$, minimum prob bağlanma sayısı prenatal olgularda 5, postnatal olgularda ise 3 olarak belirlendi. Minimum KSD boyutu delesyon ve

duplikasyon için prenatal olgularda 100 kb ve 200 kb olarak uygulanırken, postnatal olgularda bu oranlar 50 ve 100 kb olarak belirlendi. Hasta ve referans genomundaki prob bağlantılarının karşılaştırılması yolu ile saptanan delesyon ve duplikasyon bölgelerinin biyoinformatik analizlerde Tablo 3–5’teki veri tabanları kullanıldı.

Tablo 3-5: KSD analizinde kullanılan bazı açık erişimli veri tabanları

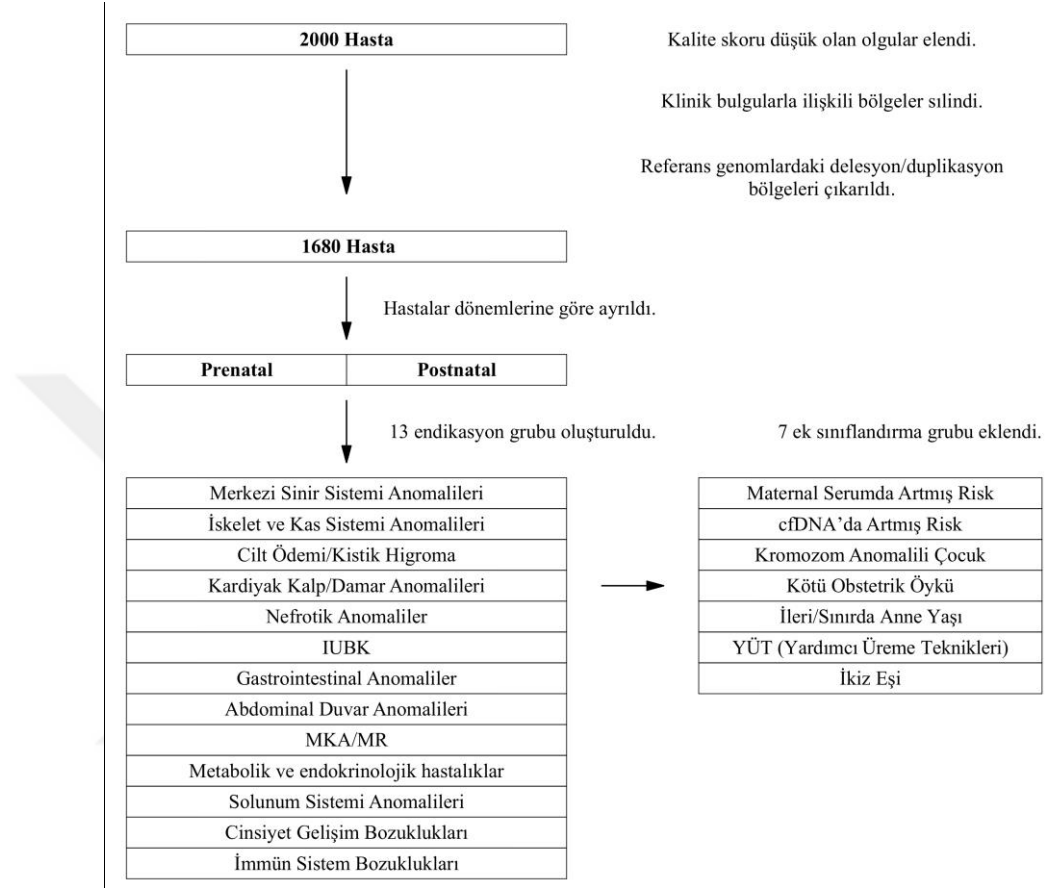
Veritabanı	İnternet adresi
Database of Genomic Variants (DGV)	http://dgv.tcag.ca/
DECIPHER	https://www.deciphergenomics.org/
Franklin (by Genoox)	https://franklin.genoox.com/clinical-db
Online Inheritance in Man (OMIM)	https://www.omim.org/
ACMG	https://www.acmg.net/
ClinVar	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
HGMD	https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php

3.4. Araştırma Verisinin oluşturulması

Tez çalışmasında, kurumumuza başvuran retrospektif ve prospektif olguları içeren 2000 bireyin a-CGH verileri çalışmaya dahil edildi. Olguların a-CGH verileri değerlendirilerek tüm KSD’leri içeren bir veri dosyası oluşturuldu. İlk aşamada, olgularda klinik bulgular ile ilişkilendirilmiş olan ve veritabanlarında olası patojenik/patojenik olarak sınıflandırılan KSD’ler çalışmaya dahil edilmedi. Ardından, a-CGH analizinde kalite skoru düşük olan 320 olgu çalışma grubundan çıkarıldı. Bir sonraki aşamada, erkek ve dişi referanslarda delesyon veya duplikasyon bölgeleri tek tek belirlendi ve bu bölgelere denk geldiği için yanlış anlamlı sonuç alınan KSD’ler çıkartıldı. Sonuç olarak, 1680 olguyu içeren ve sadece polimorfik KSD’leri içerecek şekilde saflaştırılmış olan bir veri elde edildi.

Olgulara ait klinik bilgiler KSD verileri ile birleştirilerek genişletilmiş veri dosyası elde edildi. Olguların başvuru endikasyonları (1) merkezi sinir sistemi anomalileri, (2) İskelet/kas sistemi anomalileri, (3) cilt ödemi/kistik higroma, (4) kardiyak anomaliler, (5) nefrotik anomaliler, (6) IUBK, (7) sindirim sistemi anomalileri, (8) abdominal duvar anomalileri, (9) MKA/MR, (10) metabolik ve endokrinolojik

hastalıklar, (11) solunum sistemi anomalileri, (12) cinsiyet gelişim bozuklukları ve (13) immün sistem bozuklukları olarak sınıflandı (Şekil 3–3).



Şekil 3-3: Olguların gruplanmış başvuru endikasyonları

Maternal serumda yapılan tarama testinde artmış risk, cfDNA analizinde artmış risk, ailede daha önce kromozom anomalili çocuk varlığı, kötü obstetrik öykü, ileri anne yaşı, patolojik ultrason bulgusu olan ikiz eşi, yardımla üreme tedavisi (YÜT) endikasyonu ile başvuran olgular ise diğer grupta değerlendirildi.

Endikasyon gruplarına ek olarak, karyotip, değişimin gözlemlendiği kromozom, kromozom bant bölgesi, genom koordinatları, değişimin boyutu ve türü, değişim bölgesinin içerdiği genler, prob sayısı ve log2 ratio bilgileri kayıt edildi. Oluşturulan tüm veri istatistiksel analize uygun bir IBM SPSS Statistics (ver.28.0, IBM Corp., Armonk, New York) kodlama verisine dönüştürüldü (52).

3.5. Verilerin Analiz Algoritması

Belirlediğimiz analiz algoritmasında ilk evrede a-CGH çalışmasında kaliteli sonuç alınamayan olgular çalışmadan çıkartıldı. Ardından, değerlendirmeye alınan hastanın klinik bulguları ile ilişkilendirilen değişim bölgeleri verilerden çıkarıldı. Elde edilen polimorfik bölgelerin analizindeki doğruluk oranının yükseltilmesi amacı ile a-CGH tekniğinde kullanılan erkek ve dişi referans DNA'larında yer alan delesyon ve duplikasyonlar ve genom koordinatları tek tek belirlenerek saptanmış olan KSD bilgileri ile karşılaştırıldı. Referanslardaki delesyon ve duplikasyon bölgelerine denk gelerek veri kirliliği oluşturan değişimler çalışmadan çıkartıldı.

Aynı genomik koordinatlarda bulunan ancak farklı boyutlarda olan KSD'ler en dıştan kapsayan genomik koordinat temel alınacak şekilde kümelendi. İleri analizlerde bu küme grupları kullanılarak devam edildi. Sonraki aşamada boyutu 2 Mb'dan büyük olan KSD'ler ileri analizden çıkartıldı.

KSD verisi antenatal/postnatal dönemlere gruplandı ve her grup kendi içerisinde analiz edildi. Ek olarak, KSD'nin özelliğine bağlı olarak delesyon/duplikasyon, homozigot/heterozigot oranları belirlendi. Saptanan KSD'lerin çalışma toplumu içerisindeki frekansları belirlendi. Sıklıkları diğer veritabanlarındaki sıklıkları ile karşılaştırıldı. Belirlediğimiz analiz algoritması Şekil 3-4'te şematik olarak özetlenmiştir.

Saptanan bölgeler, Tablo 3-5'te verilen OMIM, Franklin Genoox, DGV veritabanlarında tekrar araştırılarak kontrol edildi.



Şekil 3-4: KSD analizinde kullanılan algoritma

4. BULGULAR

Bu araştırma, restrospektif ve prospektif olarak başvuran ve a-CGH analizi gerçekleştirilen toplam 2000 olgunun verilerinin sınıflandırmasını kapsamaktadır. Çalışmaya dahil edilme kriterleri göz önünde bulundurulduğunda 320 olgu verisi sınıflamaya uygun olmaması nedeniyle çalışmadan çıkartıldı. Geriye kalan 1680 olguda (1014 prenatal, 666 postnatal olgu) toplam 28,260 KSD'den oluşan bir veri elde edildi. Oluşturulan KSD verisinin özellikleri, A-CGH çalışmasında bağlanan problemlerin ve KSD boyutlarının ortalama değerleri ve minimum-maksimum değerleri Tablo 4-1'de özetlenmiştir. Araştırma algoritmasına göre a-CGH çalışmasında kullanılan dişi ve erkek referanslar örneklerindeki delesyon (n= 3372) ve duplikasyon (n= 5282) bölgeleri belirlenerek (n= 11,148) değerlendirme dışı bırakıldı. Referans genom bölgeleri ham verilerde tablo olarak gösterildi.

En son aşamada, değişim boyutu >2Mb olan (n= 124) KSD'leri patojenik olarak değerlendirilmiş olduğundan sınıflamaya dahil edilmedi ve çalışma 4746 KSD'den oluşan veri üzerinden gerçekleştirildi. Üst üste çıkan ancak boyutları birbirinden farklı olan KSD'ler en dış bölgeden kapsayacak şekilde kümelenerek 791 KSD kümesi tanımlandı. Prenatal olgularda 608, postnatal olgularda ise 488 KSD küme bölgesi saptandı. Oluşturulan 791 KSD kümesinde frekansı 0,5'in üzerinde olanlar (n= 26) diğer toplum verileri ve KSD veritabanlarında karşılaştırılarak incelendi.

Tablo 4-1: KSD verisinin özellikleri

	mean ($\pm$ SD)	(minimum-maksimum)
KSD boyutu (kb)	485,20 ($\pm$ 445,98)	(0,32–1951,92)
Bağlanan prob sayısı (n)	16.70 ($\pm$ 19.55)	(3–298)
Mean log2 ratio	-0,40 ($\pm$ 0,7120)	(-5,84–1,69)

SD: Standart deviasyon, KSD: kopya sayısı değişimi

Çalışmada hastalar başvuru endikasyonuna göre gruplandı. Veri, olguların başvuru dönemlerine göre prenatal ve postnatal olarak iki gruba ayrılarak incelendi. Analizi gerçekleştirilen 1014 prenatal olguda 2690 KSD saptanırken, 666 postnatal vakada toplam 2056 KSD saptandı (Tablo 4-2). Çalışmaya alınan olguların

değişimlerinden yola çıkılarak fenotip-genotip korelasyonu yapabilmek amacı ile başvuru endikasyonları sistemik anomalilere göre ana sınıflara ayrıldı. Bu iki evredeki başvuru endikasyon grupları Tablo 4–3’de özetlenmiştir.

Tablo 4-2: Çalışma grubu ve saptanan KSD sayılarının başvuru evrelerine göre sınıflandırılması

	Prenatal	Postnatal	Toplam
Hasta Sayısı	1014	666	1680
KSD Sayısı	2690	2056	4746
KSD Yüzde (%)	56,7	43,3	100,0

KSD: kopya sayısı değişimi

Tablo 4-3: Olgu endikasyonlarının dağılımı

Endikasyonlar (endikasyon No)	Prenatal		Postnatal		Toplam
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
MSS Anomalileri (1)	116	166	149	183	614
İskelet Kas Sistemi Anomalileri (2)	133	158	114	144	549
Cilt Ödemi/Kistik Higroma (3)	92	117	15	11	235
Kardiyak Anomaliler (4)	140	175	23	28	366
Nefrotik Anomaliler (5)	79	117	19	14	229
IUBK (6)	37	34	6	4	81
Sindirim Sistemi Anomaliler (7)	63	75	10	2	150
Abdominal Duvar Anomalileri (8)	35	49	2	1	87
MKA/MR (9)	19	30	204	249	502
Metabolik ve Endokrinolojik Hastalıklar (10)	2	4	24	28	58
Solunum Sistemi Anomalileri (11)	21	17	0	1	39
Cinsiyet Gelişim Bozuklukları (12)	2	31	9	39	81
İmmün Sistem Anomalileri (13)	3	5	4	2	14

IUBK: İntrauterin büyüme kısıtlılığı, MSS: Merkezi sinir sistemi, MKA/MR: Multipl konjenital anomali/mental retardasyon

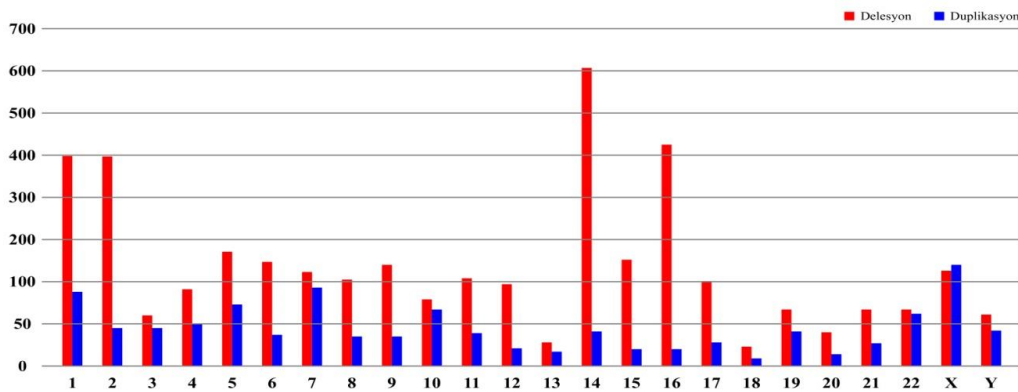
Bu grupların dışında daha az sayıda farklı endikasyonlarla başvuran ancak gruplanamayan hastalar ise başvuru evresine göre prenatal ve postnatal olarak ayrılarak incelendi. Bu grubun sonuçları Tablo 4-4’de özetlenmiştir.

Tablo 4-4: Olgu sayılarının ek endikasyonlara göre dağılımı

Ekendikasyonlar	Prenatal		Postnatal		Toplam
	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	
KAÇ	23	26	49	59	157
KOÖ	30	25	6	8	69
İAY	49	77	-	-	126
TT’de artmış Risk	6	3	-	-	9
cfDNA’da artmış risk	4	-	-	-	4
İkiz Eşinde anomali	5	10	-	-	15
YÜT	19	31	-	-	50

KAÇ: Kromozom anomalili çocuk, KOÖ: Kötü obstetrik öykü, İAY: İleri anne yaşı, TT: tarama testi, cfDNA: cell free/circulating free DNA, YÜT: Yardımla üreme tedavisi

Çalışma kapsamında değerlendirmeye alınan 4746 KSD’nin 3677’sinin delesyon, 1117’sinin iseduplikasyon olduğu belirlendi. Bu değişimlerin kromozomlara göre dağılımı Şekil 4-1 ve Tablo 4-5’de özetlenmiştir. Bu verilere göre KSD’lerin en sık 14. kromozomda (%13,7) ve en az 18. kromozomda (%0,7) yer aldığı gösterildi.



Şekil 4-1: Saptanan değişimlerin kromozomlardaki dağılımı

Tablo 4-5: Değişimlerin prenatal ve postnatal gruplarda sınıflandırılması*

Kromozom n (%)	Değişim n (%)		Prenatal n (%)	Postnatal n (%)
1 486 (10,2)	Del 398 (11,0)	Hom	23 (19,3)	17 (20,2)
		Het	202 (10,3)	156 (10,8)
	Dup 88 (7,9)	Hom	4 (13,8)	4 (15,4)
		Het	46 (8,5)	34 (7,1)
2 442 (9,3)	Del 397 (10,9)	Hom	17 (14,3)	14 (16,7)
		Het	202 (10,3)	164 (11,3)
	Dup 45 (4,0)	Hom	3 (10,3)	1 (3,8)
		Het	21 (3,9)	20 (4,2)
3 105 (2,2)	Del 60 (1,7)	Hom	1 (0,8)	1 (1,2)
		Het	32 (1,6)	26 (1,8)
	Dup 45 (4,0)	Hom	1 (3,4)	1 (3,8)
		Het	25 (4,6)	18 (3,8)
4 141 (3,0)	Del 91 (2,5))	Hom	1 (0,8)	3 (3,6)
		Het	58 (3,0)	29 (2,0)
	Dup 50 (4,5)	Hom	2 (6,9)	0
		Het	24 (4,4)	24 (5,0)
5 244 (5,1)	Del 171 (4,7)	Hom	4 (3,4)	0
		Het	98 (5,0)	69 (4,8)
	Dup 73 (6,5)	Hom	0	4 (15,4)
		Het	38 (7,0)	31 (6,5)
6 184 (3,9)	Del 147 (4,1)	Hom	6 (5,0)	2 (2,4)
		Het	91 (4,6)	48 (3,3)
	Dup 37 (3,3)	Hom	2 (6,9)	1 (3,8)
		Het	21 (3,9)	13 (2,7)
7 216 (4,6)	Del 123 (3,4)	Hom	6 (5,0)	2 (2,4)
		Het	69 (3,5)	46 (3,2)
	Dup 93 (8,3)	Hom	1 (3,4)	3 (11,5)
		Het	46 (8,5)	43 (9,0)
8	Del	Hom	3 (2,5)	5 (6,0)

140 (2,9)	105 (2,9)	Het	69 (3,5)	28 (1,9)
	Dup	Hom	3 (10,3)	2 (7,7)
	35 (3,1)	Het	13 (2,4)	17 (3,6)
9 200 (4,2)	Del	Hom	12 (10,1)	9 (10,7)
	137 (3,8)	Het	77 (3,9)	39 (2,7)
	Dup	Hom	4 (13,8)	2 (7,7)
	63 (5,6)	Het	34 (6,3)	23 (4,8)
10 146 (3,1)	Del	Hom	3 (2,5)	
	79 (2,2)	Het	55 (2,8)	21 (1,5)
	Dup	Hom	1 (3,4)	2 (7,7)
	67 (6,0)	Het	18 (3,3)	46 (9,6)
11 147 (3,1)	Del	Hom	3 (2,5)	7 (8,3)
	108 (3,0)	Het	53 (2,7)	45 (3,1)
	Dup	Hom	0	
	39 (3,5)	Het	21 (3,9)	18 (3,8)
12 118 (2,5)	Del	Hom	1 (0,8)	2 (2,4)
	97 (2,7)	Het	59 (3,0)	35 (2,4)
	Dup	Hom	1 (3,4)	0
	21 (1,9)	Het	9 (1,7)	11 (2,3)
13 45 (0,9)	Del	Hom	2 (1,7)	0
	28 (0,8)	Het	15 (0,8)	11 (0,8)
	Dup	Hom	0	
	17 (1,5)	Het	7 (1,3)	10 (2,1)
14 648 (13,7)	Del	Hom	7 (5,9)	5 (6,0)
	607 (16,7)	Het	237 (12,1)	358 (24,7)
	Dup	Hom	0	3 (11,5)
	20 (1,8)	Het	16 (3,0)	22 (4,6)
15 172 (3,6)	Del	Hom	1 (0,8)	0
	152 (4,2)	Het	79 (4,0)	72 (5,0)
	Dup	Hom	0	
	20 (1,8)	Het	2 (0,4)	18 (3,8)
16 445 (9,4)	Del	Hom	11 (9,2)	3 (3,6)
	425 (11,7)	Het	250 (12,7)	161 (11,1)
	Dup	Hom	0	
	20 (1,8)	Het	9 (1,7)	11 (2,3)

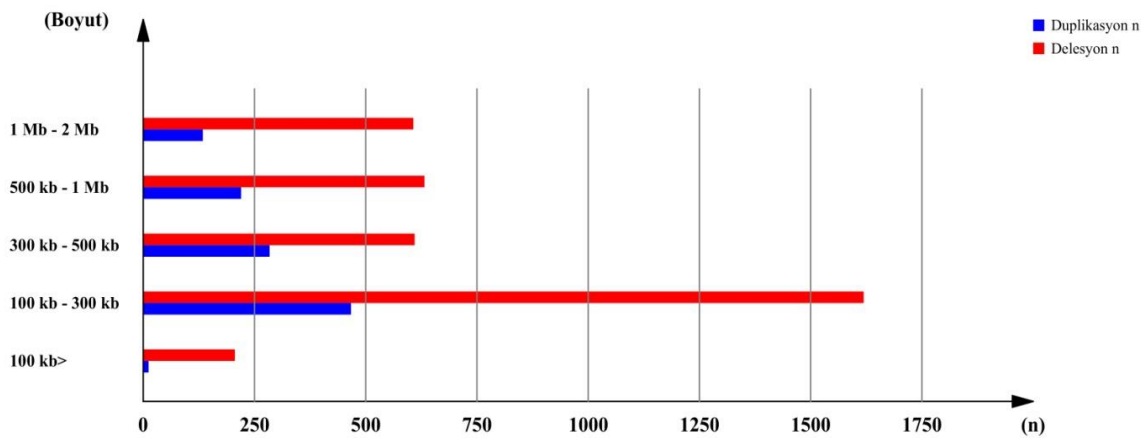
17 129 (2,7)	Del	Hom	0	
	101 (2,8)	Het	74 (3,8)	27 (1,9)
	Dup	Hom	1 (3,4)	0
	28 (2,5)	Het	14 (2,6)	13 (2,7)
18 32 (0,7)	Del	Hom	1 (0,8)	3 (3,6)
	23 (0,6)	Het	16 (0,8)	3 (0,2)
	Dup	Hom	0	
	9 (0,8)	Het	5 (0,9)	4 (0,8)
19 108 (2,3)	Del	Hom	2 (1,7)	3 (3,6)
	67 (1,8)	Het	32 (1,6)	30 (2,1)
	Dup	Hom	0	
	41 (3,7)	Het	22 (4,1)	19 (4,0)
20 54 (1,1)	Del	Hom	1 (0,8)	1 (1,2)
	40 (1,1)	Het	26 (1,3)	12 (0,8)
	Dup	Hom	1 (3,4)	0
	14 (1,3)	Het	8 (1,5)	5 (1,0)
21 94 (2,0)	Del	Hom	1 (0,8)	2 (2,4)
	67 (1,8)	Het	50 (2,5)	14 (1,0)
	Dup	Hom	3 (10,3)	0
	27 (2,4)	Het	12 (2,2)	12 (2,5)
22 129 (2,7)	Del	Hom	6 (5,0)	1 (1,2)
	67 (1,8)	Het	39 (2,0)	21 (1,5)
	Dup	Hom	2 (6,9)	3 (11,5)
	62 (5,6)	Het	25 (4,6)	32 (6,7)
X 266 (5,6)	Del	Hom	7 (5,9)	4 (4,8)
	126 (3,5)	Het	83 (4,2)	32 (2,2)
	Dup	Hom	0	
	140 (12,5)	Het	106 (19,6)	34 (7,1)
Y 55 (1,2)	Del	Hem	7 (0,3)	6 (0,4)
	Dup		27 (4,5)	15 (2,9)
	42 (3,8)			

*Bu tablodaki veriler KSD sayısına göre düzenlenmiştir. (Del: delesyon , Dup: duplikasyon,

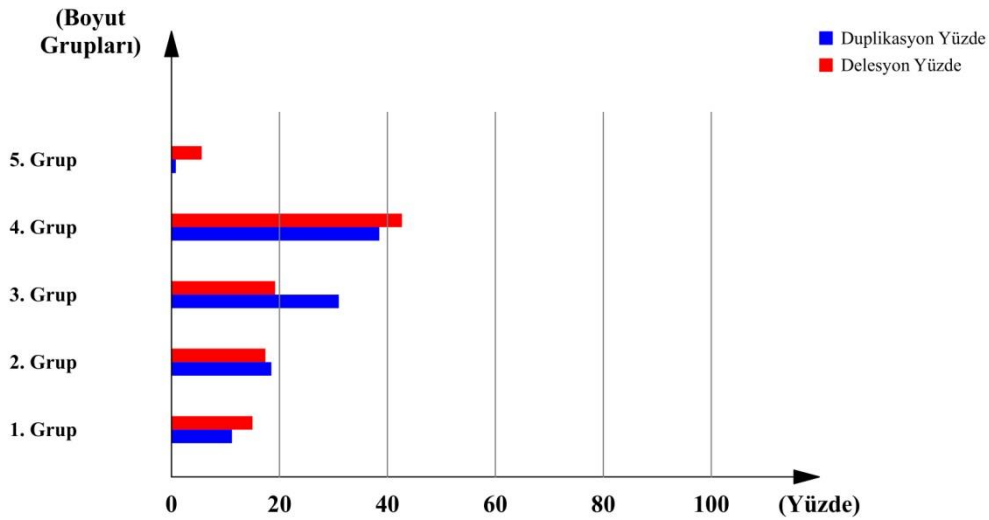
Hom: homozigot, Het: heterozigot, Hem: hemizigot)

Tüm çalışma grubu ele alındığında delesyonların en sık 14. kromozomda (%16,7), duplikasyonların ise X kromozomunda (%12,5) yer aldığı belirlendi. Olgular prenatal ve postnatal dönemlere ayrılarak incelendiğinde, prenatal grupta delesyonların en sık 16. kromozomda (%12,5), duplikasyonların ise X kromozomunda (%17,7) konumlandığı tespit edildi. Postnatal grupta ise delesyonlar en sık 14. kromozomda (%23,6) görülürken, duplikasyonların 10. kromozomda (%9,2) yer aldığı belirlendi. Bu gruplarda değişimler homozigot ve heterozigot oluşlarına göre incelendiğinde prenatal grupta heterozigot delesyon en sık 1. ve 2. kromozomda (%10,3) görüldü. Her iki grupta da homozigot duplikasyonların daha nadir olduğu gözlemlendi. Postnatal grupta, homozigot delesyonların en sık olarak 1. kromozomda (%20,2), heterozigot delesyonların ise 14. kromozomda (%24,7) yer aldığı görüldü.

Tüm çalışma grubunda KSD'lerin boyutlarına göre delesyon ve duplikasyon dağılımları Şekil 4-2'de özetlenmiştir. KSD'ler boyutlarına göre beş gruba ayrıldı. Bu gruplar; Grup 1= 100 kb ve altı, Grup 2= 100 kb–300 kb arası, Grup 3= 300 kb–500 kb, Grup 4= 500 kb–1 Mb ve Grup 5= 1 Mb–2Mb. KSD'lerin boyutlarına göre delesyon ve duplikasyon yüzdeleri ise Şekil 4-3'te gösterilmektedir. Boyutlara göre değişimler de prenatal/postnatal ve dişi/erkek gruplara ayrılarak incelendi (Tablo 4-6). Prenatal ve postnatal olgularda delesyonların 100 kb–300 kb boyutunda daha sık olduğu saptandı. Duplikasyonların ise 300 kb–500 kb boyutunda daha sık olduğu görüldü. Saptanan KSD'lerin boyut ve kromozomlara göre dağılımı ise Tablo 4-7'de gösterilmektedir.



Şekil 4-2: KSD boyutlarının delesyon ve duplikasyon frekansına göre dağılımları



Şekil 4-3: KSD'lerdeki delesyon ve duplikasyonların boyutlarına göre yüzdeleri

(Değerler % olarak verilmiştir. Grup 1= 100 kb ve altı, Grup 2= 100 kb–300 kb arası, Grup 3= 300 kb–500 kb, Grup 4= 500 kb–1 Mb ve Grup 5= 1 Mb–2Mb)

Tablo 4-6: KSD'lerin prenatal ve postnatal gruplarda boyut dağılımı*

	Prenatal				Postnatal			
	Dişi		Erkek		Dişi		Erkek	
	Del	Dup	Del	Dup	Del	Dup	Del	Dup
Grup 1 (n,%)	7 (0,8)	1 (0,3)	8 (0,6)	0 (0)	110 (16,2)	1 (0,4)	81 (9,4)	10 (4,2)
Grup 2 (n,%)	444 (51,9)	85 (26,7)	546 (44,1)	93 (33,2)	290 (42,8)	138 (49,3)	325 (37,8)	151 (63,2)
Grup 3 (n,%)	137 (16,0)	96 (30,2)	210 (17,0)	93 (33,2)	99 (14,6)	57 (20,4)	163 (19,0)	38 (15,9)
Grup 4 (n,%)	147 (17,2)	77 (24,2)	234 (18,9)	73 (26,1)	110 (16,2)	44 (15,7)	140 (16,3)	26 (10,9)
Grup 5 (n,%)	120 (14,0)	59 (18,6)	239 (19,3)	21 (7,5)	68 (10,0)	40 (14,3)	151 (17,6)	14 (5,9)
Toplam (n)	855	318	1237	280	677	280	860	239

*Bu tablodaki veriler KSD sayısı ve koordinatlarına göre düzenlenmiştir (Grup 1= 100 kb ve altı,

Grup 2= 100 kb–300 kb arası, Grup 3= 300 kb–500 kb, Grup 4= 500 kb–1 Mb ve Grup 5= 1 Mb–2Mb).

Tablo 4-7: Kromozomlardaki KSD’lerin boyut dağılımı*

Kromozom	Grup 1 n (%)	Grup 2 n (%)	Grup 3 n (%)	Grup 4 n (%)	Grup 5 n (%)
1	16 (7,3)	288 (13,8)	50 (5,6)	105 (12,3)	27 (3,8)
2	21 (9,6)	330 (15,8)	22 (2,5)	63 (7,4)	6 (0,8)
3	4 (1,8)	58 (2,8)	28 (3,1)	12 (1,4)	3 (0,4)
4	11 (5,0)	83 (4,0)	22 (2,5)	15 (1,8)	10 (1,4)
5	1 (0,5)	55 (2,7)	25 (2,8)	36 (4,2)	127 (17,8)
6	3 (1,4)	105 (5,1)	43 (4,8)	30 (3,5)	3 (0,4)
7	21 (9,6)	88 (4,2)	52 (5,8)	37 (4,3)	18 (2,5)
8	0 (0,0)	117 (5,6)	17 (1,9)	5 (0,6)	1 (0,1)
9	1 (0,5)	74 (3,6)	54 (6,0)	35 (4,1)	36 (5,1)
10	5 (2,3)	75 (3,6)	34 (3,8)	24 (2,8)	8 (1,1)
11	31 (14,2)	69 (3,3)	37 (4,1)	9 (1,1)	1 (0,1)
12	4 (1,8)	36 (1,7)	27 (3,0)	24 (2,8)	27 (3,8)
13	2 (0,9)	32 (1,5)	6 (0,7)	4 (0,5)	1 (0,1)
14	55 (25,2)	62 (3,0)	259 (29,0)	238 (28,0)	34 (4,8)
15	16 (7,3)	125 (6,0)	21 (2,4)	6 (0,7)	4 (0,6)
16	4 (1,8)	66 (3,2)	21 (2,4)	22 (2,6)	332 (46,6)
17	3 (1,4)	36 (1,7)	21 (2,4)	62 (7,3)	7 (1,0)
18	2 (0,9)	22 (1,1)	3 (0,3)	5 (0,6)	0 (0,0)
19	2 (0,9)	70 (3,4)	25 (2,8)	11 (1,3)	0 (0,0)
20	5 (2,3)	29 (1,4)	14 (1,6)	5 (0,6)	1 (0,1)
21	0 (0,0)	69 (3,3)	16 (1,8)	8 (0,9)	1 (0,1)
22	2 (0,9)	87 (4,2)	18 (2,0)	21 (2,5)	1 (0,1)
X	8 (3,7)	80 (3,9)	67 (7,5)	69 (8,1)	42 (5,9)
Y	1 (0,5)	33 (1,6)	12 (1,2)	6 (0,6)	51 (3,1)
Toplam	218 (100,0)	2089 (100,0)	894 (100,0)	852 (100,0)	741 (100,0)

*Bu tablodaki veriler KSD sayı ve koordinatlarına göre düzenlenmiştir.

Grup 1= 100 kb ve altı, Grup 2= 100 kb–300 kb arası, Grup 3= 300 kb–500 kb, Grup 4= 500 kb–1 Mb ve Grup 5= 1 Mb–2Mb.

KSD boyutlarının kromozomlara göre dağılımı incelendiğinde 100 kb altındaki değişimlerin en sık olarak 14. kromozomda (%25,2), 100 kb–300 kb arası en sık 2. kromozomda (%15,8), 300 kb–500 kb arası en sık 14. kromozomda (%29), 500–1 Mb arası en sık 14. kromozomda (%27,9), 1 Mb–2 Mb arası ise en sık 5. kromozomda (%17,1) olduğu görüldü

Tüm çalışma toplumundaki 4794 KSD'nin frekansı 0,5'den yüksek olanlar diğer veritabanları ile karşılaştırmalı olarak incelendi. Bu KSD'lerin kromozom bant bölgeleri ve koordinatları Tablo 4–8'de sunulmuştur. Tablodan da anlaşılacağı gibi, en fazla değişimin 14. kromozomun q11.2 bölgesindeki delesyon (%9,4) olduğu görülmektedir.

Tablo 4-8: Frekansı %0,5 ve üzeri KSD'lerin dağılımı*

Kromozom bant bölgesi	Değişimin başlangıç, bitiş koordinatları	n	Frekans (%)
chr14q11.2	22252087-23504769	449	9,4
chr16p11.2	31934834-34202147	370	7,7
chr1q21.2	147380368-149775936	304	6,3
chr2q37.3	239860877-243068396	202	4,2
chr5q13.2	68508813-70688429	133	2,8
chr15q14	34600367-34880275	90	1,9
chr2p11.2	89364472-90234023	87	1,8
chr19q13.2q13.31	43173815-43814108	70	1,5
chr14q32.33	105035983-107287505	63	1,3
chr7q11.21	61831840-66776468	60	1,3
chr22q11.23q12.1	25580525-25992726	55	1,1
chr8q24.23	137713413-137842451	54	1,1
chr21p11.2p11.1	10002764-11096093	52	1,1
chr10q26.3	133361573-135404523	47	1,0
chr1q31.3	195317413-196895943	38	0,8
chr6p25.3	206749-766200	35	0,7
chr17q21.31	40910621-41606424	33	0,7
chrXp22.11	23331154-24513341	31	0,6
chr11p15.1	18278497-21640072	30	0,6
chr14q13.1q13.2	34753109-35784114	27	0,6
chr6q13	73887446-74754057	26	0,5
chrYq11.223q11.23	23607871-28673512	25	0,5
chr9p23	11760141-13006450	24	0,5
chr22q11.21	18085573-22028768	23	0,5
chr11p15.5	2016612-2017012	22	0,5
chr4q13.2	70117148-70403351	22	0,5

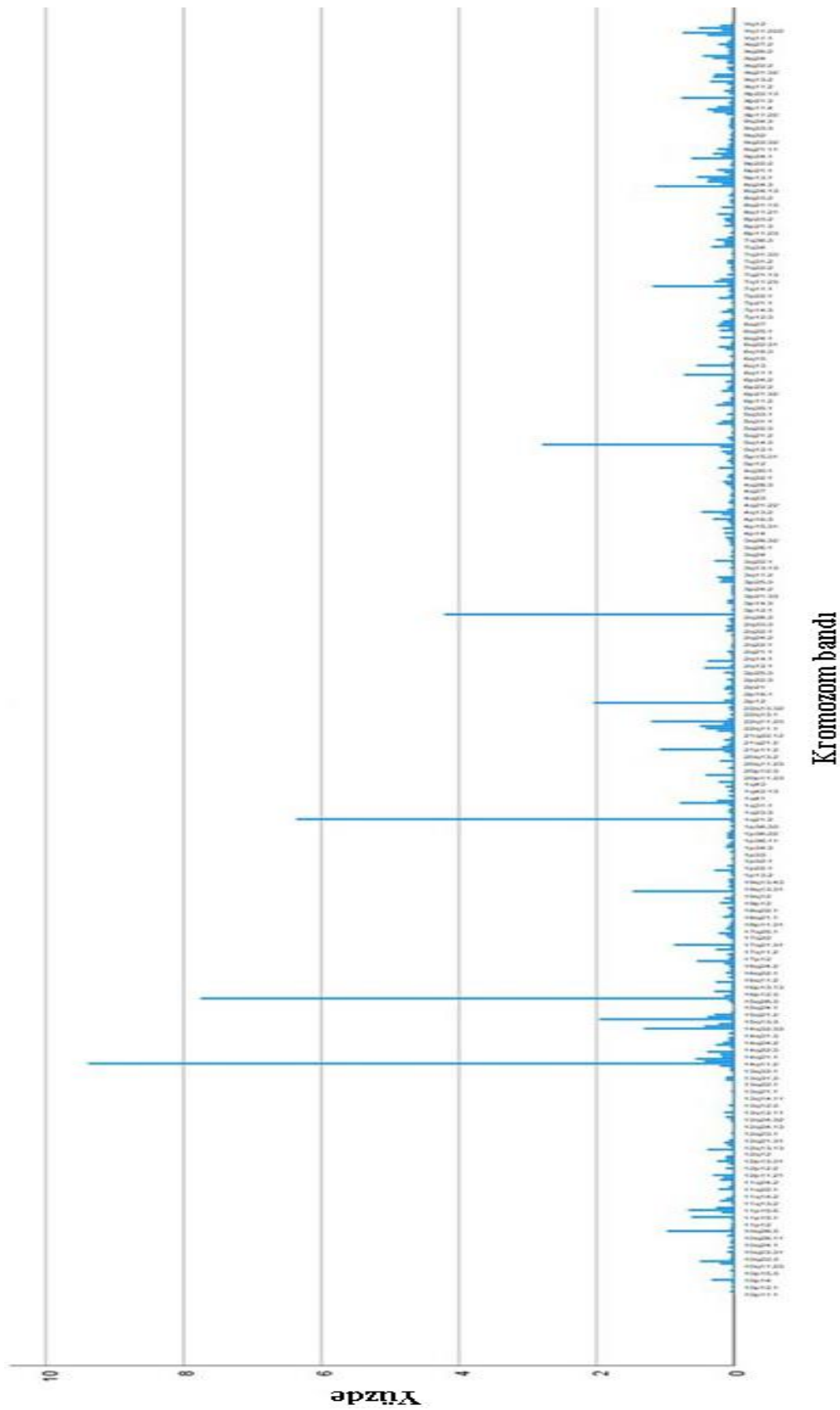
*Bu tablodaki veriler KSD sayı ve koordinatlarına göre düzenlenmiştir.

Elde edilen değişim sayısı çok büyük olduğundan değişimler kümelendirilerek değerlendirildi. Kümelendirme için KSD'ler ilk olarak kromozom ve bant bölgesine

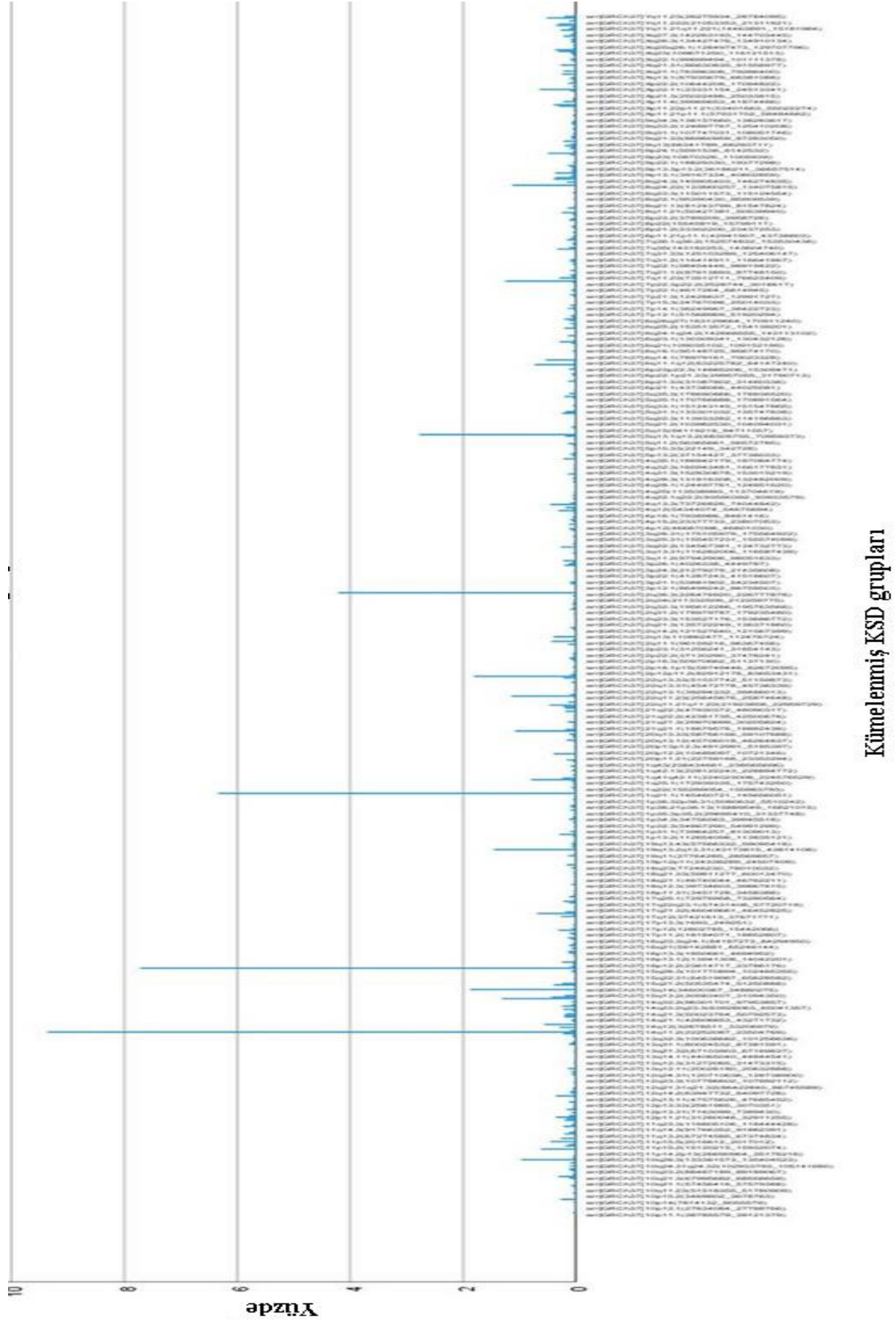
göre gruplandırıldı. Şekil 4-4'te tüm kromozom bant bölgelerinin frekansları gösterilmektedir.İleri aşamalarda kümelendirme amaçlı genom koordinatlarına göre KSD grupları oluşturuldu.

Şekil 4-5'te KSD'lerin koordinat gruplarına göre yüzde dağılımı gösterilmektedir. En yüksek olarak sırasıyla chr14q11.2, chr16p11.2, chr1q21.2, chr2q37.3, chr5q13.2, chr15q14, chr2p11.2, chr19q13.2q13.31, chr14q32.33, chr7q11.21, chr22q11.23q12.1, chr8q24.23, chr21p11.2p11.1, chr10q26.3, chr1q31.3, chr6p25.3, chr17q21.31, chrXp22.11, chr11p15.1, chr14q13.1q13.2, chr6q13, chrYq11.223q11.23, chr9p23, chr22q11.21, chr11p15.5, chr4q13.2 kromozom bantlarında küme bölgeleri saptandı.

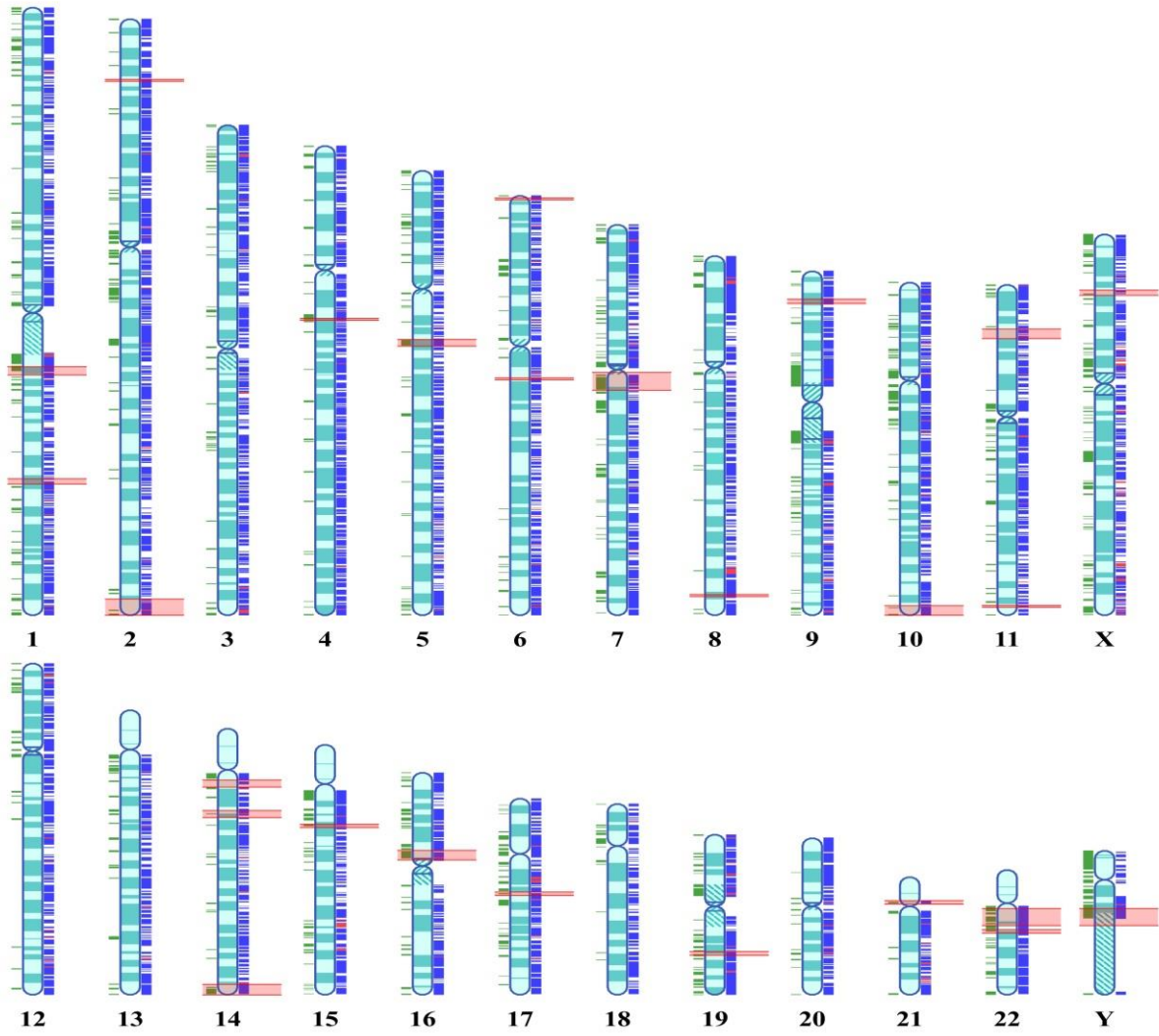
Kümelendirmeler yapıldıktan sonra frekansı %0,5 üzeri olanbu KSD bölgeleri Tablo 4-8'de gösterilirken, Şekil 4-6'da ise tespit edilen ve frekansı %0,5 üzeri olan KSD küme bölgelerinin DGV KSD haritası ile karşılaştırılması gösterildi. Küme bölgelerde bulunan genler ve değişimlerle ilişkili endikasyonların frekansları Tablo 4-9'da gösterildi. KSD küme bölgelerindeki değişimlerin boyutları, boyutların frekansları ve delesyon/duplikasyon frekansları Tablo 4-10'da gösterildi.



Şekil 4-4: Kromozom bant bölgesine göre KSD grupları (Ayrıntılı görüntüye ham veri tablolarından ulaşılabilir)



Şekil 4-5: Genom koordinatlarına göre KSD grupları (Ayrıntılı görüntüye ham veri tablolarından ulaşılabilir)



Şekil 4-6: DGV'deki KSD haritası ve çalışmamızda saptanan KSD karşılaştırması

DGV veritabanında KSD'ler (koyu mavi), segmental duplikasyonlar (yeşil), inversiyonların kırık noktaları (kısa kırmızı çizgi) şeklinde gösterilmektedir. Kalın kırmızı çizgiler ise butez çalışmasında saptanan kümelenmiş KSD'leri (kalın kırmızı) göstermektedir.

Tablo 4-9: KSD kümelerindeki genler ve ilişkili endikasyonların frekansları

Kr. Bant Bölgesi	Genom Koordinatı	Bölgede yer alan genler	Gen (n)	Gen (%)	End No	End (n)	End (%)
14q11.2	22252087-23504769	<i>LOC105370401</i>	431	96,0	1	111	29,0
					12	67	17,5
					2	49	12,8
					4	25	6,5

16p11.2	31934834-34202147	LOC390705, LOC105369266, TP53TG3B, TP53TG3F, LOC102723655, TP53TG3, TP53TG3C, TP53TG3E, SLC6A10P, ENPP7P13	224	60,5	1	46	15,2
					12	40	13,2
					2	34	11,2
					4	17	5,6
					3	12	4,0
1q21.2	147380368-149775936	NBPF25P, RNVU1-17, RNVU1-18, RNU1-3, RNU1-4, RNU1-2, RNU1-1	114	37,1	1	44	18,0
					2	31	12,7
					12	29	11,8
					4	18	7,3
2q37.3	239860877-243068396	LINC01237, LINC01238, LOC285097, LINC01880	167	82,7	1	35	22,4
					2	20	12,8
					12	18	11,5
					4	8	5,1
5q13.2	68508813-70688429	OCLN, GTF2H2C_2, GTF2H2B, GTF2H2C, GUSBP3, LOC653080, LOC101929599, LOC102724995, SERF1A, SERF1B, SMN1, SMN2, SMA4, GTF2H2, SMA5, LOC441081, GUSBP9, NAIP, OCLNP1, SNORD13B-2, SNORD13B-1, LINC02197	45	33,8	1	23	21,3
		LOC653080, SERF1A, SERF1B, SMN1, SMN2, SMA4, GUSBP3, GTF2H2, GTF2H2B, SMA5, LOC441081, GUSBP9, LOC101929599, LOC102724995, NAIP	26	19,5	2	11	10,2

		LOC653080, SERF1A, SERF1B, SMN1, SMN2, SMA4, GUSBP3, GTF2H2, GTF2H2B, SMA5, LOC441081, GUSBP9, LOC101929599, LOC102724995, NAIP, OCLNP1, SNORD13B-2, SNORD13B-1, LINC02197	25	18,8	12	10	9,3
					3	6	5,6
					4	6	5,6
15q14	34600367-34880275	GOLGA8A, GOLGA8B, MIR1233-1, MIR1233-2	59	65,6	1	11	15,1
					2	8	11,0
					4	8	11,0
					12	8	11,0
2p11.2	89364472-90234023	0	0	0	1	17	22,4
					2	11	14,5
					12	7	9,2
					3	5	6,6
19q13.2q13.31	43173815-43814108	PSG8-AS1, PSG10P, PSG1, PSG6, PSG7, PSG11	19	27,1	1	14	23,7
					3	7	11,9
					2	4	6,8
					5	3	5,1
					12	3	5,1
14q32.33	105035983-107287505	0	55	87,3	1	16	38,1
		MIR5195	7	11,1	12	14	33,3
7q11.21	61831840-66776468	0	33	55	1	11	22,9
		ZNF92	8	13,3	2	4	8,3
					3	4	8,3
					5	4	8,3
					8	4	8,3
22q11.23q12.1	25580525-25992726	IGLL3P, LRP5L, CRYBB2P1, MIR6817	53	96,4	1	10	25,0
					12	8	20,0
					2	4	10,0
8q24.23	137713413-137842451	LINC02055	54	100	1	11	22,9
					2	6	12,5

					12	6	12,5
21p11.2p 11.1	10002764- 11096093	TPTE	42	80,8	2	5	10,6
					4	5	10,6
					24	4	8,5
10q26.3	133361573- 135404523	SCART1, CYP2E1, SYCE1, SPRNP1	14	29,8	1	11	28,9
		SCART1, CYP2E1, SYCE1	12	25,5	12	9	23,7
					2	5	13,2
1q31.3	195317413- 196895943	CFHR3, CFHR1	14	36,8	1	8	27,6
		CFH, CFHR3, CFHR1, CFHR4	10	26,3	12	6	20,7
					2	3	10,3
6p25.3	206749- 766200	DUSP22, IRF4	31	88,6	1	5	19,2
					2	3	11,5
					4	2	7,7
					12	2	7,7
17q21.31	40910621- 41606424	CNTD1, BECN1, MIR6781, PSME3, AOC2, AOC3, AOC4P, LINC00671, G6PC, PTGES3L-AARSD1, AARSD1, PTGES3L, RUNDC1, RPL27, IFI35, VAT1, RND2, BRCA1, NBR2, LOC101929767, NBR1, TMEM106A, CCDC200, LINC00910, ARL4D	18	54,5	1	4	14,8
					12	4	14,8
Xp22.11	23331154- 24513341	ACOT9, SAT1, APOO, CXorf58, KLHL15, EIF2S3, ZFX-AS1, ZFX	20	64,5	1	3	11,1
					8	3	11,1
11p15.1	18278497- 21640072	HPS5, GTF2H1, MIR3159, LDHA, LDHC, LDHAL6A, TSG101	9	30,0	1	6	21,4
		HPS5, GTF2H1, MIR3159, LDHA, LDHC, LDHAL6A,	6	20,0	2	4	14,3

		<i>TSG101, UEVLD, SPTY2D1OS, SPTY2D1</i>			12	3	10,7
14q13.1q 13.2	34753109- 35784114	<i>SPTSSA, EAPP, RNVU1-18, RNU1-3, RNU1-4, RNU1-2, RNU1-1, SNX6, CFL2, BAZ1A, LOC112268124, SRP54-AS1, IGBP1P1, SRP54, FAM177A1, LOC101927178, PPP2R3C, PRORP, PSMA6, NFKBIA, INSM2, RALGAPA1, SNORA101B, BRMS1L</i>	9	33,3	12	4	16,0
		<i>SPTSSA, EAPP, RNVU1-18, RNU1-3, RNU1-4, RNU1-2, RNU1-1, SNX6, CFL2, BAZ1A, LOC112268124, SRP54-AS1, IGBP1P1, SRP54, FAM177A1, LOC101927178, PPP2R3C, PRORP, PSMA6</i>	6	22,2	1	3	12,0
					2	3	12,0
6q13	73887446- 74754057	<i>KCNQ5, KHDC1L, KHDC1, DPPA5, KHDC3L, OOEP, DDX43, CGAS, MTO1, EEF1A1, SNORD141A, SNORD141B, SLC17A5, LOC101928489, CD109</i>	8	30,8	3	3	12,5
		<i>KHDC1L, KHDC1, DPPA5, KHDC3L, OOEP, DDX43, CGAS, MTO1, EEF1A1, SNORD141A,</i>	6	23,1	8	3	12,5
					12	3	12,5

		<i>SNORD141B, SLC17A5, LOC101928489, CD109</i>					
Yq11.22 3q11.23	23607871- 28673512	<i>DAZ4, DAZ1, DAZ3, DAZ2, TTTY3, TTTY3B, CDY1B, CDY1, CSPG4P1Y</i>	11	44,0	1	4	18,2
		<i>DAZ4, DAZ1, DAZ3, DAZ2, TTTY3, TTTY3B, CDY1B, CDY1, CSPG4P1Y, GOLGA2P2Y, GOLGA2P3Y</i>	7	28,0	2	3	13,6
					12	3	13,6
9p23	11760141- 13006450	0	22	91,7	1	6	27,3
					3	2	9,1
					12	2	9,1
22q11.21	18085573- 22028768	<i>LOC102724770, DGCR6, LOC102724788, PRODH, DGCR5, DGCR9, DGCR10</i>	15	65,2	2	3	17,6
					1	2	11,8
					4	2	11,8
					12	2	11,8
11p15.5	2016612- 2017012	<i>HOTS, H19</i>	20	90,9	1	7	41,2
					12	3	17,6
					2	2	11,8
					24	2	11,8
4q13.2	70117148- 70403351	<i>UGT2B28</i>	21	95,5	1	5	29,4
					12	2	11,8

Kr: Kromozom, End: Endikasyon (1= merkezi sinir sistemi anomalileri, 2= iskelet/kas sistemi anomalileri, 3= cilt ödemi/kistik higroma, 4= kardiyak anomaliler, 5= nefrotik anomaliler, 8= abdominal duvar anomalileri)

Tablo 4-10: KSD küme bölgelerindeki değişimlerin gösterimi

Kr. bant bölgesi	Boyut Grubu	Boyut (n)	Boyut (%)	Del Boyut (n)	Del Boyut (%)	Dup Boyut (n)	Dup Boyut (%)
14q11.2	2	5	1,1	5	1,1		
	3	224	49,9	221	49,9	3	50,0
	4	220	49,0	217	49,0	3	50,0

	Toplam	449	100,0	443	100,0	6	100,0
16p11.2	2	21	5,7	20	5,5	1	14,3
	3	9	2,4	8	2,2	1	14,3
	4	13	3,5	12	3,3	1	14,3
	5	327	88,4	323	89,0	4	57,1
	Toplam	370	100,0	363	100,0	7	100,0
1q21.2	2	200	65,1	191	69,7	9	27,3
	3	16	5,2	3	1,1	13	39,4
	4	80	26,1	72	26,3	8	24,2
	5	11	3,6	8	2,9	3	9,1
	Toplam	307	100,0	274	100,0	33	100,0
2q37.3	1	11	5,4	11	5,4	0	0
	2	190	94,1	190	94,1	0	0
	4	1	0,5	1	0,5	0	0
	Toplam	202	100,0	202	100,0	0	0
5q13.2	4	11	8,3	7	8,0	4	8,7
	5	122	91,7	80	92,0	42	91,3
	Toplam	133	100,0	87	100,0	46	100,0
15q14	2	90	100				
2p11.2	2	44	50,6	44	50,6	0	0
	4	43	49,4	43	49,4		
	Toplam	87	100,0	87	100,0		
19q13.2q1 3.31	2	40	57,1	34	85,0	6	20,0
	3	20	28,6	5	12,5	15	50,0
	4	10	14,3	1	2,5	9	30,0
	Toplam	70	100,0	40	100,0	30	100,0
14q32.33	1	53	84,1	53	84,1	0	0
	2	10	15,9				
	Toplam	63	100,0				
7q11.21	2	23	38,3	13	50,0	10	29,4
	3	13	21,7	8	30,8	5	14,7
	4	20	33,3	2	7,7	18	52,9
	5	4	6,7	3	11,5	1	2,9
	Toplam	60	100,0	26	100,0	34	100,0
22q11.23q 12.1	2	53	96,4	29	100	24	92,3
	3	2	3,6	0	0	2	7,7
	Toplam	55	100,0			26	100,0
8q24.23	2	54	100			0	0
21p11.2p1 1.1	2	40	76,9	37	75,5	3	100
	3	6	11,5	6	12,2		
	4	5	9,6	5	10,2		
	5	1	1,9	1	2,0		
	Toplam	52	100,0	49	100,0		
10q26.3	1	3	6,4	3	100		

	2	39	83,0			39	88,6
	3	5	10,6			5	11,4
	Toplam	47	100,0			44	100,0
1q31.3	1	14	36,8	14	38,9		
	2	23	60,5	22	61,1	1	50,0
	4	1	2,6	36	100,0	1	50,0
	Toplam	38	100,0			2	100,0
6p25.3	2	31	88,6			0	0
	3	3	8,6				
	4	1	2,9				
	Toplam	35	100,0				
17q21.31	3	5	15,2			0	0
	4	28	84,8				
	Toplam	33	100,0				
Xp22.11	3	10	32,3	10	33,3		
	4	21	67,7	20	66,7	1	
	Toplam	31	100,0	30	100,0		
11p15.1	2	22	73,3	21	72,4	1	
	3	8	26,7	8	27,6		
	Toplam	30	100,0	29	100,0		
14q13.1q1 3.2	4	10	37,0				
	5	17	63,0				
	Toplam	27	100,0				
6q13	3	11	42,3				
	4	15	57,7				
	Toplam	26	100,0				
Yq11.223 q11.23	4	4	16,0	2	22,2	2	12,5
	5	21	84,0	7	77,8	14	87,5
	Toplam	25	100,0	9	100,0	16	100,0
9p23	2	22	91,7			0	0
	3	1	4,2				
	4	1	4,2				
	Toplam	24	100,0				
22q11.21	1	2	8,7	1	6,7	1	12,5
	2	17	73,9	11	73,3	6	75,0
	3	3	13,0	2	13,3	1	12,5
	4	1	4,3	1	6,7		
	Toplam	23	100,0	15	100,0	8	100,0
11p15.5	1	22	100			0	0
4q13.2	2	22	100			0	0

Kr: Kromozom, Del: Delesyon, Dup: Duplikasyon(Grup 1 = 100 kb ve altı, Grup 2 = 100 kb–300 kb arası, Grup 3 = 300 kb–500 kb, Grup 4 = 500 kb–1 Mb ve Grup 5= 1 Mb–2Mb)

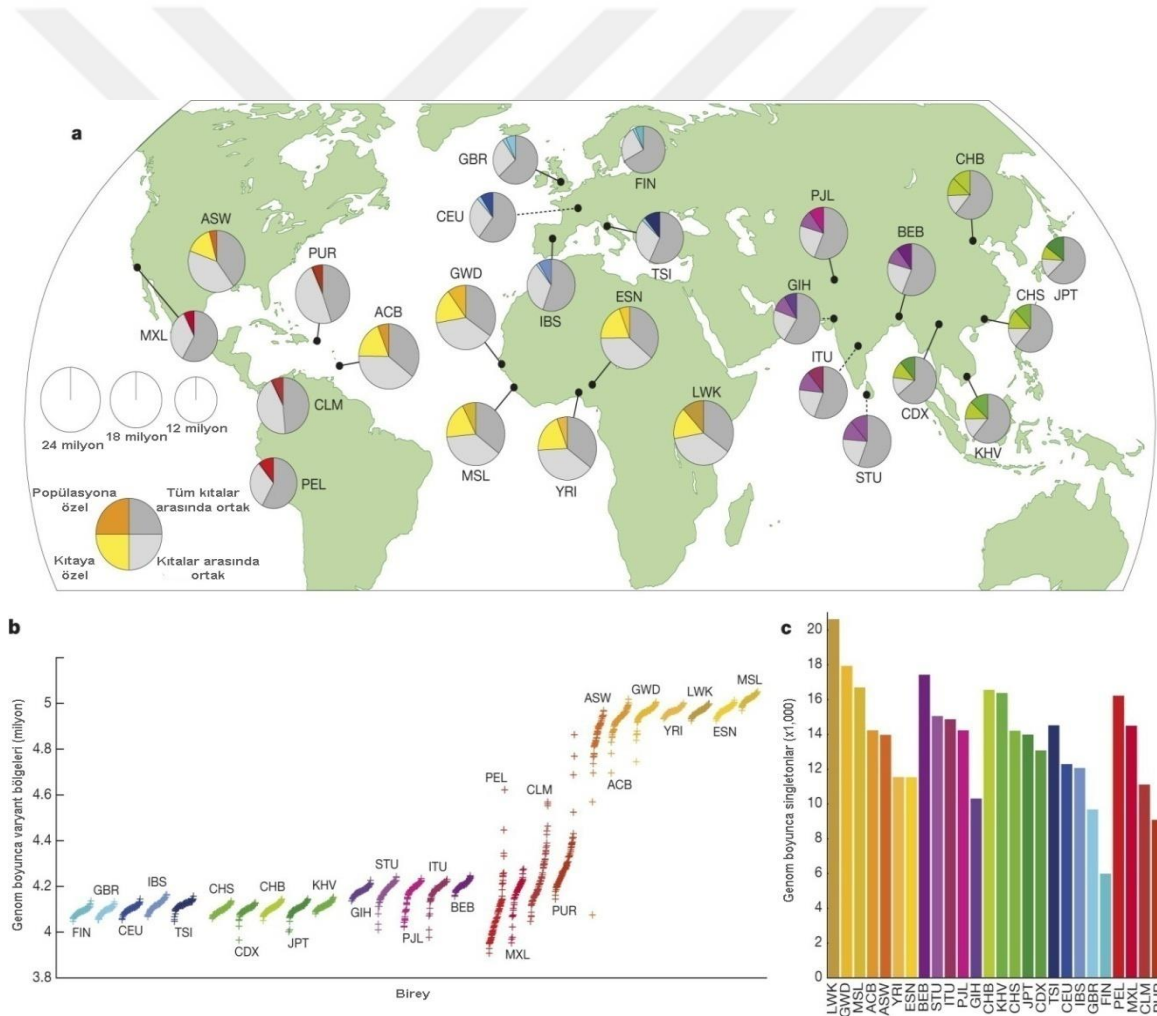
5. TARTIŞMA

Kalıtımla ilgili mekanizmalar geçmişten beri ilgi konusu olmuştur ve bu mekanizmalar bilinmese bile ailede kalıtım olduğu gözlenmiştir. Eskilerden beri araştırma ve merak konusu olan kalıtım, genetik adı altında somut şekilde ancak 1900'lerin başında çalışılmaya başlanmıştır. Önceki yıllarda, Gregor Mendel ve meşhur bezelye deneylerini 1800'lerde gerçekleştirdiğinde genetiğe dair bir bilgisi ya da eğitimi yoktu. Ancak, nesiller arası kalıtımı gözlemleyerek bu deneylerini gerçekleştirdi. 1900'lerin başında İngiliz biyolog William Bateson öncülüğüyle genetik terimi kullanılmaya başlandı. Bunun ardından Danimarkalı bir botanikçi Wilhelm Johannsen gen terimini genesis (köken) kelimesinden esinlenerek öne sürdü. Klasik yöntemlerin hayatımıza girmesi 1950'leri buldu. Ve sonrasında genetik adına bu kısa süreçte çok fazla yol kat edilmiştir. Klasik yöntemler 1950'lerde hayatımıza girmiş olsa da tüm genom tarama gibi yöntemler oldukça yenidir. Günümüzde kopya sayısı varyasyonlarının araştırılması için klasik sitogenetik tekniklerin yanı sıra a-CGH de ilk aşama testi olarak kullanılmaya başlanmıştır. A-CGH de yeni metodlar arasında olmakla beraber prenatal tarama ve entelektüel yetmezlikle ilişkili araştırmalarda ilk aşama testinde yer almaya başlamıştır. A-CGH ile az materyal ile tüm genomda tarama yapma, hızlı tanı koyma ve ardından hızlı genetik danışma alınabilmesine olanak sağlanmıştır. KSD'ler ise tür içi ve türler arası evrimsel yolculuğunu tam kavrayamadığımız varyasyonların kökenini anlayabilmek ve bireysel tıp gibi alanlarda gelişme yaşayabilmek için oldukça önem taşımaktadır. İnsan genom projesi ile birçok genin genomdaki lokalizasyonu belirlenmiş olsa da bu genlerin işlevleri ve hastalık ilişkileri tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Gen fonksiyonu ve işleviyle ilgili çalışmalar HapMap projesi ile ağırlık kazanmakla birlikte diğer projelerle devam etmektedir. (53, 54).

2015'de 3. faz çalışması ile biten 1000 genom projesiyle 26 popülasyondan 2504 bireyle çalışma yapılmıştır. SNP, indeller ve yapısal varyasyonların da katıldığı bu çalışmada 84,7 milyon SNP, 3,6 milyon indel, 60,000 yapısal varyant tespit edilmiştir. Ortak varyantlar her yerde tespit edilirken, daha nadir olan varyantlar popülasyonun içinde ve yakın popülasyonlarda tespit edilmiştir. Bu da bize genetik yakınlığın nerede olduğunu göstermektedir. Örnek olarak Afrika'da ve Doğu Asya'da doğu-batı

kümelenmesi görülürken, Avrupa’da kuzey–güney kümelenmesi görülmüştür (Şekil 5–1) (55).

İlk *Homo sapiens*’in Afrika’da doğuşuyla beklenildiği üzere en fazla varyant bölgesinin Afrika’da olduğu ve bununla beraber diğer popülasyonlarda da varyant bölgelerinin sıklığının en son Afrika’dan çıkış ile bağlantısı olduğu tespit edilmiştir. Varyant bölgeleri en fazla Afrika’da tespit edilmesine rağmen, araştırma gen fonksiyonunu etkileyen varyantlar üzerine yoğunlaştığında ClinVar’da nadir hastalıklarla ilişkilendirilmiş varyantlarda Avrupa topluluklarında yoğunluk görülmüştür. Bunun sebebi ise genetik araştırmalarda yeterince Avrupa dışı topluluklarda çalışma yapılmamış olmasıdır (56).



Şekil 5-1: 1000 genom projesinin kıtalararası varyasyon haritası (55) (Kısaltmalar çalışmanın yapıldığı şehirleri göstermektedir)

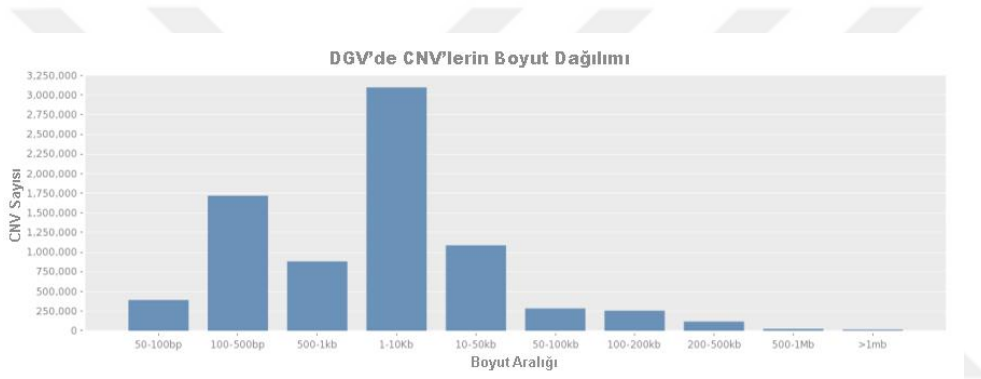
Thareja G. ve arkadaşlarının, Kuwait Genom Projesi kapsamında yaptıkları İran kökenli ilk popülasyon çalışmasında tüm genom dizilemesinde 3,573,824 SNP, 404,090 indel ve 11,138 yapısal varyant tespit etmişlerdir. Bu varyantlardan 58,186'i SNP ve 27,753'i indel olmak üzere toplam 85,939 yeni varyant tanımlamışlardır. Bunlardan 2314'ü patojenik etkili ve 295'inin fonksiyon kaybına yol açan değişim olduğu tespit edilmiştir (57).

Bugüne kadar yapılmış benzeri çalışmalardan yola çıkarak, biz de bu çalışmada hasta popülasyonumuzdaki varyasyon sıklığını, ortak varyant ve klinik bulgu birlikteliğini araştırarak kendi veri tabanımızı oluşturmayı hedefledik. Çoğu araştırma popülasyon çalışması şeklinde olsa da, bizim projemizde klinik fenotipi olan bireyler değerlendirmeye alındı. Bu nedenle, çeşitli endikasyonlarla başvuran ve olası genomik dengesizliklerin araştırılması amacıyla a-CGH yapılmış ve genetik test sonuçları klinik bulguyla bağdaşmadığı düşünülen hastalarla bir araştırma başlatıldı. 2015 ve 2022 arasında birimimize başvuran ve 2000 hasta değerlendirmeye alınıp, belirlenen algoritma sonrasında 1680 hasta ile araştırma tamamlandı. Bu hasta gruplarından klinikle ilişkili değişim bölgeleri verilerden çıkarıldı ve KSD boyut üst limiti 2 Mb olarak belirlendi.

Çalışmaya alınan değişimler prenatal/postnatal, delesyon/duplikasyon, homozigot/heterozigot, boyut, kromozom, kromozom bölgesi, ISCN koordinatları ve endikasyonlarına göre gruplara ayrılarak sistematik olarak incelendi. İncelemeler sırasında DGV, OMIM, Franklin Genoox gibi veritabanlarından faydalanıldı (27, 58, 59). DGV veritabanında, KSD ile ilgili veri girişi 2008 yılından sonra hız kazanmıştır (Şekil 5–2). DGV veritabanında sunulan bar grafiğinde KSD'lerin 1 kb–10 kb arasında 3 milyon üzerinde ve 100 bp–500 bp arasında yaklaşık 1.750.000 olduğu görülmektedir (Şekil 5–3). Bizim araştırmamızda en sık rastlanan boyut grubu 2089 frekansla 100 k–300 kb arası olurken, ardından sırasıyla 894 frekansla 300 kb–500 kb, 852 frekansla 500kb–1 Mb, 741 frekansla 1 Mb–2 Mb takip etmiştir. En düşük şekilde de 218 frekansla 100 kb altı saptandı.



Şekil 5-2: DGV KSD verilerindeki yıldan yıla artış grafiği (27)



Şekil 5-3: DGV KSD değişimlerini gösteren grafik (27)

Mikroarray analizleri artık klasik sitogenetik yöntemlerin arasında ilk aşama testi olarak yer almaya başladı. Hnoonual A. ve ark.'nın 2017'de yayınladığı bir makalede mikroarray uygulanan 114 Thai otizm spektrum bozukluğu (OSB) olan hastada OSB ile ilişkili KSD'leri araştırmışlardır (60). Infinium Cyto SNP-850K Bead Chip kullanılarak yapılan çalışmada bizim çalışmamızdaki gibi retrospektif ve prospektif hastalara yer vermişlerdir (68 retrospektif, 46 prospektif). Bu şekilde bir gruplama yapılmasının sebeplerinden biri ise retrospektif grupta normal karyotipli olgulara mikroarray ikinci aşama testiyken, prospektif grupta ilk aşama testi olarak kullanılmış olmasıdır. Bu tez çalışmasında da a-CGH analizi klasik sitogenetik testleri normal sonuçlanan olgulara ikinci aşama test olarak uygulandı.

Hnoonual A. ve ark.'nın çalışmasında medyan boyu 86 kb olacak şekilde boyutları 1,632 baz çiftinden 18,9 Mb'a kadar olan 742 KSD tespit etmişlerdir. Bizim

çalışma algoritmamıza göre 2 Mb boyut üst limit olarak belirlendiğinden, boyutlar 0,32 baz çiftinden 1,9 Mb'a kadar olup, 4746 KSD tanımlandı.

Hnoonual A. ve ark.'nın çalışmalarında anne ve babanın araştırılmasıyla doğrulanan beş *de novo* KSD saptamıştır. Bu *de novo* KSD'lerden dört VUS'un ise nadir duplikasyon oldukları görülmüştür. VUS olarak tanımlanan iki gen (*DPP10*, *CHL1*) OSB'ye önceden aday gen olarak gösterilmiştir (61). Bizim çalışmamızda, yeni aday gen tanımlanmamakla birlikte, Hnoonual A. ve ark.'nın çalışmayla VUS'ların özellikle OSB gibi henüz tüm genleri saptanmamış nörogelişimsel bozuklukların araştırılmasındaki önemini göstermektedir. Bu çalışmada 7 (%6,1) patojenik ve 22 (%19,3) VUS olarak saptadıkları değişimler %22 oranla retrospektif grupta, %30,4 oranında prospektif grupta saptanmış ve *SERINC2* isimli OSB ile ilişkili yeni bir gen tanımlamışlardır. Retrospektif ve prospektif gruplardaki tanımlanan değişimlerin oranlarının yakınlığı ise nörogelişimsel bozukluklarda klasik sitogenetik yöntemlerin yetersiz kaldığı ve a-CGH'in ilk aşama testi olarak kullanılması gerektiği önerisini doğruluyor gözükmemektedir (60).

Carreira IM ve ark.'nın 1000 kişilik MKA/MR'li olgu grubunda aynı platformu kullanarak yaptıkları a-CGH çalışmasında olguların her birinde en az bir polimorfik KSD tespit ettiklerini belirtmektedirler. Çalıştıkları 1000 olgunun 489'u sadece polimorfik KSD'ye sahipken, geri kalan 611 olguda toplamda 843 KSD saptadılar. Bu KSD'lerin 40'ı (%4,8) patojenik, 452'si (%53,6) olası patojenik, 166'sı (%19,7) VUS, 185'i (%21,9) olası benign olarak tanımlanmıştır. Bu tez çalışmasına merkezde yapılmış tüm a-CGH verilerinden VUS ve benign olarak değerlendirilenler dahil edilmiştir. Carreira IM. ve ark.'nın çalışmasında 3 Mb ve üzeri değişimler patojenik ve olası patojenik olarak değerlendirilmiştir (61). Bu tez kapsamında ise boyut üst limiti 2 Mb olarak belirlendi. VUS saptanan olgularda yalnızca tek bir olguda *de novo* değişim gözlemlenmektedir. Olası benign grubunda ise değişimlerle fenotip arasında ilişki kurulamamıştır. Bu çalışmada, sadece VUS ve benign değişimlerin kümелendiği kromozomal bölge ve endikasyon karşılaştırması yapılarak olası patojenik yeni varyant araştırıldı.

Çalışmaya alınan 1680 olguda en sık 1. endikasyon grubu merkezi sinir sistemi anomalileri 614 olguda bulunmakta olurken, en az olarak 14 olguyla immün sistem anomali endikasyon grubu bulunmaktadır. Prenatal olgu grubunda 315 bireyle en fazla

kardiyak anomaliler görülürken, postnatal olgu grubunda ise 332 bireyle en fazla görme kaybı, işitme kaybı, epilepsi ve mikrosefali vb. endikasyonların bulunduğu MSS anomalileri bulunmaktadır. Literatürde endikasyon grupları ile ilgili çalışmalar bulunmakla birlikte bizim çalışmamıza benzeyen kohorta rastlanmamıştır.

Çalışmamızda 1680 hastada 3677 delesyon ve 1117 duplikasyon olmak üzere toplam 4746 KSD tespit edildi. Tespit edilen KSD'ler, koordinatlarına göre kesişen bölgesi olan KSD bölgeleri birleştirilerek bir kümelenme yapıldı. Bu sayede kesişen delesyon ve duplikasyon bölgeleri birleştirilip KSD bölgeleri büyük ölçekte değerlendirildi. Bae J.S. ve ark.'nın sığırlarda yaptıkları bir çalışmada bizim çalışmamıza benzer bir KSD kümeleme yöntemi kullanmışlardır. Bir başka çalışmada domuzlar üzerinde yapılarak değişimler kümelenerek değerlendirilmiştir (62, 63).

Alt limit olan %0,5 üzerinde polimorfik olduğu düşünülen 26 küme bölge saptandı. Kümeleme yaparak oluşturduğumuz bölgelerde polimorfik bölgelere yakın ve koordinatları kesişen çok fazla bölge olması sebebiyle büyük küme bölgeleri olan yerlerin polimorfik olduğu düşünüldü.

Küme bölgelerdeki değişimlerin frekansları göz önüne alınarak, en sık saptanan bölgeden daha az saptanana doğru sıralandı;

- 14q11.2'deki küme bölgesinde (n=443) %98,7 delesyon saptanırken, (n=6) %1,3 duplikasyon saptandı. Küme bölgesi (n=431) %96 oranla en fazla şekilde *LOC105370401* genini kapsıyordu. Bu değişim bölgesi sırasıyla %29 oranla MSS anomalileri, %17,5 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %12,8 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %6,5 oranla kardiyak sistem anomalileri ile başvuran olgularda görüldü. 14q11.2'deki küme bölgesinde büyükten küçüğe şekilde (n=224) %49,9 oranla 3. boyut grubu, (n=220) %49 oranla 4. boyut grubu, (n=5) %1,1 oranla 2. boyut grupları görüldü. Bu sıralama delesyonlarda aynı şekilde gözükürken, duplikasyonlarda sadece 3. ve 4. boyut değişimleri saptandı.

Zahir F. ve ark. 2007'deki araştırmasında bilişsel yetmezlik olan iki olguda *de novo* 14q11.2 delesyon saptanmış olup, delesyonların boyutu bir olguda 200 kb iken, ikinci olguda 1,6 Mb boyutunda olduğu belirtilmiş. DECIPHER'de gösterilen bilişsel yetmezlik olan üçüncü bir olguda ise 1,1 Mb boyutunda

14q11.2 delesyonu saptandığı gösterilmiş. Olguların hepsinde bilişsel yetmezlik ve dismorfik bulgular gözlenmiş (64).

- 16p11.2'deki küme bölgesinde (n=363) %98,1 delesyon saptanırken, (n=7) %1,9 duplikasyon saptandı. Küme bölgesi (n=224) %60,5 oranla en fazla *LOC390705*, *LOC105369266*, *TP53TG3B*, *TP53TG3F*, *LOC102723655*, *TP53TG3*, *TP53TG3C*, *TP53TG3E*, *SLC6A10P*, *ENPP7P13* genlerini kapsıyordu. Bölgeyle ilişkili olarak %15,2 oranla MSS anomalileri, %13,2 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %11,2 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %5,6 oranla kardiyak sistem anomalileri görüldü. 16p11.2'deki küme bölgesinde büyükten küçüğe şekilde (n=327) %88,4 oranla en fazla 5. boyut değişimleri, (n=21) %5,7 oranla 2. boyut değişimleri, (n=13) %3,5 oranla 4. boyut değişimleri ve (n=9) %2,4 oranla 3. boyut değişimleri görüldü. Bu sıralama küme bölgedeki delesyonlarda da aynı şekildeyken, duplikasyonlarda en fazla (n=4) %57,1 oranla 5. grup değişimleri gözükürken, 2., 3. ve 4. grup değişimleri (n=1) %14,3 şeklinde eşit oranda görüldü.

Carreira IM ve ark. 2015'deki çalışmasında 16p11.2 bölgesindeki delesyonlar 5 olguda 1 paternal, 2 *de novo*, 2 n/a olarak belirtilmekte olup, mikrodelesyon/duplikasyon sendromlarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada paternal geçişli olguda sağlıklı bir baba olduğu ve literatürde bu bölgenin klinik olarak çeşitli fenotiplerde bulunduğu belirtilmektedir (61).

- 1q21.2 küme bölgesinde (n=274) %89,3 oranla delesyon saptanırken, (n=33) %10,7 oranla duplikasyon saptandı. Küme bölgesi (n=114) %37,1 oranla en fazla şekilde *NBPF25P*, *RNVU1-17*, *RNVU1-18*, *RNU1-3*, *RNU1-4*, *RNU1-2*, *RNU1-1* genlerini kapsıyordu. Bu KSD bölgesi en fazla %18 oranla MSS anomalileri, %12,7 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %11,8 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %7,3 oranla kardiyak sistem anomalileri ile başvuran olgularda görüldü. 1q21.2 küme bölgesinde büyükten küçüğe şekilde (n=200) %65,1 oranla 2. boyut değişimleri görülürken, (n=80) %26,1 oranla 4. boyut değişimleri, (n=16) %5,2 oranla 3. boyut değişimleri ve (n=11) %3,6 oranla 5. boyut değişimleri görüldü. Küme bölgesindeki delesyonlarda bu sıralama %69,7 oranla 2. boyut grubu, %26,3

oranla 4. boyut grubu, %2,9 oranla 5. boyut grubu, %1,1 oranla 3. boyut grubu şeklinde saptandı. Duplikasyonlarda ise %39,4 oranla en fazla 3. boyut grubu saptanırken, %27,3 oranla 2. boyut grubu, %24,2 oranla 4. boyut değişimi, %9,1 oranla 5. boyut değişimleri saptandı.

Hnoonual A., ve ark. 2017'deki çalışmasında 1q21.1-q21.2 bölgesinde saptanan duplikasyonun maternal geçişli olduğu ve patojenik bölge olarak rapor edilmiştir. Klinik tanısı OSB olan olguda MSS anomalisi görülmüş ve 1,25 Mb boyutunda bir duplikasyon saptanmış olup, OMIM'de 9 genle eşleştiği rapor edilmektedir. Bu bölgeyle ilgili iki vuruş modeli ve ikinci mutasyonun mikroyarray tarafından yakalanmadığı düşünülmüştür. Aouiche C. ve ark.'nın 2018'deki çalışmasında ise 1q21.2 bölgesindeki delesyon ve duplikasyonlar MR ile ilişkili gösterilmiştir (60).

- 2q37.3 küme bölgesinde (n=167) %82,7 oranla en fazla *LINC01237*, *LINC01238*, *LOC285097*, *LINC01880* genlerini kapsayan bölgede değişim gözükürken, küme bölgedeki değişimlerin tamamının delesyon tipinde olduğu görüldü. Endikasyonlar sırasıyla %22,4 oranla MSS anomalileri, %12,8 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %11,5 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %5,1 oranla kardiyak sistem anomalileri görüldü. 2q37.3 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre sırasıyla (n=190) %94,1 oranla 2. grupta, (n=11) %5,4 oranla 1 grupta, (n=1) %0,5 oranla 4. grupta görüldü.

Daha önce 2q37.3 bölge delesyonları Williams S.R. ve ark. çalışmasında mental retardasyon ile ilişkilendirilmiştir. Daha sonra bu bölgedeki değişimlerin polimorfik olduğu gösterildi. Wheeler P.G. ve ark. çalışmasında 2q37.3 bölgesindeki delesyonların her zaman haployetersizlik göstermediğini üç olguda gösterdi. Bir anne ve iki oğluna yapılan çalışmada *HDAC4* genini de kapsayan bölgede 2:239,949,044–240,836,519 koordinatları arasında 887 kb boyutunda delesyon saptandı (65, 66).

- 5q13.2 küme bölgesinde (n=87) %65,4 delesyon, (n=46) %34,6 oranla duplikasyon görüldü. Bu küme bölgesinde (n=45) %33,8 oranla en fazla *OCLN*, *GTF2H2C_2*, *GTF2H2B*, *GTF2H2C*, *GUSBP3*, *LOC653080*, *LOC101929599*, *LOC102724995*, *SERF1A*, *SERF1B*, *SMN1*, *SMN2*, *SMA4*, *GTF2H2*, *SMA5*,

LOC441081, GUSBP9, NAIP, OCLNP1, SNORD13B-2, SNORD13B-1, LINC02197 genleri görülürken, %19,5 oranla *LOC653080, SERF1A, SERF1B, SMN1, SMN2, SMA4, GUSBP3, GTF2H2, GTF2H2B, SMA5, LOC441081, GUSBP9, LOC101929599, LOC102724995, NAIP* genleri ve %18,8 oranla *LOC653080, SERF1A, SERF1B, SMN1, SMN2, SMA4, GUSBP3, GTF2H2, GTF2H2B, SMA5, LOC441081, GUSBP9, LOC101929599, LOC102724995, NAIP, OCLNP1, SNORD13B-2, SNORD13B-1, LINC02197* genleri görüldü. Bu bölgede %21,3 oranla MSS anomalileri, %10,2 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %9,3 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %5,6 oranla ödem/kistik higroma ve %5,6 oranla kardiyak sistem anomalileri sık görüldü. 5q13.2 küme bölgesinde değişimler boyutlarına göre (n=122) %91,7 oranla 5. grupta, (n=11) %8,3 oranla 4. grupta görüldü. Değişimlerin boyutlara göre oranları delesyon ve duplikasyonlarda aynı gözlemlendi.

O'Driscoll MC ve ark. altı aileden toplamda dokuz bireyle yaptığı çalışmada 5q13.2 bölgesindeki *OCN* geninde olan mutasyonların polimikrografi ile eşlik nörogelişimsel bozukluklara yol açtığı gösterilmiştir. *OCN* geni 9 ekzon ve *LOC647859* psödogeni kapsamaktadır (67).

- 15q14 küme bölgesinde (n=89) %98,9 oranda delesyon, (n=1) %1,1 oranda duplikasyon görüldü. Bu küme bölgesinde (n=59) %65,6 oranla *GOLGA8A, GOLGA8B, MIR1233-1, MIR1233-2* en fazla genleri görüldü. KSD bölgesiyle en sık %15,1 oranla MSS anomalileri, %11 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %11 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %11 oranla kardiyak sistem anomalileri ilişkilendirildi. Değişimler (n=90) %100 oranla 2. boyut grubunda saptandı.

Verheije, R. ve ark. 14 hastada yaptıkları çalışmada 15q14 bölgesinde *MEIS2* genindeki değişimlerin dudak yarıkları, kardiyak anomaliler ve mental retardasyona sebep olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızdaki değişim bölgesinde *MEIS2* yer almamaktadır (68).

- 2p11.2 küme bölgesinde (n=87) sadece delesyon görülmüş ancak bu bölge tanımlanmış bir gen içermemektedir. Bölgeyle ilişkili en sık rastlanan başvuru endikasyonları sırasıyla %22,4 oranla MSS anomalileri, %14,5 oranla iskelet kas

sistemi displazileri, %9,2 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %6,6 oranla cilt ödemi/kistik higroma şeklinde görüldü. 2p11.2 küme bölgesinde değişimler boyutlarına göre (n=44) %50,6 oranla 2. boyut grubunda, (n=43) %49,4 oranla 4. boyut grubunda görüldü.

Barber J.C.K. ve ark. çalışmasında iki farklı ailede 2p11.2 bölgesinde meydana gelen delesyonlar sonucu fenotipte bir değişim olmadığını göstermiştir. Başka bir ailede ise Wilm's tümörü sebebiyle araştırılan ve maternal geçişli 5.7 Mb delesyon saptanan olguda ve annesinde zihinsel yetmezlik ve dismorfik özellikler gözlenmiş (69).

- 19q13.2–q13.31 küme bölgesinde (n=40) %57,1 oranla delesyon, (n=30) %42,9 oranla duplikasyon görüldü. Bu küme bölgesinde (n=19) %27,1 oranla en fazla *PSG8-AS1*, *PSG10P*, *PSG1*, *PSG6*, *PSG7*, *PSG11* genleri görüldü. Bu değişim bölgesi en sık %23,7 oranla MSS anomalileri, %11,9 oranla ödem/kistik higroma, %6,8 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %5,1 oranla nefrotik anomaliler, %5,1 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri ile ilişkili görüldü. 19q13.2–q13.31 küme bölgesinde değişimler boyutlarına göre en fazla şekilde (n=40) %57,1 oranla 2. boyut grubunda, (n=20) %28,6 oranla 3. boyut grubunda, (n=10) %14,3 oranla 4. boyut grubunda görüldü. Bu oranlar sırasıyla delesyonlarda %85, %12,5 ve %2,5 şeklinde, duplikasyonlarda ise %20, %50, %30 şeklinde görüldü.

OMIM'de 19q13.2'de bulunan *ERF* genindeki heterozigot mutasyon Chitayat sendromuyla ilişkilendirilmiş ancak, bizim bölgemizde bu gen bulunmadığından hastalık ilişkisi kurulamamıştır (70).

- 14q32.33 küme bölgesindeki değişimlerin tümü delesyondur (n=63), küme bölgesinin %87,3'ünde gen saptanmadı. Bölgenin %11,1 kısmında (n=7) *MIR5195* geni görüldü. Bölgeyle ilişkili başvuru endikasyonu olarak en sık %38,1 oranla MSS anomalileri, %33,3 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada görüldü. Küme bölgesindeki boyut değişimleri (n=53) %84,1 oranla 1. boyut grubunda, (n=10) %15,9 oranla 2. boyut grubunda görüldü.

Coppens S. ve ark. 13 farklı aileden toplamda 23 bireyle yaptıkları çalışmada 14q32.33 bölgesindeki *JAG2* genindeki mutasyonları musküler distrofi ile ilişkilendirmişler ancak, bizim bölgemiz bu geni içermediğinden hastalık ilişkisi kurulamamıştır (71).

- 7q11.21 küme bölgesinde değişimler (n=34) %56,7 oranla duplikasyon, (n=26n) %43,3 oranla delesyon şeklinde görüldü. Bu küme bölgesinin %55'i gen içermezken, %13,3'ünde n=8 *ZNF92* geni görüldü. İlişkili endikasyonlar sırasıyla %22,9 oranla MSS anomalileri, %8,3 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %8,3 oranla cilt ödemi/kistik higroma, %8,3 oranla nefrotik anomaliler, %8,3 oranla abdominal duvar anomalileri görüldü. 7q11.21 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre (n=23) %38,3 oranla 2. boyut grubunda, (n=20) %33,3 oranla 4. boyut grubunda, (n=13) %21,7 oranla 3. boyut grubunda ve (n=4) %6,7 oranında 5. boyut grubunda saptandı. Duplikasyonlarda 2. boyut değişimleri %29,4, 3. boyut değişimleri %14,7 oranla, 4. boyut grubunda %52,9, 5. boyut grubunda %2,9 oranla görüldü. Delesyonlarda ise bu oranlar sırasıyla %50, %30,8, %7,7 ve %11,5 şeklinde görüldü.

OMIM'de elektrodaktili, ektodermal displazi ve dudak yarıkları görülen hastalarda 7q11.21 bölgesinin 9p12 bölgesiyle dengeli translokasyonun görülmesiyle, bu bölgeler arasındaki translokasyonların EEC sendromuyla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (72, 73).

- 22q11.23–q12.1 küme bölgesindeki değişimler (n=29) %52,7 oranla delesyon şeklinde, (n=26) %47,3 oranla duplikasyon şeklinde görüldü. Bu küme bölgesinin (n=53) %96,4'ünde *IGLL3P*, *LRP5L*, *CRYBB2P1*, *MIR6817* genleri görüldü. Bu bölgede en fazla rastlanan endikasyonlar %25 oranla MSS anomalileri, %20 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %10 oranla iskelet kas sistemi displazileri şeklinde saptandı. 22q11.23–q12.1 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 2. grupta (n=53) %96,4 oranında, 3. grupta (n=2) %3,6 oranında görüldü. Bu değişimler duplikasyonlarda sırasıyla %92,3 ve %7,7 oranlarında görüldü. Delesyonlarda ise yalnızca 2. boyut grubunda değişimler görüldü.

Saadi I ve ark. çalışmasında 22q11.23 bölgesindeki *SPECC1L* geni dudak yarıklarıyla beraber çeşitli yüz dismorfizmleriyle ilişkilendirilmiş olup, bu gen bizim küme bölgemizde bulunmamaktadır (74).

- 8q24.23 küme bölgesinde (n=54) yalnızca delesyon tipi değişim görülmekte olup, en sık *LINC02055* geni gözlemlendi. Endikasyonlar en fazla şekilde %22,9 oranla MSS anomalileri, %12,5 oranla MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %12,5 oranla iskelet kas sistemi displazileri ilişkilendirildi. Değişimler yalnızca 2. boyut grubunda saptandı.

Koifman A. ve ark. çalışmalarında dismorfik bulguları, gelişim geriliği ve korpus kallozum disgenezisi olan olguya yapılan a-cgh ile 8q24.23 bölgesinde 141.46 kb boyutunda 140,879,937-141,021,392 koordinatları arasında *NIBP* geninde homozigot delesyon saptamıştır, aynı delesyon ebeveynlerde heterozigot şekilde göstermişlerdir. Bu bölge bizim 137713413-137842451 koordinat bölgelerimiz dışında olup, bölgemiz *NIBP* genini içermemektedir (75).

- 21p11.2-p11.1 küme bölgesinde (n=49) %94,2 delesyon tipi, (n=3) %5,8 duplikasyon tipi değişim görüldü. Küme bölgesinde (n=42) %80,8 oranda en sık *TPTE* geni saptandı. Bölgeyle ilişkili fenotipte en sık olarak %10,6 oranla iskelet kas sistemi displazileri, %10,6 oranla kardiyak anomalileri, %8,5 oranında iskelet kas sistemi displazileri ve kardiyak anomalileri bir arada görüldü. 21p11.2-p11.1 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre (n=40) %76,9 oranla 2. boyut grubunda, (n=6) %11,5 oranla 3. boyut grubunda, (n=5) %9,6 oranla 4. boyut grubunda, (n=1) %1,9 oranla 5. boyut grubunda saptandı. Küme bölgesindeki delesyon tipi değişimlerde boyut oranları aynı gözlenirken, duplikasyonlarda yalnızca 2. boyut grubunda değişim görüldü.

TPTE geni 13, 15, 21, 22 ve Y kromozomlarında olup, 13 ve 21 kromozomlarında testis spesifik transmembran proteini kodlamaktadır. Tapparel C. ve ark. çalışmasında *TPTE* proteinin ikincil spermatozit eksprese olduğunu göstermiştir (76).

- 10q26.3 küme bölgesinde (n=44) %93,6 oranında duplikasyon tipi, (n=3) %6,4 oranında delesyon tipi değişim saptandı. Bu küme bölgesinde (n=14) %29,8

oranında *SCART1*, *CYP2E1*, *SYCE1*, *SPRNP1* genleri ve (n=12) %25,5 oranında *SCART1*, *CYP2E1*, *SYCE1* genleri görüldü. Bu KSD bölgesi en fazla %28,9 oranında MSS anomalileri, %23,7 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %13,2 oranında iskelet kas sistemi displazileri ile ilişkili görüldü. 10q26.3 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 1. boyut grubunda (n=3) %6,4 oranında, 2. boyut grubunda (n=39) %83 oranında, 3. boyut grubunda (n=5) %10,6 oranında görüldü. Delesyon tipi değişimlerde yalnızca 1. boyut grubunda değişim gözlenirken, duplikasyonlarda 2. boyut grubunda %88,6 oranında ve 3. boyut grubunda %11,4 oranında gözlemlendi.

10q26.3 delesyonları nadir rastlanan ve fenotipi çeşitlilik gösteren bir sendromdur. Dismorfik değişimlerden, orta/ileri dereceye kadar bilişsel yetmezlik, büyüme ve gelişme gerilikleri gözlenebilmektedir. Lacaria M. ve ark. dört olguda yaptıkları çalışmalarında 10q26.3 delesyonu kas koordinasyon bozukluğu ile el ve ayakta hiperemi gözlemlemişlerdir. Bizim araştırma grubumuzda bu bölgede genellikle duplikasyon görülmüş olup, yalnızca 3 KSD küme bölgesinde delesyon saptanmıştır (77).

- 1q31.3 küme bölgesinde (n=36) %94,7 delesyon tipi değişim, (n=2) %5,3 duplikasyon tipi değişim görüldü. Bu küme bölgesinde (n=14) %36,8 oranında *CFHR3*, *CFHR1* genleri ve (n=10) %26,3 oranında *CFH*, *CFHR3*, *CFHR1*, *CFHR4* genleri görüldü. Bu bölgeyle ilişkili başvuru endikasyonlarında en sık %27,6 oranında MSS anomalileri, %20,7 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %10,3 oranında iskelet kas sistemi displazileri görüldü. 1q31.3 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 1. boyut grubunda (n=14) %36,8 oranında, 2. boyut grubunda (n=23) %60,5 oranında ve 4. boyut grubunda (n=1) %2,6 oranında görüldü. Delesyon tipi değişimlerde %38,9 oranında 1. boyut grubunda, %61,1 oranında 2. boyut grubunda görülürken, duplikasyonlarda %50 oranında 2. boyut grubunda ve %50 oranında 3. boyut grubunda görüldü.

Hughes A.E. ve ark. 1q31.3 bölgesindeki *CFHR1* ve *CFHR3* genlerindeki delesyonları yaşa bağlı maküler dejenerasyonda düşük riskle ilişkilendirmiş olup, Zipfel P.F. ve ark. çalışmalarında aynı genlerdeki delesyonların atipik hemolitik üremik sendrom ile ilişkilendirmiştir (78, 79).

- 6p25.3 küme bölgesinde n=35 sadece delesyon tipi değişim gözükürken, (n=31) %88,6 oranında *DUSP22*, *IRF4* genleri saptandı. Bölgeyle en sık %19,2 oranında MSS anomalileri, %11,5 oranında iskelet kas sistemi displazileri, %7,7 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada ve %7,7 oranında kardiyak anomaliler ilişkilendirildi. 6p25.3 küme bölgesindeki değişimlerin boyutlarına göre 2. grupta (n=31) %88,6 oranında, 3. grupta (n=3) %8,6 oranında ve 4. grupta (n=1) %2,9 oranında görüldü.

Di Bernardo MC ve ark. kronik lenfotik lösemide aday genleri keşfetmek için yaptıkları çalışmada 6p25.3 bölgesinde *IRF4* genini kapsayan ve 3-UTR bölgesine denk gelen 2 SNP keşfettiklerini belirttiler (80).

- 17q21.31 küme bölgesinde n=33 yalnızca delesyon tipi değişim görülmekle birlikte, (n=18) %54,5 oranında *CNTD1*, *BECN1*, *MIR6781*, *PSME3*, *AOC2*, *AOC3*, *AOC4P*, *LINC00671*, *G6PC*, *PTGES3L-AARSD1*, *AARSD1*, *PTGES3L*, *RUNDC1*, *RPL27*, *IFI35*, *VAT1*, *RND2*, *BRCA1*, *NBR2*, *LOC101929767*, *NBR1*, *TMEM106A*, *CCDC200*, *LINC00910*, *ARL4D* genleri görüldü. Endikasyonlarda en fazla %14,8 oranında MSS anomalileri, %14,8 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada görüldü. 17q21.31 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 3. grupta (n=5) %15,2 oranında ve 4. grupta (n=28) %84,8 oranında görüldü.

Koolen D.A. ve ark. 2008’de 22 bireyde yapılan çalışmasında fenotip sebebiyle 17q21.31 delesyonu düşünülen üç hasta ve MR endikasyonu ile daha geniş bir kohort grubuna alınan kalan 19 hastada 17q21.31 delesyonu saptandı. Bu çalışmada 1 Mb rezolüsyonlu BAC array ile 1 olguda, 100K SNP array ile 2 olguda ve Agilent tüm genom oligonükleotid array ile 2 olguda yeni delesyonlar saptandı. SNP array ile belirlenen delesyon 458 kb iken, oligonükleotid array yapılan beş hastada 500 baz çifti altında değişim saptanmış olup, koordinatları chr17:41046729–41047168 olmasıyla beraber bizim 40910621-41606424 koordinatlı bölgemiz bu bölgeyi kapsamaktadır. Olguların %82’sinde gebelik sürecinde bir klinik fenotip olmadığı belirtilmiş. İki olguda ise IUBK ve bir olguda mikrosefali görüldüğü belirtilmiş. Olguların hepsinde ise erken yaşta psikomotor gelişim geriliği görüldüğü belirtilmiş. Bu çalışma sonucunda 17q21.31 delesyon sendromunun 16,000 bireyde 1 görüldüğü şeklinde tahmin

edildiği belirtilmiş. Ancak, bizim kohortumuzda saptanan küme bölgesinde sendromdan sorumlu genler yer almamaktadır (81).

- Xp22.11 küme bölgesinde delesyon tipi değişimler (n=30) %96,8 oranında, duplikasyon tipi değişimler (n=1) %3,2 oranında görüldü. Küme bölgesinde (n=20) %64,5 oranında *ACOT9*, *SAT1*, *APOO*, *CXorf58*, *KLHL15*, *EIF2S3*, *ZFX-AS1*, *ZFX* genleri gözlemlendi. Bu bölgeyle ilişkili %11,1 oranında MSS anomalileri, %11,1 oranında abdominal duvar anomalileri en fazla şekilde görüldü. Xp22.11 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 3. grupta (n=10) %32,3 oranında ve 4. grupta (n=21) %67,7 oranında görüldü.

Xp22.11 bölgesindeki *PTCHD1* geni OSB ile ilişkilendirilmiş olup, küme bölgemiz bu geni içermemektedir (82).

- 11p15.1 küme bölgesinde delesyon tipi değişimler (n=29) %96,7, duplikasyon tipi değişimler ise (n=1) %3,3 oranında gözlemlendi. Küme bölgesinin (n=9) %30 oranında *HPS5*, *GTF2H1*, *MIR3159*, *LDHA*, *LDHC*, *LDHAL6A*, *TSG101* genlerini ve (n=6) %20 oranında *HPS5*, *GTF2H1*, *MIR3159*, *LDHA*, *LDHC*, *LDHAL6A*, *TSG101*, *UEVLD*, *SPTY2D1OS*, *SPTY2D1* genlerini içerdiği gösterildi. Bu KSD bölgesi en fazla %21,4 oranında MSS anomalileri, %14,3 oranında iskelet kas sistemi displazileri, %10,7 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri ile ilişkili görüldü. 11p15.1 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 2. boyut grubunda (n=22) %73,3 oranında, 3. boyut grubunda (n=8) %26,7 oranında gözlemlendi.

11p15.1 bölgesindeki *HPS5* geni ClinVar'da Hermansky Pudlak Sendrom 5 ile ilişkilendirilmiştir. İlişkilendirilen bu sendromla ilgili ClinVar'da kabul edilen bir yayın bulunmaktadır. Bu gen 11:18327845–18329253 koordinatları arasında bulunmaktadır. Hermansky Pudlak Sendrom 5 albinizmin nadir bir formu olmakla birlikte Michaud V. ve ark. çalışmalarında *HPS5* geninin dahil olduğu 11 yeni patojenik geni bu sendromla ilişkilendirmişlerdir. Albinizm, orta derece hipopigmentasyon ve kanamaya yatkınlığı olan olgular çalışmada değerlendirilmeye alınmıştır. Olguların göze çarpan başka endikasyonları bulunmamaktadır. Bizim vaka grubumuzda ise yaygın şekilde merkezi sinir sistemi anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri görüldü (83).

- 14q13.1–q13.2 küme bölgesinde n=27 ile sadece delesyon tipi değişimler gözlemlendi. Bu bölgede, (n=9) %33,3 oranında *SPTSSA*, *EAPP*, *RNVU1-18*, *RNU1-3*, *RNU1-4*, *RNU1-2*, *RNU1-1*, *SNX6*, *CFL2*, *BAZ1A*, *LOC112268124*, *SRP54-AS1*, *IGBP1P1*, *SRP54*, *FAM177A1*, *LOC101927178*, *PPP2R3C*, *PRORP*, *PSMA6*, *NFKBIA*, *INSM2*, *RALGAPA1*, *SNORA101B*, *BRMS1L* genleri ve (6n) %22,2 oranında *SPTSSA*, *EAPP*, *RNVU1-18*, *RNU1-3*, *RNU1-4*, *RNU1-2*, *RNU1-1*, *SNX6*, *CFL2*, *BAZ1A*, *LOC112268124*, *SRP54-AS1*, *IGBP1P1*, *SRP54*, *FAM177A1*, *LOC101927178*, *PPP2R3C*, *PRORP*, *PSMA6* genleri gözlemlendi. Bu değişim sırasıyla %16 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %12 oranında MSS anomalileri, %12 oranında iskelet kas sistemi displazileri endikasyonu ile yapılan çalışmalarda görüldü. 14q13.1–q13.2 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 4. grupta (n=10) %37 oranında ve 5. grupta (n=17) %63 oranında görüldü.

Torgykes E. ve ark. çalışmalarında gelişim geriliği ve mikrosefali olan iki olguda 14q13.1 bölgesinde delesyon saptanmış olup, olgulardan birinde normal karyotip diğerinde ise 4., 14. ve 11. kromozomlar arasında dengeli translokasyon gösterilmiş. SNP oligonükleotid mikroyarray çalışılan hastalardaki koordinatlar normal karyotipli hastada 27,932,292–33,935,994, translokasyonlu hastada ise 26,972,703–38,533,633 şeklindedir. İkinci olguda saptanan ve bizim küme bölgemizde bulunan *EAPP* geninin ise proliferasyonu harekete geçirdiği, *SNX6* geninin holoprozensefali ilişkili olduğu, *CFL2* geninin miyopati ilişkili olduğu, *BAZ1A* geninin spesifik genlerin hormona yanıt veren transkripsiyonun bastırılmasıyla ilişkili olduğu ve *SRP54* proteinlerin membrana insersiyonuyla ilişkili olduğu bu genler yalnızca ikinci olguda delesyona uğradığı için düşünülmüş (84).

- 6q13 küme bölgesinde MSS anomalileri (%12.5) ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %12,5 oranında cilt ödemi/kistik higroma, %12,5 oranında abdominal duvar anomalileri ile analiz edilen olgularda sadece 26n duplikasyon tipi değişim gözlemlendi. Bu değişimler boyutlarına göre 3. grupta (n=11) %42,3 oranında ve 4. grupta (n=15) %57,7 oranında görüldü. Bu bölge (n=8) %30,8 oranında *KCNQ5*, *KHDC1L*, *KHDC1*, *DPPA5*, *KHDC3L*, *OOEP*, *DDX43*, *CGAS*, *MT01*, *EEF1A1*, *SNORD141A*, *SNORD141B*, *SLC17A5*,

LOC101928489, CD109 genleri ve (6n) %23,1 oranında *KHDC1L, KHDC1, DPPA5, KHDC3L, OOEP, DDX43, CGAS, MTO1, EEF1A1, SNORD141A, SNORD141B, SLC17A5, LOC101928489, CD109* genlerini içermektedir.

6q13 bölgesinin delesyonları OMIM’de bilişsel yetersizlik, büyüme yetersizliği ve dismorfizmle ilişkilendirilmekle birlikte, bizim çalışmamızda sadece duplikasyon görülmüştür (85, 86, 87).

- Yq11.223–q11.23 küme bölgesinde (16n) %64 duplikasyon, (9n) %36 delesyon tipi değişim gözlemlendi. Bu küme bölgesinde (11n) %44 oranında *DAZ4, DAZ1, DAZ3, DAZ2, TTTY3, TTTY3B, CDY1B, CDY1, CSPG4P1Y* genleri ve (7n) %28 oranında *DAZ4, DAZ1, DAZ3, DAZ2, TTTY3, TTTY3B, CDY1B, CDY1, CSPG4P1Y, GOLGA2P2Y, GOLGA2P3Y* genleri gözlemlendi. Bu bölgede en fazla olarak sırasıyla %18,2 oranında MSS anomalileri, %13,6 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %13,6 oranında iskelet kas sistemi displazileri ilişkilendirildi. Yq11.223–q11.23 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 4. grupta (4n) %16 oranında ve 5. grupta (21n) %84 oranında görüldü. Delesyon ve duplikasyon türlerinde değişim boyutları ağırlıklı olarak 5. grupta gözlemlendi.

He Y. ve ark. çalışmasında fetuste Yq11.223–q11.23 bölgesinde 4,7 Mb boyutunda delesyon saptanmıştır ve bu bölgedeki delesyon mozaik görülmüştür. Bu fetuse yapılan ultrasonda sol böbrekte çift renal pelvis ve kalıcı sol vena cava görülmüş. Bizim bu bölgedeki değişimlerimiz en yoğun 1 Mb–2 Mb boyutları arasında ve en sık merkezi sinir sistem anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileriyle ilişkili görülmektedir (88).

- 9p23 küme bölgesinde sadece delesyon tipi değişim görülürken, bölgede %91,7 oranında gen gözlenmedi. Küme bölgesinde %27,3 oranında MSS anomalileri, %9,1 oranında cilt ödemi/kistik higroma, %9,1 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri en sık rastlanan başvuru endikasyonları olarak saptandı. 9p23 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre 2. boyut grubunda (n=22) %91,7 oranında ve 3. boyut grubunda (n=1) %4,2 oranında ve 4. boyut grubunda (n=1) %4,2 oranında gözlemlendi.

Savelyeva L. ve ark. çalışmalarında *BRCA2* geni mutasyonu taşıyıcılarında 9p23-24 bölgesinde instabilite saptamışlardır. Çalışılan tüm ailelerde 9p'de çeşitli ve rastgele değişimler saptanmış olup, 9p23-24 bölgesindeki değişimler inversiyon ve duplikasyon şeklinde gözlenmiştir. Bizim küme bölgemizde sadece delesyonlar saptanmıştır (89).

- 22q11.21 küme bölgesinde delesyon tipi değişimler (n=15) %65,2 oranında, duplikasyon tipi değişimler (n=8) %34,8 oranında gözlemlendi. Küme bölgede (n=15) %65,2 oranında *LOC102724770*, *DGCR6*, *LOC102724788*, *PRODH*, *DGCR5*, *DGCR9*, *DGCR10* genleri gözlemlendi. Başvuru endikasyonları en sık %17,6 oranında iskelet kas sistemi displazileri, %11,8 oranında MSS anomalileri, %11,8 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %11,8 oranında kardiyak anomaliler olarak görüldü. 22q11.21 küme bölgesindeki değişimlerin boyutları 1. boyut grubunda (n=2) %8,7 oranında, 2. boyut grubunda (n=17) %73,9 oranında ve 3. boyut grubunda (n=3) %13 oranında ve 4. boyut grubunda (n=1) %4,3 oranında gözlemlendi. Delesyonlarda aynı oranlarda tüm boyutlarda değişim gözlenirken, duplikasyonlarda 4. grup boyut değişimleri gözlenmedi.

Wentzel C. ve ark. çalışmalarında iki ayrı ailede gözlemledikleri 22q11.21 duplikasyonları birinci ailedeki çocukta bilişsel yetmezlik ve dismorfizm ile tespit ederken, aynı bölge duplikasyonunu ailenin etkilenmemiş üyelerinde de gözlemlemişler. Olgunun annesinde ise disleksi gözlenmiş. İkinci ailede ise bu bölge duplikasyonu bilişsel yetmezlik ve dismorfik bulguları olan çocukta, ileri bilişsel yetmezliği olan babada ile prematüre doğan ve gastrointestinal kanamadan ölen kardeşte gözlenmiş. Bu şekilde bu bölge duplikasyonlarının fenotipinin çeşitlilik gösterdiği belirtilmiştir (90).

- 11p15.5 küme bölgesinde yalnızca (n=22) delesyon tipi değişim gözlenirken, (n=20) %90,9 oranında *HOTS*, *H19* genleri görüldü. Değişim bölgesine sahip olgularda en sık %41,7 oranında MSS anomalileri, %17,6 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada, %11,8 oranında iskelet kas sistemi displazileri ve %11,8 oranında iskelet kas sistemi displazileri ve kardiyak anomalilere rastlandı. 11p15.5 küme bölgesindeki değişimler boyutlarına göre yalnızca 22n ile 1. boyut grubunda gözlemlendi.

- 42 Beckwith-Wiedemann sendromu olan hastada 11p15.5'de bulunan *H19* ve *IGF2* genlerinin allel özel metilasyon analizi yapılmış olup, bu genlerin metilasyonunun UPD olmayan vakalarda normal olduğu gözlenmiş. UPD olan vakalarda ise artmış olduğunun gözlemlenmesiyle BWS ile *H19* ve *IGF2* genlerinin alterasyonlarının ilişkisi olmadığı düşünülmüş (91).
- 4q13.2 küme bölgesinde 22n ile yalnızca delesyon tipi değişim gözlenirken, (21n) %95,5 oranında *UGT2B28* geni gözlemlendi. Endikasyonlar sırasıyla %29,4 oranında MSS anomalileri ve %11,8 oranında MSS anomalileri ve iskelet kas sistemi displazileri bir arada görüldü. 4q13.2 küme bölgesindeki değişimler 22n yalnızca 2. boyut grubunda gözlemlendi.

Yang TL ve ark. Çin'de 350 ileri yaşı olguyla yaptığı çalışmada 4q13.2 bölgesindeki *UGT2B17* geninin osteoporozis ile ilişkisi olduğu gösterilmiş olup, bizim küme bölgemizde bu gen bulunmamaktadır (92).

Bu çalışmanın kısıtlılıkları:

- Olgu endikasyonlarının geniş olması ve çalışılan spesifik bir endikasyon grubunun olmaması,
- Yeterli sayıda olgunun araştırmaya alınamaması

Bu çalışma ile yeni bir KSD veri bankası oluşturuldu. Polimorfik bölgelerin yakınlarındaki değişimlerin de polimorfik olmaya yatkın olduğu gösterildi. Tüm küme gruplarda merkezi sinir sistemi anomalilerinin görülmesi, ileride bu veritabanının daha spesifik endikasyon gruplarına göre araştırılmasının gerektiğini düşündürmektedir. Aynı zamanda çeşitli sendromlarla ilişkili bölgelere koordinatları yakın olan KSD bölgelerinin gelecekteki çalışmalarda dikkatle araştırılması gerektiği görüşüne varıldı.

KSD'lerle ilgili ortaya çıkan birçok teknoloji olmakla birlikte a-CGH hala daha en etkili tüm genom tarama yöntemi olarak yerini korumaktadır. Bununla birlikte varyant yeniden sınıflandırılmalarının çok önemli olmasından ve henüz tüm topluluklarda yeterli çalışma olmamasından kaynaklı KSD verileri oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmada saptanan küme değişim bölgeleri ile olguların klinik

bulguları karşılaştırılarak fenotip-genotip korelasyonu yapılmaya çalışıldı. Ancak, değişim bölgelerindeki genler ve olgulardaki bulgular arasında bir ilişki gösterilemedi. Bu sonuç, VUS ya da benign olarak sınıfladığımız değişimlerin gerçekten klinik ilişkisinin olmadığını göstermekle birlikte olgu sayısının artması ya da yeni analiz metodlarının geliştirilmesi ile bağlantı kurmak mümkün olabilecektir.



KAYNAKLAR

1. Schrider D.R., Hahn M.W. (2010). Gene copy-number polymorphism in nature. *Proc R. Soc. B*;277:3213-3221.
2. Matsuzaki H., Wang P.H., Hu J., Rava R. and Fu G.K. (2009). High resolution discovery and confirmation of copy number variants in 90 Yoruba Nigerians. *Genome Biology*;10:125,1–18
3. Lauer S., AVECILLA G., SPEALMAN P., SETHIA G., BRANDT N., LEVY S.F., et al. (2018). Single-cell copy number variant detection reveals the dynamics and diversity of adaptation. *PLoS Biol*;16(12):e3000069
4. Redon R., Ishikawa S., Fitch K., Feuk L., Perry G.H., Andrews T.D., et al. (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature*;444:444–454
5. Haraksingh R.R., Abyzov A., Urban A.E. (2017 Apr). Comprehensive performance comparison of high-resolution array platforms for genome-wide Copy Number Variation (CNV) analysis in humans. *BMC Genomics* 24;18(1):321
6. Pinto D., Marshall C., Feuk L., Scherer S.W. (2007 Oct 15). Copy-number variation in control population cohorts. *Hum Mol Genet.*;16 Spec No. 2:168-73
7. Zhou B., Ho S.S., Zhang X., Pattni R., Haraksingh R.R., Urban A.E. (2018 Nov). Whole-genome sequencing analysis of CNV using low-coverage and paired-end strategies is efficient and outperforms array-based CNV analysis. *J Med Genet.*;55(11):735-743
8. Bae J.S., Cheong H.S., Park B.L., Kim L.H., Park T.J., Kim J.Y, et al. (2010 Nov). Genome-wide association analysis of copy number variations in subarachnoid aneurysmal hemorrhage. *J Hum Genet*;55(11):726-30
9. Conrad D., Pinto D., Redon R., Feuk L., Gokcumen O., Zhang Y., et al. (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*;464:704–712

10. Mills R., Walter K., Stewart C., et al. (2011). Mapping copy number variation by population-scale genome sequencing. *Nature*; 470: 59–6
11. Cramer P. (2020 Aug). *Rosalind Franklin and the Advent of Molecular Biology*;182(4):787-789
12. Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F. (2016). *THOMPSON & THOMPSON GENETICS IN MEDICINE*, EIGHTH EDITION, Elsevier,s.3-5
13. Pollex R.L., Hegele R.A. (2007 Jun 19). Copy number variation in the human genome and its implications for cardiovascular disease. *Circulation*;115(24):3130-8
14. Perry G.H., Yang F., Marques-Bonet T., Murphy C., Fitzgerald T., Lee A.S., et al. (2008 Nov). Copy number variation and evolution in humans and chimpanzees. *Genome Res.*;18(11):1698-710
15. Trost B., Loureiro L.O., Scherer S.W. (2021 Oct 1). Discovery of genomic variation across a generation. *Hum Mol Genet.*;30(R2):R174-R186
16. Grond-Ginsbach C., Erhart P., Chen B., Kloss M., Engelter S.T., et al. (2018 Oct). Copy Number Variation and Risk of Stroke. *Stroke.*;49(10):2549-2554
17. Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F. (2016). *THOMPSON & THOMPSON GENETICS IN MEDICINE, EIGHTH EDITION*, Elsevier,s.64
18. Liang S.H., and Bennett R.J. (2020). The Impact of Gene Dosage and Heterozygosity on the Diploid Pathobiont *Candida albicans*. *Journal of Fungi* 6;no.1:10
19. de Smith A.J., Trewick A.L., Blakemore A.I. (2010 Dec). Implications of copy number variation in people with chromosomal abnormalities: potential for greater variation in copy number state may contribute to variability of phenotype. *Hugo J*;4(1-4):1-9
20. Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F. (2016). *THOMPSON & THOMPSON GENETICS IN MEDICINE, EIGHTH EDITION*, Elsevier,s.69–71

21. Neyzi O., Ertuğrul T., Darendeliler F. (2020). *Pediyatri 1 Cilt*, 5. BASKI. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul
22. Sayın NC., İnan C. (2023). *Perinatoloji* ISBN: (9786053357742): Nobel Tıp Kitabevleri,s.463-470
23. Halushka M., Fan JB., Bentley K., Hsie L., Shen N., Weder A., et al. (1999). Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nat Genet*;22:239–247
24. Shastri B.S. (2007). SNPs in disease gene mapping, medicinal drug development and evolution. *J Hum Genet*;52:871–880
25. Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F. (2016). *THOMPSON & THOMPSON GENETICS IN MEDICINE*, EIGHTH EDITION, Elsevier, s.45–48
26. Collins R.L., Brand H., Karczewski K.J., Zhao X., Alföldi J., Francioli L.C., et al. (2020). A structural variation reference for medical and population genetics. *Nature*;581:444–451
27. Database of Genomic Variants [*** v107 ***] (tcag.ca) erişim tarihi: 07.06.2023
28. Yoon S., Xuan Z., Makarov V., Ye K., Sebat J. (2009 Sep). Sensitive and accurate detection of copy number variants using read depth of coverage. *Genome Res.*;19(9):1586-92
29. Shaikh T.H., Gai X., Perin JC., Glessner J.T., Xie H., Murphy K., et al. (2009 Sep). High-resolution mapping and analysis of copy number variations in the human genome: a data resource for clinical and research applications. *Genome Res.*;19(9):1682-90
30. Rice A., McLysaght A. (2017). Dosage sensitivity is a major determinant of human copy number variant pathogenicity. *Nat Commun* 8; 14366
31. Brenner S., Miller J.H. (2001). *Encyclopedia of Genetics*, Academic Press, Page: 911. Princeton University. Princeton, NJ, 08544, USA
32. Copy Number Variation (CNV) (genome.gov) erişim tarihi: 13.03.2023

33. Weckselblatt B., Rudd M.K. (2015 Oct). Human Structural Variation: Mechanisms of Chromosome Rearrangements. *Trends Genet.*;31(10):587-599
34. Kearney H.M., Thorland E.C., Brown K.K., Quintero-Rivera F., South S.T. (2011 Jul). Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.*;13(7):680-5
35. Riggs E.R., Andersen E.F., Cherry A.M., Kantarci S., Kearney H., Patel A., et al. (2020 Feb). Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy- number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.*;22(2):245-257
36. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Foster J.G., et al. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.*; 17:405–423
37. Lye Z.N., Purugganan M.D. (2019 Apr). Copy Number Variation in Domestication. *Trends Plant Sci.*;24(4):352-365
38. Featherstone C., Jackson S.P., (1999). DNA double-strand break repair. *Current Biolog*;9:759-761
39. Homologous Recombination (genome.gov) erişim tarihi: 13.01.2023
40. Olulana A.O., Prof. Schleutker J., Prof. Vihinen M. (2012 June). *Genome-Wide Comparison of Copy Number Variations in Finnish Familial Prostate and Breast Cancers*, Institute of Biomedical Technology University of Tampere
41. Chang H., Pannunzio N., Adachi N., Lieber M.R. (2017). Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair. *Nat Rev Mol Cell Biol.*;18:495–506

42. Hansson O. (2018). *Development of computer software to characterise and simulate molecular biology processes used in forensic DNA profiling assays* 10.13140/RG.2.2.19317.22245
43. Cardoso A.R., Oliveira M., Amorim A., Azevedo L. (2016). Major influence of repetitive elements on disease-associated copy number variants (CNVs). *Hum Genomics*;10:30
44. McGowan-Jordan J., Hostings R.J., Moore S., (2020). *ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature*
45. Shimokawa O., Takeda M., Ohashi H., Shono-Ota A., Kumagai M., Matsushika R., et al. (2021). D-karyo—A New Prenatal Rapid Screening Test Detecting Submicroscopic CNVs and Mosaicism. *Diagnostics*;11:337
46. Colaianni V., Mazzei R., Cavallaro S. (2016). Copy number variations and stroke. *Neurol Sci* 37;1895–1904
47. Sebat J., Lakshmi B., Troge J., Alexander J., Young J., Lundin P., et al. (2004 Jul 23). Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science*;305(5683):525-8
48. Kearney H.M., Kearney J.B., Conlin L.K. (2011 Dec). Diagnostic implications of excessive homozygosity detected by SNP-based microarrays: consanguinity, uniparental disomy, and recessive single-gene mutations. *Clin Lab Med*.;31(4):595-613
49. Aradhya S., Cherry A. (2007). Array-based comparative genomic hybridization: clinical contexts for targeted and whole-genome designs. *Genet Med*.;9:553–559
50. Miller D.T., Adam M.P., Aradhya S., Biesecker L.G., Brothman A.R., Carter N.P., et al. (2010). Consensus Statement: Chromosomal Microarray is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *The American Journal of Human Genetics*;86:749-764
51. <https://www.agilent.com/en/product/cgh-cgh-snp-microarray-platform/cgh-cgh-snp-microarrays> Erişim Tarihi: 18.07.2023

52. Rocca M.S., Benna C., Goldin E., Nisio A.D., Toni L.D., Cosci I., et al. (2021). E2F1 copy number variations in germline and breast cancer: a retrospective study of 222 Italian women. *Mol Med.*;27:26
53. Wong K.K., deLeeuw R.J., Dosanjh N.S., Kimm L.R., Cheng Z., Horsman D.E., et al. (2007 Jan). A comprehensive analysis of common copy-number variations in the human genome. *Am J Hum Genet.*;80(1):91-104
54. Gayon J. (2016 Jul-Aug). From Mendel to epigenetics: History of genetics. *C R Biol.*;339(7-8):225-30
55. The 1000 Genomes Project Consortium. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*;526:68–74
56. Jakobsson M., Scholz S.W., Scheet P., Gibbs J.R., VanLiere J.M., Fung H.C., et al. (2008). Genotype, haplotype and copy-number variation in worldwide human populations. *Nature*;451:998–1003
57. Thareja G., John S.E., Hebbar P., Behbehani K., Thanaraj T.A., Alsmadi O. (2015). Sequence and analysis of a whole genome from Kuwaiti population subgroup of Persian ancestry. *BMC Genomics*;16:92
58. Online Mendelian Inheritance in Man <https://www.omim.org/statistics/geneMap> erişim tarihi: 12.07.2023
59. Franklin Genoox <https://franklin.genoox.com/clinical-db> erişim tarihi: 03.07.2023
60. Hnoonual A., Thammachote W., Tim-Aroon T., Rojnueangnit K., Hansakunachai T., Sombuntham T., et al. (2017). Chromosomal microarray analysis in a cohort of underrepresented population identifies SERINC2 as a novel candidate gene for autism spectrum disorder. *Sci Rep.* 7;12096
61. Carreira I.M., Ferreira S.I., Matoso E., Pires L.M., Ferrão J., Jardim A., et al. (2015 Dec 30). Copy number variants prioritization after array-CGH analysis - a cohort of 1000 patients. *Mol Cytogenet.*;8:103
62. Bae J.S., Cheong H.S., Kim L.H., NamGung S., Park T.J., Chun J.Y., et al. (2010 Apr 9). Identification of copy number variations and common deletion polymorphisms in cattle. *BMC Genomics*;11:232

63. Stafuzza N.B., Silva R.M.d., Fragomeni B.d.O., Masuda Y., Huang Y., Gray K., et al. (2019). A genome-wide single nucleotide polymorphism and copy number variation analysis for number of piglets born alive. *BMC Genomics*; 20:321
64. Zahir F., Firth H.V., Baross A., Delaney A.D., Eydoux P., Gibson W.T., et al. (2007 Sep). Novel deletions of 14q11.2 associated with developmental delay, cognitive impairment and similar minor anomalies in three children. *J Med Genet.*;44(9):556-61
65. Wheeler P.G., Huang D., Dai Z. (2014). Haploinsufficiency of HDAC4 does not cause intellectual disability in all affected individuals. *Am J Med Genet. Part A*;164A:1826–1829
66. Williams S.R., Aldred M.A., Der Kaloustian V.M., Halal F., Gowans G., McLeod D.R., et al. (2010). Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *Am J Hum. Genet*;87:219-228
67. O'Driscoll M.C., Daly S.B., Urquhart J.E., Black G.C., Pilz D.T., Brockmann K., et al. (2010 Sep 10). Recessive mutations in the gene encoding the tight junction protein occludin cause band-like calcification with simplified gyration and polymicrogyria. *Am J Hum Genet.*;87(3):354-64
68. Verheije R., Kupchik G.S., Isidor B., Kroes H.Y., Lynch S.A., Hawkes L., et al. (2019). Heterozygous loss-of-function variants of MEIS2 cause a triad of palatal defects, congenital heart defects, and intellectual disability. *Eur J Hum Genet*;27:278–290
69. Barber J.C., Thomas N.S., Collinson M.N., Dennis N.R., Liehr T., Weise A., et al. (2005 Mar). Segmental haploinsufficiency: transmitted deletions of 2p12 include a pancreatic regeneration gene cluster and have no apparent phenotypic consequences. *Eur J Hum Genet.*;13(3):283-91
70. Balasubramanian M., Lord H., Levesque S., Guturu H., Thuriot F., Sillon G., et al. (2017 Mar). Chitayat syndrome: hyperphalangism, characteristic

- facies, hallux valgus and bronchomalacia results from a recurrent c.266A>G p.(Tyr89Cys) variant in the ERF gene. *J Med Genet.*;54(3):157-165
71. Coppens S., Barnard A.M., Puusepp S., Pajusalu S., Õunap K, Vargas-Franco D., et al. (2021 May 6). A form of muscular dystrophy associated with pathogenic variants in JAG2. *Am J Hum Genet.*;108(5):840-856
 72. Fukushima Y., Ohashi H., Hasegawa T. (1993 Jul). The breakpoints of the EEC syndrome (ectrodactyly, ectodermal dysplasia and cleft lip/palate) confirmed to 7q11.21 and 9p12 by fluorescence in situ hybridization. *Clin Genet.*;44(1):50
 73. Hasegawa T., Hasegawa Y., Asamura S., Nagai T., Tsuchiya Y, Ninomiya M., et al. (1991 Sep). EEC syndrome (ectrodactyly, ectodermal dysplasia and cleft lip/palate) with a balanced reciprocal translocation between 7q11.21 and 9p12 (or 7p11.2 and 9q12) in three generations. *Clin Genet.*;40(3):202-6
 74. Saadi I., Alkuraya F.S., Gisselbrecht S.S., Goessling W., Cavallesco R, Turbe-Doan A., et al. (2011 Jul 15). Deficiency of the cytoskeletal protein SPECC1L leads to oblique facial clefting. *Am J Hum Genet.*;89(1):44-55
 75. Koifman A., Feigenbaum A., Bi W., Shaffer L.G., Rosenfeld J, Blaser S., et al. (2010 May). A homozygous deletion of 8q24.3 including the NIBP gene associated with severe developmental delay, dysgenesis of the corpus callosum, and dysmorphic facial features. *Am J Med Genet A.*;152A(5):1268-72
 76. Tapparel C., Reymond A., Girardet C., Guillou L., Lyle R, Lamon C., et al. (2003 Dec 24). The TPTE gene family: cellular expression, subcellular localization and alternative splicing. *Gene.*;323:189-99
 77. Lacaria M., Srour M., Michaud J.L., Doja A., Miller E, Schwartzentruber J., et al. (2017 Jun). Expansion of the clinical phenotype of the distal 10q26.3 deletion syndrome to include ataxia and hyperemia of the hands and feet. *Am J Med Genet A.*;173(6):1611-1619
 78. Hughes A.E., Orr N., Esfandiary H., Diaz-Torres M, Goodship T., Chakravarthy U. (2006 Oct). A common CFH haplotype, with deletion of

- CFHR1 and CFHR3, is associated with lower risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet.*;38(10):1173-7
79. Zipfel P.F., Edey M., Heinen S., Józsi M., Richter H., Misselwitz J, et al. (2007 Mar 16). Deletion of complement factor H-related genes CFHR1 and CFHR3 is associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *PLoS Genet.*;3(3):e41
 80. Di Bernardo M.C., Crowther-Swanepoel D., Broderick P., Webb E., Sellick G, Wild R., et al. (2008 Oct). A genome-wide association study identifies six susceptibility loci for chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet.*;40(10):1204-10
 81. Koolen D.A., Sharp A.J., Hurst J.A., Firth H.V., Knight S.J.L., Goldenberg A., et al. (2008 Nov). Clinical and molecular delineation of the 17q21.31 microdeletion syndrome. *J Med Genet.*;45(11):710-20
 82. Pinto D., Pagnamenta AT., Klei L., Anney R., Merico D, Regan R., et al. (2010 Jul 15). Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature.*;466(7304):368-72
 83. Michaud V., Lasseaux E., Plaisant C., Verloes A., Perdomo-Trujillo Y., Hamel C., et al. (2017 Jan). Clinico-molecular analysis of eleven patients with Hermansky-Pudlak type 5 syndrome, a mild form of HPS. *Pigment Cell Melanoma Res.*;30(6):563-570
 84. Torgykes E., Shanske A.L., Anyane-Yeboah K., Nahum O., Pirzadeh S., Blumfield E., et al. (2011). The proximal chromosome 14q microdeletion syndrome: Delineation of the phenotype using high resolution SNP oligonucleotide microarray analysis (SOMA) and review of the literature. *Am J Med Genet Part A*;155:1884–1896
 85. Young R.S., Fidone G.S., Reider-Garcia P.A., Hansen K.L., McCombs J.L., Moore C.M. (1985 Jan). Deletions of the long arm of chromosome 6: two new cases and review of the literature. *Am J Med Genet.*;20(1):21-9
 86. Kumar R., Riordan D., Dawson A.J., Chudley A.E. (1997 Aug 22). Proximal interstitial 6q deletion: a recognizable syndrome. *Am J Med Genet.*;71(3):353-6

87. Van Esch H., Rosser E.M., Janssens S., Van Ingelghem I., Loeys B., Menten B. (2010 Oct). Developmental delay and connective tissue disorder in four patients sharing a common microdeletion at 6q13-14. *J Med Genet.*;47(10):717-20
88. He Y., Guo L., Zheng L., Ren C., Wang T., Lu J. (2022). Clinical and molecular cytogenetic findings and pregnancy outcomes of fetuses with isochromosome Y. *Mol Cytogenet.*;15:32
89. Savelyeva L., Schwab M. (2001). Constitutional genomic instability of 9p23-24 in BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Res.*;3:A59
90. Wentzel C., Fernström M., Ohrner Y., Annerén G., Thuresson A.C. (2008 Nov-Dec). Clinical variability of the 22q11.2 duplication syndrome. *Eur J Med Genet.*;51(6):501-10
91. Reik W., Brown K.W., Slatter R.E., Sartori P., Elliott M., Maher E.R. (1994 Aug). Allelic methylation of H19 and IGF2 in the Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Mol Genet.*;3(8):1297-301
92. Yang T.L., Chen X.D., Guo Y., Lei S.F., Wang J.T., Zhou Q, et al. (2008 Dec). Genome-wide copy-number-variation study identified a susceptibility gene, UGT2B17, for osteoporosis. *Am J Hum Genet.*;83(6):663-74

HAM VERİLER

Tablo: KSD veritabanından dışlanan referans genom bölgeleri

Koordinatlar	Bant (hg19)	Genler Hg19	Tür	C
Chr1-72766555-72811506	1p31.1	-	Del	D
Chr2-34699431-34730142	2p22.3	-	Del	D
Chr2-41239485-41249915	2p22.1	-	Del	D
Chr2-52750512-52768908	2p16.3	-	Del	D
Chr2-89132966-89319978	2p11.2	-	Del	D
Chr2-151031611-151035801	2q23.3	-	Del	D
Chr2-209891348-209931564	2q34	-	Del	D
Chr3-4064411-4153829	3p26.1	-	Del	D
Chr3-26434585-26439424	3p24.1	-	Del	D
Chr3-162526627-162547896	3q26.1	-	Del	D
Chr3-186409022-186419220	3q27.3	-	Del	D
Chr3-192876188-192883013	3q29	-	Del	D
Chr4-10216339-10233605	4p16.1	-	Del	D

Chr4-34781253-34823403	4p15.1	-	Del	D
Chr4-69374563-69490834	4q13.2	UGT2B17 (whole gene)	Del	D
Chr5-7177958-7193123	5p15.31	-	Del	D
Chr5-137182385-137187857	5q31.2	-	Del	D
Chr6-32455274-32488220	6p21.32	HLA-DRB5 (exonic 3 - 6)	Del	D
Chr7-100329283-100337114	7q22.1	ZAN (exonic 1 - 7)	Del	D
Chr7-141766568-141792079	7q34	MGAM (exonic 42 - 58)	Del	D
Chr8-15945648-16023615	8p22	MSR1 (exonic 5 - 10)	Del	D
Chr8-39233204-39386158	8p11.22	ADAM3A, ADAM5	Del	D
Chr9-43644293-43841603	9p11.2	-	Del	D
Chr10-39078729-39147632	10p11.1	-	Del	D
Chr12-9637084-9718846	12p13.31	LOC408186 (exonic 4 - 39)	Del	D
Chr12-25649290-25654738	12p12.1	LMNTD1 (intronic)	Del	D
Chr12-31277996-31341928	12p11.21	OVOS2 (exonic 6 - 36)	Del	D

Chr13-69246263-69267150	13q21.33	-	Del	D
Chr14-19376762-20427242	14q11.2	OR4M1, DUXAP10, POTEM, POTEK, BMS1P18, LOC100508046, OR4K5, OR4N2, OR4K3, LINC01297-DUXAP10-NBEAP6, BMS1P17, OR11H2, OR4K1, DUXAP9, LOC101929572, LINC01297, LINC02297, OR11H12, OR4K2, OR4Q3, LNCRNA-ATB	Del	D
Chr14-70018437-70022517	14q24.1	-	Del	D
Chr14-106331956-106552084	14q32.33	ADAM6, FAM30A	Del	D
Chr14-106602112-106969882	14q32.33	LINC00226, LINC00221	Del	D
Chr15-22338331-22580883	15q11.2	REREP3, OR4N3P, IGHV1OR15-3, OR4M2, IGHV1OR15-1, MIR1268A, LOC101927079, OR4N4	Del	D
Chr16-19946058-19961733	16p12.3	-	Del	D

Chr17-39422461-39427090	17q21.2	-	Del	D
Chr17-44210889-44356157	17q21.31	KANSL1-AS1, ARL17B, KANSL1	Del	D
Chr19-9276707-9281915	19p13.2	-	Del	D
Chr19-35851924-35861544	19q13.12	-	Del	D
Chr22-23041845-23054556	22q11.22	-	Del	D
Chr22-23056562-23244636	22q11.22	MIR650, MIR5571, IGLL5	Del	D
Chr22-24347959-24395353	22q11.23	GSTT1-AS1, GSTT4, GSTTP2, GSTT1	Del	D
Chr1-110228545-110240126	1p13.3	GSTM1, GSTM2	Dup	D
Chr2-146865725-146876364	2q22.3	-	Dup	D
Chr3-195420587-195444193	3q29	MIR570, MIR570HG, SDHAP2, MUC20	Dup	D
Chr5-12813038-12820111	5p15.2	-	Dup	D
Chr5-180389658-180430545	5q35.3	BTNL3	Dup	D
Chr6-49430382-49448317	6p12.3	CENPQ, MMUT	Dup	D
Chr6-53929240-53934834	6p12.1	MLIP (upstream)	Dup	D
Chr10-45209031-45359091	10q11.21	TMEM72-AS1 (exonic 3 - 8)	Dup	D
Chr11-18951965-18963642	11p15.1	MRGPRX1	Dup	D
Chr11-55368154	11q11	OR4C6, OR4P4,	Dup	D

-55453023		OR4C11, OR4S2		
Chr12-11507409-11544431	12p13.2	PRB1 (exonic 1 - 2)	Dup	D
Chr16-34581961-34661164	16p11.2-p11.1	LINC01566	Dup	D
Chr19-52137647-52148589	19q13.41	SIGLEC5, SIGLEC14	Dup	D
Chr19-54730045-54744378	19q13.42	LILRB3 (exonic 6 - 7)	Dup	D
Chr20-1563715-1577359	20p13	SIRPB1 (intronic)	Dup	D
Chr1-196744721-196804417	1q31.3	CFHR3, CFHR1	Del	E
Chr2-34699431-34727088	2p22.3	-	Del	E
Chr2-41239485-41249915	2p22.1	-	Del	E
Chr2-89163862-89319978	2p11.2	-	Del	E
Chr3-37980926-37986165	3p22.2	CTDSPL (intronic)	Del	E
Chr3-162514102-162626015	3q26.1	-	Del	E
Chr4-10212229-10233605	4p16.1	-	Del	E
Chr4-34784539-34823403	4p15.1	-	Del	E
Chr6-19042056-19048515	6p22.3	-	Del	E
Chr6-53934834-53934834	6p12.1		Del	E
Chr7-8826536-8863427	7p21.3	-	Del	E

Chr7-26888579-26932834	7p15.2	SKAP2 (exonic 1 - 3)	Del	E
Chr7-43415534-43422275	7p13	HECW1 (intronic)	Del	E
Chr7-133790582-133797387	7q33	-	Del	E
Chr8-15403439-15413166	8p22	TUSC3 (intronic)	Del	E
Chr8-16264935-16278867	8p22	-	Del	E
Chr8-51031424-51037797	8q11.21	SNTG1 (intronic)	Del	E
Chr9-104714954-104723540	9q31.1	-	Del	E
Chr10-51005764-51011012	10q11.23	-	Del	E
Chr10-59869128-59894799	10q21.1	-	Del	E
Chr11-5785900-5808616	11p15.4	OR52N1, OR52N5	Del	E
Chr11-18951965-18963642	11p15.1	MRGPRX1	Del	E
Chr12-11507409-11544431	12p13.2	PRB1 (exonic 1 - 2)	Del	E
Chr12-30237746-30243373	12p11.22	-	Del	E
Chr12-45903648-45908240	12q12	-	Del	E
Chr13-34135905-34144616	13q13.2	STARD13 (upstream)	Del	E
Chr14-74002704-74022324	14q24.3	ACOT1, HEATR4 (intronic)	Del	E
Chr14-75106700-	14q24.3	-	Del	E

75116568				
Chr14-106331956-107216227	14q32.33	ADAM6, LINC00226, FAM30A, LINC00221	Del	E
Chr15-100416996-100421990	15q26.3	LOC400464 (exonic 4)	Del	E
Chr16-76539830-76543423	16q23.1	CNTNAP4 (intronic)	Del	E
Chr16-80493823-80502090	16q23.2	-	Del	E
Chr17-470628-476587	17p13.3	VPS53 (intronic)	Del	E
Chr20-1561459-1583221	20p13	SIRPB1 (intronic)	Del	E
Chr1-17051180-17257997	1p36.13	MIR3675, CROCC, LOC105376805, RNU1-2, LOC112267871, LOC102724562, RNU1-4, ESPNP, MST1L	Dup	E
Chr1-25584597-25659042	1p36.11	RHD, RSRP1	Dup	E
Chr1-110228545-110240126	1p13.3	GSTM1, GSTM2	Dup	E
Chr1-117161838-117198134	1p13.1	IGSF3 (intronic)	Dup	E
Chr2-35977217-35990449	2p22.3	-	Dup	E
Chr2-57405222-57446854	2p16.1	-	Dup	E
Chr2-87370476-	2p11.2	MIR4771-1, CYTOR,	Dup	E

88018726		ANAPC1P4, MIR4435-1		
Chr4-69382371-69503635	4q13.2	UGT2B17 (whole gene)	Dup	E
Chr5-715757-806629	5p15.33	ZDHHC11, ZDHHC11B	Dup	E
Chr5-99382787-99390485	5q21.1	-	Dup	E
Chr5-180389658-180430545	5q35.3	BTNL3 (exonic 1 - 4)	Dup	E
Chr6-257063-328769	6p25.3	DUSP22 (exonic 1 - 3)	Dup	E
Chr6-31279729-31303845	6p21.33	-	Dup	E
Chr6-32472076-32493129	6p21.32	HLA-DRB5 (exonic 2 - 6)	Dup	E
Chr6-103737764-103753939	6q16.3	-	Dup	E
Chr8-7053186-8094773	8p23.1	DEFB105A, DEFB105B, FAM66E, DEFB104A, PRR23D1, DEFB4A, USP17L4, ZNF705G, LINC00965, DEFB106B, USP17L1, FAM90A7P, LOC101928095, SPAG11B, FAM85B, PRR23D2, FAM66B, DEFB107A, DEFB103B, MIR548I3,	Dup	E

		FAM86B3P, ZNF705B, DEFB109B, SPAG11A, FAM90A10P, DEFB106A, DEFB103A, USP17L3, DEFB104B, USP17L8, DEFB107B, DEFB4B		
Chr8-11967805-12231563	8p23.1	FAM85A, FAM66D, LOC392196, FAM90A2P, ZNF705D, USP17L7, DEFB130A, USP17L2, FAM66A, FAM86B1	Dup	E
Chr8-39233204-39386158	8p11.22	ADAM3A, ADAM5	Dup	E
Chr9-5304864-5337508	9p24.1	RLN1 (exonic 2)	Dup	E
Chr9-104734969-104746659	9q31.1	-	Dup	E
Chr10-46691599-47727837	10q11.22	LINC00842, LOC105378577, SHLD2P3, SYT15, AGAP14P, LOC101927699, HNRNPA1P33, NPY4R, ANXA8L1, SHLD2P1, ANTXRLP1, ANTXRL, FAM25BP,	Dup	E

		GPRIN2		
Chr11-55372753-55453023	11q11	OR4C6, OR4P4, OR4C11, OR4S2	Dup	E
Chr12-9637084-9718846	12p13.31	LOC408186 (exonic 4 - 39)	Dup	E
Chr15-20394220-22669111	15q11.1-q11.2	RERP3, HERC2P3, GOLGA8CP, POTEb, LOC646214, GOLGA6L6, OR4N3P, POTEb2, MIR3118-2, IGHV1OR15-3, CHEK2P2, OR4M2, CXADRP2, LINC01193, FAM30C, IGHV1OR15-1, MIR1268A, LOC101927079, OR4N4, MIR5701-1, LINC02203, NF1P2, NBEAP1	Dup	E
Chr22-18694073-18830629	22q11.21	FAM230E, GGT3P	Dup	E

C: cinsiyet, D: dişi, E: erkek

Tablo: Kromozom bant bölgesine göre KSD grupları (Şekil 4-4)

Kromozom Bandı	N	%
10p11.1	1	0,0
10p11.21	3	0,1
10p11.22	1	0,0
10p12.1	2	0,0
10p12.31	1	0,0
10p13	2	0,0
10p14	3	0,1
10p14 - p13	13	0,3
10p15.1	1	0,0
10p15.2	1	0,0
10p15.3	1	0,0
10q11.21	3	0,1
10q11.22	1	0,0
10q11.23	1	0,0
10q21.1	10	0,2
10q21.3	9	0,2
10q21.3 - q22.1	14	0,3
10q22.3	2	0,0
10q22.3 - q23.1	1	0,0
10q23.1	2	0,0
10q23.2	2	0,0
10q23.31	5	0,1
10q23.32 - q23.33	2	0,0
10q23.33	4	0,1

10q24.1	1	0,0
10q24.31 - q24.32	3	0,1
10q24.32 - q24.33	2	0,0
10q26.11 - q26.12	1	0,0
10q26.13	5	0,1
10q26.2	2	0,0
10q26.3	47	1,0
11p11.12	3	0,1
11p11.2	2	0,0
11p12	2	0,0
11p14.1	1	0,0
11p14.3	1	0,0
11p14.3 - p14.2	1	0,0
11p15.1	30	0,6
11p15.2	1	0,0
11p15.4	9	0,2
11p15.5	31	0,7
11p15.5 - p15.4	1	0,0
11q11	13	0,3
11q12.3	1	0,0
11q13.2	2	0,0
11q13.4	10	0,2
11q14.1	6	0,1
11q14.2	2	0,0
11q14.3	1	0,0
11q21	1	0,0
11q22.1	11	0,2

11q22.3	4	0,1
11q23.3	2	0,0
11q24.2	2	0,0
11q25	10	0,2
12p11.1	8	0,2
12p11.21	15	0,3
12p11.23	1	0,0
12p12.1	1	0,0
12p12.2 - p12.1	6	0,1
12p12.3	1	0,0
12p13.1	4	0,1
12p13.31	12	0,3
12p13.33	6	0,1
12q11 - q12	6	0,1
12q12	1	0,0
12q13.11	1	0,0
12q13.12	2	0,0
12q13.12 - q13.13	17	0,4
12q13.13	2	0,0
12q14.2	5	0,1
12q15	7	0,1
12q21.31	3	0,1
12q21.31 - q21.32	1	0,0
12q21.33	1	0,0
12q22	1	0,0
12q23.1	2	0,0

12q23.3	1	0,0
12q24.11	1	0,0
12q24.13	1	0,0
12q24.23	1	0,0
12q24.31	2	0,0
12q24.32	2	0,0
12q24.32 - q24.33	1	0,0
12q24.33	6	0,1
13q11 - q12.11	1	0,0
13q12.11	7	0,1
13q12.12	1	0,0
13q12.13	1	0,0
13q12.3	3	0,1
13q12.3 - q13.1	1	0,0
13q13.1	1	0,0
13q13.3	1	0,0
13q14.11	1	0,0
13q14.2	1	0,0
13q14.3 - q21.1	1	0,0
13q21.1	1	0,0
13q21.1 - q21.2	1	0,0
13q21.32	1	0,0
13q21.33	1	0,0
13q22.1 - q22.2	1	0,0
13q22.2	1	0,0
13q31.1	6	0,1

13q31.3	4	0,1
13q31.3 - q32.1	2	0,0
13q32.2	1	0,0
13q32.3	1	0,0
13q33.1	3	0,1
13q34	3	0,1
14q11.1 - q11.2	10	0,2
14q11.2	450	9,5
14q12	21	0,4
14q13.1 - q13.2	27	0,6
14q21.1	8	0,2
14q21.1 - q21.2	1	0,0
14q21.2	10	0,2
14q21.3	19	0,4
14q22.3	1	0,0
14q23.1	3	0,1
14q23.2	11	0,2
14q23.2 - q23.3	2	0,0
14q24.2	2	0,0
14q24.2 - q24.3	6	0,1
14q24.3	4	0,1
14q31.2	4	0,1
14q31.3	1	0,0
14q32.2	4	0,1
14q32.31	1	0,0
14q32.33	63	1,3

15q11.2	21	0,4
15q13.2	10	0,2
15q13.2 - q13.3	1	0,0
15q13.3	2	0,0
15q14	94	2,0
15q15.3	19	0,4
15q21.2	14	0,3
15q21.3	1	0,0
15q21.3 - q22.2	1	0,0
15q22.31	1	0,0
15q24.1	1	0,0
15q26.1	1	0,0
15q26.2	2	0,0
15q26.3	4	0,1
16p11.2	372	7,8
16p12.2	7	0,1
16p12.3	3	0,1
16p13.11	12	0,3
16p13.11 - p12.3	2	0,0
16p13.12	1	0,0
16p13.12 - p13.11	1	0,0
16p13.13	2	0,0
16p13.2	2	0,0
16p13.3	13	0,3
16q11.2 - q12.1	1	0,0
16q13	4	0,1

16q21	2	0,0
16q22.1	6	0,1
16q23.1	2	0,0
16q23.1 - q23.2	1	0,0
16q23.3	2	0,0
16q23.3 - q24.1	1	0,0
16q24.2	4	0,1
16q24.3	7	0,1
17p11.2	11	0,2
17p11.2 - p11.1	15	0,3
17p12	4	0,1
17p13.1	3	0,1
17p13.3	4	0,1
17p13.3 - p13.2	1	0,0
17q11.2	1	0,0
17q12	13	0,3
17q21.2 - q21.31	3	0,1
17q21.31	42	0,9
17q21.32	1	0,0
17q21.33	1	0,0
17q22	3	0,1
17q22 - q23.1	1	0,0
17q23.1	6	0,1
17q24.2	11	0,2
17q25.1	3	0,1
17q25.3	6	0,1

18p11.21	4	0,1
18p11.31	3	0,1
18p11.32	2	0,0
18q12.3	1	0,0
18q21.1	8	0,2
18q21.2	4	0,1
18q21.33	2	0,0
18q22.1	2	0,0
18q22.1 - q22.2	1	0,0
18q23	5	0,1
19p11	1	0,0
19p12	9	0,2
19p12 - p11	1	0,0
19p13.3	3	0,1
19q11	7	0,1
19q12	2	0,0
19q13.11	1	0,0
19q13.2	1	0,0
19q13.2 - q13.31	70	1,5
19q13.31	2	0,0
19q13.33	4	0,1
19q13.41	3	0,1
19q13.43	4	0,1
1p12	2	0,0
1p12 - p11.2	2	0,0
1p13.1	1	0,0

1p13.2	2	0,0
1p13.3	3	0,1
1p21.1	14	0,3
1p22.1	2	0,0
1p31.1	5	0,1
1p31.3	1	0,0
1p32.1	1	0,0
1p32.2	2	0,0
1p32.3	1	0,0
1p33	1	0,0
1p34.1	3	0,1
1p34.2	1	0,0
1p34.3	6	0,1
1p35.2	3	0,1
1p35.2 - p35.1	2	0,0
1p35.3	1	0,0
1p35.3 - p35.2	2	0,0
1p36.11	1	0,0
1p36.13	5	0,1
1p36.21	1	0,0
1p36.21 - p36.13	4	0,1
1p36.22	5	0,1
1p36.31	3	0,1
1p36.32 - p36.31	1	0,0
1p36.33	3	0,1
1q12 - q21.1	1	0,0

1q21.1	3	0,1
1q21.2	304	6,4
1q21.2 - q21.3	1	0,0
1q21.3	2	0,0
1q22	2	0,0
1q23.3	4	0,1
1q24.1	1	0,0
1q24.1 - q24.2	3	0,1
1q25.1	2	0,0
1q31.1	4	0,1
1q31.3	38	0,8
1q32.1	12	0,3
1q41 - q42.11	1	0,0
1q42.11	3	0,1
1q42.11 - q42.12	1	0,0
1q42.12	1	0,0
1q42.13	4	0,1
1q42.2	2	0,0
1q42.3	5	0,1
1q42.3 - q43	1	0,0
1q43	2	0,0
1q44	11	0,2
20p11.21	1	0,0
20p11.23	1	0,0
20p12.1	20	0,4
20p12.2	1	0,0

20p12.3	1	0,0
20p13	3	0,1
20p13 - p12.3	1	0,0
20q11.22	1	0,0
20q11.23	1	0,0
20q13.12	10	0,2
20q13.13	1	0,0
20q13.2	3	0,1
20q13.32	3	0,1
20q13.33	7	0,1
21p11.2 - p11.1	52	1,1
21q11.2	9	0,2
21q21.1	4	0,1
21q21.1 - q21.2	1	0,0
21q21.2	3	0,1
21q21.3	7	0,1
21q22.11	1	0,0
21q22.11 - q22.12	2	0,0
21q22.12 - q22.13	1	0,0
21q22.2	2	0,0
21q22.3	12	0,3
22q11.1	9	0,2
22q11.1 - q11.21	11	0,2
22q11.21	23	0,5
22q11.21 - q11.22	1	0,0
22q11.22	7	0,1

22q11.22 - q11.23	1	0,0
22q11.23	3	0,1
22q11.23 - q12.1	55	1,2
22q12.2 - q12.3	5	0,1
22q12.3	1	0,0
22q13.1	1	0,0
22q13.1 - q13.2	2	0,0
22q13.2	1	0,0
22q13.31	3	0,1
22q13.32 - q13.33	4	0,1
22q13.33	2	0,0
2p11.2	98	2,1
2p12	5	0,1
2p12 - p11.2	2	0,0
2p13.3	2	0,0
2p15	1	0,0
2p16.1	1	0,0
2p16.1 - p15	3	0,1
2p16.2	2	0,0
2p16.3	7	0,1
2p21	6	0,1
2p22.1 - p21	2	0,0
2p22.2	2	0,0
2p22.3	4	0,1
2p22.3 - p22.2	1	0,0
2p23.1	1	0,0

2p25.1	2	0,0
2p25.3	7	0,1
2q11.1	1	0,0
2q11.2	21	0,4
2q12.1	3	0,1
2q12.2 - q12.3	1	0,0
2q13	19	0,4
2q14.1	2	0,0
2q14.2	2	0,0
2q14.3	3	0,1
2q21.1	5	0,1
2q21.2	1	0,0
2q21.3	1	0,0
2q21.3 - q22.1	1	0,0
2q22.1	2	0,0
2q23.3	1	0,0
2q24.1	1	0,0
2q24.2	1	0,0
2q31.1	2	0,0
2q31.2	1	0,0
2q32.1	6	0,1
2q32.3	4	0,1
2q33.1	3	0,1
2q33.1 - q33.2	3	0,1
2q33.3	2	0,0
2q34	3	0,1

2q35	4	0,1
2q36.3	1	0,0
2q37.3	202	4,3
3p11.1	1	0,0
3p12.1	2	0,0
3p14.1	1	0,0
3p14.2	1	0,0
3p14.3	5	0,1
3p21.1	5	0,1
3p21.31	1	0,0
3p21.33 - p21.32	1	0,0
3p22.1	2	0,0
3p22.3	2	0,0
3p24.2	2	0,0
3p24.3	2	0,0
3p25.2	1	0,0
3p25.3	10	0,2
3p26.1	9	0,2
3p26.3	11	0,2
3p26.3 - p26.2	1	0,0
3q11.2	1	0,0
3q12.1	1	0,0
3q13.11	1	0,0
3q13.13	3	0,1
3q13.31	1	0,0
3q21.3	2	0,0

3q22.1	14	0,3
3q22.2	1	0,0
3q23	3	0,1
3q24	1	0,0
3q25.2	2	0,0
3q25.31	1	0,0
3q26.1	1	0,0
3q26.2	3	0,1
3q26.31	2	0,0
3q26.31 - q26.32	1	0,0
3q26.32	4	0,1
3q29	6	0,1
4p12	1	0,0
4p14	7	0,1
4p15.1	1	0,0
4p15.2	8	0,2
4p15.31	2	0,0
4p15.33	3	0,1
4p16.1	5	0,1
4p16.3	15	0,3
4q12	3	0,1
4q13.1	9	0,2
4q13.2	23	0,5
4q13.3	5	0,1
4q21.1	1	0,0
4q21.22	1	0,0

4q22.1	3	0,1
4q22.1 - q22.2	1	0,0
4q22.3	3	0,1
4q23 - q24	1	0,0
4q25	3	0,1
4q26	2	0,0
4q27 - q28.1	1	0,0
4q28.1	1	0,0
4q28.1 - q28.2	1	0,0
4q28.2	3	0,1
4q28.3	6	0,1
4q31.21	8	0,2
4q31.3	2	0,0
4q32.1	5	0,1
4q32.3	3	0,1
4q32.3 - q33	1	0,0
4q34.3	1	0,0
4q35.1	1	0,0
4q35.2	11	0,2
5p11	1	0,0
5p12 - p11	3	0,1
5p13.2	5	0,1
5p14.3	3	0,1
5p15.31	1	0,0
5p15.31 - p15.2	1	0,0
5p15.33	6	0,1

5q11.2	9	0,2
5q12.1	2	0,0
5q13.1	1	0,0
5q13.1 - q13.2	9	0,2
5q13.2	134	2,8
5q14.3	1	0,0
5q15	3	0,1
5q21.1	5	0,1
5q21.2	1	0,0
5q22.1	2	0,0
5q22.2 - q22.3	1	0,0
5q22.3	1	0,0
5q23.1	2	0,0
5q23.2	12	0,3
5q31.1	9	0,2
5q31.2	2	0,0
5q31.3	1	0,0
5q33.1	5	0,1
5q33.2	1	0,0
5q33.3	1	0,0
5q35.1	1	0,0
5q35.2	3	0,1
5q35.2 - q35.3	10	0,2
5q35.3	8	0,2
6p11.2	1	0,0
6p11.2 - p11.1	2	0,0

6p21.1	3	0,1
6p21.31	1	0,0
6p21.32 - p21.31	1	0,0
6p21.33	9	0,2
6p22.1	2	0,0
6p22.1 - p21.33	3	0,1
6p22.2	4	0,1
6p22.3	2	0,0
6p23 - p22.3	6	0,1
6p24.2	2	0,0
6p25.1	2	0,0
6p25.3	35	0,7
6q11.1 - q12	1	0,0
6q11.2 - q12	1	0,0
6q12	2	0,0
6q13	26	0,5
6q14.1	3	0,1
6q14.3	1	0,0
6q15	1	0,0
6q16.1	3	0,1
6q16.2	1	0,0
6q16.3	1	0,0
6q21	6	0,1
6q22.1	11	0,2
6q22.31	3	0,1
6q22.33	2	0,0

6q23.1	1	0,0
6q24.1	9	0,2
6q24.1 - q24.2	1	0,0
6q24.2 - q24.3	1	0,0
6q24.3	1	0,0
6q25.1	10	0,2
6q25.2	4	0,1
6q26	6	0,1
6q26 - q27	6	0,1
6q27	10	0,2
7p11.2	8	0,2
7p12.1	3	0,1
7p12.3	1	0,0
7p13	2	0,0
7p14.1	9	0,2
7p14.3	5	0,1
7p15.2	1	0,0
7p15.3	1	0,0
7p21.1	2	0,0
7p21.2	1	0,0
7p21.3	11	0,2
7p22.1	4	0,1
7p22.2 - p22.1	2	0,0
7p22.3	3	0,1
7p22.3 - p22.2	1	0,0
7q11.1 - q11.21	3	0,1

7q11.21	56	1,2
7q11.21 - q11.22	1	0,0
7q11.22	3	0,1
7q11.22 - q11.23	2	0,0
7q11.23	14	0,3
7q21.11	10	0,2
7q21.12	1	0,0
7q21.13	5	0,1
7q21.3	1	0,0
7q22.1	2	0,0
7q22.2 - q22.3	3	0,1
7q22.3	2	0,0
7q31.1	5	0,1
7q31.2	5	0,1
7q31.31	1	0,0
7q31.32	1	0,0
7q31.33	2	0,0
7q32.1 - q32.2	1	0,0
7q33 - q34	1	0,0
7q34	16	0,3
7q35	7	0,1
7q36.1	6	0,1
7q36.1 - q36.2	1	0,0
7q36.3	13	0,3
8p11.21	3	0,1
8p11.21 - p11.1	2	0,0

8p11.22	1	0,0
8p11.23	3	0,1
8p12	1	0,0
8p21.2	1	0,0
8p21.3	7	0,1
8p22	3	0,1
8p23.1	6	0,1
8p23.2	7	0,1
8p23.3 - p23.2	3	0,1
8q11.1	12	0,3
8q11.21	1	0,0
8q11.23	1	0,0
8q12.1	9	0,2
8q21.13	1	0,0
8q21.3	3	0,1
8q22.1	3	0,1
8q23.2	1	0,0
8q23.3	4	0,1
8q24.12	2	0,0
8q24.13 - q24.21	1	0,0
8q24.22	1	0,0
8q24.23	55	1,2
8q24.3	9	0,2
9p11.2	19	0,4
9p12	18	0,4
9p13.1	8	0,2

9p13.1 - p12	18	0,4
9p13.2 - p13.1	4	0,1
9p13.3	4	0,1
9p13.3 - p13.2	3	0,1
9p21.1	12	0,3
9p21.2	1	0,0
9p22.1	3	0,1
9p22.2	1	0,0
9p22.2 - p22.1	1	0,0
9p22.3	1	0,0
9p23	30	0,6
9p24.1	9	0,2
9p24.3	15	0,3
9q13	5	0,1
9q13 - q21.11	1	0,0
9q21.11	12	0,3
9q21.33	4	0,1
9q22.31	4	0,1
9q22.32 - q22.33	2	0,0
9q31.1	4	0,1
9q31.3 - q32	2	0,0
9q32	3	0,1
9q33.1	2	0,0
9q33.2	1	0,0
9q33.3	3	0,1
9q34.11	4	0,1

9q34.13	3	0,1
9q34.3	3	0,1
Xp11.1	3	0,1
Xp11.21 - p11.1	1	0,0
Xp11.22	4	0,1
Xp11.22 - p11.21	2	0,0
Xp11.23	15	0,3
Xp11.3	19	0,4
Xp11.4	12	0,3
Xp21.1	3	0,1
Xp21.2	3	0,1
Xp21.2 - p21.1	1	0,0
Xp21.3	1	0,0
Xp21.3 - p21.2	1	0,0
Xp22.11	37	0,8
Xp22.12	1	0,0
Xp22.13	3	0,1
Xp22.13 - p22.12	1	0,0
Xp22.2	7	0,1
Xq11.1 - q11.2	3	0,1
Xq11.2	2	0,0
Xq12	5	0,1
Xq13.1	17	0,4
Xq13.2 - q13.3	1	0,0
Xq21.1	15	0,3
Xq21.31	13	0,3

Xq21.31 - q21.32	1	0,0
Xq21.32	1	0,0
Xq21.33	4	0,1
Xq22.1	5	0,1
Xq22.2	1	0,0
Xq22.3	2	0,0
Xq22.3 - q23	3	0,1
Xq23	5	0,1
Xq24	15	0,3
Xq25	21	0,4
Xq25 - q26.1	1	0,0
Xq26.1	3	0,1
Xq26.1 - q26.2	1	0,0
Xq26.2	4	0,1
Xq26.3	4	0,1
Xq27.1	4	0,1
Xq27.1 - q27.2	2	0,0
Xq27.2	11	0,2
Xq27.3	5	0,1
Xq28	3	0,1
Yq11.1 - q11.21	2	0,0
Yq11.21	13	0,3
Yq11.21 - q11.221	2	0,0
Yq11.221	5	0,1
Yq11.221 - q11.222	1	0,0
Yq11.222	1	0,0

Yq11.223 - q11.23	25	0,5
Yq11.23	4	0,1
Yq12	2	0,0
Toplam	4746	100,0

Tablo: Genom koordinatlarına göre KSD grupları (Şekil 4-5)

KSD Koordinatları	N	%
1p12(118906200_119231897)	2	0,0
1p12p11.2(120278321_121150012)	2	0,0
1p13.1(116616261_117443695)	1	0,0
1p13.2(112654098_113835121)	2	0,0
1p13.3(108713464_109747020)	3	0,1
1p21.1(103722276_106097627)	14	0,3
1p22.1(92312307_94149578)	2	0,0
1p31.1(73964257_81309013)	5	0,1
1p31.3(62441943_62630929)	1	0,0
1p32.1(60250302_61089096)	1	0,0
1p32.2(56281211_56965417)	2	0,0
1p32.3(54867290_54991299)	1	0,0
1p33(46818897_46928430)	1	0,0
1p34.1(45121565_46686477)	3	0,1
1p34.2(40435491_40726607)	1	0,0
1p34.3(34756563_39945518)	6	0,1
1p35.2(31489761_31834621)	3	0,1
1p35.2p35.1(32323914_33409661)	2	0,0
1p35.3(28666901_29085067)	1	0,0
1p35.3p35.2(29695410_31337748)	2	0,0
1p36.11(24018999_29555641)	1	0,0
1p36.13(16518071_17241809)	5	0,1
1p36.21(13823202_15150973)	1	0,0
1p36.21p36.13(15889549_16621015)	4	0,1

1p36.22(9506456_10369213)	5	0,1
1p36.31(5491640_5759771)	1	0,0
1p36.31(6147841_6537496)	2	0,0
1p36.32p36.31(5080632_5510242)	1	0,0
1p36.33(564424_846735)	3	0,1
1q12q21.1(142552678_142898713)	1	0,0
1q21.1(142727196_143500282)	2	0,0
1q21.1(145460721_145656051)	1	0,0
1q21.2(147380368_149775936)	304	6,4
1q21.2q21.3(149959865_151220341)	1	0,0
1q21.3(150326297_151634301)	2	0,0
1q22(155289054_155983793)	2	0,0
1q23.3(161511717_161641614)	4	0,1
1q24.1(165965636_166813780)	1	0,0
1q24.1q24.2(167133368_167339409)	3	0,1
1q25.1(172939335_175743250)	2	0,0
1q31.1(187382778_189770758)	4	0,1
1q31.3(195317413_196895943)	38	0,8
1q32.1(202760777_204006394)	12	0,3
1q41q42.11(224023008_224576529)	1	0,0
1q42.11(224129982_224599234)	3	0,1
1q42.11q42.12(224211781_224673610)	1	0,0
1q42.12(225804196_226372884)	1	0,0
1q42.13(228122243_228894772)	4	0,1
1q42.2(231160030_232282933)	2	0,0
1q42.3(235067864_236562386)	1	0,0
1q42.3(235155655_236865492)	5	0,1

1q43(238434661_238565696)	1	0,0
1q43(242807686_243366954)	1	0,0
1q44(244901326_246261072)	3	0,1
1q44(248336674_249212668)	8	0,2
2p11.2(85309440_85520965)	11	0,2
2p11.2(89364472_90234023)	87	1,8
2p12(78244446_78716453)	5	0,1
2p12p11.2(82912176_83653431)	2	0,0
2p13.3(69872735_70532158)	2	0,0
2p15(61390858_61566583)	1	0,0
2p16.1(56654795_56855897)	1	0,0
2p16.1p15(59749446_62672095)	3	0,1
2p16.2(53869591_54007183)	1	0,0
2p16.2(54378382_54503323)	1	0,0
2p16.3(49175052_49299227)	1	0,0
2p16.3(50970662_51137130)	2	0,0
2p16.3(51812495_52569208)	4	0,1
2p21(45168836_45187428)	6	0,1
2p22.1p21(41573636_42014276)	2	0,0
2p22.2(37130290_37478241)	2	0,0
2p22.3(32104918_33178696)	3	0,1
2p22.3(35821806_36061904)	1	0,0
2p22.3p22.2(36580234_36779969)	1	0,0
2p23.1(31256241_31854143)	1	0,0
2p25.1(10059079_10189270)	1	0,0
2p25.1(11465497_11643464)	1	0,0

2p25.3(17019_1947418)	7	0,1
2q11.1(96159216_96367456)	1	0,0
2q11.2(97302989_98152205)	21	0,4
2q12.1(104773264_105432077)	3	0,1
2q12.2q12.3(106811254_108520987)	1	0,0
2q13(110862477_112476724)	19	0,4
2q14.1(116816885_116963862)	1	0,0
2q14.1(118258638_118643041)	1	0,0
2q14.2(120566493_120789244)	1	0,0
2q14.2(121527640_121567399)	1	0,0
2q14.3(122863266_124428869)	3	0,1
2q21.1(130113483_132493931)	5	0,1
2q21.2(134836048_135037119)	1	0,0
2q21.3(135722249_136371860)	1	0,0
2q21.3q22.1(136571733_137553627)	1	0,0
2q22.1(137117179_137582338)	1	0,0
2q22.1(140987637_141192333)	1	0,0
2q23.3(153527176_153686772)	1	0,0
2q24.1(154961717_155309048)	1	0,0
2q24.2(160667209_160904193)	1	0,0
2q31.1(172954281_172964665)	2	0,0
2q31.2(178979787_179235480)	1	0,0
2q32.1(185486193_185679948)	1	0,0
2q32.1(187016200_188752230)	5	0,1
2q32.3(193810809_194581374)	3	0,1
2q32.3(195612286_195763566)	1	0,0

2q33.1(197537112_202021140)	3	0,1
2q33.1q33.2(201673479_204556446)	3	0,1
2q33.3(206849573_207130348)	2	0,0
2q34(211332509_212259775)	2	0,0
2q34(214192137_214326955)	1	0,0
2q35(215378566_215614813)	1	0,0
2q35(219189163_219475839)	3	0,1
2q36.3(226476920_226777878)	1	0,0
2q37.3(239860877_243068396)	202	4,3
3p11.1(89773640_90282104)	1	0,0
3p12.1(83679955_83894165)	1	0,0
3p12.1(86499242_86759503)	1	0,0
3p14.1(65063383_65522089)	1	0,0
3p14.2(60382706_60515801)	1	0,0
3p14.3(57354963_58025108)	5	0,1
3p21.1(53881902_54234507)	5	0,1
3p21.31(44997133_45268609)	1	0,0
3p21.33p21.32(43899261_44150026)	1	0,0
3p22.1(39607522_40022817)	1	0,0
3p22.1(41287243_41518607)	1	0,0
3p22.3(34680458_34796940)	1	0,0
3p22.3(35744775_35935841)	1	0,0
3p24.2(24427357_25183117)	2	0,0
3p24.3(21279279_21435608)	1	0,0
3p24.3(22088146_22286581)	1	0,0
3p25.2(12970496_13175566)	1	0,0

3p25.3(9886710_11683695)	10	0,2
3p26.1(4026338_4449787)	6	0,1
3p26.1(5285370_6488228)	3	0,1
3p26.3(62199_2455688)	11	0,2
3p26.3p26.2(2598953_3161076)	1	0,0
3q11.2(97942906_98051633)	1	0,0
3q12.1(98743695_98894959)	1	0,0
3q13.11(104077800_104264996)	1	0,0
3q13.13(109056805_109966400)	3	0,1
3q13.31(116282006_116587439)	1	0,0
3q21.3(126878557_127040193)	2	0,0
3q22.1(131095932_131495791)	1	0,0
3q22.1(132492890_132624252)	13	0,3
3q22.2(134567381_134732773)	1	0,0
3q23(139652108_142236461)	3	0,1
3q24(145486354_145750882)	1	0,0
3q25.2(152160916_152450219)	2	0,0
3q25.31(155457231_155574099)	1	0,0
3q26.1(164558728_164767222)	1	0,0
3q26.2(169624079_170197202)	3	0,1
3q26.31(174077664_174713426)	1	0,0
3q26.31(175105979_175564922)	1	0,0
3q26.31q26.32(175694552_175822961)	1	0,0
3q26.32(176800988_177124899)	4	0,1
3q29(195010092_197861598)	6	0,1
4p12(46687098_46801030)	1	0,0

4p14(36099373_36483385)	1	0,0
4p14(38981520_40908108)	6	0,1
4p15.1(30656538_31710007)	1	0,0
4p15.2(23377733_23807053)	3	0,1
4p15.2(25074101_25785945)	5	0,1
4p15.31(19030711_19271260)	2	0,0
4p15.33(12054242_14186386)	3	0,1
4p16.1(7938986_8461416)	1	0,0
4p16.1(9371016_9647011)	2	0,0
4p16.1(9948018_10147732)	2	0,0
4p16.3(45882_428791)	15	0,3
4q12(54344074_54675694)	3	0,1
4q13.1(63636471_66514059)	9	0,2
4q13.2(68194580_69459508)	1	0,0
4q13.2(70117148_70403351)	22	0,5
4q13.3(73726826_74044842)	5	0,1
4q21.1(78093410_78456126)	1	0,0
4q21.22(83810977_84070413)	1	0,0
4q22.1(89126670_93531623)	3	0,1
4q22.1q22.2(93590392_93933579)	1	0,0
4q22.3(97096914_97708639)	3	0,1
4q23q24(100984540_101396757)	1	0,0
4q25(111543801_111587488)	2	0,0
4q25(113538993_113704619)	1	0,0
4q26(114261023_114545743)	1	0,0
4q26(118116802_118340145)	1	0,0

4q27q28.1(123534430_124138569)	1	0,0
4q28.1(124497761_124851620)	1	0,0
4q28.1q28.2(128492067_128980319)	1	0,0
4q28.2(128830735_129131702)	3	0,1
4q28.3(131427124_131668577)	1	0,0
4q28.3(131816308_132482009)	3	0,1
4q28.3(133298899_133903951)	2	0,0
4q31.21(142151192_142390908)	1	0,0
4q31.21(144684851_145059881)	7	0,1
4q31.3(152830678_153015219)	2	0,0
4q32.1(157515436_157605223)	1	0,0
4q32.1(158957155_159131243)	2	0,0
4q32.1(160935609_161791075)	2	0,0
4q32.3(165943481_166177831)	1	0,0
4q32.3(168390832_168977590)	2	0,0
4q32.3q33(169866445_170253952)	1	0,0
4q34.3(178067448_182879994)	1	0,0
4q35.1(186942179_187084774)	1	0,0
4q35.2(187778330_190896674)	11	0,2
5p11(46115027_46365277)	1	0,0
5p12p11(45905982_46365277)	3	0,1
5p13.2(37154427_37738033)	5	0,1
5p14.3(18516054_21402998)	3	0,1
5p15.31(8399368_8644087)	1	0,0
5p15.31p15.2(9226249_9843583)	1	0,0
5p15.33(22149_342728)	2	0,0

5p15.33(3213035_3829788)	1	0,0
5p15.33(648152_1087534)	3	0,1
5q11.2(54030565_55621145)	7	0,1
5q11.2(56365661_56572785)	1	0,0
5q11.2(58512914_58726920)	1	0,0
5q12.1(61892401_62130488)	2	0,0
5q13.1(66711910_67476004)	1	0,0
5q13.1q13.2(68305755_70959373)	9	0,2
5q13.2(68508813_70688429)	133	2,8
5q13.2(72932056_73129120)	1	0,0
5q14.3(84704678_84869011)	1	0,0
5q15(94119218_94711557)	1	0,0
5q15(97051910_97502551)	2	0,0
5q21.1(99419597_99605982)	4	0,1
5q21.1(99821328_100081766)	1	0,0
5q21.2(103982530_104094031)	1	0,0
5q22.1(110670174_111212925)	1	0,0
5q22.1(111291296_111450922)	1	0,0
5q22.2q22.3(112998547_113246615)	1	0,0
5q22.3(113933282_114196863)	1	0,0
5q23.1(116068391_116198773)	1	0,0
5q23.1(117264222_117832759)	1	0,0
5q23.2(124943170_126212804)	12	0,3
5q31.1(133301032_135747838)	9	0,2
5q31.2(137203396_138979835)	2	0,0
5q31.3(141381177_141639446)	1	0,0

5q33.1(150508423_150738907)	1	0,0
5q33.1(151243145_151547865)	3	0,1
5q33.1(152204724_152541954)	1	0,0
5q33.2(153531944_153623430)	1	0,0
5q33.3(159495886_159674407)	1	0,0
5q35.1(170766888_170891564)	1	0,0
5q35.2(176127129_176495942)	3	0,1
5q35.2q35.3(176300369_177587500)	10	0,2
5q35.3(177078664_177587500)	2	0,0
5q35.3(178690866_178936520)	6	0,1
6p11.2(57686157_58055076)	1	0,0
6p11.2p11.1(57390589_58774324)	2	0,0
6p21.1(41127283_41746502)	1	0,0
6p21.1(43738066_44025581)	1	0,0
6p21.1(45128523_45257483)	1	0,0
6p21.31(33894111_34036804)	1	0,0
6p21.32p21.31(33201680_33595118)	1	0,0
6p21.33(31087802_31480336)	7	0,1
6p21.33(31584732_31685695)	2	0,0
6p22.1(28620145_28826389)	1	0,0
6p22.1(29077921_29164882)	1	0,0
6p22.1p21.33(29957055_31790713)	3	0,1
6p22.2(26689276_26946155)	4	0,1
6p22.3(21473373_22002973)	1	0,0
6p22.3(24786037_25015885)	1	0,0
6p23p22.3(14885206_15309471)	6	0,1

6p24.2(11327614_11462960)	2	0,0
6p25.1(4269700_4437880)	2	0,0
6p25.3(206749_766200)	35	0,7
6q11.1q12(63225782_64147240)	2	0,0
6q12(64053203_69199594)	2	0,0
6q13(73887446_74754057)	26	0,5
6q14.1(77103095_77387897)	1	0,0
6q14.1(78979161_79023328)	1	0,0
6q14.1(79859733_80093695)	1	0,0
6q14.3(85798377_86004117)	1	0,0
6q15(91707192_92278921)	1	0,0
6q16.1(95148725_95674170)	3	0,1
6q16.2(99828025_100045591)	1	0,0
6q16.3(100859245_104590114)	1	0,0
6q21(106434541_106844417)	1	0,0
6q21(109035102_109152199)	1	0,0
6q21(111061823_111349987)	4	0,1
6q22.1(115281889_115549626)	14	0,3
6q22.33(128297780_128744012)	2	0,0
6q23.1(130309341_130432126)	1	0,0
6q24.1(140184486_140442606)	1	0,0
6q24.1(140924561_141057385)	7	0,1
6q24.1(142233257_142345194)	1	0,0
6q24.1q24.2(142668555_143113102)	1	0,0
6q24.2q24.3(144692464_145890353)	1	0,0
6q24.3(148589994_148767961)	1	0,0

6q25.1(149631869_150165966)	10	0,2
6q25.2(153513572_154139201)	2	0,0
6q25.2(154666752_154909460)	2	0,0
6q26(161981583_162902342)	5	0,1
6q26(164148986_164363467)	1	0,0
6q26q27(163129664_170911240)	6	0,1
6q27(164770326_170921089)	10	0,2
7p11.2(55707251_56539461)	3	0,1
7p11.2(56854632_57991939)	5	0,1
7p12.1(51568969_51920294)	2	0,0
7p12.1(52386378_53083735)	1	0,0
7p12.3(47811328_48548349)	1	0,0
7p13(44472279_45088953)	2	0,0
7p14.1(38249967_38422723)	7	0,1
7p14.1(40962221_41280143)	2	0,0
7p14.3(32062882_32871460)	5	0,1
7p15.2(26260674_26363793)	1	0,0
7p15.3(24767098_25014033)	1	0,0
7p21.1(17096307_17188692)	1	0,0
7p21.1(19155310_19157193)	1	0,0
7p21.2(13871593_15573496)	1	0,0
7p21.3(12428637_12991727)	3	0,1
7p21.3(8201665_9175833)	5	0,1
7p21.3(9197157_9554716)	1	0,0
7p21.3(9593631_9764770)	2	0,0
7p22.1(4617264_6614945)	4	0,1

7p22.2p22.1(4374018_4509248)	2	0,0
7p22.3(2226012_2452186)	1	0,0
7p22.3(54185_160949)	2	0,0
7p22.3p22.2(2528744_3018617)	1	0,0
7q11.1q11.21(61059509_63664030)	3	0,1
7q11.21(61831840_66776468)	60	1,3
7q11.22q11.23(71422560_72401145)	2	0,0
7q11.23(73512711_76623409)	14	0,3
7q21.11(80051251_80329836)	4	0,1
7q21.11(80411532_80878693)	5	0,1
7q21.11(85103635_85275007)	1	0,0
7q21.12(87613893_87748150)	1	0,0
7q21.13(89540995_89710165)	5	0,1
7q21.3(93485325_94294058)	1	0,0
7q22.1(100980697_101126393)	1	0,0
7q22.1(98454446_98919422)	1	0,0
7q22.2q22.3(104477768_105576633)	3	0,1
7q22.3(105121302_105449219)	2	0,0
7q31.1(110943144_111333959)	5	0,1
7q31.2(116414911_116641867)	5	0,1
7q31.31(119137447_119408972)	1	0,0
7q31.32(123359344_123572040)	1	0,0
7q31.33(124575092_124694430)	1	0,0
7q31.33(125103289_125406147)	1	0,0
7q32.1q32.2(128566421_129927739)	1	0,0
7q33q34(138011448_140702033)	1	0,0

7q34(139721052_142540370)	16	0,3
7q35(143182253_143604740)	6	0,1
7q35(146221516_146328934)	1	0,0
7q36.1(148088639_149280479)	3	0,1
7q36.1(151467780_152195921)	3	0,1
7q36.1q36.2(152574832_153530436)	1	0,0
7q36.3(155100276_156791264)	8	0,2
7q36.3(158599150_159128556)	5	0,1
8p11.21(42433398_43014044)	3	0,1
8p11.21p11.1(42941907_43738803)	2	0,0
8p11.22(38600729_39381514)	1	0,0
8p11.23(36790240_36958443)	3	0,1
8p12(30131968_30263404)	1	0,0
8p21.2(23302200_23437253)	1	0,0
8p21.3(19854576_19963133)	3	0,1
8p21.3(22001919_22385814)	4	0,1
8p22(14682785_15112820)	1	0,0
8p22(15545819_15799117)	1	0,0
8p22(17629688_17804697)	1	0,0
8p23.1(9391384_9615534)	6	0,1
8p23.2(2282577_3379113)	4	0,1
8p23.2(3789209_3958726)	1	0,0
8p23.2(5419595_5794598)	2	0,0
8p23.3p23.2(2071271_2377810)	3	0,1
8q11.1(46924418_47662568)	12	0,3
8q11.21(50427381_50539940)	1	0,0

8q11.23(53617682_53898571)	1	0,0
8q12.1(56607761_57150270)	7	0,1
8q12.1(58343803_58546371)	2	0,0
8q21.13(81243799_81547824)	1	0,0
8q21.3(87178193_87312872)	1	0,0
8q21.3(87654689_87992007)	1	0,0
8q21.3(90920740_91033979)	1	0,0
8q22.1(95390430_95909539)	2	0,0
8q22.1(96432872_96562479)	1	0,0
8q23.2(110947075_111091365)	1	0,0
8q23.3(114173007_114409410)	1	0,0
8q23.3(115011573_115124554)	3	0,1
8q24.12(119523276_119984460)	1	0,0
8q24.12(120832653_121068377)	1	0,0
8q24.13q24.21(127186387_127312995)	1	0,0
8q24.22(133860257_134075815)	1	0,0
8q24.23(137713413_137842451)	54	1,1
8q24.23(139506869_139642748)	1	0,0
8q24.3(141415668_142003163)	8	0,2
8q24.3(145905403_146274835)	1	0,0
9p11.2(43612670_46933102)	19	0,4
9p12(41474494_42416387)	18	0,4
9p13.1(38676821_39058117)	5	0,1
9p13.1(39167334_40802859)	3	0,1
9p13.1p12(38648149_43469545)	18	0,4
9p13.2p13.1(38097120_38486011)	4	0,1

9p13.3(33777785_34296668)	4	0,1
9p13.3p13.2(36186211_36657514)	3	0,1
9p21.1(28517907_28758185)	5	0,1
9p21.1(30266402_32094249)	7	0,1
9p21.2(26383164_26600503)	1	0,0
9p22.1(18829330_19377298)	3	0,1
9p22.2(17386423_17675404)	1	0,0
9p22.2p22.1(18092732_19497605)	1	0,0
9p22.3(14995900_15260686)	1	0,0
9p23(10870326_11005939)	1	0,0
9p23(11513005_11713691)	5	0,1
9p23(11760141_13006450)	24	0,5
9p24.1(5165709_5308208)	3	0,1
9p24.1(5591536_6142532)	1	0,0
9p24.1(6359593_6813555)	5	0,1
9p24.3(172364_500584)	5	0,1
9p24.3(526605_906501)	10	0,2
9q13(66341789_68293711)	5	0,1
9q13q21.11(68327723_69001974)	1	0,0
9q21.11(68721548_70984540)	11	0,2
9q21.11(71417110_71821182)	1	0,0
9q21.33(86960959_87283050)	4	0,1
9q22.31(95768096_95882620)	4	0,1
9q22.32q22.33(98932483_99483928)	2	0,0
9q31.1(106007828_106928463)	3	0,1
9q31.1(107747031_108051746)	1	0,0

9q31.3q32(114270848_115787794)	2	0,0
9q32(116842555_117170478)	3	0,1
9q33.1(119386879_119747029)	2	0,0
9q33.2(124897767_125410208)	1	0,0
9q33.3(127606214_128122830)	3	0,1
9q34.11(130878932_133322842)	4	0,1
9q34.13(135123783_135330017)	3	0,1
9q34.3(138157660_138283617)	1	0,0
9q34.3(139685162_139942601)	1	0,0
9q34.3(140665129_141089296)	1	0,0
10p11.1(38785579_39121379)	1	0,0
10p11.21(35115925_35571024)	3	0,1
10p11.22(33021162_33229801)	1	0,0
10p12.1(26278622_26417693)	1	0,0
10p12.1(27634084_27788766)	1	0,0
10p12.31(19671086_20085420)	1	0,0
10p13(15631279_16300595)	1	0,0
10p13(16331051_16446187)	1	0,0
10p14(7814132_9055579)	2	0,0
10p14(9589924_9800515)	1	0,0
10p14p13(11932206_12375310)	13	0,3
10p15.1(5017108_5177994)	1	0,0
10p15.2(3469802_3678763)	1	0,0
10p15.3(102539_264219)	1	0,0
10q11.21(42418957_48124262)	3	0,1
10q11.22(47655087_48436981)	1	0,0

10q11.23(51518355_51780909)	1	0,0
10q21.1(53930539_54525915)	1	0,0
10q21.1(55279737_55450865)	2	0,0
10q21.1(56857382_57167709)	4	0,1
10q21.1(57456416_57579388)	1	0,0
10q21.1(58798409_58903563)	1	0,0
10q21.1(59591536_59742383)	1	0,0
10q21.3(64669613_65582348)	2	0,0
10q21.3(67995682_68558659)	6	0,1
10q21.3q22.1(69848235_71055907)	15	0,3
10q22.3(81273477_82027497)	3	0,1
10q23.1(83836743_84181124)	2	0,0
10q23.2(88487189_89189067)	2	0,0
10q23.31(92077453_92597897)	5	0,1
10q23.32q23.33(93912819_94872572)	6	0,1
10q24.1(98971948_99279192)	1	0,0
10q24.31q24.32(102933793_105141680)	5	0,1
10q26.11q26.12(121394763_121705440)	1	0,0
10q26.13(123278996_126671666)	5	0,1
10q26.2(128885952_129577943)	2	0,0
10q26.3(133361573_135404523)	47	1,0
11p11.12(49620289_51358892)	3	0,1
11p11.2(47566071_48519379)	2	0,0
11p12(37975195_41094392)	2	0,0
11p14.2p13(26690964_35176216)	1	0,0
11p14.3(22848709_23250704)	1	0,0

11p14.3p14.2(26048631_26260940)	1	0,0
11p15.1(18278497_21640072)	30	0,6
11p15.2(15120215_15932074)	1	0,0
11p15.4(3645310_9620688)	9	0,2
11p15.5(196966_286727)	7	0,1
11p15.5(2015691_2960401)	2	0,0
11p15.5(2016612_2017012)	22	0,5
11p15.5(917449_1273598)	1	0,0
11q11(54829323_55276951)	13	0,3
11q12.3(62863416_63110754)	1	0,0
11q13.2(67274585_67374834)	2	0,0
11q13.4(71146690_73688264)	10	0,2
11q14.1(77327081_85533456)	6	0,1
11q14.2(85715780_88144123)	2	0,0
11q14.3(91766352_91882391)	1	0,0
11q21(96501824_96927318)	1	0,0
11q22.1(97671578_97917227)	11	0,2
11q22.3(107537206_110281372)	4	0,1
11q23.3(116805106_118444428)	2	0,0
11q24.2(126210901_127063158)	2	0,0
11q25(132531591_134716388)	10	0,2
12p11.1(33545149_34827047)	8	0,2
12p11.21(31280046_32911255)	17	0,4
12p12.2p12.1(21017576_21404166)	6	0,1
12p12.3(16375710_16646617)	1	0,0
12p13.1(14215913_14529251)	4	0,1

12p13.31(7163099_7389430)	1	0,0
12p13.31(7778761_8145192)	8	0,2
12p13.31(9397457_9713425)	3	0,1
12p13.33(162848_1122670)	2	0,0
12p13.33(2561985_3070351)	2	0,0
12p13.33(733291_1788110)	2	0,0
12q11q12(37964161_38410384)	6	0,1
12q12(42738999_43023594)	1	0,0
12q13.11(47575626_47685452)	1	0,0
12q13.12(50580093_50994046)	2	0,0
12q13.12q13.13(49864423_51739087)	17	0,4
12q13.13(52862303_52866459)	2	0,0
12q14.2(63947732_64097728)	5	0,1
12q15(68738785_69241202)	5	0,1
12q15(69780307_70516032)	2	0,0
12q21.31(82273008_86018250)	3	0,1
12q21.31q21.32(86422840_86745589)	1	0,0
12q21.33(92167249_92274650)	1	0,0
12q22(92762564_93474343)	1	0,0
12q23.1(99917893_100164857)	2	0,0
12q23.3(107786602_107892112)	1	0,0
12q24.11(110282663_110631527)	1	0,0
12q24.13(113365698_113516290)	1	0,0
12q24.23(118404019_118817979)	1	0,0
12q24.31(120710636_128738900)	4	0,1
12q24.33(129267970_129536045)	3	0,1

12q24.33(132345838_133773528)	4	0,1
13q11q12.11(19438911_19590200)	1	0,0
13q12.11(20026180_20632888)	7	0,1
13q12.12(23547428_24910743)	1	0,0
13q12.13(25953254_26155595)	1	0,0
13q12.3(29442747_29814628)	1	0,0
13q12.3(31272065_31473315)	2	0,0
13q12.3q13.1(32034103_32200869)	1	0,0
13q13.1(33569716_33701053)	1	0,0
13q13.3(39175490_39456991)	1	0,0
13q14.11(44065040_44844541)	1	0,0
13q14.2(50232429_50640492)	1	0,0
13q14.3q21.1(55022129_55324166)	1	0,0
13q21.1(58919219_59912534)	2	0,0
13q21.32(67103903_67169837)	1	0,0
13q21.33(69615712_69741227)	1	0,0
13q22.1q22.2(75372510_75600004)	1	0,0
13q22.2(75929196_76323411)	1	0,0
13q31.1(80024532_87381591)	6	0,1
13q31.3(92255873_93766191)	4	0,1
13q31.3q32.1(94881314_95080107)	2	0,0
13q32.2(98888552_101452673)	1	0,0
13q32.3(100638682_101258636)	1	0,0
13q33.1(104397859_104626297)	3	0,1
13q34(111751915_115092648)	3	0,1
14q11.2(19043189_20644083)	11	0,2

14q11.2(22252087_23504769)	449	9,5
14q12(26844696_27839031)	5	0,1
14q12(29080511_29238314)	1	0,0
14q12(31378147_31911775)	14	0,3
14q12(32878511_33206979)	1	0,0
14q13.1q13.2(34753109_35784114)	27	0,6
14q21.1(40916693_41087556)	1	0,0
14q21.1(41616413_41954413)	3	0,1
14q21.1(42608853_43271732)	4	0,1
14q21.1q21.2(43412592_43501311)	1	0,0
14q21.2(43788873_44209248)	10	0,2
14q21.3(48786773_48906345)	10	0,2
14q21.3(50023764_50792573)	9	0,2
14q22.3(55881330_56036384)	1	0,0
14q23.1(60978313_61113325)	3	0,1
14q23.2(62932192_64448623)	11	0,2
14q23.2q23.3(63928063_65041357)	2	0,0
14q24.2q24.3(73355200_74627407)	12	0,3
14q31.2(83674957_84202913)	4	0,1
14q31.3(86851100_87039531)	1	0,0
14q32.2(96301701_97953857)	4	0,1
14q32.31(102209178_102767952)	1	0,0
14q32.33(105035983_107287505)	63	1,3
15q11.2(23096179_25333758)	21	0,4
15q13.2(30583407_31094350)	10	0,2
15q13.2q13.3(30819465_32635959)	1	0,0

15q13.3(32065000_32509926)	2	0,0
15q14(33762295_33865694)	1	0,0
15q14(34600367_34880275)	90	1,9
15q14(36346042_36560262)	1	0,0
15q14(39212924_39369037)	2	0,0
15q15.3(43738915_44128289)	19	0,4
15q21.2(50535474_51250888)	12	0,3
15q21.2(51636881_51748222)	1	0,0
15q21.2(52101138_52860053)	1	0,0
15q21.3q22.2(53872148_60101811)	2	0,0
15q22.31(64519987_65628582)	1	0,0
15q24.1(73391711_73787207)	1	0,0
15q26.1(90626893_91367956)	1	0,0
15q26.2(94744568_96880980)	2	0,0
15q26.3(101770894_102465355)	4	0,1
16p11.2(29138358_30190568)	2	0,0
16p11.2(31934834_34202147)	370	7,8
16p12.2(21475060_21837551)	5	0,1
16p12.2(23614717_23786176)	2	0,0
16p12.3(18264221_18821259)	3	0,1
16p13.11(15073743_16772370)	12	0,3
16p13.11p12.3(15517893_16878198)	2	0,0
16p13.12(13941308_14042201)	1	0,0
16p13.12p13.11(14715163_15073802)	1	0,0
16p13.13(11619313_12147494)	2	0,0
16p13.2(8472827_8861915)	2	0,0

16p13.3(1850661_4694952)	6	0,1
16p13.3(6610962_7281348)	7	0,1
16q11.2q12.1(46944865_47261099)	1	0,0
16q13(56944729_57213553)	4	0,1
16q21(59142881_65246144)	2	0,0
16q22.1(67775536_70663318)	6	0,1
16q23.1(77644645_79641254)	3	0,1
16q23.3(82864363_84052348)	2	0,0
16q23.3q24.1(84187273_84294950)	1	0,0
16q24.2(87756798_87905291)	4	0,1
16q24.3(89675027_90132823)	7	0,1
17p11.2(16581147_16720930)	1	0,0
17p11.2(18184071_18852807)	3	0,1
17p11.2(21311916_21531363)	6	0,1
17p11.2(21715685_22032763)	1	0,0
17p11.2p11.1(21531304_22225638)	15	0,3
17p12(12802785_15442066)	4	0,1
17p13.1(6963755_7681032)	1	0,0
17p13.1(9702097_10401862)	2	0,0
17p13.3(1130776_3100568)	2	0,0
17p13.3(1693_249251)	1	0,0
17p13.3(2619415_2949799)	1	0,0
17p13.3p13.2(3100510_3804988)	1	0,0
17q11.2(26746943_30935014)	1	0,0
17q12(37421613_37671771)	13	0,3
17q21.2q21.31(40368441_41634621)	3	0,1

17q21.31(40910621_41606424)	33	0,7
17q21.31(42472919_43032752)	9	0,2
17q21.32(46049661_46452825)	1	0,0
17q21.33(48931091_49302245)	1	0,0
17q22(50962192_52817633)	2	0,0
17q22(56162241_56341879)	1	0,0
17q22q23.1(57431408_57720719)	1	0,0
17q23.1(57874053_58066851)	6	0,1
17q24.2(65134052_66433270)	11	0,2
17q25.1(71420642_71663915)	2	0,0
17q25.1(72976958_73280564)	1	0,0
17q25.3(80004649_81039514)	6	0,1
18p11.21(12373222_13089515)	2	0,0
18p11.21(14196900_15362169)	2	0,0
18p11.31(3451728_3458388)	1	0,0
18p11.31(6825044_7094758)	2	0,0
18p11.32(163323_293595)	1	0,0
18p11.32(64847_237644)	1	0,0
18q12.3(39734603_39867615)	1	0,0
18q21.1(43508743_43844210)	4	0,1
18q21.1(44285390_44396972)	1	0,0
18q21.1(45880719_46010004)	2	0,0
18q21.1(46740044_46762211)	1	0,0
18q21.2(49023077_49191477)	1	0,0
18q21.2(51429703_51550850)	2	0,0
18q21.2(53526719_53637598)	1	0,0

18q21.33(59811277_60013470)	2	0,0
18q22.1(63563737_64165276)	2	0,0
18q22.1q22.2(66722014_66898318)	1	0,0
18q23(75169858_75387611)	1	0,0
18q23(77246230_78010032)	4	0,1
19p11(24403765_24526398)	1	0,0
19p12(20482092_20738671)	8	0,2
19p12(23812263_23928202)	1	0,0
19p12p11(24338289_24507409)	1	0,0
19p13.3(1211647_1449856)	1	0,0
19p13.3(2876148_3046083)	1	0,0
19p13.3(2897860_3046083)	1	0,0
19q11(27764285_28569857)	7	0,1
19q12(32198774_32375841)	2	0,0
19q13.11(35130397_35327216)	1	0,0
19q13.2(39569330_39669412)	1	0,0
19q13.2q13.31(43173815_43814108)	70	1,5
19q13.31(43584433_43980469)	2	0,0
19q13.33(48399340_48623690)	4	0,1
19q13.41(52288764_52615691)	3	0,1
19q13.43(57566332_59095418)	4	0,1
20p11.21(22759168_23352294)	1	0,0
20p11.23(20809316_21178295)	1	0,0
20p12.1(13498695_13682632)	1	0,0
20p12.1(14405019_15469398)	19	0,4
20p12.2(10489097_10721346)	1	0,0

20p12.3(5505208_5626501)	1	0,0
20p13(1615217_1846577)	1	0,0
20p13(60747_481619)	2	0,0
20p13p12.3(4912991_5185397)	1	0,0
20q11.22(33981988_34017987)	1	0,0
20q11.23(35074362_35862839)	1	0,0
20q13.12(43454945_43630883)	2	0,0
20q13.12(45706018_46264837)	8	0,2
20q13.13(46557649_46700328)	1	0,0
20q13.2(52021824_52517650)	3	0,1
20q13.32(57245851_57465891)	3	0,1
20q13.33(58766166_59107688)	6	0,1
20q13.33(61468347_62539530)	1	0,0
21p11.2p11.1(10002764_11096093)	52	1,1
21q11.2(14389029_15372526)	9	0,2
21q21.1(18679576_18882438)	2	0,0
21q21.1(20787163_21437395)	2	0,0
21q21.1q21.2(16919986_24486449)	2	0,0
21q21.2(24502828_24635430)	2	0,0
21q21.3(29970699_30205824)	7	0,1
21q22.11(32241014_32619324)	1	0,0
21q22.11q22.12(35594623_35905168)	2	0,0
21q22.12q22.13(37521681_37875149)	1	0,0
21q22.2(42381735_42500676)	2	0,0
21q22.3(42949126_43231527)	1	0,0
21q22.3(43620078_43743526)	1	0,0

21q22.3(47345188_47614778)	9	0,2
21q22.3(47930372_48090317)	1	0,0
22q11.1(16054691_17280687)	9	0,2
22q11.1q11.21(16629346_20311763)	11	0,2
22q11.21(18085573_22028768)	23	0,5
22q11.21q11.22(21923858_22959729)	1	0,0
22q11.22(22313381_22556733)	7	0,1
22q11.22q11.23(23420412_23523702)	1	0,0
22q11.23(23922391_24356029)	1	0,0
22q11.23(25645676_25874648)	2	0,0
22q11.23q12.1(25580525_25992726)	55	1,2
22q12.2q12.3(31513905_32387551)	5	0,1
22q12.3(37015574_37225574)	1	0,0
22q13.1(39294332_39486013)	1	0,0
22q13.1q13.2(40883805_41650231)	2	0,0
22q13.2(42883231_42983907)	1	0,0
22q13.31(44670555_44781589)	1	0,0
22q13.31(45472778_45736339)	1	0,0
22q13.31(47187586_47701314)	1	0,0
22q13.32q13.33(49123087_49750161)	4	0,1
22q13.33(49472184_49978481)	1	0,0
22q13.33(51037742_51159873)	1	0,0
Xp11.1(58141950_58484662)	3	0,1
Xp11.21p11.1(57931702_58484662)	1	0,0
Xp11.22(50267986_50841861)	1	0,0
Xp11.22(53253932_54481571)	2	0,0

Xp11.22(53583511_53707032)	1	0,0
Xp11.22p11.21(53401663_55022274)	2	0,0
Xp11.23(47080154_49751563)	15	0,3
Xp11.3(42716087_45744740)	19	0,4
Xp11.4(39202607_39435279)	1	0,0
Xp11.4(39969653_41874486)	11	0,2
Xp21.1(31638233_37535323)	3	0,1
Xp21.2(30325055_31010712)	3	0,1
Xp21.2p21.1(30357433_31735797)	1	0,0
Xp21.3(25022486_25033815)	1	0,0
Xp21.3p21.2(25472150_30262281)	1	0,0
Xp22.11(22334468_22543920)	1	0,0
Xp22.11(22863093_23093188)	5	0,1
Xp22.11(23331154_24513341)	31	0,7
Xp22.12(19611746_19935900)	1	0,0
Xp22.13(17305387_18172557)	3	0,1
Xp22.13p22.12(18336700_20279626)	1	0,0
Xp22.2(10644208_17094822)	7	0,1
Xq11.1q11.2(61998756_63563664)	3	0,1
Xq11.2(63490463_64007930)	2	0,0
Xq12(66029938_67469823)	5	0,1
Xq13.1(67935679_68381088)	4	0,1
Xq13.1(68939141_69129737)	1	0,0
Xq13.1(69325613_71553806)	12	0,3
Xq13.2q13.3(73819180_74203229)	1	0,0
Xq21.1(76396306_79286400)	11	0,2

Xq21.1(78196939_78476930)	1	0,0
Xq21.1(80861739_81789826)	2	0,0
Xq21.1(83237042_83868674)	1	0,0
Xq21.31(86630835_91558977)	13	0,3
Xq21.31q21.32(88230646_93112607)	1	0,0
Xq21.32(92103421_92591737)	1	0,0
Xq21.33(93622826_96205743)	4	0,1
Xq22.1(99899494_101111378)	5	0,1
Xq22.2(102789324_103032908)	1	0,0
Xq22.3(106677622_106887971)	2	0,0
Xq22.3q23(105803362_110003361)	3	0,1
Xq23(109671250_116121513)	5	0,1
Xq24(116588856_119824132)	15	0,3
Xq25(122607629_123464086)	18	0,4
Xq25(123501501_128248485)	3	0,1
Xq25q26.1(128497473_129707796)	1	0,0
Xq26.1(128944715_130337833)	3	0,1
Xq26.1q26.2(130078997_132891774)	1	0,0
Xq26.2(130434547_132730453)	4	0,1
Xq26.3(134427476_134910134)	4	0,1
Xq27.1(138614319_139995561)	4	0,1
Xq27.1q27.2(139584651_140738473)	2	0,0
Xq27.2(140353091_141783531)	11	0,2
Xq27.3(142263193_144703445)	5	0,1
Xq28(149116213_149379001)	3	0,1
Yq11.1q11.21(13271790_13848200)	2	0,0

Yq11.21(13564696_14988395)	13	0,3
Yq11.21q11.221(14463891_15181984)	2	0,0
Yq11.221(15206937_17055624)	4	0,1
Yq11.221(17104731_19038985)	1	0,0
Yq11.221q11.222(19139499_21098877)	1	0,0
Yq11.222(21053353_21311821)	1	0,0
Yq11.223q11.23(23607871_28673512)	25	0,5
Yq11.23(26275934_28784095)	4	0,1
Yq12(59028692_59335913)	2	0,0
Toplam	4746	100,0

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ARRAY-CGH ÇALIŞMASINDA SAPTANAN KOPYA SAYISI DEĞİŞİMLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 7	% 7	% 1	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	<% 1
4	web.citius.technology İnternet Kaynağı	<% 1
5	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
6	link.springer.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
8	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<% 1

cdn.istanbul.edu.tr