

***Drosophila melanogaster*'DE MONOSODYUM  
GLUTAMAT ETKİSİ ALTINDA LARVAL BESLENME  
DAVRANIŞI VE BU DAVRANIŞI ETKİLEYEN GENLERİN  
GENOM BOYLU İLİŞKİLENDİRME ANALİZİ İLE  
BELİRLENMESİ**

**LARVAL FEEDING BEHAVIOR UNDER THE EFFECT OF  
MONOSODIUM GLUTAMATE IN *Drosophila  
melanogaster* AND DETECTION OF THE GENES  
AFFECTING THIS BEHAVIOR VIA GENOME WIDE  
ASSOCIATION ANALYSIS**

**CEMRE ÖZBALCI**

**PROF. DR. ERGİ DENİZ ÖZSOY**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

*Adele...*

## ÖZET

# ***Drosophila melanogaster*'DE MONOSODYUM GLUTAMAT ETKİSİ ALTINDA LARVAL BESLENME DAVRANIŞI VE BU DAVRANIŞI ETKİLEYEN GENLERİN GENOM BOYLU İLİŞKİLENDİRME ANALİZİ İLE BELİRLENMESİ**

**Cemre ÖZBALCI**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY**

**Nisan 2024, 106 sayfa**

Bu tez çalışması kapsamında beslenme davranışını ve bir gıda katkı maddesi olan Monosodyum Glutamat (MSG) tüketimini etkileyen genetik varyantların saptanması hedeflenmektedir. Hem homeostatik hem de hedonik yollar ile düzenlenen beslenme davranışı, çoklu genli bir kontrol mekanizmasına sahip oluşuyla kompleks bir karakterdir. Beslenme davranışında etkili olan genlerin saptanması, ilgili hastalıkların önlenmesinde ve tedavilerinin geliştirilmesinde faydalı olacaktır. Hem beslenme hem de MSG tüketimi için etkisi bulunan gen setleri günümüzde sıkça araştırılıyor olmakla beraber ilgili fenotiplerin genetik arka planı tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışma, genetik araştırmalarda pek çok avantaj sağlayan model organizma *Drosophila melanogaster*'in genom boylu ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) kullanılmak üzere geliştirilmiş olan *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) soy setinden seçilen soylar ile gerçekleştirilmiştir. Deneyde, yaşamlarını optimal koşullarda (25 °C, ~%65 Bağıl Nem) sürdüren soylar kontrollü bir şekilde yumurtlatılmış ve yumurtlatmanın başından itibaren 72. saatte toplanan üçüncü evre larvalar kullanılmıştır.

Toplanan larvalar taze hazırlanmış kontrol besiyerine (%10 (w/v) sükröz, %2,5 (w/v) agar agar) ve MSG içeren besiyerine (kontrol besiyeri + %3 MSG (w/v)) konularak hareketleri diseksiyon mikroskobuna entegre edilmiş bir kamera ile kaydedilmiştir. Kayıtlar yavaşlatılarak izlenmiş ve larvaların bir dakika içerisinde sergiledikleri ısırık (snatch) sayıları belirlenerek kaydedilmiştir. Elde edilen veriler her soy için; kontrol grubu için, MSG grubu için ve MSG'de kaydedilen skor ortalamasının kontrol besiyerindeki skor ortalamasına farkı kontrol besiyerine göre yüzde cinsinden hesaplanarak oluşturulan fark skoru için hesaplanmış ve bu üç veri seti GWA analizinde girdi olarak kullanılmıştır. GWAS'lar sonucunda, toplamda 62 tekli nükleotid polimorfizminin (SNP), ilgili fenotipler ile anlamlı düzeyde ilişkili olduğu saptanmış, SNP'lerin isabet ettiği 32 *Drosophila* geni belirlenmiştir. Saptanan genlerin biyolojik fonksiyonları incelendiğinde sinir sistemi, metabolik süreçler ve gelişim ağırlıklı olmak üzere farklı biyolojik süreçlerde görev aldıkları görülmüştür. Belirlenen genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları insan hastalıkları incelenmiş, daha önceden saptanan obezite, diyabet gibi beslenmeyle bağlantılı bozukluklara ek olarak sinir sistemi, gelişim ve metabolik rahatsızlıkların saptanan genler ile ilişkili olabileceği de ortaya konmuştur. Bu tez çalışması ile, beslenme davranışı ve MSG tüketimi ile daha önce ilişkilendirilmemiş, çalışma sonucunda ilişkili olmaya aday olmuş olan 32 gen belirlenmiştir: Araştırmayı takip eden süreçte yapılacak olan validasyon çalışmaları ile, ilgili fenotipler ile ilişkisi doğrulanan genler literatüre kazandırılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, Beslenme davranışı, Genetik, Genom Boylu İlişkilendirme Analizi (GWAS)

## **ABSTRACT**

# **LARVAL FEEDING BEHAVIOR UNDER THE EFFECT OF MONOSODIUM GLUTAMATE IN *Drosophila melanogaster* AND DETECTION OF THE GENES AFFECTING BEHAVIOR VIA GENOME WIDE ASSOCIATION ANALYSIS**

**Cemre ÖZBALCI**

**Master of Science, Department of Biology**

**Supervisor: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY**

**April 2024 , 106 pages**

In this thesis, it is aimed to detect the genetic variants affecting feeding behavior and consumption of Monosodium Glutamate (MSG), a food additive. Feeding behavior which is regulated by both homeostatic and hedonic pathways, is a complex character with a multi-gene control mechanism. Determination of genes that are effective in feeding behavior would be helpful for development of preventions against and treatments of related diseases. Although gene sets involved in both feeding behavior and MSG consumption have been widely investigated, the genetic background of the related phenotypes hasn't been fully elucidated. The study was carried out by using lines chosen from the *Drosophila* Genetic Reference Panel (DGRP), which was developed for use in Genome Wide Association Study (GWAS) of the model organism *Drosophila melanogaster*, which is advantageous for genetics research. For the experiments, lines that maintain their lives in optimal conditions (25°C, 65% Relative Humidity) were laid in a controlled manner, and third instar larvae were collected at the 72<sup>nd</sup> hour from the beginning of egg laying were used. The collected larvae were placed on

control medium (10% w/v sucrose, 2.5% w/v agar-agar) and MSG containing medium (control medium + 3% MSG w/v). Afterwards, their movements were recorded with a camera integrated to a dissection microscope. The recordings were watched by being slowed down, and the count of snatches in a minute exhibited by each larvae were determined and recorded. The data obtained were calculated for each line; for the control group, for the MSG group and for the mean difference percentage score calculated by division of difference of MSG score and control score to control score. These three data sets were used as input for GWA analysis. As a result of the GWAS, total of 62 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found to be significantly associated with the phenotypes of interest, 32 *Drosophila* genes were identified in which the SNPs hit. Screening on the biological functions of the identified genes showed that these genes are getting involved in many different biological processes, dominantly in the nervous system, development, and metabolic processes. Human orthologs of the identified genes and human diseases they are associated with were examined, genes were previously found to be associated with not only nutrition related disorders such as obesity and diabetes; but also nervous system, developmental and metabolic disorders. With this thesis study, 32 genes that have not been previously associated with feeding behavior and MSG consumption were identified as candidate genes for association: With the validation studies to be conducted in the following period, the genes whose association with the phenotypes of interest will be confirmed and be published to the literature.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, Feeding Behavior, Genetics, Genome Wide Association Analysis

## TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, bilimsel ve entelektüel donanımına ek olarak mesleki deneyimini de bizlere cömertçe aktaran, her zaman ondan öğrenecek bir şeylerin olduğunu bildiğim ve her an yanımda olduğunu hissettiğim danışmanım Sayın Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY'a çok teşekkür ederim.

İhtiyacım olan her konuda benimle önerilerini, deneyimlerini paylaşan, gelecekte olmak istediğim akademisyen profilinde büyük izleri bulunan Sayın Hocalarım Dr. Güzin EMECEN'e ve Dr. Murat YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

GWAS analizlerini mümkün kılan ve gerçekleştiren Sayın Prof. Trudy Mackay ve öğrencisi Alp Mete ÜMMET'e teşekkür ederim.

Hem sosyal hem mesleki olarak yanımda olduğunu bildiğim değerli arkadaşım Memet GÖZÜBOYÜK'e, laboratuvarında desteklerini esirgemeyen Gülnur İPEK'e, her zaman fikir alışverişinde bulunabildiğim Sezgi ERCAN'a; Simge CEYHAN ve Sebahattin YAVUZ ile diğer laboratuvar üyelerimize yardımları için teşekkür ederim.

Arkadaşlığıyla molalarımı keyiflendiren ve paylaştığı deneyimleriyle stresli anlarımı yönetmemi sağlayan laboratuvar komşum Slavica VASELEK'e, her ihtiyaç duyduğumda bana yardım eden sevgili arkadaşım Babür ERDEM'e çok teşekkür ederim.

Varlığıyla beni her an motive eden; her konuda beni yalnız bırakmayıp gerek fiziki, gerek manevi yardımını asla esirgemeyen, bu tezin ortaya çıkmasındaki ve benim büyümemdeki katkılarından dolayı hayat arkadaşım Yasin POLAT'a - hayatımı güzelleştirdiği için- teşekkür ederim.

Varlıklarını bilmenin bana güç kattığı, ben hayallerimin peşinden koşarken her aldığı kararda yanımda olduklarını bildiğim canım ablam Ece ÖZBALCI, annem Dilek ÖZBALCI ve babam Mustafa ÖZBALCI'ya sonsuz teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER .....	vii
ŞEKİLLER .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Beslenme Davranışı.....	5
2.1.1. Beslenme Fizyolojisi ve Regülasyonu .....	5
2.1.2. Hedonik Beslenme .....	10
2.1.3. Beslenme Bozuklukları ve Diyet İlişkili Hastalıklar .....	12
2.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de beslenme .....	13
2.2.1. <i>Drosophila</i> 'da Beslenmenin Kontrol Mekanizmaları .....	14
2.2.2. <i>Drosophila</i> 'da Beslenmenin Düzenlenmesi .....	16
2.2.3. <i>Drosophila</i> 'da Beslenme Deneyleri.....	18
2.3. Monosodyum Glutamat .....	21
2.3.1. Kimyasal Yapısı ve Genel Özellikleri .....	21
2.3.2. Monosodyum Glutamat Metabolizması ve Fizyolojik Etkileri .....	22
2.4. <i>Drosophila</i> Genetik Referans Paneli Soyları ve Genom Boylu İlişkilendirme Analizi Çalışmaları.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	29
3.1. Kullanılan Soylar .....	29
3.2. Soyların Devamlılığı ve Kültür Koşulları .....	29
3.3. Deneye Hazırlık Süreci ve Deney Koşulları .....	29



3.4. Fenotipik Ölçümler ve Sayısallaştırma.....	34
3.5. Verilerin Analizi .....	35
3.5.1. Varyans Analizi .....	35
3.5.2. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS) .....	36
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	38
4.1. Beslenme Davranışı Sayısallaştırma Sonuçları .....	38
4.1.1. Varyans Analizi Sonuçları .....	38
4.1.2. Elde Edilen Verilerin İstatistikleri .....	39
4.2. Genom Boylu İlişkilendirme Analizi (GWAS) Sonuçları .....	45
4.2.1. GWAS Sonuçlarının Genel Değerlendirilmesi .....	45
4.2.2. GWAS Sonucunda Saptanan SNP'lerin Değerlendirilmesi .....	46
4.2.3. Saptanan Aday Varyantların Değerlendirilmesi .....	47
4.2.4. Genel Değerlendirme ve İleri Çalışmalar .....	61
5. KAYNAKLAR.....	64
EKLER .....	80
ÖZGEÇMİŞ .....	93

## ÇİZELGELER

Çizelge 4. 1. Deney sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları.....	38
Çizelge 4. 2. Normalite Testi Sonuçları.....	44
Çizelge 4. 3. Kontrol grubu için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), etki büyüklükleri, isabet sayıları ve kromozomal lokasyonları .....	47
Çizelge 4. 4. Kontrol grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları .....	48
Çizelge 4. 5. Kontrol grubu için saptanan aday genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar.....	49
Çizelge 4. 6. MSG grubu için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), etki büyüklükleri, isabet sayıları ve kromozomal lokasyonları .....	54
Çizelge 4. 7. MSG grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları .....	54
Çizelge 4. 8. MSG grubu için saptanan genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar.....	55
Çizelge 4. 9. Yüzde cinsinden MSG-kontrol grupları farkı için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), kromozomal lokasyonları ve insan ortologları .....	58
Çizelge 4. 10. MSG-Kontrol farkı grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları .....	58
Çizelge 4. 11 MSG-Kontrol farkı grubu için saptanan genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar.....	59

## ŞEKİLLER

Şekil 3. 1. <i>D. melanogaster</i> larvalarının farklı gelişimsel evrelerinde gözlenen ayırt edici morfolojik özellikler .....	31
Şekil 3. 2. Deneyde kullanılmak üzere toplanan larvaların yüzde cinsinden gelişim evrelerini gösteren grafik .....	32
Şekil 4. 1. Kontrol besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları.....	40
Şekil 4. 2. MSG'li besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları .....	41
Şekil 4. 3. Kontrol ve MSGli besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları .....	42
Şekil 4. 4. MSG-Kontrol besiyerlerinin kontrol besiyerindeki skor ortalamalarına göre yüzde cinsinde farkı .....	43
Şekil 4. 5. Üç veri grubuna ilişkin normal dağılım grafikleri .....	44
Şekil 4. 6. Deney grupları için saptanan SNP'lerin istatistiksel anlamlılığını gösteren grafikler .....	45
Şekil 4. 7. GWAS'lar sonucunda saptanan varyantların genom bölgelerine dağılımları .....	46

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

w/v	Ağırlık / Hacim
mm	milimetre

### Kısaltmalar

DGRP	Drosophila Genetik Referans Paneli
GWAS	Genom Boylu İlişkilendirme Analizi
CNS	Merkezi Sinir Sistemi
GI	Gastrointestinal
AN	Anoreksia Nervoza
BN	Blumia Nervoza
BED	Tıkınırcasına Yeme Bozukluğu
BMI	Beden Kitle İndeksi
MSG	Monosodyum Glutamat
ATP	Adenozin Trifosfat
CRS	Çin Restoranı Sendromu
SNP	Tekli Nükleotid Polimorfizmi
RH	Bağıl Nem
F <sub>1</sub>	Birinci Yavru Döl
LD50	Popülasyonun yarısının ölmesine sebep olan doz

# 1. GİRİŞ

Beslenme, bütün canlıların hayati fonksiyonlarını sürdürmek için gereken enerji ve hücrel metabolik reaksiyonlarda kullanılacak olan monomerleri elde etmelerini sağlayan, evrimsel olarak korunmuş bir davranıştır. Basitçe organizmaların gıda alması olarak tanımlanan beslenme, karmaşık yapıları hayvanların tamamında birçok farklı hücrel, dokusal ve sistemsel mekanizmanın bir arada çalışması ile gerçekleşmektedir. Beslenme davranışı, içsel ve dışsal pek çok etken tarafından düzenlenen (Melcher, Bader ve Pankratz, 2007) ve koku alma, tat alma duyuları ile birlikte sinirsel ve fizyolojik pek çok ağrı barındıran kompleks bir davranıştır (Bhumika ve Kumar, 2018) ve her canlıda hayatta kalma başarısını arttırmaya yönelik farklı adaptasyonlar gelişmiştir. Türler arası varyasyonların ötesinde, aynı türden farklı bireylerin de beslenme davranışlarının birbirlerinden farklı olduğu bilinmektedir. Bu çeşitliliğin arkasında bireyler arasındaki genetik varyasyonlar yatmaktadır. Öte yandan, beslenme metabolizmasında etkili olan bu varyasyonlar, beslenme bozukluklarına yatkınlıkta etkilidir (Trace ve ark., 2013).

Beslenme davranışını etkileyen genlerin bulunması için hem moleküler hem de genom boyulu pek çok çalışma gerçekleştirilmiş, çeşitli yeme bozukluklarına sahip bireylerde farklı seviyelerde ifade edilen birçok gen bulunmuş (Hinney ve Volckmar, 2013) olmasına rağmen genlerin arasındaki etkileşim ağı hala net değildir. Beslenme bozukluklarına sebep olan gen ağlarının açığa çıkarılmasının; bu bozuklukların önlenmesi, teşhisi, erken müdahale ve tedavisinde fayda sağlayacağı öngörülmektedir (Trace ve ark., 2013).

Yaygınlığı giderek artmakta olan beslenme bozuklukları genetik faktörlerden olduğu kadar, tüketicinin diyet tercihinden de etkilenerek meydana gelmektedir. Günümüzde insanların değişen yaşam tarzları ve beslenme ihtiyacının kısa süre içinde giderilmesinin gerekliliği, köklü bir diyet değişikliği ile sonuçlanmıştır. Hızlı yeme ihtiyacını karşılamaya yönelik firmalar ve paketli gıda üreticileri, Avrupa'da

“katkı maddesi” olarak sınıflandırılmakla birlikte, Amerika’da “genellikle güvenli kabul edilir” olarak sınıflandırılan Monosodyum Glutamatı (MSG) üretimlerinde yaygın olarak kullanmaya başlamışlardır (European Food Safety Authority, 2017; U.S. Food and Drug Administration, 2018). Bazı besinlerde doğal olarak da bulunan MSG gıda endüstrisinde eklendiği besinin lezzetini arttırması dolayısı ile tercih edilmektedir (Butnariu ve Sarac, 2019). Esansiyel olmayan bir aminoasit olan glutamik asidin sodyum tuzu olan MSG’nin aynı zamanda tüketicilerde toksik etkileri olduğu da bilinmektedir (Husarova ve Ostatnikova, 2013). Bu toksisitenin en baskın mekanizması, MSG tüketimi dolayısıyla fazlaca metabolize edilen glutamat amino asidinin sinir sisteminde uyarıcı bir nörotransmitter olarak görev almasından ötürü lezzet alma hissini fazla aktive etmesinin yol açtığı glikoz ve diğer metabolik reaktanların oksitlenmesinin yarattığı artan oksidatif strestitir (Okwudiri, Sylvanus ve Peace, 2012).

Ağırlıklı olarak laboratuvar fareleri (*Mus musculus*) ve sıçan (*Rattus rattus*) olmak üzere farklı model organizmalarla yapılan araştırmalarda MSG tüketiminin farklı metabolik yollarda etkileri araştırılmış, astım, migren gibi kronik hastalıkların semptomlarının arttığı (Freeman, 2006) negatif etkilenen pek çok yolak bulunmuştur. Yapılan klinik incelemelerde MSG tüketiminin kan şekeri, trigliserit, insülin ve kolesterol seviyelerinde artışa sebep olduğu bulunmuş ve MSG tüketiminin diyabet, obezite, Çin Restoranı Sendromu gibi beslenme ile ilişkili hastalıkların oluşumunda etkili olduğu saptanmıştır (Kazmi ve ark., 2017). MSG tüketiminin doğrudan etkisiyle ortaya çıktığı düşünülen Çin Restoranı Sendromunun, MSG tüketiminden 8-16 saat sonra baş ağrısı, baş dönmesi, terleme, karın ağrısı, ürtiker gibi semptomlarla kendini gösterdiği ve kolay tespit edilemeyen anjiyoödem oluşmasına da sebep olarak ölümcül sonuçlar doğurduğu bulunmuştur (Kazmi ve ark., 2017).

Bütün bu bulgular ışığında bu tez çalışması, katkı maddesi olan MSG etkisi altında gerçekleşen beslenme davranışındaki farklılıkların fenotipik dağılımını (değişkenliğini) ve arka planda bu dağılıma sebep olan aday genlerin saptanmasını hedeflemiştir. Bu hedef doğrultusunda yüksek bir genomik

varyasyon paneline sahip bir *Drosophila melanogaster* popülasyonu kullanılarak genom boylu ilişkilendirme analizleri gerçekleştirilmiştir.

*Drosophila melanogaster* insan ile yüksek oranda genomik benzerliğe sahip olmasıyla bu tarz davranış genetiği çalışmalarında yüksek avantaj sağlayan bir model organizma olmayı sürdürmektedir (Hales ve ark., 2015). Tez çalışması kapsamında yapılan deneylerde, tam genom dizileri bilinen 205 kendileştirilmiş yabancı *D. melanogaster* soyundan oluşan Drosophila Genetik Referans Paneli (DGRP) seti kullanılmıştır. DGRP soy seti, sayısallaştırılabilen fenotiplerin ilişkili olduğu aday genlerin Genom Boylu İlişkilendirme Analizi (GWAS) ile hassas bir şekilde saptanmasında kullanılabilmesi sebebiyle tercih edilmiştir. Üretilen bu soy setinin (popülasyonun) fenotipik farklılıklarının genomik analizi, genomik diziler arası farkların kıyaslanıp, benzer katsayıda farklılık içeren genler ile eşleştirilmesini sağlayan istatistiksel genetik analizlerin biyoinformatiğine dayanmaktadır ve ilgilenilen fenotip ve etkileyen muhtemel genlerin saptanmasını mümkün kılmaktadır (Mackay ve ark., 2012).

Beslenme davranışı, devamlı beslenme durumundaki ve ağız yapısının gözlemlenebilir olduğu gelişimsel sürecinin üçüncül evresine (L3) yeni ulaşmış larvaların konuldukları MSG eklenmiş ve eklenmemiş deney besiyerlerinde (10% (w/v) süzkroz, 2,5%(w/v) agar agar) 1 dakika sürede gerçekleştirdikleri ısırık sayısı (snatch) şeklinde sayısallaştırılmıştır. Larvaların eldesi için deneye alınacak soylar kontrollü bir biçimde çaprazlanarak 7 saat (9.00-17.00 arasında) yumurtlamaya bırakılmıştır. Ebeveynlerin uzaklaştırılmasının ardından, yumurtlamanın 3. gününde henüz L3 evresine gelmiş larvalar 25°C distile su ile şişeden toplanıp rastgele şekilde kontrol (MSG'siz) ve 3% MSG içeren deney besiyerlerine alınarak 30 saniye adaptasyona bırakılmış ve ardından davranışları 1 dakika boyunca diseksiyon mikroskopuna sabitlenmiş kamera ile kaydedilmiştir. Alınan kayıtlar video oynatma programlarında yavaşlatılarak izlenmiş ve ısırık sayıları kaydedilmiştir.

Tez kapsamında kullanılan 122 DGRP soyunun kontrol ve MSG'li besiyerlerindeki ısırık sayılarının ortalamaları skor olarak kullanılmış olup, kontrol besiyeri skorları, MSG'li besiyeri skorları ve; MSG'li ve kontrol besiyerleri arasındaki skor farkları olmak üzere 3 farklı veri seti kullanılarak genom boyulu ilişkilendirme analii (GWAS) gerçekleştirilmiştir. Kontrol (MSG içermeyen) ve MSG içeren davranış skorları arasındaki fark ile gerçekleştirilen GWAS'ın genotip-çevre etkileşimine dair bilgi vereceği kabul edilmiştir.

Gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda, beslenme davranışında etkili ve MSG tüketimine bağlı larva beslenme davranışına ilişkin, çoğunlukla sinir sistemi, metabolik süreçler ve gelişim yollarında fonksiyon gösteren genler saptanmıştır. Bu çalışmayı izleyecek ileri analizlerle gerçekleştirilecek genetik doğrulama çalışmalarının MSG kaynaklı davranışa dair mekanizmaların aydınlatılmasında önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Beslenme Davranışı

Beslenme, bütün canlıların iç dengelerini sağlamak için sergiledikleri en temel davranışlardan biridir. Besinlerin elde edilmesinden yutulmasına kadar olan süreci kapsayan beslenme ve takip eden sindirim süreci, bireyin enerji elde etmek için ihtiyacı olan monomerleri sağlar. Beslenme sonucu elde edilen enerji, canlının hayatta kalma ve üreme başarısını arttırmak için zorunlu olan homeostaziyi sağlama, yiyecek bulma, avlanma, üreme davranışlarında kullanıldığından, beslenme davranışı da hayati öneme sahip bir davranıştır.

Alınan besinlerin çeşidi, miktarı ve sıklığı; bireyin hayatta kalması, büyüme ve gelişme süreci ve üreme aktivitesi için gerekli enerji miktarını sağlayabilmelidir (Melcher, Bader ve Pankratz, 2007). Bu doğrultuda günümüzde varlığını sürdüren her türde, beslenme davranışında farklı adaptasyonlar evrimleşerek hayatta kalma ve üreme başarılarını arttırmıştır.

#### 2.1.1. Beslenme Fizyolojisi ve Regülasyonu

Beslenme fizyolojisi; yeme davranışı, yeme davranışının etkilendiği içsel ve dışsal uyartılar, uyartıların merkezi sinir sistemine (CNS) iletiminde görev alan sinirsel ve endokrin duyu mekanizmalarıyla iletilen uyartının birleştirilerek değerlendirildiği CNS sinir ağlarının çalışma prensiplerini kapsar. Beslenme fizyolojisinin iyi anlaşılması, yaygınlaşmakta olan yeme bozukluklarının ve yemeye ilişkili hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde yeni ve faydalı yaklaşımları ortaya çıkaracaktır (Langhans ve Geary, 2010).

Fizyolojik sinyaller beslenmeyi indükleyecek veya baskılayacak yönde olabilmektedir. Beslenme, açlık ve tokluk durumlarının oluşturduğu fizyolojik değişiklikler tarafından dengelenir (Smith ve Ferguson, 2008). İnsanlarda beslenmenin düzenlenme nörofizyolojisi hipotalamus, beyin kökü, gastro-intestinal sistem, pankreas, adipoz doku ve nöroendokrin temelli geribildirim mekanizmalarını içerir (Gahagan, 2012).

İnsanda beslenmeyi lateral hipotalamustaki “açlık merkezi” olarak adlandırılan bölge kontrol etmekteyken, içsel ve dışsal kaynaklardan gelen sinyalleri değerlendirerek aktifleştğinde açlık merkezini inhibe eden ventrolmedyal bölgede bulunan “tokluk merkezi” de beslenmenin regülasyonunda görev alır (Smith ve Ferguson, 2008).

Beslenmeye eğilimli olma durumunda ve beslenme sırasında çeşitli görsel, kokusal ve oral uyarılar görev alır. Beslenme devam etmekteyken mide ve duodenumda besinlerin bulunması ve birikmesi, gastrointestinal (GI) besin konsantrasyonlarında, pH'ında ve ozmolaritesinde değişiklik ve genişleme, gerilme gibi mekanik ve kimyasal uyarılar oluşturur (Schwartz, 2000). Aynı zamanda beslenme sırasında emilimi gerçekleştirilen besinler de kan yoluyla iletiildiği karaciğerdeki sensörleri aktifleştirir. Her iki uyarı da GI sistem ile merkezi sinir sistemi arasında iletişimi sağlayan duyu sinirlerinde sinyal üretilmesine sebep olur. Bu sinyaller, beslenmeye yönelik pozitif ve negatif geribildirimlere sebep olarak beslenmenin kontrolünde önemli roller alırlar (Schwartz, 2000). Görsel, kokusal ve oral uyarıların yanı sıra, kan şekeri seviyesi, mide ve ince bağırsak kasılma seyrekliği açlığı ifade edip beslenmeye yönelik pozitif geribildirim vererek beslenmenin devamını tetikler (Sanger, Hellstrom ve Naslund, 2010). Buna karşın, dış uyarılar ve kan şekeri seviyesinin yanı sıra sindirim sürecinde değişmeye başlayan besin ve monomer konsantrasyonları ve hormon seviyeleri de tokluk sinyallerinin üretilmesine sebep olarak beslenmeyi durdurur (Stafleu ve ark., 2011).

### 2.1.1.1 Açlık ve Tokluk Mekanizmaları

“Açlık”, besine ihtiyaç duyma olarak tanımlanan, vücut tarafından enerji alma gerekliliği ile yönetilen ve iştahın artmasıyla sonuçlanan bir fizyolojik durumdur (Read, 1992; Sanger, Hellstrom ve Naslund, 2010).

Glikostatik Teori ve Lipostatik teori, açlığın mekanizmasını enerji ihtiyacının anlaşılması bağlamında açıklamaya yönelik teorilerdir. Acıkma hissinin, halihazırda homeostaziyi korumaya yönelik bir fizyolojik durum olduğu bilinmektedir.

Merkezi sinir sisteminin enerjisiz kalmaması için dolaşım sistemi tarafından gerekli glikoz devamlı olarak sağlanmalıdır. Beslenme ile alınan enerji kaynağının yalnızca küçük bir kısmı CNS homeostazisini sağlamaya yetmekteyken, fazlaca bir kısmı diğer sistemler tarafından kullanılır ve depolanır. Kandaki glikoz seviyesinin yeterliliği de yine merkezi sinir sisteminde bulunan ve kandaki glikoz konsantrasyonunu ölçen glikoreseptörler ile ölçülür. Kanda glikoz miktarının azalması sinyali, CNS tarafından açlık hissine sebep olan yolakların aktive edilmesi ile yanıtlanır ve açlık hissi oluşur. Glikostatik teori olarak literatüre geçen bu mekanizma, enerji alımının kısa vadede, kısa bir dönem için düzenlenmesini sağlayarak homeostazinin korunması mekanizmasını en basit şekliyle açıklamaktadır (Mayer, 1955; Rowland, Morien ve Li, 1996; Chaput ve Tremblay, 2009).

Lipostatik teori ise enerji alımı regülasyonunun; beden ağırlığının, dolayısı ile enerji kaynağı depolarının düzenlenmesi ve homeostazinin uzun vadede korunmasını sağlayan bir düzenleme mekanizması olarak açıklanabilir. Bu teoriye göre vücut kütlesi sabit koşullarda korunur. Alınan veya depolanan yağ miktarındaki değişiklik, yağ depolarından beyne sinyal ile iletilerek değerlendirilir ve depo yağ seviyesinin stabil tutulmasına yönelik açlık mekanizmasını uzun vadede pozitif veya negatif şekilde yönlendirilmesiyle sonuçlanır. Lipostatik

mekanizma, glikostatik mekanizma ile iş birliği içinde çalışarak vücudun enerji homeostasisini sağlar (Kennedy, 1953; Mayer, 1955).

Bu teorilerin öne sürülmesinden bu yana elbette açlık mekanizmasını açıklamaya yönelik pek çok çalışma yürütülmüş, açlık mekanizması ile ilgili olarak çeşitli yollar tam olarak olmasa da büyük oranda açığa çıkarılmıştır. Yapılan çalışmalar, glikozun ve depo yağ miktarının iştah ile ilişkili olduğunu bulsa da bu bağlantının içinde pek çok parametre olduğu ve direkt bir korelasyondan bahsedilemeyeceği söylenebilir. Örneğin, belirli koşullarda dolaşım sistemindeki glikoz seviyesi ile alınan besin miktarının pozitif ilişkili olduğunu belirten çalışmalar (Van Itallie, Beaudoin ve Mayer, 1953; Stunkard, Van Itallie ve Reis, 1955) olduğu gibi, bu iki değişken arasında herhangi bir korelasyon olmadığı sonucuna varan çalışmalar (Bernstein ve Grossman, 1956; Van Itallie ve Hashim, 1960) da mevcuttur. Sonuç olarak, açlık ve iştah mekanizmalarını etkileyen pek çok parametre ve yolak bulunduğu bilirse de kandaki glikoz miktarı da sinyal yollarından birinde görev almaktadır (Novin ve ark., 1985; Konturek ve ark., 2003).

Enerji homeostazisinin sağlanamaması hayati risk teşkil etmektedir. Homeostazinin sağlanmasında sinir sistemi organları ve elemanlarına ek olarak pek çok hormon ve nörotransmitter de görev alır.

Beslenme davranışı, en basit haliyle iki hipotalamik merkeze dayanmaktadır. “Açlık merkezi” olarak adlandırılan lateral hipotalamik merkez (LH) ve “tokluk merkezi” olarak adlandırılan ventromedyal çekirdek (VMN) (Hetherington ve Ranson, 1940; Anand ve Brobeck, 1951) ürettikleri sinyallerle vücutta açlık ve tokluğun hissedilmesini sağlarlar (Silverthorn ve ark., 2019). Enerji homeostazisinin sağlanmasında majör fonksiyonu olan iki periferal enzim, grelin ve leptindir. Bu enzimler açlık ve tokluk hissinin oluşmasında rol alırlar (Şener, Alver ve Cevher, 2022).

Bir protein yapılı enzim olan leptin adipositlerde sentezlenip kan yoluyla beyne ulaşır. Leptin, beyne negatif geribildirim olarak iletilir. Leptin sentezi, depo yağ miktarı ile orantılı olarak sürdürülürken salgılanan leptin miktarının artması iştahın azalmasına sebep olur (Silverthorn ve ark., 2019). Yağ depo miktarının beslenmeyi uzun vadede ters orantılı olarak etkiliyor oluşu, lipostatik teoriyi desteklemektedir.

“Açlık hormonu” olarak ifade edilen Ghrelin hormonu (Castaneda ve ark., 2010) çoğunlukla mideden, bir miktar da ince bağırsaktan salgılanarak açlık ve iştahın oluşmasında rol alır (Date ve ark., 2000; Sakata ve ark., 2002). Ghrelin hormonu seviyesi, uzun vadede beden kütlelerinin regülasyonunu da büyük oranda etkiler (Castaneda ve ark., 2010)

Yolakta fonksiyon gösteren bir diğer molekül, nöropeptid Y (NPY) dir. Leptin varlığında inhibe edilen NPY (Silverthorn ve ark., 2019), beyinde nörotransmitter olarak işlev göstererek farklı reseptörlere bağlandığında farklı yanıtlara sebep olarak beslenme davranışı kontrolünde görev almaktadır (Wynne ve ark., 2005; McConn, Gilbert ve Cline, 2018). Açlık sırasında sentezi artan NPY, iştahın oluşmasında görev alır. Sentezi, tokluk durumunda azalmaktadır (Sanacora ve ark., 1990; Swart ve ark., 2002).

İştah, açlık ve tokluk hislerinin oluşumu, farklı dokular tarafından üretilen pek çok molekülün iş birliği içinde çalışmasıyla gerçekleşmektedir. Ghrelin ve NPY'ye ek olarak, hipotalamusta üretilen aguti ilişkili protein (AgRP) ve oreksin de iştahın oluşmasını indükleyerek yeme davranışını tetikleyen peptidlerdir (Woods, Seeley ve Cota, 2008). Yeme davranışının azalmasına sebep olan moleküller arasında ise ince bağırsak ve nöronlar tarafından sentezlenen nörositokin, ince bağırsaktan sentezlenen glukagon benzeri peptid 1 ve peptid tirozin tirozin yolağın farklı kısımlarında işlev göstermektedir. Bütün bu moleküllerin anlık miktarları ve etkileşimleri sonucunda oluşan uyarılar hipotalamusa vücudun enerji ve monomer seviyesini iletir. İletilen sinyallere karşı hipotalamus, iştahı arttıran ve azaltan iki farklı nöron grubundan birini aktifleştirerek yeme davranışını

kontrol eder. Yanıtı oluşturan nöron grupları, anoreksijenik yolak veya oreksijenik yollardan birini aktifleştirir. Grelin tarafından uyarılan oreksijenik yolak aktive edildiğinde oreksijenik nöronlar tarafından iştahın artmasına sebep olan NPY ve AgRP nöropeptidleri salgılanır (Benelam, 2009; Timper ve Bruning, 2017). Leptin tarafından uyarılan anoreksijenik yolak ise, Proopiomelanokortin (POMC) ve Kokain ve amfetamin ile regüle edilen transkript (CART) nöropeptidlerinin salgılanması ile sonuçlanır. POMC/CART peptidleri, oreksijenik nöronları inhibe ederek iştahı baskılar (Zigman ve Elmquist, 2003; Smith ve Ferguson, 2008). Bu karmaşık kontrol mekanizmasındaki bir bozukluk, kompanse edilmediği takdirde beslenme davranışının düzenlenememesi, dolayısı ile beslenme bozuklukları ile sonuçlanabilir.

### **2.1.2. Hedonik Beslenme**

Beslenmenin fizyolojik düzenleme mekanizması, insan ve diğer hayvanların beslenme davranışını açıklamakta yetersiz kalmaktadır. Çünkü bu canlılar, beyin ödül merkezi tarafından teşvik edilen zevk almak için de yeme davranışı sergilerler. Beslenme davranışının, yukarıda anlatıldığı gibi homeostaziyi sağlamaya yönelik fizyolojik regülasyon mekanizmasına ek olarak, homeostaziden bağımsız bir regülasyon mekanizması da bulunmaktadır. Beslenmenin homeostazi-bağımlı düzenlenmesini sağlayan açlık, iştah ve tokluk hislerinin yanı sıra, homeostaziden bağımsız gerçekleşen hedonik beslenme davranışı “besin ödülü” motivasyonu ile kontrol edilmektedir (Nishijo ve Ono, 2020). Yeme davranışı süresince lezzetli besinlerden alınan zevk ve sonucunda enerjinin artması ve açlık hissinin yok olması, ödüllendirici olarak ifade edilmektedir (Jager ve Witkamp, 2014).

Beslenme davranışını beyin ödül sistemi ile ilişkilendiren yeni sinirbilim çalışmaları, beslenme bozukluklarının anlaşılması hedefi doğrultusunda umut verici durumdadır (Kenny, 2011). Beyin temelli ödül sistemi enerji dengesinin hormonal regülatörleri ile uyumlu çalışmaktadır (Saper, Chou ve Elmquist, 2002). Besin tüketimi sonucunda orbito-frontal korteks (OFC) besinin kokusu, dokusu, görseli, besin değeri ve tadına yönelik spesifik ödül sinyalleri üretir (Berridge,

2009; Small, 2010; Rolls, 2011). Birey metabolik olarak aç değilken, haz için beslendiğinde davranışın regülasyon mekanizması karmaşıklaşmaktadır (Stroebe, Papies ve Aarts, 2008). Hedonik açlık yolağı, metabolik geri bildirim mekanizmaları ile düzenlenmemekte oluşuyla, fizyolojik açlık mekanizmasından farklılık göstermektedir (Berthoud, 2011).

Ödül, beyne ulaşan çeşitli uyarıların olumlu veya arzulanan şekilde neticelendirilmesi şeklinde ifade edilebilecek doğal bir süreçtir (Lewis ve ark., 2021) ve canlının hayatta kalma başarısını arttırmaya yönelik bir sistemdir (Coşkunsu, 2021). Ödül yolağının, ödül sistemi olarak da bilinen mezolimbik sistem tarafından kontrol edildiği bilinmektedir. Mezolimbik sistem, ödülün psikolojik ve bilişsel kontrolünü sağlayan dopaminerjik bir yolaktan oluşmaktadır. Mezolimbik sistem uyarıldığında, dopaminerjik ve opioidderjik yolların aktifleşmesine sebep olur (Berridge, 1996). Dopaminerjik sistem beklentiyi oluştururken, opioidderjik sistem zevk alma hissini aktifleştirir (Berridge, 2009). Dopamin nörotransmitterinin ödül yolağındaki anahtar molekül olduğu bilinmektedir. Hücresel ve sistemsel olarak nöromodülatör rolleri olan dopamin, merkezi sinir sisteminde de nörotransmitter olarak görev alır. "Mutluluk hormonu" olarak bilinse de, merkezi sinir sistemi tarafından belli bir limitin üzerinde algılanması, sonucunda ödül olan davranışlara karşı arzulama hissini oluşmasına sebep olur ve motivasyon sağlar (Berridge, 2007).

Limbik sistem, ödül yolağı vasıtası ile bağımlılık sürecinde de oldukça aktif rol almaktadır. Mezolimbik dopaminerjik nöronlar beslenme tarafından olabileceği gibi farklı bileşenler, bağımlılık yapıcı yasaklı maddeler ile de aktifleşebilir. Bu maddeler, beyinde dopamin üretimini tetikler (Wise, 1996).

Ödül sistemi, beslenmenin homeostatik regülasyonu mekanizması ile oldukça iç içe bir şekilde beslenme davranışını düzenler (Munzberg ve ark., 2016). Hedonik sinyaller de homeostatik sinyallerde olduğu gibi Lateral Hipotalamik Alan (LH)'da değerlendirilirler. Bu bölge, iki ayrı sistem entegre edildiği yerdir (Berridge, 2009). Entegrasyon süreci, yarı yarıya bir rol paylaşımı üzerinden değil, iletilen

iki sinyalden birinin daha fazla değerlendirmesi ile gerçekleştiğinden, hedonik sinyaller homeostatik tokluk hissini tetikleyen sinyallerin önüne geçerek yeme davranışını değiştirebilir. Bu değişiklikler de beslenme bozukluklarını ve diyet ilişkili hastalıkları tetikleyebilirler. Bütün bu sinyal yolaklarının ve merkezi sinir sisteminin değerlendirme mekanizmalarının anlaşılabilmesi, beslenme bozuklukları ve diyet ilişkili hastalıkların anlaşılması için büyük önem taşır (Kenny, 2011; Alonso-Alonso ve ark., 2015).

### **2.1.3. Beslenme Bozuklukları ve Diyet İlişkili Hastalıklar**

Beslenme ile ilgili rahatsızlıklar, beslenme bozukluğu olarak adlandırılan, beslenme regülasyonundaki bozuklukların fizyolojik ve psikiyatrik etkileri sonucu açığa çıkan, toplumda en yaygınları anoreksiya nervoza (AN), bulimia nervoza (BN) ve tıknırcasına yeme bozukluğu (Binge eating disorder) (BED) olarak görülen hastalıkları kapsadığı gibi (Nishijo ve Ono, 2020) diyet ilişkili hastalıklar olarak adlandırılan ve diyet tercihi ve alınan besin çeşidi kaynaklı gelişen, en yaygın olarak obezite, diyabet ve kardiyovasküler hastalıkları da kapsar (Sébastien, Balagopal ve Misra, 2013).

Beslenme bozuklukları olan AN, BN ve BED birçok risk faktörünün etkileşimi sonucu açığa çıkan ve fiziksel, psikolojik ve sosyal fonksiyonların etkilenmesine sebep olan, mental kaynaklı davranış bozukluklarıdır (Rikani ve ark., 2013; Attia ve Guarda, 2022). Bu beslenme bozukluklarının tanımları ve teşhis yöntemleri farklı olsa da temel olarak aynı kriterler üzerinden değerlendirilirler. Bu kriterler; diyet tercihleri, tıknırcasına yeme davranışı, duygusal yeme, ağırlık endişesi ve beden memnuniyeti gibi davranışsal ve bilişsel semptomlar üzerinden ilerler (Culbert, Racine ve Klump, 2015). Bu semptomların oluşması, genetik ve nörobiyolojik faktörler gibi biyolojik etkenlerin, beden görüntüsü rahatsızlıkları ve kişilik özellikleri gibi psikolojik etkenlere ek olarak gelişimsel ve sosyo-kültürel çevresel etkenlerin kümülatif etkisi ile gerçekleşir (Rikani ve ark., 2013).



Günümüzde görülme sıklığı artmakta olan ve beraberinde birçok hastalığın da gelişmesine sebep olan obezite, beslenme bozuklukları sınıfında değerlendirilmemektedir (World Health Organization, 2023). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kilolu olma ve obeziteyi bedende sağlığı tehdit edecek derecede fazla yağ birikimi olarak tanımlamaktadır. 25 üzeri Beden Kitle İndeksi (BMI) ne sahip olan bireyler kilolu olarak değerlendirirken, 30 üzeri BMI, obezite işareti sayılmaktadır. Obezite de beslenme bozuklukları gibi beslenme tercihleri, sosyokültürel ve çevresel etkiler, genetik etkenler, fizyolojik fonksiyon durumu, duygusal durum, stres seviyesi gibi faktörlerin birikiminden kaynaklanır (Centers for Disease Control and Prevention, 2012; U.S. Department of Health and Human Services: National Heart Lung and Blood Institute, 2012). Obeziteye sebep olan aşırı yağ birikimi, diyet ilişkili hastalıkların diğerlerini de beraberinde getirmektedir (World Health Organization, 2023).

## 2.2. *Drosophila melanogaster*'de beslenme

Tüm canlı türlerinin evrimsel başarılarını sağlayabilmeleri için gerçekleştirmeleri gereken iki şey vardır: Değişen çevre koşullarına uyum sağlayarak hayatta kalmak ve üremek. Bu başarı hem türün devamını hem de başarabilen bireylerin genetik materyalinin sonraki jenerasyonlara aktarılmasını sağlayacaktır. Beslenme davranışı ve regülasyonu, canlıların hayatta kalabilmesi için zorunlu fizyolojik aktivitelerindedir. Bu önem ışığında, beslenmeyi düzenleyen iştah, açlık ve tokluk kavramlarının, canlıların farklı maddelere yönelik yeme tercihlerinin, beslenmenin nöronal ve hormonal düzenleme mekanizmalarının anlaşılması yaşam bilimciler için yüzyıllardır önem arz etmiştir. *Drosophila melanogaster* kompleks karakterlerin fizyolojisi, regülasyonu ve davranış fenotiplerinin çalışılması için en uygun organizmalardan birisidir (Sokolowski, 2001). Kısa yaşam süresi ve hızlı yavru verme aralığı, fazlaca yavru sayısı, kolay ve görece az maliyetli bakımı *D. melanogaster*'i laboratuvar çalışmalarında avantajlı hale getirmektedir (Markow, 2015). Memeli beyninin karmaşıklığı ile kıyaslandığında *D. melanogaster* basit sinir sistemi ve geliştirilmiş genetik araçları ile nöronal ağların mekanizmalarının çalışılmasında kolaylık

sağlamaktadır (Lin, Senapati ve Tsao, 2019). Beslenme davranışı, fizyolojisi ve regülasyonuna ek olarak beslenme tercihleri üzerinde de *D. melanogaster* ile pek çok çalışma yapılmış, yolakta görev alan birçok gen, ürün ve görevleri bulunmuştur.

### **2.2.1. *Drosophila*'da Beslenmenin Kontrol Mekanizmaları**

Sinekler besin tercihlerini kalori, amino asit veya tuz yoksunlukları doğrultusunda şekillendirirler. Hayati önemi olan maddelerin varlığı ve yokluğu, internal sensörler ile takip edilir ve bir besin maddesi limit miktarın altına düşmeye başladığında beslenme davranışının uyarılması başlatılır (Pool ve Scott, 2014; Lin, Senapati ve Tsao, 2019).

Enerji homeostazisinde en önemli makrobesinlerden biri şekerdir. Dolaşımda bulunan şeker miktarı, bedenin enerji seviyesi hakkında güvenilir bir veridir. Sinek sinir sistemi de insanda olduğu gibi bedendeki glikoz seviyesini ölçme yeteneğine sahiptir (Lin, Senapati ve Tsao, 2019). Çeşitli hücre ve doku tiplerinin glikoz seviyesine karşı duyarlı olduğu bilinmektedir. Beyinde yer alan insülin üreten hücrelerin (Insulin-Producing Cells) ve adipokinetik hormon salgılanmasını gerçekleştiren corpora cardiaca'nın hem larval hem de ergin evrelerde beslenmenin regülasyonunda işlev gösterdiği ve glikoz miktarının bu dokuların aktivitesini negatif yönde regüle ettiği bilinmektedir (Kim ve Rulifson, 2004; Jourjine ve ark., 2016). Omurgalıların vücutlarında bulunan adipoz doku ve karaciğerin işlevlerini böceklerde yerine getiren yağ dokunun larvalarda Bride of Sevenless (BOSS) adlı G-proteini kenetli reseptör vasıtası ile glikozu algıladığı bulunmuştur. Buna ek olarak BOSS reseptörünü işlevsel olarak üretemeyen ergin sineklerin normalden fazla yediği bilinmektedir (Kohyama-Koganeya, Kurosawa ve Hirabayashi, 2015). Glikoza ek olarak eksternal tat reseptörlerinden biri olan Gr43a'nın, ergin sinek beyinde ifade edilerek fruktoz reseptörü olarak işlev sağladığı bilinmektedir (Miyamoto ve ark., 2012). Böceklerde ana hemolenf şekerleri glikoz ve trehalozdur. Buna rağmen, şeker içeriği yüksek bir beslenmenin sonrasında -tüketilen şeker glikoz veya sorbitol de olsa-

hemolenfteki fruktoz konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. Bu bilgi ışığında hemolenfte bulunan fruktozun şeker tüketimine yönelik bir bilgi verdiği anlaşılabilir. Fruktoz varlığını algılayan Gr43a nöronları açlıkta şeker tüketiminin artırılmasını sağlarken toklukta inhibe edici sinyal yollarını aktifleştirerek beslenme davranışının regülasyonunda görev yapar (Miyamoto ve ark., 2012).

Omurgalı ve omurgasızlarda korunmuş iç yollara sahip oluşuyla amino asitlerin ve haliyle proteinlerin de hayvanlarda önemli bir makrobesin olduğu bilinmektedir (Croset ve ark., 2016). Amino asitler, hem sinyalleşmede görev alan moleküller olduğundan, hem de canlıların ürettikleri proteinlerin yapı taşı olarak kullanıldığından hayati öneme sahiptir (Wu, 2009). Minimum bazal alımına ek olarak aminoasitlerin diyet yoluyla alım oranları da kritik seviyede önemlidir (Millward ve ark., 2008; Grandison, Piper ve Partridge, 2009). Bu doğrultuda hücrel amino asit sensörleri de hayvanlar arasında oldukça korunmuştur. Bu yoldaki merkez bileşen, hücre büyümesi ve metabolizmasının kontrolü için amino asit seviyeleri ve çevresel sinyalleri birleştirip değerlendiren Target of Rapamycin (TOR) denen bir kinazdır (Chantranupong, Wolfson ve Sabatini, 2015). Amino asit alımını sağlayan veya amino asitleri direkt olarak algılayan TOR'dan önceki elementler henüz tam olarak bilinmemektedir (Chantranupong, Wolfson ve Sabatini, 2015; Chantranupong ve ark., 2016).

*D. melanogaster*'de içsel amino asit miktarının ölçülmesinde iyonotropik glutamat reseptörü olan IR76b molekülünün önemi olduğu bilinmektedir. Yapılan deneylerde IR76b ifadesi engellenen larvaların, kontrol gruplarına göre farklı aminoasitlere anlamlı seviyede farklı yanıtlar vermiş olduğu; mutantların genetik komplementasyonları yapıldığında ise kontrol grubu ile benzer davranış gösterdiği raporlanmış, ilgili reseptörün amino asitlerin algılanmasına görev aldığı açıklanmıştır (Croset ve ark., 2016). IR76b'nin ergin sineklerin tat kemoreseptörlerinde tuz ve çeşitli poliaminlere ek olarak olfaktör sistemde çeşitli kokuların algılanmasında fonksiyonel olduğu bilinmektedir (Abuin ve ark., 2011; Zhang, Ni ve Montell, 2013; Hussain ve ark., 2016).

Aminoasitlerin önemine paralel olarak hayvanlarda çevresel aminoasitleri algılayabilecekleri adaptasyonlar evrimleşmiştir (Yarmolinsky, Zuker ve Ryba, 2009). İnsanlarda çoğu aminoasit iştahı arttıran “umami” tadının algılanmasına sebep olurken (Ikeda, 1909); kemirgenlerin farklı aminoasitlerin uyarısına farklı yanıtlar verdikleri bilinmektedir (Iwasaki, Kasahara ve Sato, 1985). *D. melanogaster*'de amino asitlerin algılanma mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Croset ve arkadaşlarının bu mekanizmayı anlamak amacıyla *D. melanogaster* larvalarının tercihlerini incelediği çalışmalarda larvaların farklı amino asitleri farklı seviyelerde tercih ettikleri görülmüştür. Bu sonuç doğrultusunda amino asitlerin algılanması ve oluşturdukları yanıtların tamamen olmasa da yer yer birbirinden bağımsızlaşan yolları üzerinde ilerlediği öne sürülmüştür (Croset ve ark., 2016).

### **2.2.2. *Drosophila*'da Beslenmenin Düzenlenmesi**

Memelilerde olduğu gibi, sineklerde de dış duyu uyartılar ile iç fizyolojik durum değerlendirmeleri sonucu beyin, bedenin besinle ilgili durumunu tayin eder ve çeşitli hormonlar ve nöropeptidler vasıtası ile beslenme davranışını kontrol eder. *Drosophila*'da metabolizmayı ve beslenme davranışını sistemik sinyaller salgılayarak kontrol eden iki endokrin organ yağ doku (fat body) ve corpus cardiacum'dur. Yağ doku bedendeki karbonhidrat ve yağ seviyelerini belirleyerek leptin ortoloğu Unpaired 2 (Upd2) hormonunu salgılar (Geminard, Rulifson ve Leopold, 2009; Rajan ve Perrimon, 2012). Upd2 beslenmeyi regüle eden medial nörosalgılayıcı hücrelerin insülin salgılamasını kontrolde görev alır (Söderberg, Carlsson ve Nässel, 2012). Benzer şekilde corpus cardiacum da memeli glukagonunun homoloğu olan adipokinetik hormon (AKH) salgısı ile glikoz homeostazisinin kontrolünde görev alır. Enerji yoksunluğunda corpus cardiacum lipolizi, glikojenin glikoza yıkılmasını ve yağ dokudan trehaloz salınımını tetikleyerek depo enerji rezervlerine müdahale eden AKH'yi salgılar (Kim ve Rulifson, 2004). AKH reseptörleri şekeri algılayan Gr5a nöronlarında ifade edilir (Bharucha, Tarr ve Zipursky, 2008). Gr5a tat reseptörü nöronlarının aktive edilmesinin, proboscis adlı ağız uzantısının uzatılmasında da görevli olduğu

düşünülmektedir (Thorne ve ark., 2004; Wang ve ark., 2004; Inagaki ve ark., 2012).

Beslenme davranışına karar verme mekanizmasında, bu hormonların konsantrasyonuna bağlı olarak aktive olan nöropeptidler de önemli roller alırlar. Regülasyonda görevli nöropeptidlerden birisi Hugindir. Memelilerde yağ temelli enerji homeostazisinde negatif geribildirim olarak görev alan neuromedin U'nun homoloğu olan hugin, besin sinyalleri sonucu hugin nöronları tarafından salgılanır (Bader ve ark., 2007; Melcher, Bader ve Pankratz, 2007). İnsanlarda bulunan NPY'nin homoloğu olan *Drosophila* nöropeptid F (dNPF) ergin ve beslenme sürecindeki larval evrelerdeki sineklerin beyinlerinde ve bağırsaklarında ifade olarak besin alımını tetiklerken (Brown ve ark., 1999), beslenmeyi bırakmış geç dönem larvalarda besinden kaçınma davranışını tetikler (Wu ve ark., 2003). Regülasyonda görev alan bir diğer nöropeptid olan structurally related neuropeptide F (sNPF) *Drosophila*'nın bütün gelişim süreçlerinde ifade olur ve beslenmenin tetiklenmesinde etkilidir. Buna ek olarak, vücut büyüklüğünde de etkisinin olduğu bilinmektedir (Lee ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada, sinir sisteminde aşırı ifade edildiğinde beslenmeyi arttırdığı, fonksiyon kaybı mutantlarında ise azalttığı görülmüştür (Lee ve ark., 2004). Beslenmenin indüklenmesinde görev alan bir diğer nöropeptid ise Corazonin'dir. Memelilerdeki gonadotropin hormonunun homoloğu olan Corazonin, tükürük bezlerinde ve yağ dokunun adipositlerinden enerji ihtiyacı sonucu salgılanır (Zhao ve ark., 2010). Bütün bu nöropeptidler, enerji ihtiyacının farklı uyarılar sonucu aynı homeostaziye sağlamak amacıyla salgılanarak beslenmeyi indükler.

Farklı nöral yollarda yer alan nöropeptidlerin bazıları beslenmenin tetiklenmesine sebep olurken diğerleri de beslenmenin engellenmesine sebep olur. Allostatin A (Ast A) çeşitli nöronlardan ve endokrin hücrelerden salgılanarak beslenmenin baskılanmasına ve enerji homeostazisinden bağımsız olarak lezzetsiz olarak algılanan besinlerden kaçınmaya sebep olur (Hergarden, Tayler ve Anderson, 2012). *Drosophila*'da Ast A ifadesi engellenerek yapılan bir çalışma

sonucunda Ast A'nın direkt olarak beslenme regülasyonunda görevli olmadığı, fakat dış bir faktör gibi davranarak belirli koşullarda beslenmeyi engellediği öne sürülmüştür (Chen ve ark., 2016). Beslenme davranışının inhibisyonunda görev alan bir diğer nöropeptid drosulfakinindir (DSK). DSK, *Drosophila* İnsülin Benzeri Peptidlerin (*Drosophila* Insulin Like Peptides) (DILPs) de salgılandığı insülin üretici hücrelerden (Insulin-Producing Cells) ve beyindeki çeşitli başka nöronlardan salgılanır (Nichols ve Lim, 1995). DSK, memelilerde bulunan kolesitokinine benzer bir yapıya sahiptir ve sineklerde tokluk hissinin indüklenmesine sebep olur (Söderberg, Carlsson ve Nässel, 2012). Ek olarak, beyinde de ifade edildiği bilinen Gr43a fruktoz reseptörleri, anlık olarak hemolenf fruktoz seviyesini ölçerek açlıkta olduğu gibi tokluk hissinin oluşmasına yönelik nöron gruplarının aktifleşmesine sebep olmaktadır (Miyamoto ve ark., 2012).

Beslenme davranışı, regülasyonu ve tercihlerin oluşturulması süreçlerinde görev alan pek çok molekül bilinmektedir. Fakat, bu moleküllerin etkileşim ağları, farklı yolların kesiştikleri ve ayrıldıkları yerler, birden fazla yolda görev alan moleküllerin tamamı ve görevleri tam olarak bilinmemektedir. Buna ek olarak, beslenme davranışının motivasyonel boyutu, davranışı daha da karmaşıktır. Bu bilinmezlikleri açığa çıkarmaya hedefleyen çalışmalar tüm dünyada hızla devam etmektedir.

### **2.2.3. *Drosophila*'da Beslenme Deneyleri**

Beslenme davranışını etkileyen biyomoleküllerin bilinen fonksiyonlarına ek olarak bilinmeyen fonksiyonlarının bulunması, çevresel faktörlerin beslenme davranışına etkilerinin ve beslenme davranışının genetik arka planının saptanmasına yönelik *D. melanogaster* ile pek çok çalışma yapılmış ve bu türden çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir.

Croset ve arkadaşları 2016 yılında yayınladıkları makale ile literatürdeki amino asit algılanması mekanizmasının açıklanması noktasındaki açıklığa yönelik

bulgularını paylaşmışlardır. Araştırmada, gelişimsel evrenin başından sonuna kadar kütlece yaklaşık 250 kat artış sağladığından devamlı olarak beslenme durumunda bulunan larvaları kullanarak kanonik L formdaki 20 farklı amino aside yönelik tercihleri incelenmiştir. Tercih analizleri, her bir amino asit için olumlu ve olumsuz yönde olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Bir amino asit için, bir petri kabı 4 eşit bölüme ayrılmıştır. Bu bölmelerin karşılıklı olan ikisinde çalışılan amino asit bulunmakta, diğer ikisinde bulunmamaktadır. Daire şeklindeki deney düzeneğinin ortasına bırakılan larvaların, tercihlerine göre buldukları besiyerinin çeşidi ve bulunma oranları doğrultusunda tercih davranışları sayısallaştırılmıştır. Lösin amino asidi içeren besiyeri kaçınma davranışına sebep olurken anlamlı düzeyde tercih edilen 7 amino asitten glutamik asit amino asidi aspartik asidi takip ederek ikinci en çok tercih edilen amino asit olarak tespit edilmiştir. Tercih edilen amino asitler arasında fizikokimyasal bir ortaklık bulunmamıştır. Deney sonucunda, amino asitlere yönelik tat alma ve davranışların kontrolünde çeşitli yolakların bulunduğu önerilmiştir (Croset ve ark., 2016). Buna ek olarak bu algı yolaklarında yer alan çeşitli reseptörler de teşhis edilmiştir.

Bir diğer çalışmada Wong ve arkadaşları, beslenme davranışının sayısallaştırılmasında genellikle kullanılan CaFe (Capillary Feeding Assay) metoduna alternatif olarak geliştirdikleri metodu kullanmış, beslenme davranışını etkileyen çeşitli durumlar ve etkilerini incelemişlerdir (Wong ve ark., 2009). CaFe tekniği, beslenmesi incelenmek istenen ergin sineğe istenen besiyeri solüsyonu hacmi bilinen mikropipet bir tüp ile ortama uzatılarak belirlenen süre boyunca tutulması ve süre sonunda tüketilmiş miktarın ölçülerek sayısal veri haline getirilmesi olarak özetlenebilir (Diegelmann ve ark., 2017). Yapılan çalışmada proboscis adlı ağız uzantısının katı besiyerine uzatılma sayısının, CaFe assay ile beslenildiğinde tüketilen besin miktarı ile korelasyon içinde olduğu görülmüştür. Bu fenotipin kullanılması, aynı bireylerin yaşlanma sürecinde birden fazla kez strese girmeden kullanılabilmesi, standart koşullarda deneyin yapılabilir olması ve elde edilen korelasyon doğrultusunda alınan besin miktarının hesaplanabileceği olması açısından avantajlı olduğu belirtilmiştir. Bu metod kullanılarak beslenme davranışının, günün hangi zamanında olduğuna, denek bireyin eşeyine ve deneklerin yaşamlarını sürdürdükleri tüplerdeki kalabalıklığa

bağlı olarak etkilendiği bulunmuştur (Wong ve ark., 2009). CaFe assay ile beslenmenin agar-agar ile jelleştirilmiş besiyerlerine göre doğal ortamı simüle etmekten uzak olması dolayısıyla sineklerin yumurtlama performanslarını ve ömür uzunluklarını azalttığı bulunmuştur (Bass ve ark., 2007; Lee ve ark., 2008).

Larvalar ile yapılan bir başka çalışmada ise, gelişim hızı farklı olan soyların beslenme miktarları incelenmiş, bu iki değişken arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur (Bakker, 1968; Sewell, Burnet ve Connolly, 1974). Takip eden bir çalışmada ilgilenilen soyların erginleri, 4 saatlik yumurtlatmanın ardından birincil larval evrede toplanarak doğal ortamında beslenme miktarı gözlemlenmiş, birincil ve ikincil larval evrelerde beslenme miktarı artma eğilimindeyken üçüncül larval evrenin ilk yarısı daha sabit bir trendin izlenmesinin ardından larval evrenin sonlarına doğru beslenmede hızlı bir düşüş gerçekleştiği gözlenmiştir. Ek olarak lokomotor aktivite ile beslenme davranışı arasında da ilişkilendirilme yapılmaya çalışılmıştır (Sewell, Burnet ve Connolly, 1974).

Bir diğer besin tercihi çalışmasında larvalar kinin eklenmiş gıda boyalı besiyerine bırakılarak belirlenen süre sonunda toplanıp bağırsak bölgesinde boya olup olmamasına göre kötü bir tada sahip olan kininli besiyerini tercih etme oranları incelenmiştir. Çalışma sonucunda besleyici fakat lezzetsiz besinlerin tercihinin açlık doğrultusunda gerçekleştiği, tokluk durumunda lezzetsiz besinin tercih edilmediği gözlenmiştir (Shen, 2012). Beslenme miktarının kantifiye edilmesinde kullanılan bir diğer metod ise gıda boyalı besiyeri ile beslenen larvaların homojenizasyonun ardından dokular çöktürülerek elde edilen süpernatantın spektrofotometrik ölçümleriyle alınan boya miktarından besin miktarına gidilmesidir. Ryuda ve arkadaşları bu yöntem ile tat alma duyularında mutasyona sahip soyların beslenme davranışını incelemiş, *anox* ve *dlnR* genlerinin beslenme davranışında fonksiyonel olduğunu bulmuşlardır (Ryuda ve ark., 2011).

*D. melanogaster*'in erginlerinde bulunan proboscis adlı ağız uzantısı hareketinin duyu-motor tat devresinin bir parçası olduğu ve besin almanın yanı sıra tat alma



duyusunda da işlev gösterdiği bilinmektedir (Dethier, 1976; Shiraiwa ve Carlson, 2007; McKellar, 2016). *D. melanogaster*'de tat alma duyusu proboscis, bacaklar, kanatlar ve dişinin yumurtlamada kullandığı ovipositor bölgelerinde bulunan tat sensilası ve tat reseptör nöronlarında ifade edilen tat reseptörleri ile gerçekleşmektedir (Falk, Bleiser-Avivi ve Atidia, 1976; Clyne, Warr ve Carlson, 2000; Dunipace ve ark., 2001; Thorne ve ark., 2004; Joseph ve Carlson, 2015; Schwarz ve ark., 2017). *Drosophila*'da 4 farklı tada duyarlı dört farklı tat duyu nöronu bulunmaktadır. Bu tatlar şeker, su, düşük tuz konsantrasyonu ve yüksek tuz konsantrasyonudur (Montell, 2009). Yüksek tuz konsantrasyonunun varlığını algılayan nöronların aynı zamanda acı tadın da hissinde görev aldığı bulunmuştur (Meunier ve ark., 2003).

## **2.3. Monosodyum Glutamat**

### **2.3.1. Kimyasal Yapısı ve Genel Özellikleri**

Günümüzde insanların değişen yaşam tarzları ve beslenme ihtiyacının kısa sürede giderilmesi gerekliliği, türümüzde köklü bir diyet değişikliğine sebep olmuştur. Hızlı yeme ihtiyacını karşılamaya yönelik çalışan firmalar ve paketli gıda ve hazır gıda üreticileri, Avrupa'da "katkı maddesi" olarak sınıflandırılırken Amerika'da "Genellikle Güvenli Kabul Edilir" olarak sınıflandırılan monosodyum glutamati (MSG) üretimlerinde yaygın olarak kullanmaya başlamışlardır (European Food Safety Authority, 2017; U.S. Food and Drug Administration, 2018). MSG, günümüzde bütün dünyada yemekler ve baharatlar için lezzet artırıcı olarak kullanılmaktadır (Butnariu ve Sarac, 2019).

Lezzet artırıcı maddeler, yer aldığı gıdanın lezzetinin veya aromasının daha yoğun hissedilmesini sağlarlar. Glutamik asit ve tuzları, özellikle MSG, gıda endüstrisinde en sık karşımıza çıkan lezzet arttırıcılardandır (Thuy ve ark., 2020).

Glutamat kelimesi gıda endüstrisinde glutamik asidin bütün formları ve tuzları için kullanılır (Thuy ve ark., 2020). Monosodyum Glutamat, glutamik asit amino

asidinin sodyum tuzudur. Glutamik asit, canlıların protein sentezinde kullandığı monomerler olan amino asitlerden biridir ve insanlar için esansiyel değildir. Bir diğer deyişle, insanlar da bu amino asidi kendi vücutlarında kendileri üretebilirler. Glutamik asit, canlılarda bağlı veya serbest olmak üzere iki formda bulunabilir. Proteinlerin yapısına katıldığı için protein içeren neredeyse her besinde belli bir miktarda bağlı halde bulunur ve tatsızdır. Serbest glutamat ise “umami” tadına sahiptir. Her besinde bulunma miktarı besinin protein yapısına, miktarına ve içerdiği glutamik asit oranına göre değişmektedir. Yüksek miktarda protein içeren et, balık, tavuk ve sütün yanı sıra düşük protein seviyesine rağmen domates ve baklagiller gibi sebzelerde ve mantarlarda da bol miktarda bulunur (Ninomiya, 1998; Kochem ve Breslin, 2017; Thuy ve ark., 2020).

Glutamik asit amino asidi bütün canlılarda doğal olarak bulunuyorken, onun sodyum tuzu olan MSG'nin doğal olarak bulunduğu besin sayısı kısıtlıdır. Rokfor ve parmesan peynirleri ve deniz yosunu bu besinlere örnektir. İlk keşfedildiği zamanlarda deniz yosunundan izole edilerek üretilen MSG, günümüzde artık kimyasal sentez yoluyla veya nişasta, şeker kamışı ya da melas kullanılarak fermentasyon yolu ile yüksek verim ile üretimi sürdürülmektedir (Thuy ve ark., 2020). Doğal olarak yer aldığı besinlere ek olarak MSG'ye mutfaklarda ve gıda üretim tesislerinde de sıklıkla yer verilir. Eklendiği besinin lezzetini arttırırken, istenmeyen tatları baskıladığı da bilinmektedir (Beyreuther ve ark., 2007).

### **2.3.2. Monosodyum Glutamat Metabolizması ve Fizyolojik Etkileri**

Glutamat, bedendeki ana uyarıcı nörotransmitterlerden birisidir. GI ve sinir sistemlerinde birçok ve çeşitli glutamat taşıyıcıları ve reseptörleri bulunur (Sharma, 2015).

Oral yolla alınan MSG, sindirim sistemi boyunca ilerler ve tüm sindirim sürecinden geçer. Ağıza alınmasından itibaren salya içinde çözünerek sodyum ve glutamat iyonlarına ayrışmaya başlar (Rogers ve Blundell, 1990). Memeli dili yapısı gereği

yediğimiz besinlerin tadını çiğneme esnasında dilimizdeki papilla adı verilen ve binlerce tat reseptörü bulunduran doku ile algılarız. Alınan tat bilgisi, duyu sinirleri aracılığı ile beyne iletilir ve besinlerin tadını alırız. Bu süreçte alınan MSG tat tanecikleri tarafından algılanır. Glutamat tat reseptörlerinin uyarılması beyinde “umami” adlı tadın algılanmasını sağlar (Roper ve Chaudhari, 2017).

Esansiyel olmayan amino asitlerin katabolik reaksiyonları çoğunlukla ince bağırsakta gerçekleşir. Karaciğerde ise amino asitlerin glikoza dönüştürülmesi ile yüklü miktarda Adenozin Trifosfat (ATP) üretilir Yapılan insan ve hayvan çalışmaları sonucunda glutamatın büyük ölçüde bağırsaklarda okside edildiği bilinmektedir (Kanai ve Hediger, 2003; Fan ve ark., 2004; Iwanaga, Goto ve Watanabe, 2005). Glutamat bağırsakta bulunan taşıyıcılar vasıtası ile enterositlere ulaştığında katabolik aktivite başlar, farklı enzimlerin art arda aktivitesi sonucunda son ürün olarak a-Ketoglutarat oluşturulur. Bu ürün trikarboksilik asit döngüsüne katılarak karbondioksite metabolize edilir (Windmueller ve Spaeth, 1976; Stoll ve ark., 1999).

MSG'nin, tüketicilerde farklı fizyolojik fonksiyonları negatif etkilediği ve toksik etkileri olduğu bilinmektedir (Husarova ve Ostatnikova, 2013). Büyüme hormonu salgılayan hücrelere MSG uygulamasının hücrelerin yaşayabilirliğine negatif etkisi olduğu bulunmuş (Terry, Epelbaum ve Martin, 1981), yenidoğan süreçte MSG'ye maruz kalan sıçanların Arkuat Nükleus (ARC) ve VMN bölgelerini de içeren hipotalamik çekirdeklerinde hasar olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu deneklerde depo yağ ve kütlede artış, motor aktivitelerde ve büyüme hormonu salgısında azalış görülmüştür (Nakagawa ve ark., 2000).

Yapılan klinik çalışmalarda MSG tüketiminin kan şekeri, trigliserit, insülin ve kolesterol seviyelerinde artışa sebebiyet verdiği saptanmış; beslenme ile ilişkili hastalıklar olan diyabet, obezite ve “Çin Restoranı Sendromu” (CRS) gibi rahatsızlıkların oluşumunda etkili olduğu bulunmuştur (Kazmi ve ark., 2017). Direkt olarak MSG tüketimi ile ilişkili olduğu düşünülen Çin Restoranı Sendromunun, tüketimden 8-16 saat sonra kendini gösteren baş ağrısı ve

dönmesi, terleme, karın ağrısı ve ürtiker semptomları ile teşhis edildiği ve kolay tespit edilemeyen anjiyoödem oluşmasına da sebep olarak ölümcül sonuçlar doğurduğu bulunmuştur (Kwok, 1968; Allen ve Baker, 1981). Buna ek olarak, MSG tüketiminin oksidatif stres, hepatotoksisite, nörotoksisite, tümör gelişimi, enflamatuvar yanıt oluşumunda da nedensel etkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Eweka ve Omlniabohs, 2007; Swamy ve ark., 2013; Khalaf ve Arafat, 2015; Ataseven ve ark., 2016; Thuy ve ark., 2020).

MSG tüketiminin obezite ile ilişkisini inceleyen pek çok çalışma bulunmaktadır. Glutamat tüketiminin aşırı kilo riskini arttırdığı bilinmektedir (He ve ark., 2008). MSG içeren diyetin, yeme miktarını arttırdığını raporlayan çeşitli çalışmalar mevcuttur (Kazmi ve ark., 2017). Fransa'da insanlarla yapılan beslenme davranışı deneylerinde MSG'li gıdaların tüketimi anlamlı düzeyde arttırdığı (Bellisle ve ark., 1991); bir diğer çalışmada ise MSG'li ve kontrol çorbalarla bir hafta boyunca beslenen deneklerde deneyin başından sonuna kaydedilen ölçümlerle deney grubunun açlığının ve yeme miktarının arttığı gözlenmiştir (Yeomans ve ark., 2008). Harcanan enerji miktarı artmazken alınan besin miktarının artması, vücutta yağ birikimine sebep olduğundan bu çalışmalar, MSG'nin obezite ile ilişkilendirilmesi yönünde anlamlı sonuçlar vermiştir.

#### **2.4. Drosophila Genetik Referans Paneli Soyları ve Genom Boylu İlişkilendirme Analizi Çalışmaları**

Canlıların sahip olduğu pek çok morfolojik özellik, hastalık, davranış karakterleri, gelişim süreçleri birden fazla gen bölgesinin bir arada çalışmasıyla oluştuğundan ve çevresel koşullardan etkilendiğinden, bu özellikler kompleks karakterler olarak adlandırılmaktadırlar (Goddard ve ark., 2016). Bu karakterlerin genetiği yüzyıllardır çalışılmasına rağmen, yirmi yıl öncesine kadar bireyler arasında var olan varyasyonlara sebep olan polimorfizmlerin pek azı bulunabilmiştir (Wangler, Hu ve Shulman, 2017). Bireyler arasındaki fenotipik farklılıkların açıklanması,

ancak kompleks karakterlerde oluşan genetik varyasyonların oluşma prensiplerinin doğru anlaşılması ile mümkündür (Sella ve Barton, 2019).

Poligenik karakterler, monogenik karakterlerden farklı şekilde kalıtılırlar. Monogenik karakterler, genellikle nadir hastalıklar olarak ifade edilebilir ve otozomal baskın, otozomal çekinik veya bir eşey kromozomuna bağlı olarak Mendel Kalıtım Modellerine uyacak şekilde kalıtılmakta olup, tek bir gende oluşan varyasyon sonucu açığa çıkmaktadırlar. Hastalıklara sebep olan varyantlar genellikle protein kodlayan bir genin ifadesini bozmak suretiyle etki göstermektedir ve kalıtımı aile içinde kolaylıkla takip edilebilmektedir. Çok genli kalıtılan karakterlerin kalıtım modelleri ise bu kurallara uymamaktadır (Cleynen ve Halfvarsson, 2019). Poligenik karakterlerin oluşumundaki genetik etkiler küçük etki büyüklüğüne sahip, bağımsız polimorfik bölgelerin etkilerinin birbirleri üzerine eklenerek fenotipin oluşmasıyla kendilerini gösterirler (Wangler, Hu ve Shulman, 2017). Bu etki mekanizması, infinitesimal model olarak adlandırılır.

Popülasyondaki bireylerin genotiplerinin her bir Tekli Nükleotit Polimorfizmi (SNP) düzeyinde belirlenebildiği testlerin geliştirilmesi, kompleks karakterleri oluşturan genetik elementlerin açığa çıkarılması çalışmalarında bir devrim niteliği taşımaktadır (Goddard ve ark., 2016). İncelemeler sonucu bulunan her SNP karakterde etkili değildir. Nötral SNPler, ilgili polimorfik bölgelerle bağlantı dengesizliği sonucunda karakterle ilişkilendirilmiş olabilmektedir. Bu durum, doğru yöntemle değerlendirilmediğinde yanlış negatif sonuçlara neden olmaktadır. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS) genomda bulunan bütün SNP'lerin karakterle ilişkisini test ederek karakterin oluşmasına neden olan SNP'leri tespit etmeyi hedeflemektedir (Goddard ve ark., 2016).

Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS) popülasyondaki genomik varyantların kompleks karakterler ile ilişkilendirilmesini amaçlamaktadır (Visscher ve ark., 2012). Fenotipin oluşması sürecinde görev alan genetik varyantların alel frekanslarının değerlendirilmesi ve fenotip ile ilişkilendirilmesi prensibine dayanan GWAS; fenotipik varyans ile istatistiksel olarak anlamlı seviyede ilişkili

olan SNP'lerin belirlenmesini sağlamaktadır (Uffelmann ve ark., 2021). Bu yaklaşım, çok genli kalıtılan karakterlerin genetik arka planını açığa çıkarmada en kullanışlı yöntemi araştırmacılara sunmaktadır. Bu araştırma aracı sıklıkla, insanda görülen hastalıkların genetik arka planını açığa çıkarmak için kullanılmaktadır ve böylece bireylerin hastalıklara yatkınlıklarının tespitinin ileri genetik testlerle sağlanmasıyla muhtemel hastalıkların önlenmesinin önünü açmaktadır.

Yayınlanan ilk GWAS çalışmaları yaşa bağlı maküler dejenerasyon teşhisi almış kişiler ve kontrol grupları ile 2005 (Klein ve ark., 2005) ve 2006 (Dewan ve ark., 2006) yıllarına ait olmakla birlikte, çok daha büyük bir örneklem ile, iyi tasarlanmış ilk GWAS çalışması 2007 yılında Nature'da yayınlanan Wellcome Trust Case Control Consortium'un (TWTCCC, 2007) yayınıyla duyurulmuştur (Visscher ve ark., 2012). Takip eden yıllarda, kanser ve alt tipleri (Sud, Kinnersley ve Houlston, 2017); anoreksiya nervoza (Watson ve ark., 2019) ve obezite (Loos ve Yeo, 2022) gibi beslenme bozuklukları; şizofreni (Ripke ve ark., 2013), bipolar bozukluk (Mullins ve ark., 2021) ve majör depresif bozukluk (Wray ve ark., 2018) gibi psikiyatrik rahatsızlıklar, inflamatuvar rahatsızlıklar, diğer hormonal ve fizyolojik bozukluklar, boy, uykusuzluk gibi karakterler için GWAS çalışmaları yürütülmüş ve risk lokuslarının tanımlanması gerçekleşmiştir (Ku ve ark., 2010).

Bu çalışmaların bulguları, insan hastalıklarına ilişkin genetik bileşenlerin anlaşılmasında büyük rol almaktadır. Bununla beraber, ilgili karakterin oluşmasında etkisi olduğu saptanan aday genlerin, karakterle bağlantısının doğrulanmasına ve moleküler mekanizmasının açıklanmasına yönelik ileri deneysel çalışmaların yapılması gerekmektedir. Genlerin bu şekilde doğrulanması ve ürünlerinin moleküler mekanizmalarının anlaşılması, GWAS çalışmalarının terapötik kullanımına imkân sağlayacaktır. Belirtilen amaç doğrultusunda, model organizma *Drosophila melanogaster*, saptanan genlerin doğrulanması ve insan ile yapılamayan fenotip-genotip araştırmalarının çevresel etkiyi sıfıra indirgeyerek yapılmasını mümkün kılmaktadır (Wangler, Hu ve Shulman, 2017).

İnsan genomundan 10 kat küçük ve çok iyi bilinen genomunun insanınki ile yüksek homolojiye sahip olması, yaşam döngüsünün kısalığı, laboratuvar ortamında kolay çalışma olanağı sunması, *Drosophila melanogaster*'i çoklu genli karakterlerin çalışmalarında avantajlı hale getirmektedir. Yakın zamanda *D. melanogaster* ile yapılan GWAS çalışmalarında uyku (Harbison, McCoy ve Mackay, 2013), agresyon (Shorter ve ark., 2015), beyin boyutu (Zwarts ve ark., 2015), kur modelleri (Gaertner ve ark., 2015), ömür uzunluğu (Ivanov ve ark., 2015) gibi karakterlerin oluşumunda etkili gen bölgeleri tespit edilmiştir (Wangler, Hu ve Shulman, 2017).

Genom boylu ilişkilendirme analizi çalışmalarında kullanılan organizmaların fenotiplerinin sayısallaştırılmış şekilde elde edilebiliyor olmasının yanı sıra, genom dizilerinin biliniyor olması gerekmektedir. Bu gereklilikler doğrultusunda, çevresel etkenlerin kontrol edilebildiği, kendileştirilmiş soylardan oluşan "Model Organizma Referans Popülasyonları" kantitatif karakterlerin genetik mimarisini açığa çıkarmada büyük önem taşımaktadır (Mackay, Stone ve Ayroles, 2009). *Drosophila melanogaster*'in doğadan toplanmış bir popülasyonunun her bireyinin kendileştirilmesiyle geliştirilmiş *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) soyları bu amaç doğrultusunda oluşturulmuş en kapsamlı Model Organizma Referans Popülasyonlarından biri olma özelliğini taşımaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nin Kuzey Karolina eyaletinde, Raleigh bölgesinden toplanan bir popülasyonun üyesi olan çiftleşmiş dişilerin yavru soyları, 20 nesil boyunca kendileştirilmiş ve tamamen homojen genom dizisine sahip 192 izosoy elde edilmiştir. Takip eden çalışmalarla bu sayı 205'e tamamlanarak araştırmacıların kullanımına sunulmuştur. Tüm genom dizileri belirlenip haritalandırılan 205 soyun genomlarında, beş milyona yakını SNP olmak üzere altı milyonu aşkın sayıda varyant saptanmıştır (Mackay ve ark., 2012; Huang ve ark., 2014).

DGRP soy setinin sağladığı genetik çeşitlilik ve setin yaratıcısı ekibin sunduğu biyoinformatik araçlar, *Drosophila melanogaster* ile yapılacak olan kapsamlı GWAS ve tespit edilen aday genlerin validasyonu çalışmalarının önünü açmıştır.

DGRP soy seti kullanılarak beslenme davranışının genetik arka planının keşfedilmesine yönelik yapılmış kapsamlı tek çalışma vardır. Garlapow ve arkadaşlarının 2015 yılında yayınladığı bu çalışmada 182 DGRP soyu kullanılmış, eşleşmiş ergin bireylerin aç bırakılmalarının ardından kapılar besleme (CaFe Assay) ile aldıkları şeker solüsyonu miktarları ölçülerek genom boyu ilişkilendirme analizi gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen GWAS sonucunda, 155 varyant (SNP/İnsersiyon/Delesyon) saptanmıştır. Bu varyantların 74'ü, tanımlanmış genler üzerinde veya yakınında bulunmakta olduğundan, ilgili genler beslenme davranışı ile ilişkilendirme çalışmasında kullanılmıştır. Bu genlerden 12'sinin daha önceden gerçekleştirilmiş çalışmalarla beslenme davranışı, farklı besin gruplarının tüketimi, besin tüketiminin kontrolü süreçleriyle ilişkili bulunduğu saptanmıştır. Seçilen 31 aday gen ve gen bölgesinde bulunmayan bir SNP, validasyon çalışmasında kullanılmıştır. Validasyon çalışması bir gen bölgesinde bulunmayan fakat 2 genin regülatör bölgelerinde olabileceği düşünülen SNP için genetik arka planın randomize edildiği outbred popülasyon ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde deneyde kullanılmış DGRP soylarından, hedef SNP'yi içeren 10'u kendi aralarında çaprazlanmış, elde edilen 5 F1 jenerasyonu ile fenotip ölçümü gerçekleştirilerek sayısallaştırma yapılmıştır. SNP'nin beslenme davranışı üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Belirlenen 31 genin validasyonu, RNA interferans nakavtı yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Seçilen genlerin 24'ü bu çalışma sonucunda valide olmuş, yani beslenme davranışı (besin tüketimi) fenotipi ile ilişkilendirilmiştir (Garlapow ve ark., 2015).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Kullanılan Soylar

Tez çalışması kapsamında beslenme davranışının kantifiye edilmesinde, Genel Bilgiler başlığında detaylı şekilde anlatılmış olan ve *D. melanogaster* modelinde GWAS çalışmalarını mümkün kılan DGRP soy setinden rastgele seçilmiş 122 soy kullanılmıştır.

#### 3.2. Soyların Devamlılığı ve Kültür Koşulları

Deneylerde kullanılacak olan soylar, laboratuvarımız bünyesinde bulunan nem ve sıcaklık düzeyinin ( $25 \pm 1$  °C, ~%65 RH) korunduğu iklim odasında 12:12 gece:gündüz döngüsünde sürdürülmüş, devamlılıkları yaşam döngülerinin 15-17. günlerinde yeni tüp ve şişelere aktarılarak sağlanmıştır. Tüpler mısır unu (26,8 g/L), sofr şeker (42,85 g/L), kuru maya (15 g/L) agar-agar (9,6 g/L) ve sudan oluşan pişmiş karışıma anti-fungal ajan olarak metil-paraben çözeltisi ve propiyonik asit eklenerek hazırlanan Standart *Drosophila* besiyeri (Markow ve O'Grady, 2006) içermektedir ve bütün soylar, deneye alınmalarına kadar aynı besiyeri ile beslenmiştir.

#### 3.3. Deneye Hazırlık Süreci ve Deney Koşulları

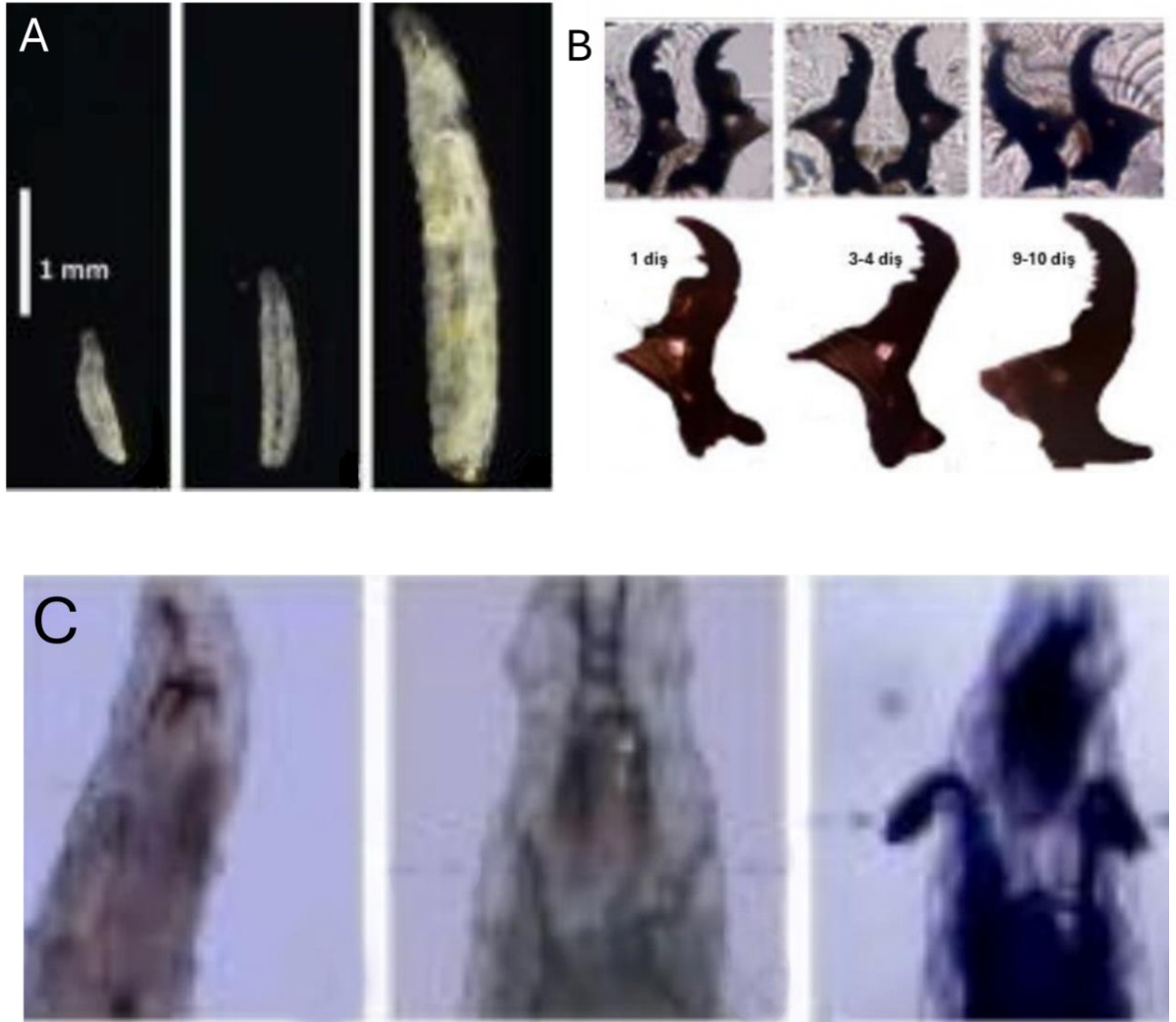
Hazırlık aşamasında deneye alınacak olan soyların tüp ve şişece sayıları arttırılarak iki kuşak boyunca şişelerde tutulmuş, organizmaların şişe ortamına adaptasyonları sağlanmıştır. Deneye alınmalarından 3 gün önce, sabah 8-akşam 5 saatleri arasında olacak şekilde 5-7 gün yaşındaki ebeveynlerin 7 saatlik yumurtlatmaları iklim odasında, karanlık ortamda gerçekleştirilmiş ve bu sürenin sonunda ergin bireyler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Yumurtlatma sırasında

ebeveynlerin yaşı ve sirkadyen ritimleri, yavru döl verimini ve genetik faktörlerini etkilememesi amacıyla sabit tutulmuştur. Deney günü, şişelerde gelişimlerini sürdürmekte olan yaklaşık 65-74 saat yaşındaki F1 kuşağı üyesi larvalar 25°C çeşme suyu ile larva toplama filesine aktarılarak toplanmış ve gelişimsel evreleri göz önünde bulundurularak randomize bir şekilde deneye alınmışlardır.

Deneye alınan bireyler, gelişimsel süreçlerinin üçüncül larval evresinde (L3) olacak şekilde seçilmiş olup deney buna göre tasarlanmıştır. *D. melanogaster* larvalarının, yumurtadan çıkışlarından pupaya geçişlerine kadar olan süreçte kütlece 200-250 kat büyürler (Tennessee ve Thummel, 2011; Croset ve ark., 2016). İlk 48 saatlik süreçteki beslenmelerinin miktar ve içerikçe yeterli olması, larvaların pupasyona geçebilmeleri için kritiktir, fakat gelişimsel sürecin düzgün şekilde ilerlemesi ve ergin dokularının sorunsuz şekilde oluşturulabilmesi, sonraki sürede gerçekleşen beslenmeye bağlıdır (Bakker, 1959). Bu nedenle *D. melanogaster*'ler, gelişimsel süreçlerinin üçüncül larval evresinin sonlarına kadar aralıksız olarak beslenmeyi sürdürürler. Larvaların beslenme davranışı, ağız kancalarının kasılma sayısı sayılarak kantifiye edilebilir. Bu yöntemle yapılmış bir çalışmada, gelişim süreci boyunca larvaların beslenme davranışı incelenmiş, beslenmenin larvanın fizyolojik yaşına bağlı olarak değiştiği ve üçüncül larval evrenin ilk yarısı boyunca beslenme miktarının sabit olduğu gözlenmiştir (Sewell, Burnet ve Connolly, 1974). Bu bilgiler ışığında deneyler, üçüncül larval evrenin başında, sürekli beslenme durumunda olan larvalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Deneyde kullanılan larvaların üçüncü evrede olduğunun belirlenmesinde, larvaların farklı evrelerindeki morfolojik özelliklerinden faydalanılmıştır. Bu farklılıklar, larvaların boyutları, anterior solunum yarıklarının morfolojisi ve ağız kancalarının morfolojisidir ve evrelerin belirlenmesinde güvenilir olarak kullanılırlar. İlk olarak, birinci evre, erken ikinci evre ve geç üçüncü evre larvalar boyut farkı ile ayrıştırılmıştır. Larvanın farklı evrelerinde, kitin yapılı ağız kancasında bulunan "diş" sayısı da artmaktadır. Ağız kancasının morfolojik değişimi diseksiyon mikroskobu ile görülebiliyorken, diseksiyon mikroskobunun

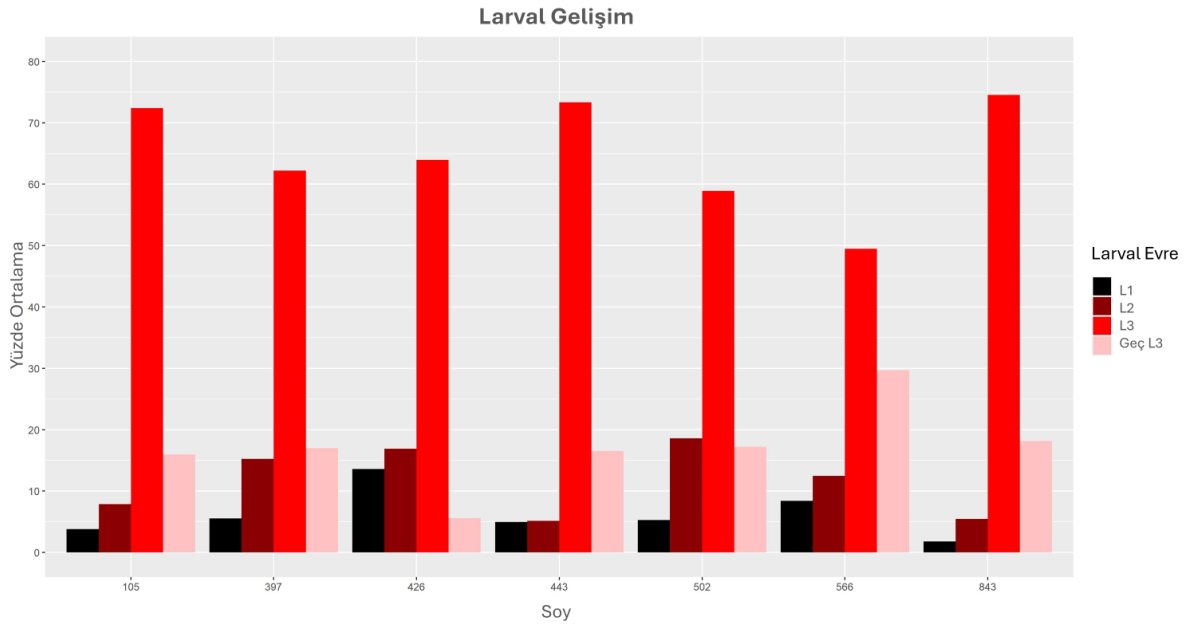
büyültme oranı, diş sayısının tespiti için yeterli olmamaktadır. Diseksiyon mikroskobu ile kolaylıklar gözlemlenebilen anterior solunum yarıkları, ikincil larval evrede daha sopa görünümlü, düz yapıda iken üçüncül larval evreye geçişle beraber dallanmış bir görünüme sahip olurlar. Bu özellik, üçüncü evre larvaları ikinci evre larvalardan ayırmada kullanılmıştır. İlgili karakterlerin farklı evrelerdeki görünüşler, şekil 3.1.'de verilmiştir. (Tyler, 2000; Ashburner, Golic ve Hawley, 2005).



Şekil 3. 1. *D. melanogaster* larvalarının farklı gelişimsel evrelerinde gözlenen ayırt edici morfolojik özellikler

(Bütün görseller birincil larval evre, ikincil larval evre ve üçüncül larval evre sırasındadır: **A**: Larval evrelerin boyutları **B**: Ağız kancaları morfolojileri **C**: Anterior solunum yarıkları (Lakhotia ve Ranganath, 2021)

Yumurtlamayı takip eden üçüncü günün, larvaların üçüncü gelişimsel evrelerinde toplayabilme uygunluğunu sınamak amacıyla bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada, yumurtlamayı takip eden üçüncü günde deneyde kullanılan aynı yöntem takip edilerek şişelerden larva toplanmış, toplanan larvalar diseksiyon mikroskobu altında larval evrelerine göre sınıflandırılarak sayılmıştır. Sayımlar, larvaları dört kategoriye ayıracak şekilde yapılmıştır. Bu kategoriler; birincil larval evre, ikincil larval evre, üçüncül larval evre ve larvanın pupasyon ve metamorfozu için gerekli besini depolamasının ardından tüp çeperine tırmanmaya başladığı geç üçüncül larval evre olacak şekilde belirlenmiştir. Yapılan ön çalışma, deneyde kullanılan DGRP soy setinden rastgele seçilmiş 7 soy ile yapılmıştır.



Şekil 3. 2. Deneyde kullanılmak üzere toplanan larvaların yüzde cinsinden gelişim evrelerini gösteren grafik

Yapılan çalışma sonucunda birinci evre larvalar yüzde 1.8 (soy 843) ile 13.6 (soy 426) arasında elde ediliyorken ikinci evre larva elde edilme oranının yüzde 5,1 (soy 443) ile 18,6 (soy 566) arasında olduğu görülmüştür. Elde edilmesi hedeflenen grup olan üçüncül evre larvalar bakımından en düşük yoğunluk gösteren 566 numaralı soyda L3 oranı yüzde 49,5 olarak görülüyorken, yüzde 74,6 oran ile en fazla 843 numaralı soyda görülmüştür. Soyların tamamında üçüncül evre larva elde edilme oranı ortalama yüzde 65 olduğu görülmüştür. Üçüncül evrenin geç dönemindeki larvaların oranı ise yüzde 5,6 (soy 624) ile

yüzde 30 (soy 566) arasında değişmektedir. Bütün bu farklılıklar, olasılıkla, soyların genetik arka planlarının meydana getirdiği gelişim süresi farklılıklarından kaynaklanmaktadır.

Yumurtlatmadan itibaren fenotipik ölçümler gerçekleştirilene kadar geçmesine karar verilen süre gelişimsel veriler açısından değerlendirildiğinde bu sürenin, üçüncül evre larvaları farklı genetik arka plana sahip soylarda yakalamak için uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Deney koşulları literatür bilgisi ve ön deneylerin sonuçlarının sentezi ile belirlenmiştir. MSG'nin *D. melanogaster*'de LD<sub>50</sub> dozunun soylar arasında değişmekle birlikte, yabancı soylar olan Oregon K için %10.03, Oregon R için %12.83 olduğu bilinmektedir (Deepak, 2015). Yapılan bir çalışmada %1 ve %3 konsantrasyonlarındaki MSG'ye kronik maruz kalmanın, *D. melanogaster* bireylerinin gelişiminde anlamlı bir etkisi olmadığı bulunmuştur (Turner, 1971; Chung ve Hong, 1973). Buna ek olarak, %0 ile %15 aralığında 7 konsantrasyonla yapılan yavru döl verimi çalışmasında, %3'e kadar MSG ile beslenen gruplar ile kontrol grubu arasında bir fark gözlemlenmemişken, %5 konsantrasyonlarda yavru döl sayısının kontrol grubunun yarısına, %15 konsantrasyonda ise kontrol grubunun 6'da 1'ine düştüğü görülmüştür (Chung ve Hong, 1973). Bir başka çalışmada 30 gün boyunca farklı konsantrasyonlarda MSG 'ye maruz bırakılan sineklerin %5 ve altı konsantrasyonlarında ömür uzunluklarının etkilenmediği görülmüştür (Kasozi ve ark., 2018). Bu bilgi doğrultusunda doku fonksiyonlarının etkilenmesi bağlamında kronik %5 konsantrasyonun güvenli aralıkta olduğu söylenebilir (Kayode ve ark., 2023).

Literatür bilgisi ışığında tasarlanan ön deney, %5-%1 arasında konsantrasyonlarla (%1, %2.5, %3, %3.5, %5) gerçekleştirilmiş, beslenme davranışına etkisi bağlamında anlamlı farklılık gözlemlenebilen en düşük konsantrasyon olan %3, fizyolojik olarak güvenli aralıkta da oluşuyla öne çıkmış ve deney konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.

Deneyde kullanılan kontrol besiyerleri, %11 (w/v) sükroz ve %0.8 (w/v) agar-agar çözeltisinin kaynatılıp 60 mm çaplı petri kaplarına dökülmesiyle hazırlanmıştır (Shen, 2012). MSG uygulamalı besiyeri ise kontrol besiyerindeki bileşenlere ek olarak %3 (w/v) MSG eklenerek kaynatılmış ve dökülmüştür. MSG'nin yapısını 350°C'ye kadar bozunmadan koruyabildiği, bu özelliği sayesinde yemeklere pişirme süreci öncesinden eklenebildiği bilindiğinden (Giovanni, 2002; Thuy ve ark., 2020), MSG besiyeri kaynatılmadan önce karışıma eklenmiştir. Hazırlanan besiyerleri açık havada kurutulmalarının ardından kapakları kapatılarak ters bir şekilde oda sıcaklığında muhafaza edilmiş, hazırlandıktan sonraki 4 saat içinde taze şekilde deneylerde kullanılmıştır.

Beslenme davranışının sayısallaştırılmasında kullanılacak olan videoların süresinin belirlenmesi amacıyla da bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, belirlenen konsantrasyonda MSG içeren ve içermeyen besiyerleri üzerinde yabancı soy olan Canton S'e mensup 20 birey ile 8'er dakikalık çekimler yapılmış; bu çekimler 1, 3, 5 ve 7 dakika süresince izlenerek sayılan ağız kasılması davranışı kaydedilmiştir. Her grup için ağız kasılması/dk hesaplanarak gerçekleştirilen ki-kare testi sonucunda ölçüm süreleri arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bu doğrultuda ölçümlerin, bir dakika süresince yapılmasına karar verilmiştir.

### **3.4. Fenotipik Ölçümler ve Sayısallaştırma**

Toplanan larvalar, fileden birer birer alınarak besiyerlerine konulmuş, 45 saniyelik yeni ortama adaptasyonları için tanınan sürenin ardından Leica EZ4 model diseksiyon mikroskobunda, bir göz merceğine sabitlenmiş akıllı telefon kamerası ile bir dakika boyunca sabit büyültme değerleri altında odaklanarak kaydedilmiştir. Kayıt sırasında ilgili petride yalnızca bir larva gözlenmiştir. Kayıtlar, verilerin düzenli olabilmesi için önce kontrol grubu için, ardından yeni larvalar toplanarak deney grubu için ayrı ayrı alınmış, her grup için 23-25 larva kaydedilmiştir. Bütün kayıtlar, canlılığın sirkadiyen ritminin deneyi etkilememesi

maksadı ile sabah 9 ile öğlen 12 arasında alınmıştır. Elde edilen kayıtlar, harici belleklere aktararak depolanmıştır.

Alınan kayıtlar, video oynatma programlarında yavaşlatılarak izlenmiş, mekanik sayım cihazı ile ağız kancalarının kasılma hareketi sayılarak her birey için sayısal veriye dönüştürülmüştür. Sayımlar, standardize olması için her videonun 5. Saniyesinde başlatılmış, 60. saniyesinde bitirilmiştir. Elde edilen veriler, soylar bazında gruplanmış şekilde tablolar halinde dijital ortamda tutulmuş ve tamamlanmasının ardından birleştirilerek analizleri gerçekleştirilmiştir.

### **3.5. Verilerin Analizi**

Verilerin analizleri iki basamakta gerçekleştirilmiştir. Öncelikle fenotip skorlamaları üzerinden çok yönlü varyans analizi gerçekleştirilmiş, beslenme davranışında varyasyona sebep olan deneysel parametreler belirlenmiştir. Ardından her soy için; kontrol grubundan elde edilen ortalamaları kullanılarak beslenme davranışının oluşmasında katkısı olan varyantların, MSG'li besiyerinde ölçülen skor ortalaması kullanılarak beslenme davranışının oluşmasında rol alan MSG ile ilişkili varyantların ve MSG'li besiyerindeki skor ile kontrol besiyerindeki skor yüzde farkları üzerinden, normal yeme davranışına göre MSG etkisinin yarattığı farkın (genotip-çevre etkileşimi bileşeni) oluşmasında görev alan varyantların tespiti amacıyla üç farklı GWAS gerçekleştirilmiştir.

#### **3.5.1. Varyans Analizi**

İlk olarak her soy için kontrol ve MSG'li besiyeri üzerinde alınan skorların ortalamaları alınmıştır. Kontrol ve MSG olmak üzere iki uygulama grubu 122 soy için oluşturulmuş, toplamda 244 ortalamasının birbirinden farklı olmalarında SOY (DGRP) ve UYGULAMA (Kontrol-MSG) faktörleri ile bu faktörlerin interaksiyonundan oluşan SOY x UYGULAMA faktörünün fenotipik değişime

katkılarının anlamlılıklarını belirlemek amacıyla varyans analizi gerçekleştirildi (Whitlock ve Schluter, 2014). Bütün analiz ve grafikler, R programı kullanılarak yapıldı. Varyans analizi modeli, SOY (DGRP), UYGULAMA (kontrol ve MSG), SOY x UYGULAMA ETKİLEŞİMİ terimleri üzerinden kuruldu. Etki seviyesi istatistiksel olarak anlamlı olan terimler, Genom Çaplı İlişkilendirme Analizinde kullanılmıştır.

### 3.5.2. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS)

Genom Çaplı İlişkilendirme Analizleri, deneyde kullanılan 122 soyda elde edilen fenotipik skor ortalamaları ile, 3 farklı durum için gerçekleştirilmiştir. Bu durumlar

- Kontrol besiyerindeki skorları
- MSG'li besiyerindeki skorları
- $\frac{100 * (\text{MSG'li besiyerindeki ortalamaları} - \text{Kontrol ortalamaları})}{\text{Kontrol ortalamaları}}$

ile hesaplanan yüzde cinsinden MSG-kontrol farkı (yüzde fark) skorudur.

Elde edilen skorlar yapılan GWAS analizlerinde girdi olarak kullanılmış, her soyun elde ettiği skor ile genomları istatistiksel olarak pek çok test ile kıyaslanmış ve ilgili fenotip ile ilişkisi bulunan SNP'ler saptanmıştır. GWAS sonuçları, ilgili SNP'nin lokasyonu, p değeri, etki büyüklüğü, majör ve minör alelleri ve frekansları gibi önemli veriler ile sunulmaktadır. Elde edilen veriler, önce anlamlılık düzeyi ve ilgili genlerin fonksiyonları açısından dünya üzerindeki en kapsamlı *Drosophila* veritabanı olan Flybase (Gramates ve ark., 2022) aracılığıyla incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Ardından ilgili genlerin, PANGEA veritabanı (Hu ve ark., 2023) kullanılarak gen ontolojisi analizleri gerçekleştirilmiştir. İlgili genlerin insan ortologları Flybase veritabanı ve DIOPT (Hu ve ark., 2021) yazılımı kullanılarak saptanmıştır. Saptanan insan ortologları varsa çift yönlü en yüksek anlamlılık, yoksa tek yönlü en yüksek anlamlılık derecesine göre belirlenmiştir. Elde edilen insan ortologları ile hastalık ontolojisi analizi Diseases veritabanı (Grissa ve ark., 2022) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Gen-hastalık ilişkisi doğrulanmış olan çiftler 5 güvenilirlik düzeyine sahip olmuş, z skoru bulunmayan çiftlerdir. Diğer eşleşmeler güvenilirlik düzeyi (1-5) ve Z skoru bilgisi ile, her gen için en yüksek



skorlu hastalık ve takiben tartışmaya değer görülen hastalıklar ve tez çalışmasının odak fenotipleri ile ilişkili olduğu bilinen/düşünülen hastalıklar olarak belirlenmiştir. Bütün bu veriler Sonuçlar ve Tartışma ve Ekler başlıkları altında detaylıca sunulmuştur.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Beslenme Davranışı Sayısallaştırma Sonuçları

#### 4.1.1. Varyans Analizi Sonuçları

Deney sonucunda hedef fenotip olan beslenme davranışının oluşmasında katkısı olduğu saptanan aday genleri belirleyecek olan GWAS çalışmasına başlamadan önce, deney gruplarını oluşturan değişkenlerin fenotip üzerinde yaptıkları etki istatistiksel olarak incelenmiştir. Varyans analizi karışık rastgele doğrusal etki modeli (lineer random mixed effect) ile kurulmuş, soy, uygulama ve soy:uygulama interaksiyon terimlerinin beslenme davranışına etkisi değerlendirilmiştir. Analiz sonuçları çizelge 4.1. de bulunmaktadır.

Çizelge 4. 1. Deney sonuçlarına ait varyans analizi sonuçları

Tip III Satterthwaite Metodu ile Varyans Analizi Tablosu

	Kareler Toplamı	Ortalamalar Karesi	Pay Serbestlik Derecesi	Payda Serbestlik Derecesi	F değeri	
<i>Uygulama</i>	885,5	885,5	1	121,19	119,86	***

Rastgele etkilerin ANOVA-benzeri Tablosu : Tekli Terim Delesyonu

	Model Parametreleri Sayısı	Log Olabilirlik	Akaïke Ölçütü	Olabilirlik Oran Testi	Serbestlik Derecesi	
-	5	-11917	23843			
1   Soy	4	-12003	24015	173,27	1	***
1   Soy:Uygulama	4	-12011	24030	188,44	1	***

\* p<0,05

\*\* p<0,01

\*\*\* p<0,001

Çizelgede görüldüğü üzere, yapılan çalışmada değişken olarak belirlenen hem uygulama, hem genetik arkaplan (soy) hem de uygulama:genetik arkaplan interaksiyon terimlerinin davranış üzerinde anlamlı derecede etkili olduğu görülmüştür ( $p<0,001$ ).

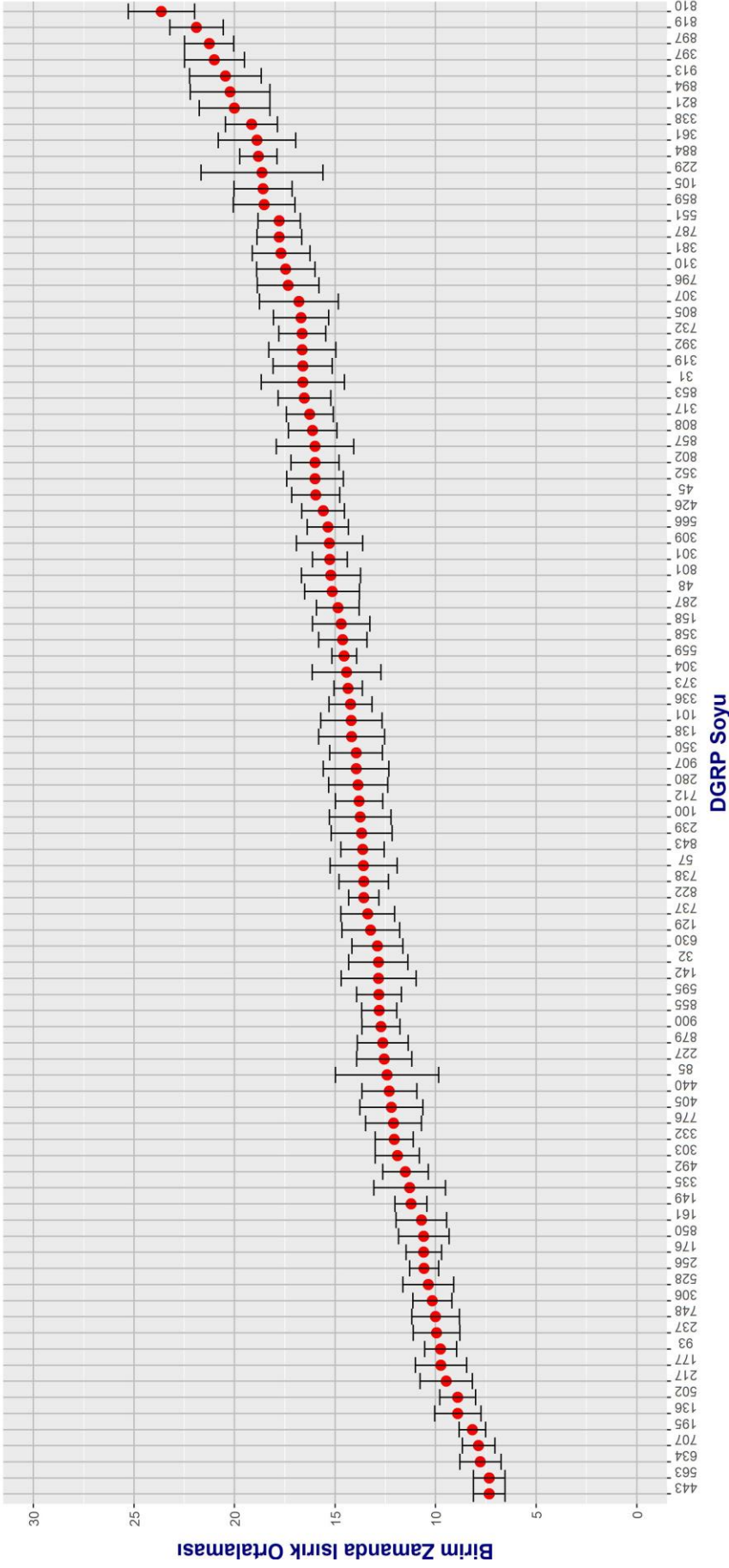
#### **4.1.2. Elde Edilen Verilerin İstatistikleri**

Varyans analizi sonuçları doğrultusunda, soylar arasında görülen beslenme davranışı farklılıklarının, soyların genetik arka planlarındaki varyasyonlardan kaynaklandığı görülmektedir. Deneyde kullanılan DGRP soylarına ait kontrol besiyeri ortamında ve MSG'li besiyeri ortamında elde edilen skor ortalamaları, güven aralıkları ile birlikte aşağıdaki grafiklerde verilmiştir.

Kontrol ve MSG'li besiyeri ortamında elde edilen skorlar her grup için ortalamaları küçükten büyüğe olacak şekilde sıralanarak Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.'de gösterilmektedir. İlgili grafiklerde dikkat çekici olacak noktalardan biri, sıralanmış olan soyların yerlerinin aynı olmamasıdır. Bir diğer deyişle, kontrol besiyerinde düşük skor sahibi olan soyların bir kısmı MSG besiyerinde de düşük skorlular arasında iken, bir kısmı da daha yüksek sıralamalarda bulunmaktadır. Yani, besiyerinde MSG'nin varlığı, soyların yeme performansını farklı ölçülerde etkilemektedir. Gözleminin kolay olması amacıyla, kontrol ve MSG'li besiyerlerindeki ortalamalar, kontrol skoruna göre sıralanarak tek bir görsel olacak şekilde Şekil 4.3. ile gösterilmiştir. Verilen grafikte iki skorun arasındaki farkın soydan soya değişkenlik gösterdiği, artış miktarının kimi soylarda fazla iken kimi soylarda az olduğu, hatta bazı soylarda MSG uygulamasının beslenme davranışının azalmasına sebep olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda, her soyun MSG ve kontrol besiyerinde elde ettikleri skorların farkının, kontrol besiyerindeki skora olan yüzdesi olacak şekilde yüzde fark grafiği de Şekil 4.4.'te verilmiştir.

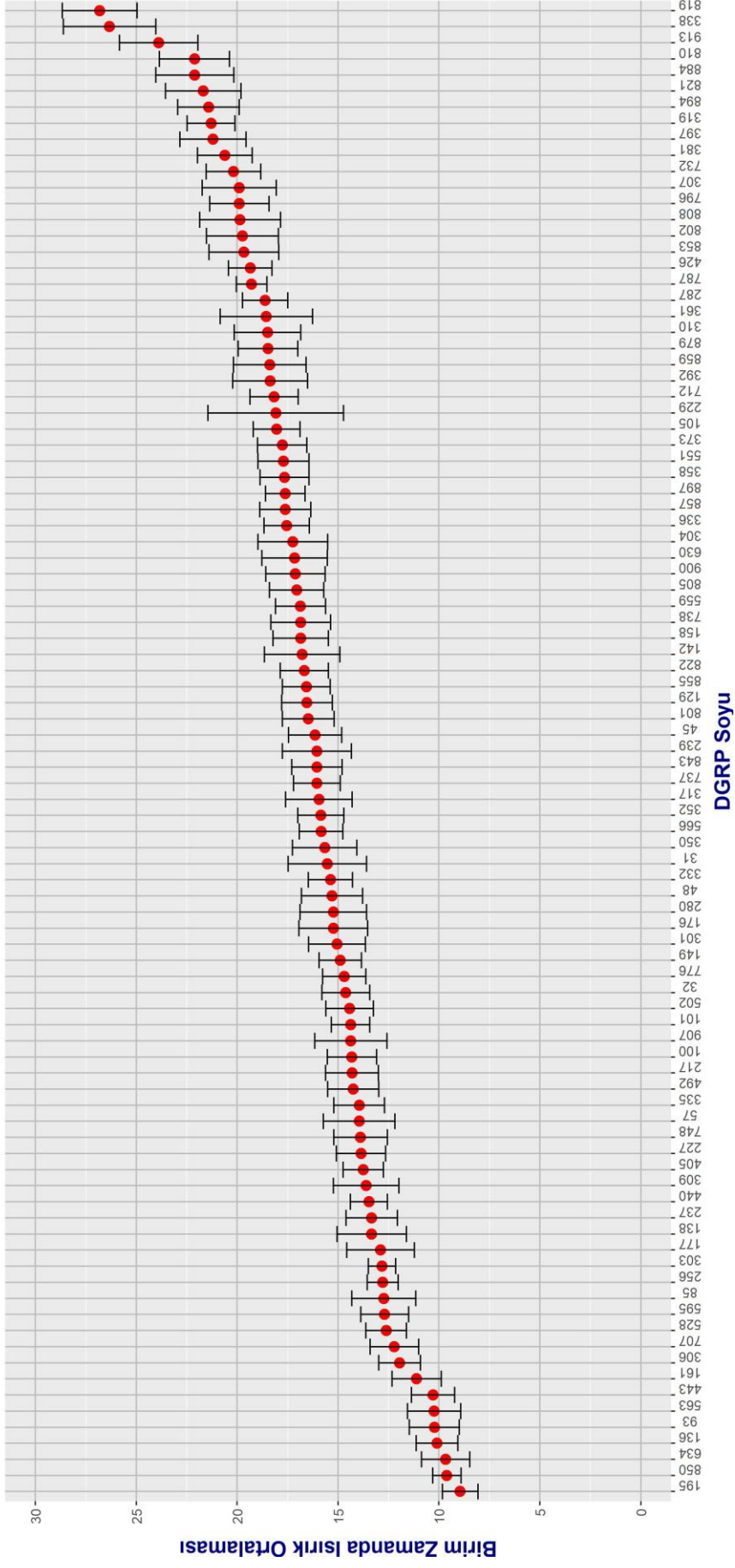
Genotip-çevre etkileşimi sonucu ortaya çıkan yüzde fark verileri, %60 artış ve %25 azalış arasında değişkenlik göstermektedir. Soylar arasında bu derecede fark olmasına sebep olan faktör, MSG'ye maruz kalma sonucunda aktive olan yolların soyların genetik arka planlarındaki farklılıklardan etkilenmesidir.

**Kontrol Besiyerinde Birim Zamanda Skor Ortalamaları**



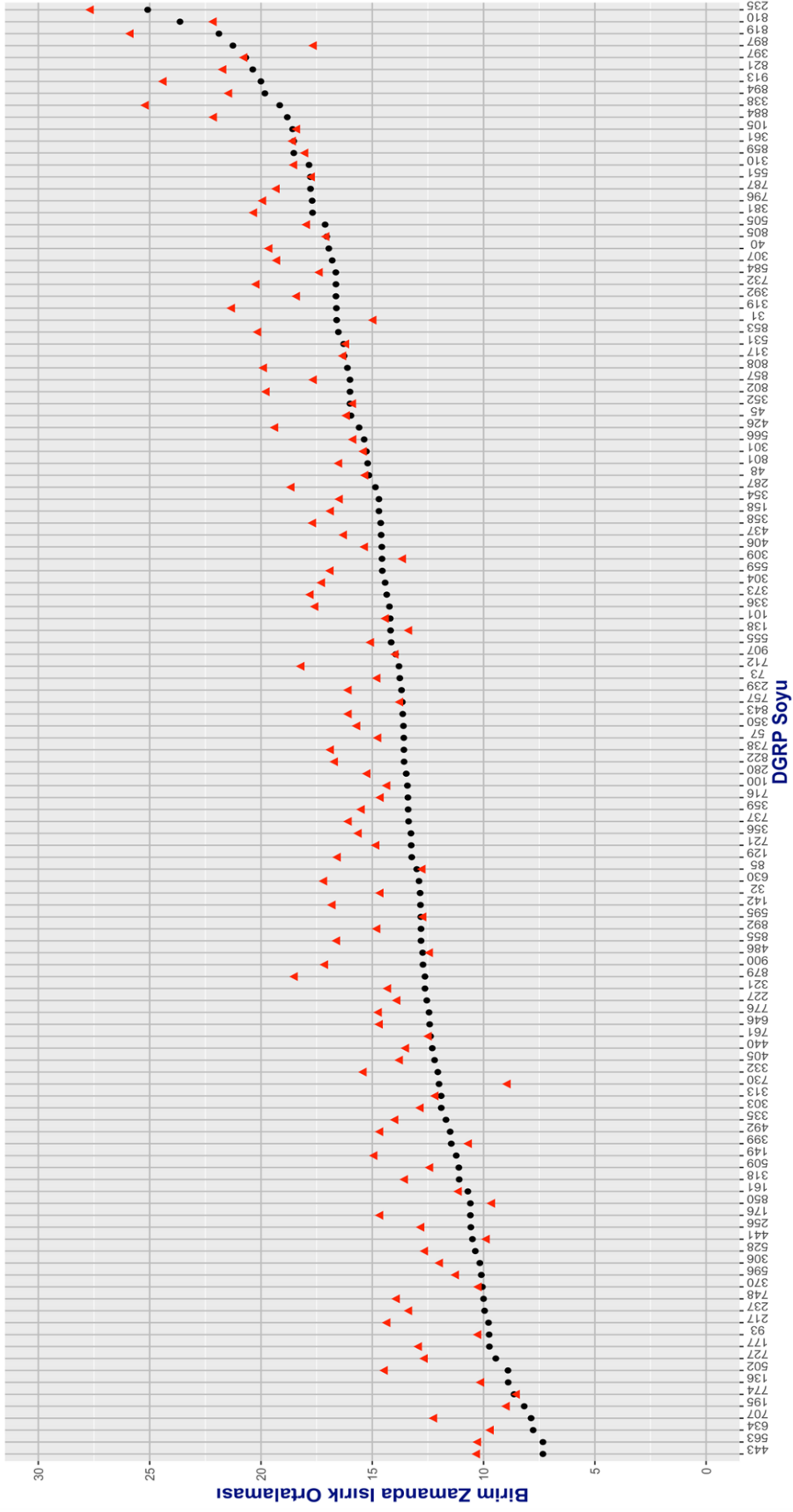
**Şekil 4. 1. Kontrol besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları**

### MSG'li Besiyerinde Birim Zamanda Skor Ortalamaları



Şekil 4. 2. MSG'li besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları

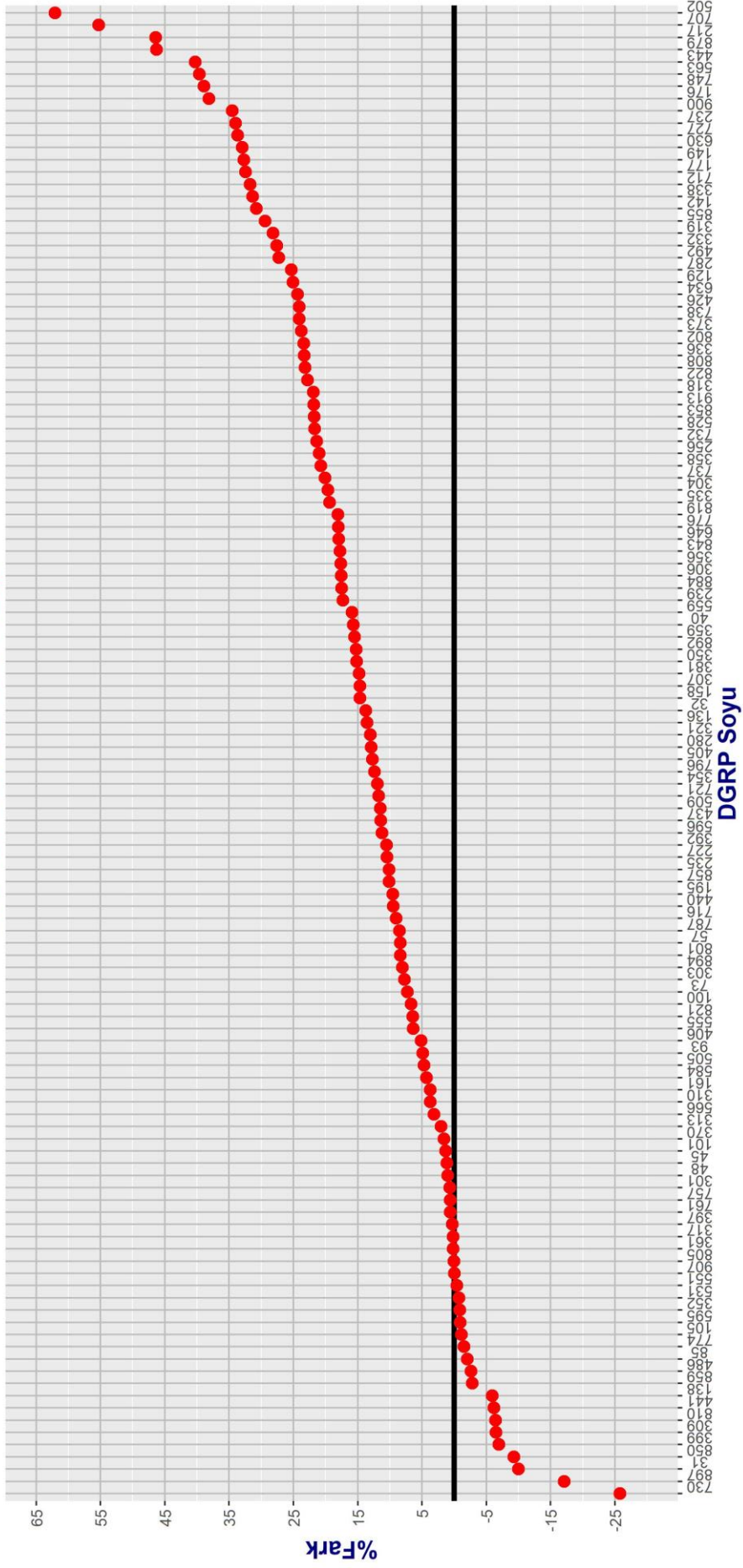
### MSG ve Kontrol Ortalamaları Karşılaştırmalı Grafiği



Şekil 4. 3. Kontrol ve MSG'li besiyerinde DGRP soylarına ait skor ortalamaları

(Siyah noktalar Kontrol Skorunu, Kırmızı Üçgenler MSG' li besiyerindeki skoru göstermektedir)

### MSG-Kontrol Yüzde Fark Grafiği

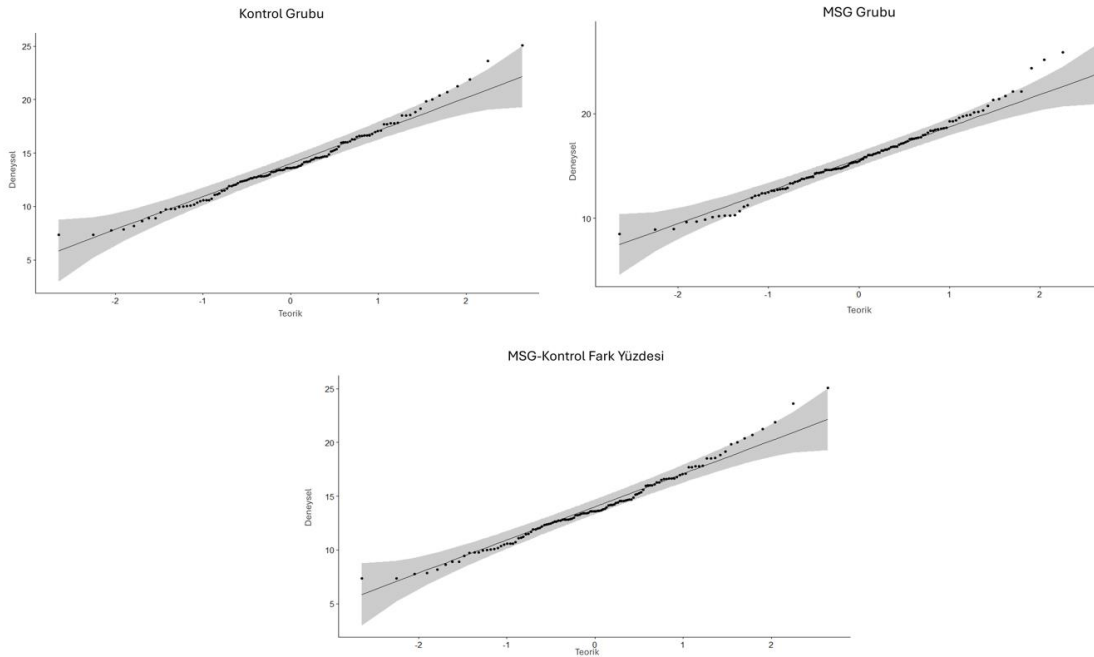


Şekil 4. 4. MSG-Kontrol besiyerlerinin kontrol besiyerindeki skor ortalamalarına göre yüzde cinsinde farkı

Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.4.'te görülen, GWAS analizinde kullanılmak üzere hazırlanan verilerin dağılımlarının normalitesi R programlama dilinde (Versiyon 4.3.3.) Shapiro-Wilk sınaması ile test edilmiştir. Test sonuçları ve verilerin dağılım grafikleri Çizelge 4.2. ve Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Gruplardan elde edilen skor ortalamaları ile yapılan normalite testi sonucunda elde edilen p değerleri anlamsız ( $p>0.05$ ) olması dolayısı ile verilerin normal dağıldığı görülmüş, GWA analizi yapılmasına uygun bulunmuştur.

Çizelge 4. 2. Normalite Testi Sonuçları

Veri Grubu	W değeri	P değeri
Kontrol Grubu	0,98038	0,07049
MSG Grubu	0,97899	0,05199
Yüzde Fark	0,98086	0,07818



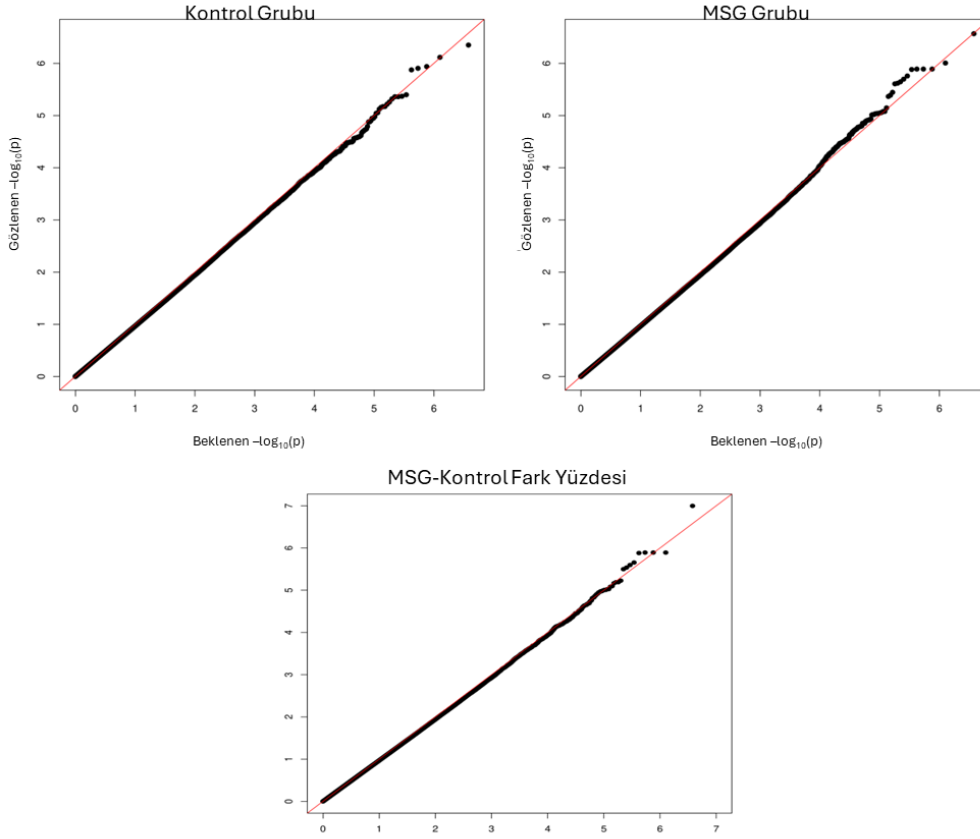
Şekil 4. 5. Üç veri grubuna ilişkin normal dağılım grafikleri



## 4.2. Genom Boylu İlişkilendirme Analizi (GWAS) Sonuçları

### 4.2.1. GWAS Sonuçlarının Genel Değerlendirilmesi

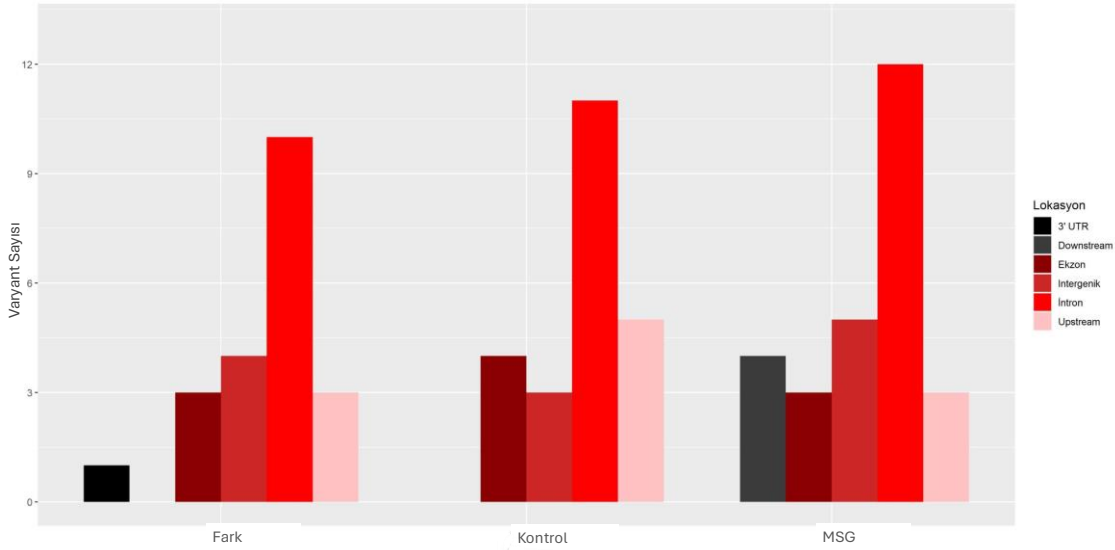
122 DGRP soyunun kontrol besiyerindeki, MSG içeren besiyerindeki ve MSG besiyerinin kontrole göre yüzde cinsinden farkı her soy için hesaplanmış ve GWAS'ta girdi olarak kullanılarak üç farklı GWA analizi gerçekleştirilmiştir. Her kategori için saptanan varyantların kromozomlara dağılımı Ek.4'te gösterilmiştir. Saptanan varyantlara ait SNP'lerin istatistiksel olarak anlamlılığını gösteren grafikler Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4. 6. Deney grupları için saptanan SNP'lerin istatistiksel anlamlılığını gösteren grafikler

#### 4.2.2. GWAS Sonucunda Saptanan SNP'lerin Değerlendirilmesi

Yapılan GWA analizleri sonucunda ilgili fenotip ile istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 10^{-5}$ ) düzeyde ilişkili olduğu belirlenen toplamda 65 genetik varyant tespit edilmiştir. Bu varyantların biri delesyon, 9'u insersiyon, 1'i çoklu nükleotid polimorfizmi (MNP) ve 55'i tekli nükleotid polimorfizminden (SNP) oluşmaktadır. Bahsi geçen 2 insersiyon ve 9 SNP, intergenik bölgede bulunmaktadır ve tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen ileri çalışmalara dahil edilmemiştir. Gen bölgelerinde ve yakınlarında bulunan varyantların ise, 10 tanesi kodlanan bölgeler olan ekzonlarda yer alırken, kalanı intron bölgeler (30 varyant), ve regülatör sekanslar barındıran yukarı (upstream) (10 varyant) ve aşağı (downstream) (4 varyant) yönlü bölgelerde bulunmaktadır. Kalan bir varyant ise, mRNA'ya transkripsiyonu gerçekleşen fakat stop kodonundan sonra yer aldığı için amino asid dizisine transle edilmeyen 3' UTR bölgesinde bulunmaktadır.



Şekil 4. 7. GWAS'lar sonucunda saptanan varyantların genom bölgelerine dağılımları

Bahsi geçen varyantların bazıları, kromozom üzerinde birbirlerine çok yakın konumdadır ve aynı geni isabet etmektedir. Bazı varyantlar ise, çakışık genlerin kesişme bölgelerinde yer aldığından, birden fazla geni isabet etmişlerdir. Gerçekleştirilen 3 GWAS sonucunda, ilgili fenotiplerle ilişkili olduğu saptanan varyantların isabet ettikleri gen sayısı 32 olmuştur. Bu 32 genin 3 tanesi hem kontrol verisiyle hem de MSG verisiyle gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda, 1

tanisi ise hem MSG hem de MSG-Kontrol farkı verisiyle gerçekleştirilen GWAS'larda ortak olarak görülmüştür.

### **4.2.3. Saptanan Aday Varyantların Değerlendirilmesi**

Belirlenen aday genlerin bir kısmının, gelişim, öğrenme ve hafıza, sinir sistemi, hücrel süreçler, metabolik süreçler ve davranış gibi çeşitli biyolojik süreçlerde görev aldıkları bilinmektedir. Her veri seti için saptanan aday genler, genlerin fenotip üzerindeki etki büyüklükleri, aldıkları isabet sayıları ve kromozomal lokasyonları Çizelge 4.3., 4.6. ve 4.9.'da gösterilmiştir. Tespit edilen 36 genin 8'i, daha önce herhangi bir biyolojik süreç ile ilişkilendirilememiştir. Bu genlerin fonksiyonları bilinmemektedir. İşlevi bilinen genlerin gen ontolojisi analizi sonuçları Çizelge 4.4., 4.7. ve 4.10'da gösterilmiştir. Ayrıca, genlerin bilinen insan ortologları ve bu ortologların ilişkili oldukları insan hastalıkları da incelenerek Çizelge 4.5., 4.8. ve 4.11. ile sunulmuştur.

#### **4.2.3.1. Kontrol Grubu İçin Saptanan Aday Genler**

Her soy için, kontrol besiyeri ortamında elde edilen skorların ortalamaları ile gerçekleştirilmiş olan GWAS sonucunda saptanan aday varyantlar incelenmiştir. Varyantların isabet ettikleri genler, varyantın fenotip üzerinde gösterdiği etki büyüklüğü, genin aldığı isabet sayısı ve genin lokasyonu Çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Çizelge 4.4., saptanan genlerin biyolojik işlevlerine göre sınıflandırıldığı gen ontolojisi analizi sonuçlarını göstermektedir. Genlerin İnsan ortologları, ortologların ilişkili oldukları hastalıklar ve güvenilirlik düzeyleri ise Çizelge 4.6.'da verilmiş, kontrol grubu sonuçları bu başlık altında tartışılmıştır.

Çizelge 4. 3. Kontrol grubu için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), etki büyüklükleri, isabet sayıları ve kromozomal lokasyonları

Gen	Etki Büyüklüğü	İsabet Sayısı	Lokasyon
<i>CG34444</i>	-3.349	1	2R: 14,369,217..14,370,326 [+]
<i>Obp50a</i>	-3.349	1	2R: 14,370,331..14,371,116 [-]
<i>CG34443</i>	-3.349	1	2R:14,367,979..14,369,067 [+]
<i>Tmlh</i>	+1.58	3	3R: 20,406,615..20,407,871 [-]
<i>Gfrl</i>	+1.568	3	3R: 20,378,458..20,484,588 [-]
<i>zormin</i>	-2.823	6	3L: 2,117,466..2,151,700 [-]
<i>cher</i>	-2.502	1	3R: 17,091,533..17,125,389 [-]
<i>G6P</i>	-1.39	2	2L: 2,814,336..2,815,760 [-]
<i>CG2964</i>	-1.39	1	2L: 2,812,437..2,814,429 [+]
<i>CG14511</i>	-2.372	1	3R:29,145,678..29,146,893 [-]
<i>CG11882</i>	-2.372	1	3R:29,147,016..29,148,172 [-]
<i>Oatp26F</i>	-2.951	1	2L:6,625,138..6,632,407 [-]
<i>Duox</i>	-1.329	1	2L:2,815,970..2,830,248 [-]
<i>lea</i>	+1.209	1	2L:1,380,086..1,420,453 [-]

Çizelge 4. 4. Kontrol grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları

Aday Genlerin İlişkili Oldukları Sistemler	Aday Genlerin İlişkili Oldukları Ontolojik Karakterlerin Özetleri	Aday Genler	Adet
<b>Metabolik Süreçler</b>	Karbonhidrat Metabolizması, Fosfat İçeren Maddelerin Metabolizması, Biyosentez Süreci, Hücre Metabolizması, Biyosentez Süreci	<i>CG2964, G6P, Tmlh, Duox</i>	4
<b>Sinir Sistemi</b>	Akson Yönlendirmesi, Aksonogenez, Akson Gelişimi, Nöron Farklılaşmasında Yer Alan Hücre Morfogenezi, Nöron Uzantı Morfogenezi, Sinir Sistemi Süreci, Sinir Sistemi Gelişimi, Nöron Gelişimi, Hücre Uzantısı Organizasyonu, Nöron Farklılaşması	<i>cher, robo2, Obp50a, Gfrl, Duox</i>	5
<b>Gelişim</b>	Çok Hücreli Organizma Gelişimi, Anatomik Yapı Gelişimi	<i>robo2, cher, Duox, Gfrl</i>	4

Çizelge 4. 5. Kontrol grubu için saptanan aday genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar

Gen	İnsan ortoloğu	İlişkili Hastalıklar	Güvenilirlik (5 üzerinden)	Z skoru
<i>Tmlh</i>	<i>TMLHE</i>	Otizm spektrum	5	*
<i>Gfrl</i>	<i>GFRAL</i>	Obezite ve Diyabet	3	4.8 ve 4.1
<i>zormin</i>	<i>CCDC141</i>	Kallmann sendromu	5	*
		Hipogonadizm	3	4.6
<i>cher</i>	<i>FLNA</i>	Periventriküler nodüler heteropya	5	*
		X-bağlantılı kardiyak valvular displazi	5	*
<i>G6P</i>	<i>G6PC1</i>	Glikojen depo hastalığı	5	*
		Diyabet	4	7.3
		Hiperglisemi	4	6.7
		Obezite	4	6.1
<i>CG2964</i>	<i>PKLR / PKM</i>	Kırmızı hücrelerde pirüvat kinaz eksikliği	5	*
		Anemi	3	5.0
		Diyabet	3	4.1
		Obezite	2	3.8
<i>CG14511</i>	<i>SLC35B4</i>	Dikarboksilik aminoasidüria	2	3.4
<i>CG11882</i>	-			*
<i>Oatp26F</i>	<i>SLCO4A1</i>	Kolestazi	3	4.8
		Kanser	2	3.9
		Kaaraciğer hastalığı	2	3.7
<i>Duox</i>	<i>DUOX1</i>	Hipertansiyon	3	5.4
		Diyabet	3	5.3
		Böbrek hastalığı	3	5.0
		Hipotiroid	3	4.8
<i>Lea/Robo2</i>	<i>ROBO1</i>	Disleksi	4	6.5

GI sistem hastalığı	3	4.5
Pankreas hastalığı	3	4.1

Kontrol besiyerinde elde edilen dakikada gerçekleştirilen ısırık sayısı verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan genler, tablo 4.3.'te gösterilmiştir. Saptanan genler ile gerçekleştirilen gen ontolojisi analizleri sonucunda, genlerin genel olarak metabolik süreçler, sinir sistemi, gelişim ve hücresel süreçler ile ilişkili oldukları görülmüştür. Gen ontolojisi analizi sonuçları tablo 4.4.'te görülmektedir. Bulunan genler arasında yer alan ve kromozomal lokasyonlarının birbirlerine yakınlığı ile dikkat çeken *Obp50a*, *CG34443* ve *CG34444* genlerinden *CG34443* ve *CG34444*'ün herhangi bir biyolojik fonksiyonu bilinmemektedir. Genlerin konumsal yakınlığı, Ek 3.'te yer alan kontrol grubuna ait bağlantı dengesizliğini gösteren "Heat Map" (LD Heat Map) 'teki 2R kromozomundaki anlamsızlığı açıklamaktadır. *Obp50a* ise böcekler arasında evrimsel olarak korunmuş koku bağlayıcı proteinler (Odorant Binding Proteins) (*Obp*) ailesinden bir proteini kodlamaktadır. Bu gruptaki proteinlerin koku reseptörü nöronları etrafında bulunan yardımcı hücreler tarafından salgılandığı ve koku moleküllerini ilgili reseptörlere taşımada görev aldığı bilinmektedir. (Vieira ve Rozas, 2011; Jung ve ark., 2018). Koku algısının, beslenmenin regülasyonunda, iştahın oluşturulmasında bir dış uyaran olarak görev aldığı bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında, saptanan *CG34443* ve *CG34444* genlerinin, *Obp50a*'ya olan lokasyonel yakınlıklarından dolayı saptanmış yanlış pozitifler olma ihtimalleri mevcuttur ve bu genlerin beslenme davranışı ile ilişkisinin belirlenmesi doğrulama (validasyon) çalışması sonucunda değerlendirilmeye muhtaçtır. *Obp50a* geni ise, beslenme ile ilişkili olmaya uygun bir adaydır. Bulunan genler arasından *CG2964* ve *G6P* genleri, sırasıyla glikolitik süreçte pirüvat kinaz aktivitesi üzerinde etkili olan bir proteini ve glikoz-6 fosfataz enzimini sentezleyerek karbonhidrat metabolizmasında rol aldığı bilinen genlerdir. *CG2964* geninin ürünü olan Pirüvat Kinaz enzimi, glikoliz sürecinde fosfoenolpirüvattan ATP sentezinde kullanılmak üzere fosfat grubu kopararak pirüvata dönüşümünü sağlamaktadır (Heidarian ve ark., 2024). *G6P* ise, glukoz-6 fosfataz aktivitesi göstererek glukoneogenez sürecine dahil olmaktadır. Glukoneogenez, gliserol, laktat, pirüvat, propionat gibi heksoz olmayan öncüllerden glukoz üretimi süreci olarak özetlenebilir. Bu süreçte görev alan Glukoz-6 Fosfataz, Glukoz 6 fosfattan fosfat grubunu kopararak

glikoza çevrilmesini sağlar. Böceklerde ana hemolenf şekeri olarak bulunan trehalozun sentezlenmesini sağlayan trehalogenez yağ hücrelerinde gerçekleşirken glukaneogenez, ürünü olan glikolizin nöral sinyalleşmede kullanılması üzerine beyin bölgesinde gerçekleşir. *G6P* sentezleyen nöronların aynı zamanda NPF de sentezlediği, NPF'nin ise besin alımı dahil olmak üzere hipotalamus tarafından kontrol edilen pek çok sistemin regülasyonunda görevli olduğu bilinmektedir. NPY salgılayan nöronların aynı zamanda ödül arama davranışını da regüle ettiği düşünülmektedir (Fell, 1990; Pedrazzini, Pralong ve Grouzmann, 2003; Karnani ve Burdakov, 2011; Miyamoto ve Amrein, 2017). Glikozun enerji homeostazisinde ve dolayısı ile beslenme regülasyonunda aldığı roller düşünüldüğünde, *G6P* beslenmenin düzenlenmesi ile ilişkili bir gen olmaya adaydır. Metabolik süreçlerde görevli olan bir diğer gen de Trimetil-Lizin Hidroksilaz enzimi kodlayan ve karnitin biyosentezi'nde görev aldığı düşünülen *Tmlh* 'dir. *Tmlh*'nin sentezinde rol aldığı karnitin, enerji metabolizmasında zorunlu bir moleküldür. Yağ asitlerinin metabolize edilecekleri mitokondriye taşınmasında görev alarak enerji metabolizmasının sağlanmasına katkı sağladığı bilinmektedir. Karnitin, pek çok biyolojik süreçte görev almaktadır ve *Tmlh* geninin fonksiyonel bozukluklarında, glia hücrelerinde beta oksidasyona sebep olduğu görülmüştür. Glia hücrelerinin, beyinde enflamasyonu önlemede görevli olduğu da göz önünde bulundurulduğunda, *Tmlh* mutantlarının merkezi sinir sisteminde bozukluklara sebep olması oldukça anlaşılabilir (Ferdinandusse ve ark., 1999; Vaz ve Wanders, 2002; Musselman ve ark., 2013; Bene, Hadzsiev ve Melegh, 2018; Carillo ve ark., 2020). *Tmlh* geni, 3R kromozomunda *Gfrl* aktif bölgesine çakışık durumda bulunmaktadır. *Gfrl*, hücre adezyon molekülü bağlanma aktivitesini kontrol eden bir reseptör protein olarak gelişim sürecinde de fonksiyonel olduğu bilinen bir gendir (Hernandez ve ark., 2015; Myers ve ark., 2018). Sinir sistemi gelişiminde görev aldığı bilinen *Gfrl* geninin bağlantı dolayısı ile saptanmış olma ihtimali olduğu kadar, fonksiyonel olduğu yolak vasıtası ile beslenmenin regülasyonunda görev alıyor olma olasılığı da mevcuttur ve genin beslenme ile ilişkisi doğrulama çalışması ile belirlenmeye muhtaçtır. Kontrol grubunda saptanan bir diğer gen *zormin* genidir. *zormin*'in, kas hücrelerinde M bandı ve Z disklerinin yapısında bulunan bir yapısal protein kodlayarak kas yapısının oluşturulmasında görev aldığı bilinmektedir (Kreiskoether ve ark., 2006). Hücre yapısında görev aldığı bilinen bir diğer gen *cher*'dir. *cher*'in hücrelerde Z diskler

ve aktin hücre iskeletinin yapısına katılarak aktin bağlanma aktivitesini sağladığı bilinmektedir. Ergin sineklerin kafa bölgesi ve larvaların bağırsakları başta olmak üzere sindirim sistemlerinde ve kaslarında ifade olduğu bilinen gen, postsinaptik membranların büyümesi ve periferal aksonların yönlendirilmesinde görev almasının yanı sıra, sinaps bölgelerinde glutamat reseptörlerinin lokalizasyonunu sağladığı da bilinmektedir (Zheng ve ark., 2011; Wójtowicz ve ark., 2015; Lee ve Schwarz, 2016). Saptanan *CG14511* geninin UDP\_N asetilglukozamin transmembran taşıyıcı ve UDP-kiloz transmembran taşıyıcı proteinlerinin aktivitesini sağladığı bilinmektedir. İlgili proteinler, çözünen madde taşıyıcı proteinler grubundan nükleotid-şeker taşıyıcıları sınıfından proteinlerdir ve hücre enerji metabolizmasında görev aldıkları bilinmektedir (Song, 2013). *CG14511* ile kromozomal olarak komşu konumda bulunan ve GWAS sonucunda saptanan *CG11882* geninin ise hücre zarı yapısına katılan ve endositozu kontrol ederek hücre zarının yapısını ve hücre sinyalleşmesinin kontrolünde görev alan kltrin molekülünün hafif ve ağır zincirlerini kodlayan *clc* ve *chc* genlerinin ürünleri ile etkileşime girerek hücre zarının yapısının oluşturulmasında görev aldığı düşünülüyor (Tsoumpikos, 2016). Kontrol verisinin genom boyulu analizi sonucunda saptanan bir diğer gen olan *Oatp26F* geninin bir sodyum bağımsız Organik Anyon Taşıyıcı Protein kodladığı bilinmekte. Spesifik işlevi bilinmemekle beraber, *Oatp* grubu genlerinin çeşitli endojen substratlarının, ilaç ve çeşitli ksenobiyotiklerin hücre içine alımını sağlayan membran taşıyıcıları oldukları bilinmekte. Aynı ailede bulunan ve hakkında daha fazla bilgi bulunan *Oatp74D*'nin üçüncül larval evrede tükürük bezlerinde ifade olduğu ve *D. melanogaster*'de larval evre geçişlerinin ve metamorfozun gerçekleşmesini kontrol eden bir steroid hormon olan ekdizon ile etkileşimde bulunarak gelişim sürecinin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmekte (Okamoto ve ark., 2018). *Oatp26F* de aynı grupta olduğundan, hücre içi homeostaziyi sağlamanın yanı sıra, çeşitli fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alma olasılığı yüksek bir gen olduğu yorumu yapılabilir. Fonksiyonu bilinen bir diğer gen ise bağırsak florasını kontrol etmekle görevli bir doğal bağışıklık bileşeni kodladığı bilinen *Duox* genidir. NADPH Oksidaz grubundan bir protein kodlayan *Duox'un*, bağırsaklardaki bakteriyel enfeksiyonlara bağışıklık yanıtı oluşturulmasında görev aldığı bilinmektedir (Ha ve ark., 2005; Xiao ve ark., 2017). Bağırsak florasının sindirim sistemi üzerindeki etkisi düşünüldüğünde, aday genin



beslenmenin regülasyonunda fonksiyonunun olması mümkündür. Kontrol grubu verisi ile elde edilen son gen olan *lea / Robo2* geni nöronların akson ve dendrit bölgelerinde, kaslarda ve trakeada Robo reseptör ailesinin bir üyesini kodlamaktadır. İlgili genin, nöron gelişimi ve farklılaşması, ve imajinal disklerden organ oluşturulması süreçlerinde önemli görevleri olduğu düşünülmektedir (Couch ve ark., 2004; Nicolas ve Preat, 2005; Sasse ve Klämbt, 2016). Sinir sistemi, beslenme davranışı dahil olmak üzere organizmadaki bütün sistemlerin regülasyonunda görevli olduğundan, ilgili gen de heyecan verici bir adaydır. Kontrol verisi ile gerçekleştirilmiş GWAS sonucunda saptanan genlerden hiçbiri, daha önceki çalışmalarla beslenme davranışı ve regülasyonu ile direkt olarak ilişkilendirilmemiş olmakla beraber, kompleks regülasyon mekanizması ve dahil olan sistemler göz önünde bulundurulduğunda, gerçekleştirilecek olan doğrulama çalışması sonrası genlerin ilişkilendirilmesi nihai sonucuna varmış olacaktır.

#### **4.2.3.2. MSG Grubu İçin Saptanan Aday Genler**

Her soy için, MSG içeren besiyeri ortamında elde edilen skorların ortalamaları ile gerçekleştirilmiş olan GWAS sonucunda saptanan aday varyantlar incelenmiştir. Varyantların isabet ettikleri genler, varyantın fenotip üzerinde gösterdiği etki büyüklüğü, genin aldığı isabet sayısı ve genin lokasyonu Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir. Saptanan genler, gen ontolojisi analizi ile incelendiğinde, genlerin yoğun olarak davranış, öğrenme ve hafıza, sinir sistemi ve hücresel süreçler ile ilişkili oldukları görülmektedir. Gen ontolojisi analizi sonuçları Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Kontrol Grubu ile MSG Grubu GWAS'ları sonucunda saptanan 3 ortak gen olduğu, 4.2.2. GWAS Sonucunda Saptanan SNP'lerin Değerlendirilmesi alt başlığı altında bahsedilmişti. Bu genler (*CG14511*, *CG11882* ve *zormin*) kontrol grubu GWAS'ı ile saptanan genler ile özetlenmiş ve tartışılmıştır. Bu başlık altında, MSG verisi ile saptanan yeni genler tartışılacaktır.

Çizelge 4. 6. MSG grubu için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), etki büyüklükleri, isabet sayıları ve kromozomal lokasyonları

Gen	Etki Büyüklüğü	İsabet Sayısı	Lokasyon
<i>CG15465</i>	-3.286	1	X: 5,085,759..5,254,864 [+]
<i>rg</i>	-3.286	1	X: 5,085,759..5,254,864 [+]
<i>dnc</i>	-2.791	1	X: 3,176,440..3,343,767 [+]
<i>Ino80</i>	-3.391	3	3R: 19,368,995..19,403,153 [-]
<i>B9d1</i>	-2.002	2	3R: 15,481,906..15,482,904 [+]
<i>CG14511</i>	-2.585	1	3R: 29,145,678..29,146,893 [-]
<i>CG11882</i>	-2.585	1	3R: 29,147,016..29,148,172 [-]
<i>dsf</i>	-2.002	2	2L: 5,925,937..5,939,261 [+]
<i>CG9095</i>	-2.651	2	X: 15,139,937..15,163,225 [-]
<i>CG15803</i>	-2.652	1	3R: 18,330,932..18,360,728 [-]
<i>zormin</i>	-2.479	3	3L: 2,117,466..2,151,700 [-]
<i>gukh</i>	-3.036	1	3R: 18,984,025..19,022,436 [+]

Çizelge 4. 7. MSG grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları

Aday Genlerin İlişkili Oldukları Sistemler	Aday Genlerin İlişkili Oldukları Ontolojik Karakterlerin Özetleri	Aday Genler	Adet
Davranış	Çifleşme Davranışı, Kur Davranışı, Kokusal Davranış, Kimyasal Uyarı İlişkili Davranış, Çiftleşme, Üreme Davranışı,	Dsf, dnc, rg	3
Öğrenme ve Hafıza	Kısa Süreli Hafıza, Kokusal Öğrenme, Çağrışımsal Öğrenme, Öğrenme, Hafıza, Hafıza Ve Öğrenme	Dnc, rg,	2
Sinir Sistemi	Nöron Gelişimi, Hücre Uzantısı Organizasyonu, Nöron Farklılaşması, Aksonogenez, Akson Gelişimi, Nörogenez, Nöron Uzantısı Gelişimi	Dnc, gukh, rg, B9d1,	4
Hücresel Süreçler	Gen İfadesinin Düzenlenmesi, Hücre Organizasyonu, Hücre Zarı Yapısı, Hücre-Hücre İnteraksiyonu, Hücre İskeleti Yapısı	Ino80, B9d1, Cg11882, CG9095, zormin	5

Çizelge 4. 8. MSG grubu için saptanan genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar

Gen	İnsan ortoloğu	İlişkili Hastalıklar	Güvenilirlik (5 üzerinden)	Z skoru
<i>rg</i>	<i>NBEA</i>	Epilepsi	4	*
		Otizm	3	5.1
<i>dnc</i>	<i>PDE4B</i>	Şizofreni	3	5.3
		Bipolar bozukluk	3	4.6
		GI sistem hastalığı	2	3.8
<i>Ino80</i>	<i>INO80</i>	Mine ve dentin çürümeleleri	2	3.4 ve 3.3
<i>B9d1</i>	<i>B9D1</i>	Joubert sendromu	5	*
		Meckel sendromu	5	*
		Siliopati	4	6.2
<i>CG14511</i>	<i>SLC35B4</i>	Glikozilasyon kongenital rahatsızlığı tip II	2	3.5
		Dikarboksilik aminoasidüria	2	3.4
		Obezite	2	2.4
<i>dsf</i>	<i>NR2E1</i>	Artırılmış S-konisi sendromu	3	4.3
		Beyin hastalığı	2	3.8
<i>CG9095</i>	<i>SELE</i>	Hipertansiyon	5	*
		Ateroskleroz	4	6.9
		Diyabet	4	6.2
		GI sistem hastalığı	3	5.8
<i>CG15803</i>	<i>MPDZ</i>	Hidrosefali	3	5.0
		Ventrikülomegali	2	4.0
<i>zormin</i>	<i>CCDC141</i>	Kallmann sendromu	5	*

Davranış, sinir sistemi ve öğrenme ve hafıza ontoloji terimleri ile daha önce yapılmış olan çalışmalar ile ilişkilendirilmiş olan *rg* geninin sinaptik mimari, beyin morfolojisi ve çağrışımsal öğrenmeye ve dolayısı ile öğrenmeye dayalı davranış motiflerinin düzenlenmesi süreçlerine dahil olan bir proteini kodladığı bilinmektedir. Ürününün sinir sistemi bileşenleri olan mantar dokunun ve sinir-kas boşluklarının morfolojisini etkilemesine ek olarak salgı regülasyonunda da görev aldığı bilinmekte iken, genin bozukluğunda göz gelişiminin ve sinir sistemi

işlevinin olumsuz etkilendiği görülmüştür. Daha önce yapılmış bir çalışmada, *rg* geninin ergin erkek bireylerde alkol tüketimini arttığı raporlanmıştır (Fochler ve ark., 2017). Alkolün, ödül yolağı ile ilişkisi ve dolayısıyla bağımlılık yaratıcı etkisi bilinmektedir (MacNicol, 2017). Bu durum, *rg* geninin beslenme ve MSG'nin bağımlılık yaratıcı etkisiyle de ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Ek olarak, ilgili genin mutant alelini barındıran üçüncü evre larvalarda sosyal bozukluk ve lokomasyonda azalma gözlenirken erginlerinde hareketliliğin arttığı görülmüştür (Shamloula ve ark., 2002; Volders ve ark., 2012; Wise ve ark., 2015). Siklik AMP fosfodiesteraz kodlayarak cAMP degradasyonundan sorumlu olan *dnc* geninin öğrenme, çiftleşme, davranış plastisitesi sinaptik gelişim ve fonksiyonların düzenlenmesinde işlevsel olduğu bilinmektedir. Mutantlarında öğrenme bozukluğu, çiftleşme davranışında değişiklikler gözlemlenen genin, serotonerjik nöronlardan ifade olarak hücre iletişiminin sağlanmasında işlev gösteren cAMP/PKA (Protein Kinaz A) yolaklarını aktifleştirdiği bilinmekte. İlgili gen ek olarak, dopaminerjik nöronları aktive ederek koku hafıza merkezinin uyarılmasında da görev almaktadır (Aceves-Pina ve ark., 1983; Gailey, Hall ve Siegel, 1985; Scheunemann ve ark., 2018). Koku duyusunun beslenme davranışının regülasyonunda dış uyaran olarak rol aldığı, ek olarak cAMP sinyal yolağının beslenme regülasyonu üzerinde etkileri olduğu göz önüne alındığında (Ravnskjaer, Madiraju ve Montminy, 2016) *dnc* geni, heyecan verici bir adaydır. Saptanan bir diğer gen olan *Ino80* polikomb ve tritoraks grubu proteinlerle etkileşen kromatin yeniden modelleme kompleksinin bir bileşeninin kodlanmasını sağlamaktadır. Polikomb ve tritoraks grubu proteinler antagonistik etki ile embriyonik gelişim sürecinde *Hox* genlerinin ifadesini düzenleyen proteinlerdir (Soshnikova, 2011). *dnc* geninin larval evreler arası geçişi sağlayan bir sterol yapılı hormon olan ekdizona bağımlı olarak homeotik genlerin ifadesinin düzenlenmesini sağladığı bilinmekte olduğundan, gelişimsel olarak büyük önem taşıdığı söylenebilir (Neuman ve ark., 2014; Okamoto ve ark., 2018). Sinir sistemi sürecinde görevli olduğu bilinen *B9d1* geninin ise tektonik benzeri kompleksin bir bileşeninin kodladığı bilinmektedir. Tektonik benzeri kompleks sinek gözünde fotoreseptörlerdeki primer sillerin yapısını korumada görevli bir protein grubu olmakla birlikte aksiyon mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (Reiter ve Skarnes, 2006; Truong ve ark., 2023). Omurgasızlarda immün sistemde görevli olan hemositlerin üretiminin ve nöral farklılaşmanın kontrolünde görev alan bir

çekirdek reseptörü kodlayan *dsf* geninin, aynı zamanda eşeyssel davranış ve eşey-spesifik gelişimin de düzenlenmesinde işlev göstermekte olduğu bilinmektedir. Mutant aleli bulunduran ergin erkek bireylerde biseksüel davranış gözlenirken dişilerde yumurtlamaya direnme davranışı gözlenmiştir (Finley ve ark., 1997; Duckhorn ve ark., 2022). Saptanan bir diğer gen olan *CG9095* kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyonunun sağlanmasına ek olarak karbonhidrat bağlanma aktivitesini sağladığı düşünülmekte (Tanji, Ohashi-Kobayashi ve Natori, 2006). MSG verisi ile saptanmış son gen ve MSG ile MSG-Kontrol fark verilerinde ortak olduğu belirtilen gen olan *Gukh*'un da, nöroblast hücrelerinin mitotik fazında bölünmenin doğru gerçekleşmesinde görev alan iğ ipliklerinin oryantasyonunu sağlayan bir proteini kodladığı bilinmektedir. Sinir sisteminin gelişime ek olarak epitel doku polaritesinin de sağlanmasında görevli olduğu düşünülmektedir (Caria ve ark., 2018).

#### **4.2.3.3. MSG-Kontrol Farkı Grubu İçin Saptanan Aday Genler**

Her soy için, MSG içeren ve içermeyen besiyerlerinde elde edilen skor ortlamalarının farklarının (MSG-Kontrol), kontrol besiyerinden elde edilen skora bölünerek yüzde cinsine çevrilmesi ile elde edilen veri grubuyla gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan aday varyantlar incelenmiştir. Varyantların isabet ettikleri genler, varyantın fenotip üzerinde gösterdiği etki büyüklüğü, genin aldığı isabet sayısı ve genin lokasyonu Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir. Gen ontolojisi analizi sonuçları incelendiğinde fark verisi ile saptanan genlerin ağırlıklı olarak gelişim, metabolik süreçler ve hücresel süreçler ile ilişkili oldukları görülmüştür. Gen ontolojisi analizi sonuçları Çizelge 4.10.'de verilmiştir. Fark grubu sonuçları ile MSG grubu sonuçlarında ortak olarak bulunan *gukh* geninin değerlendirilmesi MSG grubu sonuçları ile yapıldığından burada bahsedilmemiştir.

Çizelge 4. 9. Yüzde cinsinden MSG-kontrol grupları farkı için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan aday genler ( $p < 10^{-5}$ ), kromozomal lokasyonları ve insan ortologları

Gen	Etki Büyüklüğü	İsabet Sayısı	Lokasyon
<i>CLIP-190</i>	-9.158	4	2L:17,384,700..17,409,698 [+]
<i>MESR3</i>	-7.625	1	2L:18,617,256..18,661,776 [+]
<i>gukh</i>	-11.67	1	3R:18,984,025..19,022,436 [+]
<i>bi</i>	-11.67	1	X:4,412,856..4,485,647 [+]
<i>Npc2d</i>	-8.747	1	3R:10,055,356..10,056,083 [-]
<i>dnr1</i>	6.579	1	2R:22,563,152..22,592,964 [-]
<i>trv</i>	-5.992	1	3R:28,026,615..28,090,740 [+]
<i>CG31076</i>	-11.24	1	3R:26,989,035..26,989,852 [-]
<i>Cul4</i>	-9.559	1	2R:8,102,260..8,106,318 [-]
<i>udd</i>	-9.559	1	2R:8,106,385..8,107,373 [+]
<i>CG1143</i>	-11.07	1	3L:2,645,368..2,647,192 [+]
<i>SPoCk</i>	-11.85	2	3L:22,749,444..22,787,631 [+]
<i>CG9902</i>	-11.77	1	X:16,542,124..16,547,520 [-]
<i>CG14949</i>	-11.76	1	3L:2,642,184..2,643,424 [-]

Çizelge 4. 10. MSG-Kontrol farkı grubu için saptanan aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları

Aday Genlerin İlişkili Oldukları Sistemler	Aday Genlerin İlişkili Oldukları Ontolojik Karakterlerin Özetleri	Aday Genler	Adet
Metabolik süreçler	Protein Übikitinasyonu, Übikitin Bağımlı Protein Katabolizasyonu, Metabolik Sürecin Düzenlenmesi, Protein Modifikasyonu, RNA Metabolizmasının Düzenlenmesi, Biyosentez Süreci, Proteoliz, Katabolik Süreç, Nitrojen Bileşenlerinin Metabolik Süreci	dnr1, Cul4, udd, MESR3, trv, bi,	6
Gelişim	Gelişimsel Pigmentasyon, Hücre Farklılaşması, Gelişim Süreci, Anatomik Yapı Morfogenezini, Hücre Gelişimi, Epitel Doku Gelişimi	Gukh, bi, Cul4, CG31076, CLIP-190	6

Çizelge 4. 11 MSG-Kontrol farkı grubu için saptanan genlerin insan ortologları ve ilişkili oldukları hastalıklar

Gen	İnsan ortoloğu	İlişkili Hastalıklar	Güvenilirlik (5 Z skoru üzerinden)
<i>rg</i>	<i>NBEA</i>	Epilepsi	4 *
		Otizm	3 5.1
<i>dnc</i>	<i>PDE4B</i>	Şizofreni	3 5.3
		Bipolar bozukluk	3 4.6
		GI sistem hastalığı	2 3.8
<i>Ino80</i>	<i>INO80</i>	Mine ve dentin çürümeleri	2 3.4 ve 3.3
<i>B9d1</i>	<i>B9D1</i>	Joubert sendromu	5 *
		Meckel sendromu	5 *
		Siliopati	4 6.2
<i>CG14511</i>	<i>SLC35B4</i>	Glikozilasyon kongenital rahatsızlığı tip II	2 3.5
		Dikarboksilik aminoasidüria	2 3.4
		Obezite	2 2.4
<i>dsf</i>	<i>NR2E1</i>	Artırılmış S-konisi sendromu	3 4.3
		Beyin hastalığı	2 3.8
<i>CG9095</i>	<i>SELE</i>	Hipertansiyon	5 *
		Ateroskleroz	4 6.9
		Diyabet	4 6.2
		GI sistem hastalığı	3 5.8
<i>CG15803</i>	<i>MPDZ</i>	Hidrocefali	3 5.0
		Ventrikülomegali	2 4.0
<i>zormin</i>	<i>CCDC141</i>	Kallmann sendromu	5 *
		hipogonadizm	3 4.6
<i>gukh</i>	<i>NHS</i>	Katarakt	5 *

Sinir sisteminde aktin ve mikrotübüllerin interaksiyonunu koordine ettiği bilinen *CLIP-190* geninin *Drosophila*'da otizm modellemesinde kullanılabileceği düşünülmektedir (Beaven ve ark., 2015; Marcogliese ve ark., 2022). İnsan ortoloğu *CLIP2*'nin de mutant alelleri bir gelişim bozukluğu olarak ortaya çıkan Williams-Beuren Sendromu ile entelektüel bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir. Gen ifadesinin düzenlenmesinde görevli bir protein kodladığı bilinen *MESR3*'ün *Rap1* genini baskılama işlevi gösterdiği bilinmektedir. Ras süper ailesinden bir protein

kodlayan *Rap1*, hücre sinyalleşmesinde, doku gelişimi ve büyümesinde işlev gösterirken mutant alellerinin gelişimsel bozukluklara sebep olduğu bilinmektedir (Marada, Truong ve Ogden, 2016). Pek çok süreçte aynı anda görev aldığı bilinen *bi* geninin, hücre çoğalması, yaşayabilirliği ve göçünün kontrolünde görev alan bir T-box transkripsiyon faktörü kodladığı ve beyin gelişiminde işlevsel olduğu bilinmektedir (Pflugfelder ve ark., 1992). Saptanan genlerden ilgi çekici olanlardan biri gelişimin farklı evrelerinde ve organizmanın farklı bölgelerinde ifade olduğu bilinen *Npc2* gen grubundan *Npc2d* genidir. Larval tükürük bezlerinde ifade edildiği bilinen *Npc2d*'nin hücrede sterol bağlanma ve taşınması süreçlerine dahil olarak kolesterol homeostazisinin sağlanmasında işlev gösterdiği bilinmektedir (Farese Jr ve Herz, 1998). İnsan ortoloğunun hücrelerde kolesterol birikmesi ile ortaya çıkan ve motor hareketlerin oluşumunu sağlayan sinyal yollarında görev alan serebellar purkinje nöronlarının dejenerasyonu ile tanımlanan Niemann-Pick hastalığı ile ilişkilendirildiği bilinmekte (Huang ve ark., 2007). Metabolik süreçlerde görev aldığı bilinen *dnr1* geni, apoptoz ve enflamasyonun meydana gelmesinde görevli olan kaspazlar ile etkileşerek doğal bağışıklık ve nöroenflamasyon oluşumuna baskılayıcı bir rolde olduğu bilinmektedir. *Drosophila*'da mutantları ömür kısalığı ve nöropatolojik fenotipler gösterirken insan ortoloğu olan *MYLIP*'in ise lipid metabolizması bozukluğu, koroner arter bozukluk ve diyabet ve obezite ile ilişkilendirme çalışmalarının sürmekte olduğu bilinmekte (Guntermann, Primrose ve Foley, 2009; Cao ve ark., 2013). Gelişim ve metabolik süreçlerde görev aldığı bilinen *Cul4* geninin ürününün, hücre büyümesi ve bölünmesi, transkripsiyon ve genom tamiri gibi çeşitli hücresel süreçlerde kullanılan proteinlerin parçalanmasında görev alan übikitin ligaz kompleksine dahil olduğu bilinmekte. Proteolizde aldığı görev doğrultusunda protein metabolizmasının regülasyonunda da işlevsel olduğu gibi, hücre döngüsünün regülasyonunun sağlanmasında da önemli bir genidir (Lin ve ark., 2009). *Cul4* geninin insan ortoloğu *Cul4A*, hücre döngüsünün düzenlenmesi üzerindeki görevi ile uyumlu olacak şekilde mutasyonlarında DNA hasarının tamir mekanizmasının bozulması kaynaklı ciltte oluşan pigmentasyon değişiklikleri semptomlarını gösteren zeroderma pigmentozum hastalığı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Kodladığı kalsiyum ATPaz vasıtası ile hücresel kalsiyum homeostazisini sağlamada işlev gösterdiği bilinen *SPoCk* geni, işlevi dolayısı ile hücre sinyalleşmesinde önemli bir role sahiptir (Southall ve ark., 2006).



Bahsedilen genlere ek olarak, işlevleri bilinmeyen CG1143, CG14949, CG9902 ve CG31076 genleri ve hakkında alternatif RNA kırılmasını (Splicing) regüle ediyor olması dışında bilgi bulunmayan trv geni de GWAS sonucunda saptanmıştır.

#### **4.2.4. Genel Değerlendirme ve İleri Çalışmalar**

Yapılan 3 farklı GWAS sonucunda saptanan genlerin insan ortologları saptanmış, ortologların ilişkili oldukları hastalıklar her grup için Çizelge 4.5. 4.8. ve 4.11.'de verilmiştir. Saptanan hastalıklar, daha önce yapılan çalışmalar ile ilgili genlerle ilişkilendirilmiş veya ilişkilendirilme çalışmaları süren hastalıklardır. Tezin ilgi odağında bulunan beslenme ile ilişkili hastalıklardan diyabet ve obeziteye ek olarak sindirim sistemi rahatsızlıkları ve diğer sistemsel hastalıklardan Mendel tipi kalıtıma sahip hastalıkların da saptanan genlerle ilişkili olduğu bulunmuştur. GWAS sonucunda saptanan genlerden 9'u önceki çalışmalarla obezite, diyabet, GI sistem rahatsızlıkları ve metabolik rahatsızlıklarla ilişkilendirilmiştir. İlişkilendirilmiş hastalıklar içerisinde hiperglisemi, karboksilik aminoasidüri, pankreas hastalığı, lipid metabolizması bozukluğu bulunmaktadır. Bahsi geçen hastalıkların bazılarının daha önceden ilişkilendirilmiş olduğu genler beslenme davranışıyla henüz ilişkilendirilmemiştir. Bu durum, daha önce beslenme yolları ile ilişkilendirilmemiş genlerin validasyon çalışması sonrası ilişkilerinin bulunabileceği ihtimalini arttırmaktadır. Beslenme ve ilgili hastalıklara ek olarak, saptanan genlerin, öğrenme güçlükleri, gelişim bozuklukları, nörodejeneratif rahatsızlıklar ile de ilişkili oldukları görülmüştür. İlgili genlerin ürünlerinin, tezin ilgi odağı yollarındaki etkisi bilinmemekle beraber, yanlış pozitif olup olmadıkları yine tez çalışmasını takiben gerçekleştirilecek olan validasyon çalışmaları ile doğrulanmalarının ardından literatüre kazandırılacaktır.

Bu tez çalışması ile, çıkış noktası olan konunun literatür araştırması detaylı ve etik kurallar dahilinde gerçekleştirilmiş, ilgili sorunun cevaplarını bulmaya yönelik bilimsel araştırma yöntemlerine uygun bir deney tasarımı geliştirilmiş, deney grupları belirlenmiş, deneyler ve veri analizleri gerçekleştirilmiş ve hedeflenen

genom çaplı ilişkilendirme analizler (GWAS) yapılmıştır. Elde edilen GWAS sonuçlarının, ilgili genler, genlerin fonksiyonları, insan ortologları ve bu ortologların ilişkili olduğu belirlenen hastalıklar üzerinden incelemesi yapılmıştır. Tez çalışması ile, önerildiği üzere yapılması planlanan basamakların tamamı başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir.

Bu tez çalışmasında, *D. melanogaster*'de monosodyum glutamat etkisi altında larval beslenme davranışı detaylı şekilde incelenmiş ve bu davranışı etkileyen genler, sayısallaştırılan veriler üzerinden gerçekleştirilen genom boyulu ilişkilendirme analizi ile belirlenmiştir. Saptanan ve incelenen varyantların fenotip üzerindeki etkileri literatüre kazandırılmadan önce validasyon çalışmaları ile doğrulanmaya muhtaçtır. Genotip-fenotip ilişkilendirme çalışmalarının validasyon basamağı, saptanan aday genlerin fenotip ile ilişkilendirilmesinin nihai sonucunu elde etmek amacıyla kaçınılmazdır. Validasyon çalışmalarını gerçekleştirmek için ilgili genlerin manipülasyonu sağlanır. Bu manipülasyonlar, polimorfizm seviyesinde veya gen seviyesinde olabilmektedir. Gen seviyesinde gerçekleştirilen değişiklikler, transpozon veya RNA interferans kullanılarak genin tamamen susturulmasına, genin fonksiyonel bir ürününü üretemeyen soyların elde edilmesine dayanır (Rubin ve Spradling, 1982; Ryder ve Russell, 2003; Kavi ve ark., 2005). Mutant soylar ve bu soyların üretildiği kontrol soyları, validasyon aşamasında kullanılması kararlaştırılan fenotipler açısından incelenir, elde edilen sayısal veriler istatistiksel olarak karşılaştırılarak sonucun anlamlılığı incelenir. Gen seviyesinde gerçekleştirilen manipülasyonlarda, gen tamamen susturulmuş veya ifadesi çok azaltılmış olur. Bu durum, genin fenotipe olan etkisini incelemede kullanışlı olsa da, GWAS ile saptanmış olan spesifik polimorfizmin sebep olduğu değişikliği gen üzerinde taklit etmeye yakın değildir. Polimorfizm seviyesinde manipülasyonlar ise, GWAS'ta anlamlı olduğu saptanan polimorfizmleri birebir taklit ederek aynı değişikliğin genomda bulunmasını sağlar. Bu, CRISPR ile veya *Drosophila*'da ilgili polimorfizmi genomunda bulunduran bireylerin çaprazlanması ile genom dizisi randomize edilmiş fakat ilgili polimorfizmi homozigot olarak taşıyan outbred soyların oluşturulmasına dayanan round-robin yöntemi ile sağlanabilir. Bu yöntemde ilgili polimorfizmi direkt olarak barındıran, dolayısı ile polimorfizmin genin ürününe olan yansımalarını doğrudan taklit eden bir protein,

organizma tarafından kodlanır (Huang ve ark., 2012; Baker ve ark., 2021) ve ilgili proteinin, ilişkili olmaya aday olduğu yolaktaki fonksiyonunun anlaşılmasında çözünürlüğü artırır. Bu yöntemler ile elde edilen soylar da, ilgili polimorfizmi taşıyan ve taşımayan soyların fenotipik olarak karşılaştırılması ile validasyon çalışmalarında kullanılır.

Tez çalışması kapsamında larval evrede incelenen beslenme davranışı ilişkili olmaya aday olarak saptanmış olan genler, ileri çalışma ile validasyon aşamasında kullanılacaktır. Validasyon aşaması, karar verilen şekilde genetik manipülasyonu gerçekleştirmiş soylar ve onların kontrol soyları ile, birkaç basamakta gerçekleştirilebilir. İlk önce ilgili soylar deneyde kullanılan yöntemin aynısı ile, katı MSG'li ve kontrol besiyerlerinde üçüncü evre larvaların beslenme performansları üzerinden incelenecektir. Buna ek olarak, incelenen fenotip kapsamında, kronik olarak MSG ile ve kontrol besiyeri ile beslenmiş olan bireylerin beden kütleleri ve total karbonhidrat içeriği ve total lipid içeriği açısından spektrofotometrik yöntemler ile değerlendirilmeleri, ilgili genlerin validasyonlarında kullanılabilir yöntemlerdir. Validasyon çalışması sonucunda doğrulaması gerçekleşen genler, beslenme davranışı ile ilişkili olduğu istatistiksel olarak belirlenmiş olarak literatüre kazandırılacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

- Abuin, L., Bargeton, B., ve ark.Benton, R., Functional Architecture of Olfactory Ionotropic Glutamate Receptors, *Neuron*, 69 (2011) 44-60.
- Aceves-Pina, E., Booker, R., ve ark.Tully, T. (1983). Learning and Memory in Drosophila, Studied with Mutants. Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Allen, D. H., Baker, G. J., Chinese-Restaurant Asthma, *N Engl J Med*, 305 (1981) 1154-1155.
- Alonso-Alonso, M., Woods, S. C., ve ark.Beauchamp, G. K., Food Reward System: Current Perspectives and Future Research Needs, *Nutr Rev*, 73 (2015) 296-307.
- Anand, B. K., Brobeck, J. R., Hypothalamic Control of Food Intake in Rats and Cats, *Yale J Biol Med*, 24 (1951) 123-140.
- Ashburner, M., Golic, K. G., Hawley, R. S., *Drosophila: A Laboratory Handbook*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005.
- Ataseven, N., Yuzbasioglu, D., ve ark.Unal, F., Genotoxicity of Monosodium Glutamate, *Food Chem Toxicol*, 91 (2016) 8-18.
- Attia, E., Guarda, A. S., Prevention and Early Identification of Eating Disorders, *JAMA*, 327 (2022) 1029-1031.
- Bader, R., Colomb, J., ve ark.Pankratz, M. J., Genetic Dissection of Neural Circuit Anatomy Underlying Feeding Behavior in Drosophila: Distinct Classes of Hugin-Expressing Neurons, *J Comp Neurol*, 502 (2007) 848-856.
- Baker, B. M., Carbone, M. A., ve ark.Mackay, T. F., Genetic Basis of Variation in Cocaine and Methamphetamine Consumption in Outbred Populations of Drosophila Melanogaster, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118 (2021) e2104131118.
- Bakker, K., Feeding Period, Growth, and Pupation in Larvae of Drosophila Melanogaster, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2 (1959) 171-186.
- Bakker, K., Selection for Rate of Growth and Its Influence on Competitive Ability of Larvae of Drosophila Melanogaster, *Netherlands Journal of Zoology*, 19 (1968) 541-595.
- Bass, T. M., Grandison, R. C., ve ark.Piper, M. D., Optimization of Dietary Restriction Protocols in Drosophila, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 62 (2007) 1071-1081.
- Beaven, R., Dzhindzhev, N. S., ve ark.Prokop, A., Drosophila Clip-190 and Mammalian Clip-170 Display Reduced Microtubule Plus End Association in the Nervous System, *Molecular biology of the cell*, 26 (2015) 1491-1508.
- Bellisile, F., Monneuse, M. O., ve ark.Louissylvestre, J., Monosodium Glutamate as a Palatability Enhancer in the European Diet, *Physiology & behavior*, 49 (1991) 869-873.

- Bene, J., Hadzsiev, K., Melegh, B., Role of Carnitine and Its Derivatives in the Development and Management of Type 2 Diabetes, *Nutrition & diabetes*, 8 (2018) 8.
- Benelam, B., Satiating, Satiety and Their Effects on Eating Behaviour, *Nutrition bulletin*, 34 (2009) 126-173.
- Bernstein, L. M., Grossman, M. I., An Experimental Test of the Glucostatic Theory of Regulation of Food Intake, *J Clin Invest*, 35 (1956) 627-633.
- Berridge, K. C., The Debate over Dopamine's Role in Reward: The Case for Incentive Salience, *Psychopharmacology (Berl)*, 191 (2007) 391-431.
- Berridge, K. C., Food Reward: Brain Substrates of Wanting and Liking, *Neurosci Biobehav Rev*, 20 (1996) 1-25.
- Berridge, K. C., 'Liking' and 'Wanting' Food Rewards: Brain Substrates and Roles in Eating Disorders, *Physiol Behav*, 97 (2009) 537-550.
- Berthoud, H. R., Metabolic and Hedonic Drives in the Neural Control of Appetite: Who Is the Boss?, *Curr Opin Neurobiol*, 21 (2011) 888-896.
- Beyreuther, K., Biesalski, H. K., ve ark.Walker, R., Consensus Meeting: Monosodium Glutamate—an Update, *European journal of clinical nutrition*, 61 (2007) 304-313.
- Bharucha, K. N., Tarr, P., Zipursky, S. L., A Glucagon-Like Endocrine Pathway in *Drosophila* Modulates Both Lipid and Carbohydrate Homeostasis, *Journal of Experimental Biology*, 211 (2008) 3103-3110.
- Bhumika, S. A., Kumar, S., Regulation of Feeding Behavior in *Drosophila* through the Interplay of Gustation, Physiology and Neuromodulation, *Front Biosci (Landmark Ed)*, 23 (2018) 2016-2027.
- Brown, M. R., Crim, J. W., ve ark.Shen, P., Identification of a *Drosophila* Brain-Gut Peptide Related to the Neuropeptide Y Family, *Peptides*, 20 (1999) 1035-1042.
- Butnariu, M., Sarac, I., What Is Sodium Glutamate and What Effects It Has on Health, *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6 (2019) 223-226.
- Cao, Y., Chtarbanova, S., ve ark.Ganetzky, B., Dnr1 Mutations Cause Neurodegeneration in *Drosophila* by Activating the Innate Immune Response in the Brain, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (2013) E1752-E1760.
- Caria, S., Magtoto, C. M., ve ark.Kvansakul, M., *Drosophila Melanogaster* Guk-Holder Interacts with the Scribbled Pdz1 Domain and Regulates Epithelial Development with Scribbled and Discs Large, *Journal of Biological Chemistry*, 293 (2018) 4519-4531.
- Carillo, M. R., Bertapelle, C., ve ark.Digilio, F. A., L-Carnitine in *Drosophila*: A Review, *Antioxidants*, 9 (2020) 1310.
- Castaneda, T. R., Tong, J., ve ark.Tschop, M. H., Ghrelin in the Regulation of Body Weight and Metabolism, *Front Neuroendocrinol*, 31 (2010) 44-60.
- Centers for Disease Control and Prevention (2012). Obesity.

- Chantranupong, L., Scaria, S. M., ve ark.Sabatini, D. M., The Castor Proteins Are Arginine Sensors for the Mtorc1 Pathway, *Cell*, 165 (2016) 153-164.
- Chantranupong, L., Wolfson, R. L., Sabatini, D. M., Nutrient-Sensing Mechanisms across Evolution, *Cell*, 161 (2015) 67-83.
- Chaput, J. P., Tremblay, A., The Glucostatic Theory of Appetite Control and the Risk of Obesity and Diabetes, *Int J Obes (Lond)*, 33 (2009) 46-53.
- Chen, J. T., Reiher, W., ve ark.Wegener, C., Allatostatin a Signalling in Regulates Feeding and Sleep and Is Modulated by Pdf, *PLoS genetics*, 12 (2016) e1006346.
- Chung, Y.-J., Hong, H.-J., A Study of the Effect of Monosodium Glutamate on the Development of *Drosophila Melanogaster*, *The Korean Journal of Zoology*, 16 (1973) 127-137.
- Cleynen, I., Halfvarsson, J., How to Approach Understanding Complex Trait Genetics—Inflammatory Bowel Disease as a Model Complex Trait, (2019)
- Clyne, P. J., Warr, C. G., Carlson, J. R., Candidate Taste Receptors in *Drosophila*, *Science*, 287 (2000) 1830-1834.
- Coşkunsu, S., Hedonik Açlık, *Artuklu International Journal of Health Sciences*, 1 (2021) 7-11.
- Couch, J. A., Chen, J., ve ark.Condron, B. G., Robo2 and Robo3 Interact with Eagle to Regulate Serotonergic Neuron Differentiation, (2004)
- Croset, V., Schleyer, M., ve ark.Benton, R., A Molecular and Neuronal Basis for Amino Acid Sensing in the *Drosophila* Larva, *Sci Rep*, 6 (2016) 34871.
- Culbert, K. M., Racine, S. E., Klump, K. L., Research Review: What We Have Learned About the Causes of Eating Disorders - a Synthesis of Sociocultural, Psychological, and Biological Research, *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 56 (2015) 1141-1164.
- Date, Y., Kojima, M., ve ark.Nakazato, M., Ghrelin, a Novel Growth Hormone-Releasing Acylated Peptide, Is Synthesized in a Distinct Endocrine Cell Type in the Gastrointestinal Tracts of Rats and Humans, *Endocrinology*, 141 (2000) 4255-4261.
- Deepak, D. K., MS, Effect of Chronic Exposure of Monosodium Glutamate (Msg) on Viability and Rate of Feeding in Two Different Strains of *Drosophila Melanogaster*, *International Journal of Recent Scientific Research*, 6 (2015) 3.
- Dethier, V. G., The Hungry Fly: A Physiological Study of the Behavior Associated with Feeding, (1976)
- Dewan, A., Liu, M., ve ark.Hoh, J., Htra1 Promoter Polymorphism in Wet Age-Related Macular Degeneration, *Science*, 314 (2006) 989-992.
- Diegelmann, S., Jansen, A., ve ark.Scholz, H., The Capillary Feeder Assay Measures Food Intake in *Drosophila Melanogaster*, *J Vis Exp*, (2017) e55024.

- Duckhorn, J. C., Cande, J., ve ark.Shirangi, T. R., Regulation of Drosophila Courtship Behavior by the Tlx/Tailless-Like Nuclear Receptor, Dissatisfaction, *Current Biology*, 32 (2022) 1703-1714. e1703.
- Dunipace, L., Meister, S., ve ark.Amrein, H., Spatially Restricted Expression of Candidate Taste Receptors in the Drosophila Gustatory System, *Curr Biol*, 11 (2001) 822-835.
- European Food Safety Authority, Efsa Reviews Safety of Glutamates Added to Food, <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/170712> (Erişim Tarihi: **16 Temmuz 2023**).
- Eweka, A., Omlniabohs, F., Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Kidney of Adult Wistar Rats, *The internet journal of health*, 6 (2007) 45-67.
- Falk, R., Bleiser-Avivi, N., Atidia, J., Labellar Taste Organs of Drosophila Melanogaster, *J Morphol*, 150 (1976) 327-341.
- Fan, M. Z., Matthews, J. C., ve ark.Burrin, D. G., Expression of Apical Membrane L-Glutamate Transporters in Neonatal Porcine Epithelial Cells Along the Small Intestinal Crypt-Villus Axis, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 287 (2004) G385-398.
- Farese Jr, R. V., Herz, J., Cholesterol Metabolism and Embryogenesis, *Trends in Genetics*, 14 (1998) 115-120.
- Fell, R. D., The Qualitative and Quantitative Analysis of Insect Hemolymph Sugars by High Performance Thin-Layer Chromatography, *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 95 (1990) 539-544.
- Ferdinandusse, S., Mulders, J., ve ark.Wanders, R. J., Molecular Cloning and Expression of Human Carnitine Octanoyltransferase: Evidence for Its Role in the Peroxisomal B-Oxidation of Branched-Chain Fatty Acids, *Biochemical and biophysical research communications*, 263 (1999) 213-218.
- Finley, K. D., Taylor, B. J., ve ark.McKeown, M., Dissatisfaction, a Gene Involved in Sex-Specific Behavior and Neural Development of Drosophila Melanogaster, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94 (1997) 913-918.
- Fochler, S., Morozova, T. V., ve ark.Anholt, R. R., Genetics of Alcohol Consumption in Drosophila Melanogaster, *Genes, Brain and Behavior*, 16 (2017) 675-685.
- Freeman, M., Reconsidering the Effects of Monosodium Glutamate: A Literature Review, *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*, 18 (2006) 482-486.
- Gaertner, B. E., Ruedi, E. A., ve ark.Mackay, T. F., Heritable Variation in Courtship Patterns in Drosophila Melanogaster, *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 5 (2015) 531-539.
- Gahagan, S., Development of Eating Behavior: Biology and Context, *J Dev Behav Pediatr*, 33 (2012) 261-271.

- Gailey, D. A., Hall, J. C., Siegel, R. W., Reduced Reproductive Success for a Conditioning Mutant in Experimental Populations of *Drosophila Melanogaster*, *Genetics*, 111 (1985) 795-804.
- Garlapow, M. E., Huang, W., ve ark.Mackay, T. F., Quantitative Genetics of Food Intake in *Drosophila Melanogaster*, *PLoS One*, 10 (2015) e0138129.
- Geminard, C., Rulifson, E. J., Leopold, P., Remote Control of Insulin Secretion by Fat Cells in *Drosophila*, *Cell Metab*, 10 (2009) 199-207.
- Giovanni, M. E., Sensory and Functional Properties of Monosodium Glutamate, Colorado State University, 2002.
- Goddard, M. E., Kemper, K. E., ve ark.Hayes, B. J., Genetics of Complex Traits: Prediction of Phenotype, Identification of Causal Polymorphisms and Genetic Architecture, *Proc Biol Sci*, 283 (2016) 20160569.
- Gramates, L. S., Agapite, J., ve ark.Kaufman, T., Flybase: A Guided Tour of Highlighted Features, *Genetics*, 220 (2022) iyac035.
- Grandison, R. C., Piper, M. D., Partridge, L., Amino-Acid Imbalance Explains Extension of Lifespan by Dietary Restriction in *Drosophila*, *Nature*, 462 (2009) 1061-1064.
- Grissa, D., Junge, A., ve ark.Jensen, L. J., Diseases 2.0: A Weekly Updated Database of Disease–Gene Associations from Text Mining and Data Integration, *Database*, 2022 (2022) baac019.
- Guntermann, S., Primrose, D. A., Foley, E., Dnr1-Dependent Regulation of the *Drosophila* Immune Deficiency Signaling Pathway, *Developmental & Comparative Immunology*, 33 (2009) 127-134.
- Ha, E.-M., Oh, C.-T., ve ark.Lee, W.-J., A Direct Role for Dual Oxidase in *Drosophila* Gut Immunity, *Science*, 310 (2005) 847-850.
- Hales, K. G., Korey, C. A., ve ark.Roberts, D. M., Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System, *Genetics*, 201 (2015) 815-842.
- Harbison, S. T., McCoy, L. J., Mackay, T. F., Genome-Wide Association Study of Sleep in *Drosophila Melanogaster*, *BMC genomics*, 14 (2013) 281.
- He, K., Zhao, L., ve ark.Zhou, B., Association of Monosodium Glutamate Intake with Overweight in Chinese Adults: The Intermap Study, *Obesity*, 16 (2008) 1875-1880.
- Heidarian, Y., Tourigny, J. P., ve ark.Tennessen, J. M., Metabolomic Analysis of *Drosophila Melanogaster* Larvae Lacking Pyruvate Kinase, G3: Genes, Genomes, *Genetics*, 14 (2024) jkad228.
- Hergarden, A. C., Tayler, T. D., Anderson, D. J., Allatostatin-a Neurons Inhibit Feeding Behavior in Adult *Drosophila*, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109 (2012) 3967-3972.
- Hernandez, K., Myers, L. G., ve ark.Kidd, T., Genetic Tools for the Analysis of *Drosophila* Stomatogastric Nervous System Development, *PLoS One*, 10 (2015) e0128290.
- Hetherington, A., Ranson, S., Hypothalamic Lesions and Adiposity in the Rat, *The Anatomical Record*, 78 (1940) 149-172.



- Hinney, A., Volckmar, A.-L., Genetics of Eating Disorders, *Current psychiatry reports*, 15 (2013) 1-9.
- Hu, Y., Comjean, A., ve ark.Perrimon, N., Pangea: A New Gene Set Enrichment Tool Fordrosophilaand Common Research Organisms, (2023)
- Hu, Y., Comjean, A., ve ark.Mohr, S. E., Flyrnai. Org—the Database of the Drosophila Rnai Screening Center and Transgenic Rnai Project: 2021 Update, *Nucleic Acids Research*, 49 (2021) D908-D915.
- Huang, W., Massouras, A., ve ark.Mackay, T. F. C., Natural Variation in Genome Architecture among 205 Genetic Reference Panel Lines, *Genome research*, 24 (2014) 1193-1208.
- Huang, W., Richards, S., ve ark.Magwire, M. M., Epistasis Dominates the Genetic Architecture of Drosophila Quantitative Traits, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109 (2012) 15553-15559.
- Huang, X., Warren, J. T., ve ark.Scott, M. P., Drosophila Niemann-Pick Type C-2 Genes Control Sterol Homeostasis and Steroid Biosynthesis: A Model of Human Neurodegenerative Disease, (2007)
- Husarova, V., Ostatnikova, D., Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implications for Human Intake: A Review, *Jmed Research*, 2013 (2013) 1-12.
- Hussain, A., Zhang, M., ve ark.Grunwald Kadow, I. C., Ionotropic Chemosensory Receptors Mediate the Taste and Smell of Polyamines, *PLoS Biol*, 14 (2016) e1002454.
- Ikeda, K., On a New Seasoning, *J. Tokyo Chem. Soc.*, 30 (1909) 820-836.
- Inagaki, H. K., Ben-Tabou de-Leon, S., ve ark.Anderson, D. J., Visualizing Neuromodulation in Vivo: Tango-Mapping of Dopamine Signaling Reveals Appetite Control of Sugar Sensing, *Cell*, 148 (2012) 583-595.
- Ivanov, D. K., Escott-Price, V., ve ark.Thornton, J. M., Longevity Gwas Using the Drosophila Genetic Reference Panel, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 70 (2015) 1470-1478.
- Iwanaga, T., Goto, M., Watanabe, M., Cellular Distribution of Glutamate Transporters in the Gastrointestinal Tract of Mice: An Immunohistochemical and in Situ Hybridization Approach, *Biomed Res*, 26 (2005) 271-278.
- Iwasaki, K., Kasahara, T., Sato, M., Gustatory Effectiveness of Amino Acids in Mice: Behavioral and Neurophysiological Studies, *Physiol Behav*, 34 (1985) 531-542.
- Jager, G., Witkamp, R. F., The Endocannabinoid System and Appetite: Relevance for Food Reward, *Nutr Res Rev*, 27 (2014) 172-185.
- Joseph, R. M., Carlson, J. R., Chemoreceptors: A Molecular Interface between the Chemical World and the Brain, *Trends in Genetics*, 31 (2015) 683-695.

- Jourjine, N., Mullaney, B. C., ve ark.Scott, K., Coupled Sensing of Hunger and Thirst Signals Balances Sugar and Water Consumption, *Cell*, 166 (2016) 855-866.
- Jung, J., Kim, D.-I., ve ark.Kwon, H. W., The Effects of High Fat Diet-Induced Stress on Olfactory Sensitivity, Behaviors, and Transcriptional Profiling in *Drosophila Melanogaster*, *International journal of molecular sciences*, 19 (2018) 2855.
- Kanai, Y., Hediger, M. A., The Glutamate and Neutral Amino Acid Transporter Family: Physiological and Pharmacological Implications, *Eur J Pharmacol*, 479 (2003) 237-247.
- Karnani, M., Burdakov, D., Multiple Hypothalamic Circuits Sense and Regulate Glucose Levels, *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300 (2011) R47-R55.
- Kasozi, K. I., Namubiru, S., ve ark.Okpanachi, A. O., Low Concentrations of Monosodium Glutamate (Msg) Are Safe in Male *Drosophila Melanogaster*, *BMC Res Notes*, 11 (2018) 670.
- Kavi, H. H., Fernandez, H. R., ve ark.Birchler, J. A., Rna Silencing in *Drosophila*, *FEBS letters*, 579 (2005) 5940-5949.
- Kayode, O. T., Bello, J. A., ve ark.Olukoya, D. K., The Interplay between Monosodium Glutamate (Msg) Consumption and Metabolic Disorders, *Heliyon*, (2023)
- Kazmi, Z., Fatima, I., ve ark.Malik, S. S., Monosodium Glutamate: Review on Clinical Reports, *International Journal of Food Properties*, 20 (2017) 1807-1815.
- Kennedy, G. C., The Role of Depot Fat in the Hypothalamic Control of Food Intake in the Rat, *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 140 (1953) 578-596.
- Kenny, P. J., Reward Mechanisms in Obesity: New Insights and Future Directions, *Neuron*, 69 (2011) 664-679.
- Khalaf, H. A., Arafat, E. A., Effect of Different Doses of Monosodium Glutamate on the Thyroid Follicular Cells of Adult Male Albino Rats: A Histological Study, *Int J Clin Exp Pathol*, 8 (2015) 15498-15510.
- Kim, S. K., Rulifson, E. J., Conserved Mechanisms of Glucose Sensing and Regulation by *Drosophila Corpora Cardiaca* Cells, *Nature*, 431 (2004) 316-320.
- Klein, R. J., Zeiss, C., ve ark.Hoh, J., Complement Factor H Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration, *Science*, 308 (2005) 385-389.
- Kochem, M., Breslin, P. A., Clofibrate Inhibits the Umami-Savory Taste of Glutamate, *PLoS One*, 12 (2017) e0172534.
- Kohyama-Koganeya, A., Kurosawa, M., Hirabayashi, Y., Differential Effects of Tissue-Specific Deletion of *Boss* on Feeding Behaviors and Energy Metabolism, *PLoS One*, 10 (2015) e0133083.
- Konturek, S. J., Zabielski, R., ve ark.Czarnecki, J., Neuroendocrinology of the Pancreas; Role of Brain-Gut Axis in Pancreatic Secretion, *Eur J Pharmacol*, 481 (2003) 1-14.

- Kreiskoether, N., Reichert, N., ve ark.Renkawitz-Pohl, R., Drosophila Rolling Pebbles Colocalises and Putatively Interacts with Alpha-Actinin and the SIs Isoform Zormin in the Z-Discs of the Sarcomere and with Dumbfounded/Kirre, Alpha-Actinin and Zormin in the Terminal Z-Discs, *Journal of Muscle Research & Cell Motility*, 27 (2006) 93-106.
- Ku, C. S., Loy, E. Y., ve ark.Chia, K. S., The Pursuit of Genome-Wide Association Studies: Where Are We Now?, *Journal of human genetics*, 55 (2010) 195-206.
- Kwok, R. H., Chinese-Restaurant Syndrome, *N Engl J Med*, 278 (1968) 796.
- Lakhotia, S. C., Ranganath, H. A., Experiments with Drosophila for Biology Courses, Indian Academy of Sciences, India,2021.
- Langhans, W., Geary, N., Overview of the Physiological Control of Eating, *Forum Nutr*, 63 (2010) 9-53.
- Lee, G., Schwarz, T. L., Filamin, a Synaptic Organizer in Drosophila, Determines Glutamate Receptor Composition and Membrane Growth, *elife*, 5 (2016) e19991.
- Lee, K. P., Simpson, S. J., ve ark.Raubenheimer, D., Lifespan and Reproduction in Drosophila: New Insights from Nutritional Geometry, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 (2008) 2498-2503.
- Lee, K. S., Kwon, O. Y., ve ark.Yu, K., Drosophila Short Neuropeptide F Signalling Regulates Growth by Erk-Mediated Insulin Signalling, *Nat Cell Biol*, 10 (2008) 468-475.
- Lee, K. S., You, K. H., ve ark.Yu, K., Drosophila Short Neuropeptide F Regulates Food Intake and Body Size, *J Biol Chem*, 279 (2004) 50781-50789.
- Lewis, R. G., Florio, E., ve ark.Borrelli, E., The Brain's Reward System in Health and Disease, *Adv Exp Med Biol*, 1344 (2021) 57-69.
- Lin, H.-C., Wu, J.-T., ve ark.Chien, C.-T., Cul4 and Ddb1 Regulate Orc2 Localization, Brdu Incorporation and Dup Stability During Gene Amplification in Drosophila Follicle Cells, *Journal of cell science*, 122 (2009) 2393-2401.
- Lin, S., Senapati, B., Tsao, C. H., Neural Basis of Hunger-Driven Behaviour in Drosophila, *Open Biol*, 9 (2019) 180259.
- Loos, R. J. F., Yeo, G. S. H., The Genetics of Obesity: From Discovery to Biology, *Nat Rev Genet*, 23 (2022) 120-133.
- Mackay, T. F., Richards, S., ve ark.Gibbs, R. A., The Drosophila Melanogaster Genetic Reference Panel, *Nature*, 482 (2012) 173-178.
- Mackay, T. F., Stone, E. A., Ayroles, J. F., The Genetics of Quantitative Traits: Challenges and Prospects, *Nat Rev Genet*, 10 (2009) 565-577.
- MacNicol, B., The Biology of Addiction, *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*, 64 (2017) 141-148.
- Marada, S., Truong, A., Ogden, S. K., The Small Gtpase Rap1 Is a Modulator of Hedgehog Signaling, *Developmental biology*, 409 (2016) 84-94.

- Marcogliese, P. C., Deal, S. L., ve ark.Bei, D., *Drosophila* Functional Screening of De Novo Variants in Autism Uncovers Damaging Variants and Facilitates Discovery of Rare Neurodevelopmental Diseases, *Cell reports*, 38 (2022)
- Markow, T. A., *The Secret Lives of Drosophila Flies*, *elife*, 4 (2015) e06793.
- Markow, T. A., O'Grady, P. M., *Drosophila; a Guide to Species Identification and Use*, Elsevier, 2006.
- Mayer, J., Regulation of Energy Intake and the Body Weight: The Glucostatic Theory and the Lipostatic Hypothesis, *Ann N Y Acad Sci*, 63 (1955) 15-43.
- McConn, B. R., Gilbert, E. R., Cline, M. A., Appetite-Associated Responses to Central Neuropeptide Y Injection in Quail, *Neuropeptides*, 69 (2018) 9-18.
- McKellar, C. E., Motor Control of Fly Feeding, *J Neurogenet*, 30 (2016) 101-111.
- Melcher, C., Bader, R., Pankratz, M. J., Amino Acids, Taste Circuits, and Feeding Behavior in *Drosophila*: Towards Understanding the Psychology of Feeding in Flies and Man, *J Endocrinol*, 192 (2007) 467-472.
- Meunier, N., Marion-Poll, F., ve ark.Tanimura, T., Peripheral Coding of Bitter Taste in *Drosophila*, *J Neurobiol*, 56 (2003) 139-152.
- Millward, D. J., Layman, D. K., ve ark.Schaafsma, G., Protein Quality Assessment: Impact of Expanding Understanding of Protein and Amino Acid Needs for Optimal Health, *Am J Clin Nutr*, 87 (2008) 1576S-1581S.
- Miyamoto, T., Amrein, H., Gluconeogenesis: An Ancient Biochemical Pathway with a New Twist, *Fly*, 11 (2017) 218-223.
- Miyamoto, T., Slone, J., ve ark.Amrein, H., A Fructose Receptor Functions as a Nutrient Sensor in the Brain, *Cell*, 151 (2012) 1113-1125.
- Montell, C., A Taste of the *Drosophila* Gustatory Receptors, *Curr Opin Neurobiol*, 19 (2009) 345-353.
- Mullins, N., Forstner, A. J., ve ark.Psychiat, H. A.-I., Genome-Wide Association Study of More Than 40,000 Bipolar Disorder Cases Provides New Insights into the Underlying Biology, *Nature genetics*, 53 (2021) 817-+.
- Munzberg, H., Qualls-Creekmore, E., ve ark.Berthoud, H. R., Hedonics Act in Unison with the Homeostatic System to Unconsciously Control Body Weight, *Front Nutr*, 3 (2016) 6.
- Musselman, L. P., Fink, J. L., ve ark.Baranski, T. J., Role of Fat Body Lipogenesis in Protection against the Effects of Caloric Overload in *Drosophila*, *Journal of Biological Chemistry*, 288 (2013) 8028-8042.
- Myers, L., Perera, H., ve ark.Kidd, T., The *Drosophila* Ret Gene Functions in the Stomatogastric Nervous System with the Maverick Tgf $\beta$  Ligand and the Gfrl Co-Receptor, *Development*, 145 (2018) dev157446.
- Nakagawa, T., Ukai, K., ve ark.Okamura, H., Effects of Chronic Administration of Sibutramine on Body Weight, Food Intake and Motor Activity in Neonatally Monosodium Glutamate-Treated Obese Female Rats:

- Relationship of Antiobesity Effect with Monoamines, *Exp Anim*, 49 (2000) 239-249.
- Neuman, S. D., Ihry, R. J., ve ark.Bashirullah, A., Ino80-Dependent Regression of Ecdysone-Induced Transcriptional Responses Regulates Developmental Timing in *Drosophila*, *Developmental biology*, 387 (2014) 229-239.
- Nichols, R., Lim, I., Spatial and Temporal Immunocytochemical Analysis of Drosulfakinin (Dsk) Gene Products in the *Drosophila Melanogaster* Central Nervous System, *Cell and tissue research*, 283 (1995) 107-116.
- Nicolas, E., Preat, T., *Drosophila* Central Brain Formation Requires Robo Proteins, *Development genes and evolution*, 215 (2005) 530-536.
- Ninomiya, K., Natural Occurrence, *Food Reviews International*, 14 (1998) 177-211.
- Nishijo, H., Ono, T., *Neural Mechanisms of Feeding Behavior and Its Disorders*, IntechOpen London, UK, 2020
- Novin, D., Robinson, K., ve ark.Tordoff, M. G., Is There a Role for the Liver in the Control of Food Intake?, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42 (1985) 1050-1062.
- Okamoto, N., Viswanatha, R., ve ark.Yamanaka, N., A Membrane Transporter Is Required for Steroid Hormone Uptake in *Drosophila*, *Developmental cell*, 47 (2018) 294-305. e297.
- Okwudiri, O. O., Sylvanus, A. C., Peace, I. A., Monosodium Glutamate Induces Oxidative Stress and Affects Glucose Metabolism in the Kidney of Rats, *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 2 (2012) 1.
- Pedrazzini, T., Pralong, F., Grouzmann, E., Neuropeptide Y: The Universal Soldier, *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 60 (2003) 350-377.
- Pflugfelder, G. O., Roth, H., ve ark.Heisenberg, M., The Lethal (1) Optomotor-Blind Gene of *Drosophila Melanogaster* Is a Major Organizer of Optic Lobe Development: Isolation and Characterization of the Gene, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89 (1992) 1199-1203.
- Pool, A. H., Scott, K., Feeding Regulation in *Drosophila*, *Curr Opin Neurobiol*, 29 (2014) 57-63.
- Rajan, A., Perrimon, N., *Drosophila* Cytokine Unpaired 2 Regulates Physiological Homeostasis by Remotely Controlling Insulin Secretion, *Cell*, 151 (2012) 123-137.
- Ravnskjaer, K., Madiraju, A., Montminy, M., Role of the Camp Pathway in Glucose and Lipid Metabolism, *Metabolic Control*, (2016) 29-49.
- Read, N. W., Role of Gastrointestinal Factors in Hunger and Satiety in Man, *Proc Nutr Soc*, 51 (1992) 7-11.
- Reiter, J. F., Skarnes, W. C., Tectonic, a Novel Regulator of the Hedgehog Pathway Required for Both Activation and Inhibition, *Genes & development*, 20 (2006) 22-27.

- Rikani, A. A., Choudhry, Z., ve ark.Mobassarah, N. J., A Critique of the Literature on Etiology of Eating Disorders, *Ann Neurosci*, 20 **(2013)** 157-161.
- Ripke, S., O'Dushlaine, C., ve ark.Sullivan, P. F., Genome-Wide Association Analysis Identifies 13 New Risk Loci for Schizophrenia, *Nat Genet*, 45 **(2013)** 1150-1159.
- Rogers, P. J., Blundell, J. E., Umami and Appetite: Effects of Monosodium Glutamate on Hunger and Food Intake in Human Subjects, *Physiol Behav*, 48 **(1990)** 801-804.
- Rolls, E. T., Taste, Olfactory and Food Texture Reward Processing in the Brain and Obesity, *Int J Obes (Lond)*, 35 **(2011)** 550-561.
- Roper, S. D., Chaudhari, N., Taste Buds: Cells, Signals and Synapses, *Nat Rev Neurosci*, 18 **(2017)** 485-497.
- Rowland, N. E., Morien, A., Li, B. H., The Physiology and Brain Mechanisms of Feeding, *Nutrition*, 12 **(1996)** 626-639.
- Rubin, G. M., Spradling, A. C., Genetic Transformation of *Drosophila* with Transposable Element Vectors, *Science*, 218 **(1982)** 348-353.
- Ryder, E., Russell, S., Transposable Elements as Tools for Genomics and Genetics in *Drosophila*, *Briefings in Functional Genomics*, 2 **(2003)** 57-71.
- Ryuda, M., Tsuzuki, S., ve ark.Hayakawa, Y., Identification of a Novel Gene, Anorexia, Regulating Feeding Activity Via Insulin Signaling in *Drosophila Melanogaster*, *J Biol Chem*, 286 **(2011)** 38417-38426.
- Sakata, I., Nakamura, K., ve ark.Sakai, T., Ghrelin-Producing Cells Exist as Two Types of Cells, Closed- and Opened-Type Cells, in the Rat Gastrointestinal Tract, *Peptides*, 23 **(2002)** 531-536.
- Sanacora, G., Kershaw, M., ve ark.White, J. D., Increased Hypothalamic Content of Preproneuropeptide Y Messenger Ribonucleic Acid in Genetically Obese Zucker Rats and Its Regulation by Food Deprivation, *Endocrinology*, 127 **(1990)** 730-737.
- Sanger, G. J., Hellstrom, P. M., Naslund, E., The Hungry Stomach: Physiology, Disease, and Drug Development Opportunities, *Front Pharmacol*, 1 **(2010)** 145.
- Saper, C. B., Chou, T. C., Elmquist, J. K., The Need to Feed: Homeostatic and Hedonic Control of Eating, *Neuron*, 36 **(2002)** 199-211.
- Sasse, S., Klämbt, C., Repulsive Epithelial Cues Direct Glial Migration Along the Nerve, *Developmental cell*, 39 **(2016)** 696-707.
- Scheunemann, L., Placais, P.-Y., ve ark.Preat, T., Dunce Phosphodiesterase Acts as a Checkpoint for *Drosophila* Long-Term Memory in a Pair of Serotonergic Neurons, *Neuron*, 98 **(2018)** 350-365. e355.
- Schwartz, G. J., The Role of Gastrointestinal Vagal Afferents in the Control of Food Intake: Current Prospects, *Nutrition*, 16 **(2000)** 866-873.
- Schwarz, O., Bohra, A. A., ve ark.Pielage, J., Motor Control of *Drosophila* Feeding Behavior, *elife*, 6 **(2017)** e19892.

- Sébastien, B., Balagopal, P., Misra, R., Diet Related Diseases: Issues and Solutions to Nutrition Transition and Food Programme Policies in India, Research gate. Available on: <https://www.researchgate.net/publication/236143159>, (2013)
- Sella, G., Barton, N. H., Thinking About the Evolution of Complex Traits in the Era of Genome-Wide Association Studies, Annual Review of Genomics and Human Genetics, Vol 20, 2019, 20 (2019) 461-493.
- Sewell, D., Burnet, B., Connolly, K., Genetic Analysis of Larval Feeding Behaviour in *Drosophila Melanogaster*, Genet Res, 24 (1974) 163-173.
- Shamloula, H. K., Mbogho, M. P., ve ark.Venkatesh, T. R., Rugose (Rg), a *Drosophila* a Kinase Anchor Protein, Is Required for Retinal Pattern Formation and Interacts Genetically with Multiple Signaling Pathways, Genetics, 161 (2002) 693-710.
- Sharma, A., Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Kidney Damage and Possible Mechanisms: A Mini-Review, J Biomed Sci, 22 (2015) 93.
- Shen, P., Analysis of *Drosophila* Larval Feeding Response to Quinine-Adulterated Food, Cold Spring Harb Protoc, 2012 (2012) pdb. prot069336-pdb. prot069336.
- Shen, P., Analysis of Feeding Behavior of *Drosophila* Larvae on Solid Food, Cold Spring Harbor Protocols, 2012 (2012) pdb. prot069328.
- Shiraiwa, T., Carlson, J. R., Proboscis Extension Response (Per) Assay in *Drosophila*, J Vis Exp, (2007) 193.
- Shorter, J., Couch, C., ve ark.Mackay, T. F., Genetic Architecture of Natural Variation in *Drosophila Melanogaster* Aggressive Behavior, Proc Natl Acad Sci U S A, 112 (2015) E3555-3563.
- Silverthorn, D. U., Ober, W. C., ve ark.Impagliazzo, A., Human Physiology: An Integrated Approach, Pearson Education, Incorporated, 2019.
- Small, D. M., Taste Representation in the Human Insula, Brain Struct Funct, 214 (2010) 551-561.
- Smith, P. M., Ferguson, A. V., Neurophysiology of Hunger and Satiety, Dev Disabil Res Rev, 14 (2008) 96-104.
- Sokolowski, M. B., :: Genetics Meets Behaviour, Nature Reviews Genetics, 2 (2001) 879-890.
- Song, Z., Roles of the Nucleotide Sugar Transporters (Slc35 Family) in Health and Disease, Molecular aspects of medicine, 34 (2013) 590-600.
- Soshnikova, N., Dynamics of Polycomb and Trithorax Activities During Development, Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology, 91 (2011) 781-787.
- Southall, T. D., Terhzaz, S., ve ark.Davies, S.-A., Novel Subcellular Locations and Functions for Secretory Pathway Ca<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup>-Atpases, Physiological genomics, 26 (2006) 35-45.
- Söderberg, J. A., Carlsson, M. A., Nässel, D. R., Insulin-Producing Cells in the *Drosophila* Brain Also Express Satiety-Inducing Cholecystokinin-Like Peptide, Drosulfakinin, Frontiers in endocrinology, 3 (2012) 109.

- Stafleu, A., Zijlstra, N., ve ark.Mars, M., Texture and Diet Related Behavior: A Focus on Satiation and Satiety, Springer, **2011**
- Stoll, B., Burrin, D. G., ve ark.Reeds, P. J., Substrate Oxidation by the Portal Drained Viscera of Fed Piglets, *Am J Physiol*, 277 (**1999**) E168-175.
- Stroebe, W., Papies, E. K., Aarts, H., From Homeostatic to Hedonic Theories of Eating: Self-Regulatory Failure in Food-Rich Environments, *Applied Psychology-an International Review-Psychologie Appliquee-Revue Internationale*, 57 (**2008**) 172-193.
- Stunkard, A. J., Van Itallie, T. B., Reis, B. B., The Mechanism of Satiety: Effect of Glucagon on Gastric Hunger Contractions in Man, *Proc Soc Exp Biol Med*, 89 (**1955**) 258-261.
- Sud, A., Kinnersley, B., Houlston, R. S., Genome-Wide Association Studies of Cancer: Current Insights and Future Perspectives, *Nature Reviews Cancer*, 17 (**2017**) 692-704.
- Swamy, A. H., Patel, N. L., ve ark.Manjula, D. V., Neuroprotective Activity of Pongamia Pinnata in Monosodium Glutamate-Induced Neurotoxicity in Rats, *Indian J Pharm Sci*, 75 (**2013**) 657-663.
- Swart, I., Jahng, J. W., ve ark.Haupt, T. A., Hypothalamic Npy, Agrp, and Pomc Mrna Responses to Leptin and Refeeding in Mice, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 283 (**2002**) R1020-1026.
- Şener, K., Alver, E. N., Cevher, Ş. C., An Overview of Appetite Regulation Mechanisms, *Kocaeli Journal of Science and Engineering*, 5 (**2022**) 178-193.
- Tanji, T., Ohashi-Kobayashi, A., Natori, S., Participation of a Galactose-Specific C-Type Lectin in Drosophila Immunity, *Biochemical Journal*, 396 (**2006**) 127-138.
- Tennessen, J. M., Thummel, C. S., Coordinating Growth and Maturation - Insights From, *Current Biology*, 21 (**2011**) R750-R757.
- Terry, L. C., Epelbaum, J., Martin, J. B., Monosodium Glutamate: Acute and Chronic Effects on Rhythmic Growth Hormone and Prolactin Secretion, and Somatostatin in the Undisturbed Male Rat, *Brain Res*, 217 (**1981**) 129-142.
- Thorne, N., Chromey, C., ve ark.Amrein, H., Taste Perception and Coding in Drosophila, *Curr Biol*, 14 (**2004**) 1065-1079.
- Thuy, L. N., Salanta, L. C., ve ark.Pop, C. R., A Mini Review About Monosodium Glutamate, *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca-Food Science and Technology*, 77 (**2020**) 1-12.
- Timper, K., Bruning, J. C., Hypothalamic Circuits Regulating Appetite and Energy Homeostasis: Pathways to Obesity, *Dis Model Mech*, 10 (**2017**) 679-689.
- Trace, S. E., Baker, J. H., ve ark.Bulik, C. M., The Genetics of Eating Disorders, *Annual review of clinical psychology*, 9 (**2013**) 589-620.



- Truong, H. M., Cruz-Colón, K. O., ve ark.Pearring, J. N., The Tectonic Complex Regulates Membrane Protein Composition in the Photoreceptor Cilium, *Nature Communications*, 14 (2023) 5671.
- Tsoumpekos, G., Big Bang, a Novel Regulator of Tissue Growth in *Drosophila Melanogaster*, (2016)
- Turner, D. W., CP, The Effects of Some Human-Consumed Chemicals on Development of *Drosophila Melanogaster*, *Drosophila Information Service*, 46 (1971) 1.
- TWTCCC, Genome-Wide Association Study of 14,000 Cases of Seven Common Diseases and 3,000 Shared Controls, *Nature*, 447 (2007) 661-678.
- Tyler, M. S., *Developmental Biology: A Guide for Experimental Study*, Sinauer Associates Incorporated, 2000.
- U.S. Department of Health and Human Services: National Heart Lung and Blood Institute, Overweight and Obesit, Causes and Risk Factors, <https://www.nhlbi.nih.gov/health/overweight-and-obesity/causes> (Erişim Tarihi: 8 Ağustos 2023).
- U.S. Food and Drug Administration, F., Questions and Answers on Monosodium Glutamate (Msg), <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/questions-and-answers-monosodium-glutamate-msg> (Erişim Tarihi: 16 Temmuz 2023).
- Uffelmann, E., Huang, Q. Q., ve ark.Posthuma, D., Genome-Wide Association Studies, *Nature Reviews Methods Primers*, 1 (2021) 59.
- Van Itallie, T., Hashim, S., Biochemical Concomitants of Hunger and Satiety in Man, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 8 (1960) 587-594.
- Van Itallie, T. B., Beaudoin, R., Mayer, J., Arteriovenous Glucose Differences, Metabolic Hypoglycemia and Food Intake in Man, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1 (1953) 208-217.
- Vaz, F. M., Wanders, R. J., Carnitine Biosynthesis in Mammals, *Biochemical Journal*, 361 (2002) 417-429.
- Vieira, F. G., Rozas, J., Comparative Genomics of the Odorant-Binding and Chemosensory Protein Gene Families across the Arthropoda: Origin and Evolutionary History of the Chemosensory System, *Genome biology and evolution*, 3 (2011) 476-490.
- Visscher, P. M., Brown, M. A., ve ark.Yang, J., Five Years of Gwas Discovery, *Am J Hum Genet*, 90 (2012) 7-24.
- Volders, K., Scholz, S., ve ark.Schwärzel, M., *Drosophila Rugose* Is a Functional Homolog of Mammalian Neurobeachin and Affects Synaptic Architecture, Brain Morphology, and Associative Learning, *Journal of Neuroscience*, 32 (2012) 15193-15204.
- Wang, Z., Singhvi, A., ve ark.Scott, K., Taste Representations in the *Drosophila* Brain, *Cell*, 117 (2004) 981-991.

- Wangler, M. F., Hu, Y., Shulman, J. M., *Drosophila* and Genome-Wide Association Studies: A Review and Resource for the Functional Dissection of Human Complex Traits, *Dis Model Mech*, 10 (2017) 77-88.
- Watson, H. J., Yilmaz, Z., ve ark.Consortium, P. G., Genome-Wide Association Study Identifies Eight Risk Loci and Implicates Metabo-Psychiatric Origins for Anorexia Nervosa, *Nature genetics*, 51 (2019) 1207-+.
- Whitlock, M. C., Schluter, D., *The Analysis of Biological Data*, Macmillan Learning, 2014.
- Windmueller, H. G., Spaeth, A. E., Metabolism of Absorbed Aspartate, Asparagine, and Arginine by Rat Small Intestine in Vivo, *Arch Biochem Biophys*, 175 (1976) 670-676.
- Wise, A., Tenezaca, L., ve ark.Venkatesh, T., *Drosophila* Mutants of the Autism Candidate Gene Neurobeachin (Rugose) Exhibit Neuro-Developmental Disorders, Aberrant Synaptic Properties, Altered Locomotion, and Impaired Adult Social Behavior and Activity Patterns, *Journal of Neurogenetics*, 29 (2015) 135-143.
- Wise, R. A., *Neurobiology of Addiction*, *Curr Opin Neurobiol*, 6 (1996) 243-251.
- Wójtowicz, I., Jabłońska, J., ve ark.Jagla, T., *Drosophila* Small Heat Shock Protein Cryab Ensures Structural Integrity of Developing Muscles, and Proper Muscle and Heart Performance, *Development*, 142 (2015) 994-1005.
- Wong, R., Piper, M. D., ve ark.Partridge, L., Quantification of Food Intake in *Drosophila*, *PLoS One*, 4 (2009) e6063.
- Woods, S. C., Seeley, R. J., Cota, D., Regulation of Food Intake through Hypothalamic Signaling Networks Involving Mtor, *Annual Review of Nutrition*, 28 (2008) 295-311.
- World Health Organization, Obesity and Overweight, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Erişim Tarihi: 8 Ağustos 2023 ).
- Wray, N. R., Ripke, S., ve ark.Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric Genomics, C., Genome-Wide Association Analyses Identify 44 Risk Variants and Refine the Genetic Architecture of Major Depression, *Nat Genet*, 50 (2018) 668-681.
- Wu, G., *Amino Acids: Metabolism, Functions, and Nutrition*, *Amino acids*, 37 (2009) 1-17.
- Wu, Q., Wen, T., ve ark.Shen, P., Developmental Control of Foraging and Social Behavior by the *Drosophila* Neuropeptide Y-Like System, *Neuron*, 39 (2003) 147-161.
- Wynne, K., Stanley, S., ve ark.Bloom, S., Appetite Control, *J Endocrinol*, 184 (2005) 291-318.
- Xiao, X., Yang, L., ve ark.Cheng, G., A Mesh–Duox Pathway Regulates Homeostasis in the Insect Gut, *Nature microbiology*, 2 (2017) 1-12.
- Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S., Ryba, N. J. P., Common Sense About Taste: From Mammals to Insects, *Cell*, 139 (2009) 234-244.

- Yeomans, M. R., Gould, N. J., ve ark.Prescott, J., Acquired Flavor Acceptance and Intake Facilitated by Monosodium Glutamate in Humans, *Physiol Behav*, 93 (2008) 958-966.
- Zhang, Y. V., Ni, J., Montell, C., The Molecular Basis for Attractive Salt-Taste Coding in *Drosophila*, *Science*, 340 (2013) 1334-1338.
- Zhao, Y., Bretz, C. A., ve ark.Johnson, E. C., Corazonin Neurons Function in Sexually Dimorphic Circuitry That Shape Behavioral Responses to Stress In, *PLoS One*, 5 (2010) e9141.
- Zheng, L., Michelson, Y., ve ark.Wides, R., *Drosophila* Ten-M and Filamin Affect Motor Neuron Growth Cone Guidance, *PLoS One*, 6 (2011) e22956.
- Zigman, J. M., Elmquist, J. K., Minireview: From Anorexia to Obesity--the Yin and Yang of Body Weight Control, *Endocrinology*, 144 (2003) 3749-3756.
- Zwarts, L., Vanden Broeck, L., ve ark.Callaerts, P., The Genetic Basis of Natural Variation in Mushroom Body Size In, *Nature Communications*, 6 (2015) 10115.

## EKLER

### EK 1 – Elde edilen verilerin tanımsal istatistikleri

#### Ek 1.1 - Kontrol gurubu verilerinin tanımsal istatistikleri

DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
31	16.60	4.43	20	0.99	2.07
32	12.85	3.15	20	0.70	1.47
40	16.95	2.77	21	0.60	1.26
45	15.96	2.75	23	0.57	1.19
48	15.15	2.91	20	0.65	1.36
57	13.58	3.93	24	0.80	1.66
73	13.76	2.83	21	0.62	1.29
85	13.00	4.30	14	1.15	2.48
93	9.75	1.68	20	0.38	0.79
100	13.42	3.02	19	0.69	1.46
101	14.19	3.34	21	0.73	1.52
105	18.58	3.01	19	0.69	1.45
129	13.23	3.24	22	0.69	1.43
136	8.89	2.40	19	0.55	1.16
138	14.18	3.19	17	0.77	1.64
142	12.83	3.75	18	0.88	1.86
149	11.23	1.80	22	0.38	0.80
158	14.70	3.05	20	0.68	1.43
161	10.71	2.44	17	0.59	1.26
176	10.59	1.99	22	0.42	0.88
177	9.74	2.64	19	0.61	1.27
195	8.17	1.53	23	0.32	0.66
217	9.78	2.41	18	0.57	1.20
227	12.55	2.93	20	0.65	1.37
235	25.09	3.94	11	1.19	2.64
237	9.95	2.54	21	0.55	1.16
239	13.68	3.15	19	0.72	1.52
256	10.57	1.60	21	0.35	0.73
280	13.47	2.74	19	0.63	1.32
287	14.86	2.33	21	0.51	1.06
301	15.26	1.79	19	0.41	0.86
303	11.90	2.34	20	0.52	1.09
304	14.42	3.55	19	0.81	1.71
306	10.17	2.30	24	0.47	0.97
307	16.80	4.20	20	0.94	1.97
309	14.56	2.73	16	0.68	1.46

DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
310	17.84	2.65	19	0.61	1.28
317	16.26	2.42	19	0.56	1.17
318	11.10	1.30	21	0.28	0.59
319	16.61	2.95	18	0.70	1.47
321	12.63	2.65	19	0.61	1.28
332	12.06	1.89	18	0.45	0.94
335	11.69	3.18	16	0.79	1.69
336	14.23	2.41	22	0.51	1.07
338	19.16	2.67	19	0.61	1.29
350	13.60	2.44	20	0.54	1.14
352	16.00	3.08	21	0.67	1.40
354	14.70	3.01	20	0.67	1.41
356	13.26	2.26	23	0.47	0.98
358	14.62	2.64	21	0.58	1.20
359	13.39	2.30	18	0.54	1.15
361	18.53	3.68	17	0.89	1.89
370	10.05	2.01	19	0.46	0.97
373	14.35	1.50	20	0.33	0.70
381	17.68	3.23	22	0.69	1.43
392	16.63	3.45	19	0.79	1.66
397	20.68	3.17	22	0.68	1.40
399	11.45	1.67	20	0.37	0.78
405	12.20	3.37	20	0.75	1.58
406	14.57	2.73	21	0.60	1.24
426	15.59	2.38	22	0.51	1.06
437	14.60	3.14	20	0.70	1.47
440	12.30	3.15	23	0.66	1.36
441	10.50	2.52	20	0.56	1.18
443	7.33	1.71	21	0.37	0.78
486	12.74	2.21	19	0.51	1.06
492	11.50	2.28	18	0.54	1.13
502	8.90	1.95	21	0.42	0.89
505	17.12	3.16	17	0.77	1.62
509	11.11	2.00	18	0.47	0.99
528	10.37	2.63	19	0.60	1.27
531	16.29	3.36	21	0.73	1.53
551	17.78	2.10	18	0.50	1.05
555	14.15	2.03	20	0.45	0.95
559	14.55	1.32	20	0.29	0.62
563	7.33	1.71	21	0.37	0.78
566	15.36	2.30	22	0.49	1.02
584	16.64	2.22	22	0.47	0.98
595	12.82	2.52	22	0.54	1.12

DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
596	10.10	1.33	20	0.30	0.62
630	12.90	2.71	20	0.61	1.27
634	7.77	2.31	22	0.49	1.02
646	12.42	2.41	19	0.55	1.16
707	7.86	1.83	22	0.39	0.81
712	13.80	2.50	20	0.56	1.17
716	13.40	2.52	20	0.56	1.18
721	13.25	1.71	20	0.38	0.80
727	9.45	2.06	20	0.46	0.97
730	12.00	2.36	20	0.53	1.11
732	16.63	2.41	19	0.55	1.16
737	13.37	2.77	19	0.64	1.34
738	13.58	2.55	19	0.58	1.23
748	10.00	2.61	21	0.57	1.19
757	13.65	2.30	20	0.51	1.08
761	12.38	2.48	21	0.54	1.13
774	8.63	1.30	19	0.30	0.63
776	12.45	2.67	20	0.60	1.25
787	17.77	2.52	22	0.54	1.12
796	17.70	3.01	20	0.67	1.41
801	15.21	3.49	24	0.71	1.47
802	16.00	2.63	21	0.57	1.20
805	17.05	2.77	22	0.59	1.23
808	16.12	2.34	17	0.57	1.20
810	23.64	2.46	11	0.74	1.65
819	21.89	2.68	18	0.63	1.33
821	20.37	3.47	19	0.80	1.67
822	13.57	1.63	21	0.36	0.74
843	13.63	2.24	19	0.51	1.08
850	10.59	2.84	22	0.61	1.26
853	16.52	2.89	21	0.63	1.32
855	12.81	1.91	21	0.42	0.87
857	16.00	3.48	15	0.90	1.93
859	18.53	3.19	19	0.73	1.54
879	12.63	2.63	19	0.60	1.27
884	18.82	2.08	22	0.44	0.92
892	12.81	2.62	21	0.57	1.19
894	19.82	3.71	17	0.90	1.91
897	21.26	2.82	23	0.59	1.22
900	12.72	1.90	18	0.45	0.95
907	13.95	3.49	20	0.78	1.63
913	20.00	3.14	17	0.76	1.62

Ek 1.2- MSG Grubu Verilerinin Tanımsal İstatistikleri

DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
31	14.94	2.98	16	0.74	1.59
32	14.62	2.60	21	0.57	1.18
40	19.61	2.28	18	0.54	1.13
45	16.14	2.96	22	0.63	1.31
48	15.30	3.23	20	0.72	1.51
57	14.72	3.12	18	0.74	1.55
73	14.76	2.76	21	0.60	1.25
85	12.74	3.28	19	0.75	1.58
93	10.23	2.79	22	0.60	1.24
100	14.32	2.54	19	0.58	1.22
101	14.38	2.09	21	0.46	0.95
105	18.37	2.09	19	0.48	1.01
129	16.54	2.96	24	0.60	1.25
136	10.10	2.22	20	0.50	1.04
138	13.33	3.11	15	0.80	1.72
142	16.78	3.77	18	0.89	1.87
149	14.89	2.18	19	0.50	1.05
158	16.85	2.94	20	0.66	1.38
161	11.11	2.54	19	0.58	1.22
176	14.63	3.39	19	0.78	1.63
177	12.89	3.46	19	0.79	1.67
195	8.95	1.94	21	0.42	0.88
217	14.31	2.47	16	0.62	1.32
227	13.86	2.75	22	0.59	1.22
235	27.64	2.58	11	0.78	1.73
237	13.33	2.82	21	0.61	1.28
239	16.06	3.44	18	0.81	1.71
256	12.79	1.58	19	0.36	0.76
280	15.21	2.90	19	0.66	1.40
287	18.62	2.48	21	0.54	1.13
301	15.37	2.73	19	0.63	1.32
303	12.82	1.53	22	0.33	0.68
304	17.25	3.70	20	0.83	1.73
306	11.95	2.21	20	0.49	1.04
307	19.26	3.66	19	0.84	1.77
309	13.61	3.26	18	0.77	1.62
310	18.50	3.53	20	0.79	1.65
313	12.15	1.87	20	0.42	0.88
317	16.29	3.06	17	0.74	1.57
318	13.52	2.99	21	0.65	1.36
319	21.29	2.31	17	0.56	1.19

DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
321	14.28	2.63	18	0.62	1.31
332	15.38	2.40	21	0.52	1.09
336	17.55	2.52	22	0.54	1.12
338	25.17	3.79	12	1.09	2.41
350	15.67	3.22	18	0.76	1.60
352	15.86	2.52	21	0.55	1.15
354	16.45	1.99	20	0.44	0.93
356	15.60	2.01	20	0.45	0.94
358	17.65	2.58	20	0.58	1.21
359	15.47	2.67	15	0.69	1.48
361	18.56	4.60	18	1.09	2.29
370	10.21	2.37	19	0.54	1.14
373	17.76	2.68	21	0.59	1.22
381	20.30	2.66	20	0.59	1.24
392	18.38	3.48	16	0.87	1.85
397	20.74	2.90	19	0.67	1.40
399	10.65	1.73	20	0.39	0.81
405	13.75	2.15	20	0.48	1.01
406	15.32	2.25	22	0.48	1.00
426	19.35	2.30	20	0.51	1.08
437	16.26	2.26	19	0.52	1.09
440	13.47	1.90	19	0.44	0.91
441	9.85	3.07	20	0.69	1.43
443	10.29	2.35	21	0.51	1.07
486	12.40	2.11	20	0.47	0.99
492	14.63	2.17	19	0.50	1.04
502	14.43	2.60	21	0.57	1.18
505	17.92	2.47	13	0.68	1.49
509	12.39	2.20	18	0.52	1.09
528	12.62	2.20	21	0.48	1.00
531	16.17	1.98	18	0.47	0.98
551	17.71	2.47	17	0.60	1.27
555	15.05	1.86	21	0.41	0.85
559	16.86	2.78	22	0.59	1.23
563	10.24	2.90	21	0.63	1.32
566	15.84	2.24	19	0.51	1.08
584	17.35	1.66	20	0.37	0.78
595	12.70	2.74	23	0.57	1.18
596	11.23	1.30	13	0.36	0.79
630	17.15	2.67	13	0.74	1.61
634	9.67	2.61	21	0.57	1.19
646	14.65	2.13	20	0.48	1.00
707	12.21	2.51	19	0.58	1.21



DGRP Soyu	Ortalama	Standart Sapma ( $\pm$ )	Örneklem Büyüküğü	Standart Hata ( $\pm$ )	Güven Aralığı ( $\pm$ )
716	14.61	2.23	18	0.52	1.11
721	14.81	2.46	21	0.54	1.12
727	12.63	2.81	19	0.65	1.36
732	20.19	2.98	21	0.65	1.36
737	16.05	2.46	20	0.55	1.15
738	16.85	3.17	20	0.71	1.48
748	13.89	2.68	18	0.63	1.33
757	13.74	3.26	19	0.75	1.57
761	12.45	2.22	22	0.47	0.98
774	8.50	1.92	22	0.41	0.85
776	14.70	2.46	23	0.51	1.06
787	19.29	1.65	21	0.36	0.75
796	19.89	3.05	19	0.70	1.47
801	16.48	2.98	23	0.62	1.29
802	19.74	4.14	23	0.86	1.79
805	17.06	2.71	18	0.64	1.35
808	19.86	3.46	14	0.92	2.00
810	22.12	3.37	17	0.82	1.73
819	25.85	3.13	13	0.87	1.89
821	21.68	3.89	19	0.89	1.87
822	16.67	2.40	18	0.57	1.19
843	16.05	2.59	19	0.59	1.25
850	9.61	1.42	18	0.33	0.71
853	20.12	2.98	17	0.72	1.53
855	16.57	2.60	21	0.57	1.18
857	17.62	2.78	21	0.61	1.27
859	18.00	3.64	20	0.81	1.70
879	18.47	3.06	19	0.70	1.48
884	22.11	4.01	19	0.92	1.93
892	14.76	3.05	17	0.74	1.57
894	21.42	3.17	19	0.73	1.53
897	17.62	2.16	21	0.47	0.98
900	17.11	2.97	18	0.70	1.48
907	13.94	3.32	18	0.78	1.65
913	24.37	3.68	19	0.85	1.78

EK 2 – Her grup için GWAS girdisi olarak kullanılan veriler

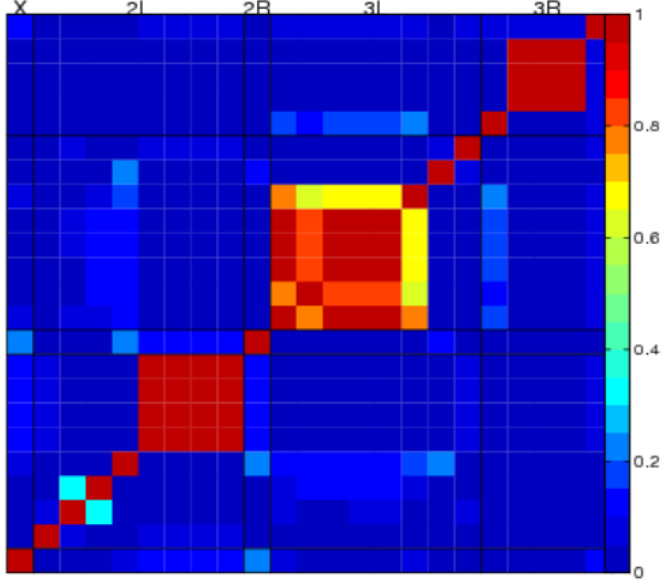
DGRP Soyu	MSG Grubu Ortalama	Kontrol Grubu Ortalama	Yüzde Cinsinden MSG-Kontrol Farkı
31	14.94	16.60	-10.02
32	14.62	12.85	13.77
40	19.61	16.95	15.68
45	16.14	15.96	1.13
48	15.30	15.15	0.99
57	14.72	13.58	8.38
73	14.76	13.76	7.27
85	12.74	13.00	-2.02
93	10.23	9.75	4.90
100	14.32	13.42	6.67
101	14.38	14.19	1.34
105	18.37	18.58	-1.13
129	16.54	13.23	25.06
136	10.10	8.89	13.55
138	13.33	14.18	-5.95
142	16.78	12.83	30.74
149	14.89	11.23	32.67
158	16.85	14.70	14.63
161	11.11	10.71	3.73
176	14.63	10.59	38.15
177	12.89	9.74	32.43
195	8.95	8.17	9.52
217	14.31	9.78	46.38
227	13.86	12.55	10.47
235	27.64	25.09	10.14
237	13.33	9.95	33.97
239	16.06	13.68	17.33
256	12.79	10.57	20.98
280	15.21	13.47	12.89
287	18.62	14.86	25.32
301	15.37	15.26	0.69
303	12.82	11.90	7.72
304	17.25	14.42	19.62
306	11.95	10.17	17.54
307	19.26	16.80	14.66
309	13.61	14.56	-6.53
310	18.50	17.84	3.69
313	12.15	11.90	2.06
317	16.29	16.26	0.19
318	13.52	11.10	21.89
319	21.29	16.61	28.19

<b>DGRP Soyu</b>	<b>MSG Grubu Ortalama</b>	<b>Kontrol Grubu Ortalama</b>	<b>Yüzde Cinsinden MSG-Kontrol Farkı</b>
321	14.28	12.63	13.03
332	15.38	12.06	27.58
336	17.55	14.23	23.32
338	25.17	19.16	31.36
350	15.67	13.60	15.20
352	15.86	16.00	-0.89
354	16.45	14.70	11.90
356	15.60	13.26	17.64
358	17.65	14.62	20.73
359	15.47	13.39	15.52
361	18.56	18.53	0.14
370	10.21	10.05	1.57
373	17.76	14.35	23.78
381	20.30	17.68	14.81
392	18.38	16.63	10.48
397	20.74	20.68	0.27
399	10.65	11.45	-6.99
405	13.75	12.20	12.70
406	15.32	14.57	5.12
426	19.35	15.59	24.11
437	16.26	14.60	11.39
440	13.47	12.30	9.50
441	9.85	10.50	-6.19
443	10.29	7.33	40.26
486	12.40	12.74	-2.64
492	14.63	11.50	27.23
502	14.43	8.90	62.03
505	17.92	17.12	4.71
509	12.39	11.11	11.50
528	12.62	10.37	21.71
531	16.17	16.29	-0.73
551	17.71	17.78	-0.40
555	15.05	14.15	6.34
559	16.86	14.55	15.90
563	10.24	7.33	39.61
566	15.84	15.36	3.11
584	17.35	16.64	4.29
595	12.70	12.82	-0.96
596	11.23	10.10	11.20
630	17.15	12.90	32.98
634	9.67	7.77	24.37
646	14.65	12.42	17.94
707	12.21	7.86	55.28

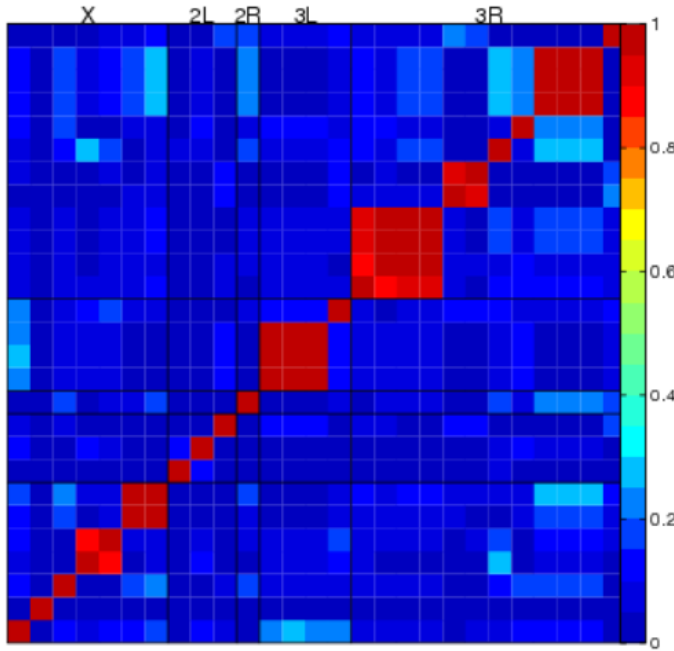
<b>DGRP Soyu</b>	<b>MSG Grubu Ortalama</b>	<b>Kontrol Grubu Ortalama</b>	<b>Yüzde Cinsinden MSG-Kontrol Farkı</b>
712	18.17	13.80	31.70
716	14.61	13.40	9.04
721	14.81	13.25	11.77
727	12.63	9.45	33.67
732	20.19	16.63	21.40
737	16.05	13.37	20.06
738	16.85	13.58	24.09
748	13.89	10.00	38.89
757	13.74	13.65	0.64
761	12.45	12.38	0.59
774	8.50	8.63	-1.52
776	14.70	12.45	18.04
787	19.29	17.77	8.51
796	19.89	17.70	12.40
801	16.48	15.21	8.35
802	19.74	16.00	23.37
805	17.06	17.05	0.06
808	19.86	16.12	23.20
810	22.12	23.64	-6.43
819	25.85	21.89	18.08
821	21.68	20.37	6.46
822	16.67	13.57	22.81
843	16.05	13.63	17.76
850	9.61	10.59	-9.25
853	20.12	16.52	21.75
855	16.57	12.81	29.37
857	17.62	16.00	10.12
859	18.00	18.53	-2.84
879	18.47	12.63	46.25
884	22.11	18.82	17.47
892	14.76	12.81	15.26
894	21.42	19.82	8.06
897	17.62	21.26	-17.13
900	17.11	12.72	34.50
907	13.94	13.95	-0.04
913	24.37	20.00	21.84

### EK 3 - GWAS Sonucunda Saptanan Varyantların Bağlantı Dengesizliğini Gösteren Grafikler

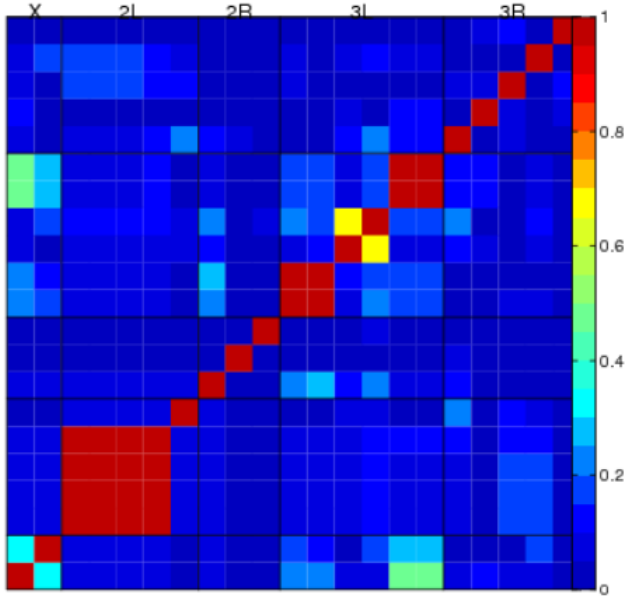
Ek 3.1 – Kontrol grubu verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların bağlantı dengesizliğini gösteren grafik



Ek 3.2 – MSG Grubu verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların bağlantı dengesizliğini gösteren grafik

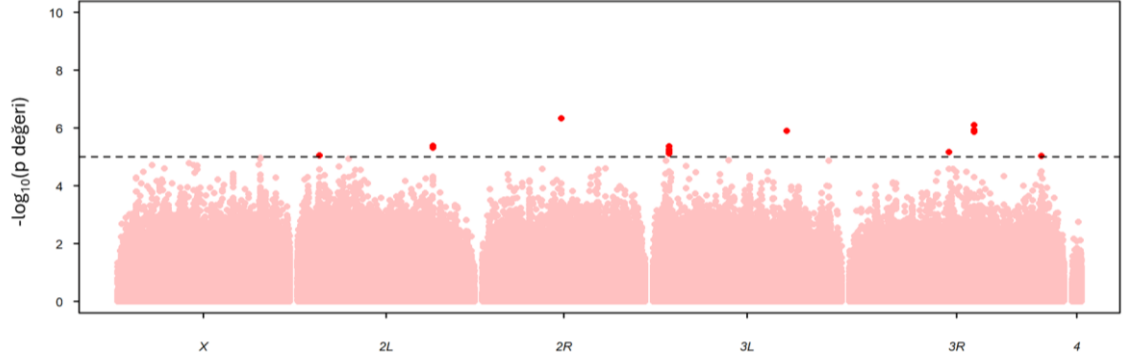


Ek 3.3 – MSG – kontrol farkı verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların bağlantı dengesizliğini gösteren grafik

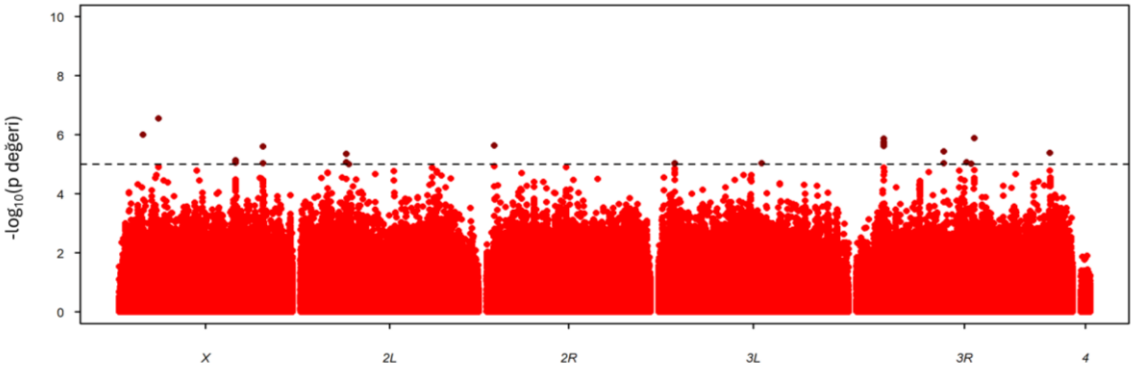


EK 4. GWAS alışmaları sonucu saptanan varyantların kromozomlara dağılımlarını gösteren grafikler

Ek 4.1 – Kontrol grubu verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların kromozomlara dağılımlarını gösteren grafik



Ek 4.2 – MSG grubu verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların kromozomlara dağılımlarını gösteren grafik



Ek 4.3 – MSG-kontrol farkı verisi ile gerçekleştirilen GWAS sonucunda saptanan varyantların kromozomlara dağılımlarını gösteren grafik

