

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN  
DİAMOND BLACKFAN ANEMİSİ HASTALIĞINDAKİ  
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**Beren KARAOSMANOĞLU**

**Kök Hücre Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA  
2018**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN  
DİAMOND BLACKFAN ANEMİSİ HASTALIĞINDAKİ  
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**BEREN KARAOSMANOĞLU**

**Kök Hücre Programı  
DOKTORA TEZİ**

**Dr. Öğr. Üyesi Ekim Z. TAŞKIRAN**

**ANKARA  
2018**

**MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN DİAMOND BLACKFAN ANEMİSİ  
HASTALIĞINDAKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

**Beren Karaosmanoğlu**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ekim Z. Taşkiran**

Bu tez çalışması 6 Temmuz 2018 tarihinde jürimiz tarafından "Kök Hücre Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:**

*Prof. Dr. Duygu Uçkan Çetinkaya  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A. D.*



**Üye:**

*Prof. Dr. Ece Konaç  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji A. D.*



**Üye:**

*Prof. Dr. Petek Korkusuz  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji A. D.*



**Üye:**

*Prof. Dr. Güneş Esendağlı  
Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü  
Temel Onkoloji A. D.*



**Üye:**

*Doç. Dr. Yunus Kasım Terzi  
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik A. D.*



Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

**27 Temmuz 2018**



**Prof. Dr. Diclehan ORHAN  
Enstitü Müdürü**



## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

27/07/2018



**Beren KARAOSMANOĞLU**

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez **danışmanın** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Dr. Öğr. Üyesi Ekim Z. Taşkıran danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



*Beren KARAOSMANOğLU*

## TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın ilk yıllarından itibaren bana yol gösteren, zorlandığım her noktada yardımına koşan, hep daha iyi olmamı ve kendimle yarışmamı öğütleyen, sadece doktora eğitimim değil her alanda bana çok şey öğretmiş olan, tecrübesi ile yol gösteren çok değerli hocam, tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ekim Taşkiran'a,

Beni yurtdışı stajına göndererek konuyla ilgili deneyim kazanmamı sağlayan ve merkez olanaklarını kullanıp hücre arşivine erişimime izin veren Prof. Dr. Duygu Uçkan Çetinkaya'ya, doktora eğitimime verdikleri katkıdan dolayı Kök Hücre Bilimleri öğretim üyelerine ve tez çalışmasının desteklenmesini sağlayan, başta yürütücü Prof. Dr. Şule Ünal olmak üzere tüm 'EuroDBA' proje ekibine,

Başta yeni nesil dizileme altyapısı olmak üzere, genetik laboratuvarlarının kullanımına izin veren ve doktora eğitimim sürecinde akademik gelişimime katkıları dolayısıyla Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D. başkanı Prof. Dr. Mehmet Alikaşifoğlu, ve Çocuk Genetik Hastalıkları B.D. başkanı Prof. Dr. Eda Utine ve Prof. Dr. Koray Boduroğlu'na,

Tezimin farklı aşamalarında teorik ve pratik anlamda katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Güneş Esendağlı, Prof. Dr. Nuhan Puralı, Ar. Gör. Alper Kurşunel, Ar. Gör. Bora Ergin ve Bio. Hakan Batur'a,

Tezimin Türkçe redaksiyonunu yapan teyzem Handan Mit'e,

Desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen, bu süreçte beni yalnız bırakmayan canım annem Yıldız Karaosmanoğlu ve canım babam Cengiz Karaosmanoğlu'na sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZET

**Karaosmanoğlu B. Mezenkimal Kök Hücrelerin Diamond Blackfan Anemisi Hastalığındaki Rolünün Aydınlatılması. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök Hücre Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018.** Bu tez çalışmasında, Diamond Blackfan Anemisi hastalığının moleküler etiyojisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda; etkilenmiş bireylerin kemik iliği kaynaklı mezenkimal ve hematopoetik kök hücreleri sağlıklı donörler ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. DBA hastalarına ait mezenkimal kök hücrelerin proliferasyon hızlarında azalma ve farklılaşma potansiyelinde eksiklik olduğu gösterilmiştir. Transkriptom analizleri DBA hastalarına ait mezenkimal kök hücrelerde artmış bir inflamatuvar cevap olduğuna işaret etmiştir. Osteojenik farklılaşma sonucunda yapılan transkriptom analizi ise *RPS19* mutasyonu bulunan bireyde erken ve orta dönem osteojenik belirteçlerin arttığı, son dönem belirteçlerin ise azaldığı ‘geciken’ osteogenezi ortaya koymuştur. Kemik iliği kaynaklı mononükleer hücreler ile yapılan CFU-E deneyinde sadece tek bir DBA hastasından koloni elde edilebilmiş, transkriptom verilerine bakıldığında ise bu hücrelerde inflamasyon ve immün sistemle ilişkili olan genlerde ifade değişimleri olduğu görülmüştür. İmmünofenotipleme çalışmasında *RPS19* mutasyonu bulunan bireyin proeritroblast yüzdesinde azalma olduğu saptanmış, bu hücrelerde yapılan transkriptom analizi ile, mRNA düzenlenmesi, RNA işleme ve ribozom biyogenezi gibi işlevlerden sorumlu olan genlerde ifade değişimleri olduğu saptanmıştır. Özellikle alt üniteyi oluşturan proteinleri kodlayan genlerdeki azalma dikkat çekicidir. Tez çalışması sonucunda elde edilen bilgilerin sadece DBA değil, diğer kemik iliği yetmezlikleri için de kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber, ribozomopati grubundaki diğer hastalıklarda benzer yaklaşımlar ile elde edilecek olan omik seviyesindeki bilgiler sadece ribozomopatiler değil, kanser, farklılaşma ve immün regülasyon gibi önemli mekanizmaları aydınlatma adına önemli olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Diamond Blackfan Anemisi (DBA), Mezenkimal Kök Hücre (MKH), Ribozomopati, Proeritroblast, Transkriptomik.

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (Proje No: 315S192).

## ABSTRACT

**Karaosmanoğlu B. Investigating the role of Mesenchymal Stem Cells in Diamond Blackfan Anemia. Hacettepe University Institute of Health Sciences, PhD Thesis in Stem Cell, Ankara 2018.** In this thesis, the molecular etiology of Diamond Blackfan Anemia is tried to be enlightened. For this purpose, bone marrow mesenchymal and hematopoietic stem cells from the patients were comparatively analyzed with healthy donors. A reduction in the proliferation rate and a delay in differentiation potential were shown on mesenchymal stem cells from the DBA patients. Transcriptomics analysis from the mesenchymal stem cells of the DBA patients indicated an inflammatory response. The ‘delayed’ osteogenesis process was supported with the finding that early and middle markers of osteogenesis were high and late markers of osteogenesis were decreased in the *RPS19* patient. In the erythroid differentiation assay (CFU-E) from the bone marrow mononuclear cells, only one patient’s sample formed colonies. When transcriptomics analysis was examined, a change in the expression levels of the genes associated with inflammation and immune system was observed. Immunophenotyping assay showed a decrease in the proerythroblast cell numbers of the *RPS19* patient and an alteration in the expression levels of genes that coordinate mRNA regulation, RNA processing and ribosome biogenesis was observed in the transcriptomics analysis. Especially a reduction in genes, that code small subunit proteins draw attention. Outputs of this thesis will be beneficial not only for DBA, but also for other bone marrow failure syndromes. In addition, omics data obtained from other ribosomopathy disorders will be important in order to enlighten the critical mechanisms such as cancer, differentiation and immune regulation.

**Keywords:** Diamond Blackfan Anemia (DBA), Mesenchymal Stem Cells (MSC), Ribosomopathy, Proerythroblast, Transkriptomics.

This thesis work was supported by TÜBİTAK (Project No: 315S192).

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLOLAR	xvi
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Diamond Blackfan Anemisi (DBA)	3
2.2. Ribozom Yapısı ve Ribozomopati Kavramı	4
2.2.1. Ribozom Biyogenezi	4
2.2.2. Ribozomopati	7
2.3. Kök Hücre Tanımı ve Alt Grupları	9
2.4. Kemik iliği yapısı	9
2.4.1. Kemik İliğinde Mezenkimal Kök Hücrelerin Rolü	10
2.4.2. Kemik İliğinde Hematopoetik Kök Hücrelerin Rolü	11
2.4.3. Hematopoetik Kök Hücreler ve Eritropoez	12
2.5. Transkriptomik Penceresinden Diamond Blackfan Anemisi Etiyolojisine Bakış	13

<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	15
3.1. Gereçler ve Bireyler	15
3.1.1. Mezenkimal Kök Hücre Kültürü	15
3.1.2. Eritroid Seri Farklılaşma Besiyeri	16
3.1.3. Mononükleer Hücrelerden Yüzey Belirtecine Göre Hücre Alt Türlerinin Ayırıştırılması	16
3.1.4. RNA İzolasyonu	17
3.1.5. Az Sayıda Hücreden RNA İzolasyonu ve Amplifikasyonu	17
3.1.6. Yeni Nesil Dizileme	17
3.1.7. Bireyler	18
3.2. Yöntemler	19
3.2.1. Kemik İliği Aspirasyon Materyalinden Mezenkimal Kök Hücre İzolasyonu	19
3.2.2. Mezenkimal Kök Hücre Kültürü, Pasajlanması ve İdamesi	21
3.2.3. Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması	21
3.2.4. Kemik İliği Aspirasyon Materyalinden Eritroid Koloni Oluşturma	23
3.2.5. Akım Sitometri ile Mononükleer Hücrelerden Yüzey Belirtecine Göre İmmünofenotipleme ve FACS ( <i>Fluorescence-activated cell sorting</i> ) ile Eritroid Seri Alt Hücre Tiplerinin Ayırıştırılması	25
3.2.6. RNA İzolasyonu	28
3.2.7. Az Sayıda Hücreden RNA İzolasyonu ve Amplifikasyonu	28
3.2.8. Transkriptom Analizi	29
<b>4. BULGULAR</b>	32
4.1. Mezenkimal Kök Hücre Morfolojisi	32
4.2. Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması	34
4.3. Mezenkimal Kök Hücrelerin Transkriptom Profili	37

4.3.1. Sağlıklı Donörlerin ve DBA hastalarının MKH Transkriptom Analizi	37
4.3.2. Osteojenik Farklılaşmaya Tabi Tutulmuş MKH'lerin Transkriptom Analizi	43
4.4. Kemik İliği Mononükleer Hücrelerinden Eritroid Seri Farklılaşması	45
4.4.1. Eritroid Koloni Oluşturma	45
4.4.2. Eritroid Kolonilerde Transkriptom Analizi	46
4.5. Kemik İliği Mononükleer Hücrelerinden Yüzey Belirtecine Göre Eritroid Seri Alt Tiplerinin Ayrıştırılması ve Transkriptom Analizi	49
4.5.1. Eritroid Seri Alt Tiplerinin İmmünojenotipleme ve Ayrıştırılması	49
4.5.2. Proeritroblast Hücrelerinde Transkriptom Analizi	52
4.6. Transkriptom Verilerine Ribozomopati Penceresinden Yaklaşım	56
<b>5. TARTIŞMA</b>	62
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	70
6.1. Sonuçlar	70
6.2. Öneriler	71
<b>7. KAYNAKLAR</b>	72
<b>8. EKLER</b>	
EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni	
EK-2: Gen ifade tabloları	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	



## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>ADA2</b>	Adenozin deaminaz 2
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>Bazo</b>	Bazofilik
<b>CD</b>	<i>Cluster of Differentiation</i>
<b>CECR1</b>	<i>Cat eye syndrome critical region protein 1</i>
<b>CFU-E</b>	Eritroid koloni yapılmış hücre
<b>cm<sup>2</sup></b>	santimetrekare
<b>CNV</b>	<i>Copy Number Variation</i>
<b>DBA</b>	Diamond Blackfan Anemisi
<b>DEPC</b>	<i>Diethyl pyrocarbonate</i>
<b>DMEM-LG</b>	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium-Low Glucose</i>
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>dsDNA</b>	<i>double strand DNA</i>
<b>E</b>	Erkek
<b>EuroDBA</b>	Avrupa DBA Konsorsiyumu
<b>FACS</b>	<i>Fluorescence-activated cell sorting</i>
<b>FBS</b>	<i>Fetal Bovine Serum</i>
<b>g</b>	<i>gravity</i>
<b>G-CSF</b>	<i>Granulocyte colony stimulating factor</i>
<b>hi</b>	<i>high</i>
<b>HKH</b>	Hematopoetik Kök Hücre
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>IMDM</b>	<i>Iscove's Modified Dulbecco's Medium</i>
<b>K</b>	Kadın
<b>kb</b>	kilo baz
<b>lo</b>	<i>low</i>
<b>LT-HKH</b>	<i>Long-Term Hematopoetik Kök Hücre</i>
<b>MEP</b>	Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücreler
<b>MKH</b>	Mezenkimal Kök Hücre
<b>ml</b>	mililitre

<b>mm</b>	milimetre
<b>MNH</b>	Mononüklear hücre
<b>mo</b>	<i>moderate</i>
<b>mRNA</b>	mesajcı RNA
<b>MSC</b>	Mezenkimal Kök Hücre
<b>ng</b>	nano gram
<b>OMIM</b>	<i>Online Mendellian Inheritance in Man</i>
<b>Osteo</b>	osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH
<b>PBS</b>	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
<b>PCA</b>	<i>principal component analysis</i>
<b>Pen/Strep</b>	<i>Penicillin Streptomycin</i>
<b>PFA</b>	<i>Paraformaldehit</i>
<b>pM</b>	piko molar
<b>Poli</b>	Polikromatofilik
<b>Proeritro</b>	Proertiroblast
<b>PZR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>rDNA</b>	ribozomal DNA
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>RP</b>	Ribozomal protein
<b>RPL</b>	<i>Ribosomal Protein Large</i>
<b>RPM</b>	<i>Reads per million</i>
<b>rpm</b>	<i>Rotations per minute</i>
<b>RPMI</b>	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
<b>RPS</b>	<i>Ribosomal Protein Small</i>
<b>rRNA</b>	ribozomal RNA
<b>SCF</b>	<i>Stem Cell Factor</i>
<b>SD</b>	Sağlıklı donör
<b>snoRNA</b>	<i>Small Nucleolar RNA</i>
<b>ST-HKH</b>	<i>Short-Term Hematopoetik Kök Hücre</i>
<b>tRNA</b>	taşıyıcı RNA
<b>µl</b>	mikro litre

## ŞEKİLLER

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. Hücre içerisindeki ribozom biyogenezi.	7
2.2. Ribozom biyogenezi ve mutasyonlar sonucu oluşan hastalıklar.	8
2.3. Kemik iliği niş yapısı.	11
2.4. Eritrosit öncüllerinin farklılaşma süreci.	13
3.1. Ficoll yöntemi ile yapılan MNH izolasyonu.	20
3.2. Kondrojenik farklılaşma yöntemi.	22
3.3. Eritroid koloni oluşturma yöntemi.	24
3.4. Kemik iliğinden gelen MNH'lere akım sitometri ile yüzey belirteçlerine göre immünofenotipleme ve FACS yöntemi ile ayrıştırma işlemi.	26
3.5. İmmünofenotipleme ve hücre ayrıştırma detayları.	27
4.1. MKH morfolojisi için ışık mikroskopisi görüntüleri.	33
4.2. Tüm DBA'lı birey MKH'lerinin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma fotoğrafları.	36
4.3. Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'lerinden yapılan transkriptomik verilerin karşılaştırılması.	38
4.4. Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'leri karşılaştırılması sonucu elde edilen yolak görüntüsü.	40
4.5. DBA hastalarının MKH'lerindeki gen ifade değişimleri.	42
4.6. SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'leri karşılaştırıldığında elde edilen yolak analizi görüntüsü (DBA'lı bireyde artan genler).	44
4.7. SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'leri karşılaştırıldığında elde edilen yolak analizi görüntüsü (DBA'lı bireyde azalan genler).	45
4.8. Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MNH'lerinin eritroid seri farklılaşma görüntüleri.	46

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
<b>4.9.</b> SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonileri karşılaştırıldığında DBA-2 kodlu bireyde artan (üst) ve azalan genlerin yolak analizi görüntüsü.	48
<b>4.10.</b> Kemik iliği MNH'lerinden immüfenotipleme sonrası sağlıklı donörler (ortalama) ve DBA'lı bireylerin farklı hücre tiplerinin yüzde değerleri.	50
<b>4.11.</b> Kemik iliği MNH'lerinden akım sitometri ile yapılan immüfenotipleme analizine ait nokta saçılım grafikleri.	51
<b>4.12.</b> Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücreleri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde artan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü.	55
<b>4.13.</b> Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücreleri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde azalan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü.	56
<b>4.14.</b> 81 farklı RP gen ifadesinin farklı hücre tipleri için toplam değerleri.	58
<b>4.15.</b> Farklı hücre tiplerinin RP gen ifade düzeyleri üzerinden yapılan PCA analizi.	59
<b>4.16.</b> Proeritroblast transkriptom verilerine göre sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu bireydeki RP ifadesinin ısı haritası.	60
<b>4.17.</b> DBA fenotipi ile ilişkilendirilmiş OMIM kaynaklı RP genlerinin farklı hücrelerdeki ifade miktarı.	61
<b>5.1.</b> <i>RPS19</i> mutasyonu kaynaklı ribozomopatide RP'lerin değişen stokiyometrisi.	66

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>3.1.</b> İmmüfenotipleme ve hücre ayrıştırmada kullanılan antikor bilgileri.	16
<b>3.2.</b> Tez çalışmasına dahil edilen bireylerin mutasyon, yaş ve cinsiyet bilgileri.	19
<b>3.3.</b> Yapılan transkriptom analizi sonrasında tüm örneklerden gelen haritalanan okuma miktarı ve doğru okumalar, eşleştirilen hedeflerin yüzdeleri.	31
<b>4.1.</b> Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin kültüre edilen MKH'lerinin farklı pasajlardaki mikrovezikül/vakuol benzeri yapı miktarı.	34
<b>4.2.</b> Çalışmaya dahil edilen sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma sonuçları.	34
<b>4.3.</b> Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında 2 kat üzerinde anlamlı olarak değişen gen listesi.	39
<b>4.4.</b> SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında $\log_2 4$ kat üzeri ifadesi değişen gen listesi.	43
<b>4.5.</b> SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonilerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında $\log_2 2$ üzeri değişen gen listesi.	47
<b>4.6.</b> İmmüfenotipleme ve hücre ayrıştırmada kullanılan antikor paneli.	49
<b>4.7.</b> Kemik iliği MKH'lerinin immüfenotiplemesi sonrasında elde edilen hücre yüzdeleri.	50
<b>4.8.</b> Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücrelerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında $\log_2 6$ üzeri değişen gen listesi.	53
<b>4.9.</b> Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarının STRING ile yapılan yolak analizlerine dahil edilen genlerin hücresel işlevlerine göre gruplandırılarak elde edilen yolak analizi sonuçları.	54

## 1. GİRİŞ

Diamond Blackfan Anemisi (DBA) otozomal dominant kalıtım gösteren, eritrosit öncül hücre eksikliği ile karakterize olan bir hastalıktır. Hastaların diğer kan hücreleri etkilenmez, sadece eritroid seride bir azalma görülür. Genellikle doğumdan sonraki ilk bir yıl içerisinde hastalık fenotipi ortaya çıkar. Kortikosteroid, transfüzyon veya hematopoetik kök hücre nakli gibi tedavi alternatifleri vardır ancak hematopoetik kök hücre nakli dışındaki seçenekler her zaman hastalığın tam olarak iyileştirilmesini sağlamayabilir. Hastaların bir kısmında anemi fenotipine ek olarak kraniofasiyal bozukluklar gibi, kemik gelişim bozuklukları da görülebilir. Yapılan çalışmalarda hastaların yaklaşık %70'inde çeşitli ribozomal protein genlerinin (*RPS19*, *RPS17*, *RPS24*, *RPS26*, *RPS10*, *RPS7*, *RPL35A*, *RPL5*, *RPL11* ve *RPL15*) hastalığa sebep olduğu ortaya çıkarılmış, kalan %30'u ise hala aydınlatılamamıştır.

Ribozomlar, hücrenin protein fabrikası olduğu için tüm hücresel süreçlerde kritik öneme sahiptir. Özellikle ribozom biyogenezinde kritik rol oynayan ribozomal RNA'ların sentezi bu aşamada hücrenin en çok enerji harcadığı mekanizmalardan biridir. Benzer şekilde, ribozom alt ünitelerinin sitoplazmada sentezlenip alt üniteleri meydana getirmek üzere yeniden çekirdeğe taşınması ve alt ünitelerin yeniden sitoplazmaya çıkarak olgun ribozomları oluşturması da karmaşık bir hücresel aşamadır. Bu sürecin herhangi bir aşamasında rol oynayan genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucunda ribozomopati grubu adı verilen farklı hastalıklar ortaya çıkar. Ribozomopati grubundan bir hastalık olan DBA'da, ribozom biyogenez sürecinde RPL veya RPS'lerde meydana gelen bir hasar/azalmadan dolayı fenotip ortaya çıkar.

Kemik iliği, yaşam boyu hematopoezden sorumlu olan bir organdır. Yapısında başta mezenkimal kök hücre (MKH) ve hematopoetik kök hücreler (HKH) olmak üzere pek çok farklı hücre tipi vardır. MKH'ler diğer hücrelere stromal destek sağlarken, HKH'ler de kan hücrelerini meydana getirir. HKH'ler, başta eritropoetin olmak üzere çeşitli sitokinlerin varlığında olgun eritrosit hücrelerine farklılaşır. Bu farklılaşma süreci bir seri hücre tipinin art arda değişmesi ile gerçekleşir. Bu aşamada, ribozom yapımının en üst düzeye ulaştığı, mikroskop altında belirgin nükleoluslar ile karakterize olan proeritroblast hücreleri kritik öneme sahiptir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ‘omik’ verilerinin kullanımı oldukça yaygınlaşmış ve önemi anlaşılmıştır. Özellikle hastalıklara özgü moleküler imzaların aydınlatılması için bu yaklaşımlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Elde edilen moleküler imzaların, hastalıkların genotip fenotip korelasyonunu ortaya çıkarma adına kritik önem arz ettiği bilinmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, bir ribozomopati olan DBA hastalığının moleküler patofizyolojisini aydınlatmak için, hasta bireylerin mezenkimal kök hücre ve hematopoetik kök hücre profilleri, sağlıklı bireylerinki ile transkriptomik bakış açısı kullanılarak karşılaştırılmıştır. Mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma potansiyelleri ve transkriptom profilleri araştırılmış, hematopoetik kök hücrelerin ise eritroid koloni oluşturma potansiyelleri ve proeritroblast hücrelerinin transkriptom profilleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diamond Blackfan Anemisi (DBA)

Diamond Blackfan Anemisi (DBA), eritrosit öncül hücre eksikliği ve apoptoza yatkınlığı ile karakterize olan nadir bir kemik iliği yetmezliğidir (1, 2). Doğumdan sonraki bir yıl içerisinde ortaya çıkan konjenital bir hastalıktır. Diğer kan hücrelerinde herhangi bir eksiklik olmadan sadece kemik iliğindeki eksik eritroid öncül hücre ile karakterize olur. Hasta çocukların yaklaşık %50'sinde kraniofasiyal defektler, böbrek anomalileri, uzuv anomalileri ve kardiyak hasarları gibi fiziksel anomaliler de görülmektedir (3, 4). Aynı zamanda, düşük doğum ağırlığı ve büyüme geriliği de görülebilmektedir. Hastalara DBA kesin tanısı koymak için kemik iliği aspirasyonu gerekmektedir. Alınan aspirasyon örneğinde düşük sayıda olgunlaşmamış kırmızı kan hücreleri ve eritroid hücre öncüllerinin görülmesi ile tanı koyulmaktadır.

DBA, otozomal dominant bir hastalıktır, hastaların çoğunda mutasyon *de novo* olarak ortaya çıkmaktadır. Ribozomal proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonların DBA ile bağdaştığı görülmüş ancak hastaların yaklaşık 1/3'ünde moleküler etioloji henüz aydınlatılamamıştır. Hastalığa neden olduğu bilinen 10'un üzerinde gen tanımlanmıştır (*RPS19*, *RPS17*, *RPS24*, *RPS26*, *RPS10*, *RPS7*, *RPL35A*, *RPL5*, *RPL11* ve *RPL15*) (5-7). Farklı grupların yaptığı çalışmalarda vakaların yaklaşık %25'inde ribozomal proteinlerden *RPS19*'daki germ hattı mutasyonlarının hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (2, 8). Hastaların büyük bir çoğunluğunda da kopya sayısı değişiklikleri rapor edilmiştir (9). Son yıllarda DBA hastalığının genetik etkenlerine yönelik araştırmalar hızla artmaktadır. Diğer yandan klinik açıdan DBA fenotipini taklit eden ancak ribozomopati grubuna dahil olmayan *CECRI* (adenozin deaminaz 2 proteinini kodlar) mutasyonları dikkat çekmiştir (10, 11). Bu çalışmalarda vurgulanan hipotez, hastalarda oluşan inflamasyonun eritroid seri hücrelerini etkilemesi ile DBA-benzeri eritrositopeni fenotipinin ortaya çıkmasıdır.

Kortikosteroid, transfüzyon veya Hematopoetik Kök Hücre (HKH) nakli günümüzde uygulanan tedavi seçenekleridir ancak hastaların çok azı bu



yöntemlerden fayda görmektedir. Kortikosteroidler, eritroid öncül hücreler üzerindeki anti-apoptotik etkisi ve eritroid olmayan genlerin ifadesini baskıladığı için tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadır (4, 12). Özellikle kemik iliği nakli sonrasında, hastalar hayati tehlike arz eden bir çok yan etki ile karşılaşmaktadır (13). Hasarlı ribozomal proteinlerin gen tedavisi ile düzeltilmesi veya yerine koyulması ileriki yıllar için hedeflenen tedavi yöntemlerindedir ancak henüz tam bir kesinlik kazanamamıştır. Bunun yanı sıra, ribozomal protein hasarından dolayı *p53* ifadesinin artabileceği, artan *p53* ifadesinin baskılanmasının da bir tedavi seçeneği olabileceği öngörülmüştür (14). Ancak tümör baskılayıcı bu proteinin baskılanması, hastaların kansere olan yatkınlığını arttırmaktadır (1). DBA hastalığı sonucunda oluşan translasyondaki azalmalar *L-leucine* gibi aminoasitlerle geri çevrilebilir. Ancak bu yöntem de protein sentezini indükleyerek retikülosit sayısında ve hemoglobin seviyesinde artışa sebep olmuştur (15).

## **2.2. Ribozom Yapısı ve Ribozomopati Kavramı**

### **2.2.1. Ribozom Biyogenezi**

Ribozomlar hücrenin protein fabrikası olarak görev görür. Hedef DNA dizisinden sentezlenmiş olan mRNA üzerindeki başlangıç kodonu olan AUG dizisine tutunarak protein sentezini başlatır (16). Kısaca, mRNA'nın kalıp olarak kullanılarak aminoasitlerden protein sentezlenmesini sağlar. Ribozomlar sadece translasyon ile değil, proteine çevrilecek mRNA seçimiyle de gen ifadesini kontrol eder. Bir hücrenin RNA içeriği ve RNA yapım oranı, tamamen o hücrenin gelişimsel sürecine ve hücrenin tipine bağlı olarak farklılık gösterir (17).

Ribozomların yapısında, protein sentezindeki peptid bağının oluşumundan sorumlu ribozomal RNA'lar (rRNA), öncül rRNA işlenmesi ve ribozom yapısının stabilizasyonundan sorumlu ribozomal proteinler ve rRNA'ların modifikasyonundan sorumlu snoRNA (*small nucleolar RNA*)'lar bulunur (18, 19). Ribozomlar hücre içerisinde endoplazmik retikulum üzerinde veya serbest olarak bulunur (4). Hücre içerisindeki RNA moleküllerinin büyük çoğunluğu tRNA ve rRNA'lardır. Hücredeki RNA'ların yaklaşık %90'ı rRNA'dır ve hücre, toplam protein sentezinin yaklaşık %90'ını rRNA'ları sentezlemek için kullanır. mRNA'lar toplam RNA havuzunun

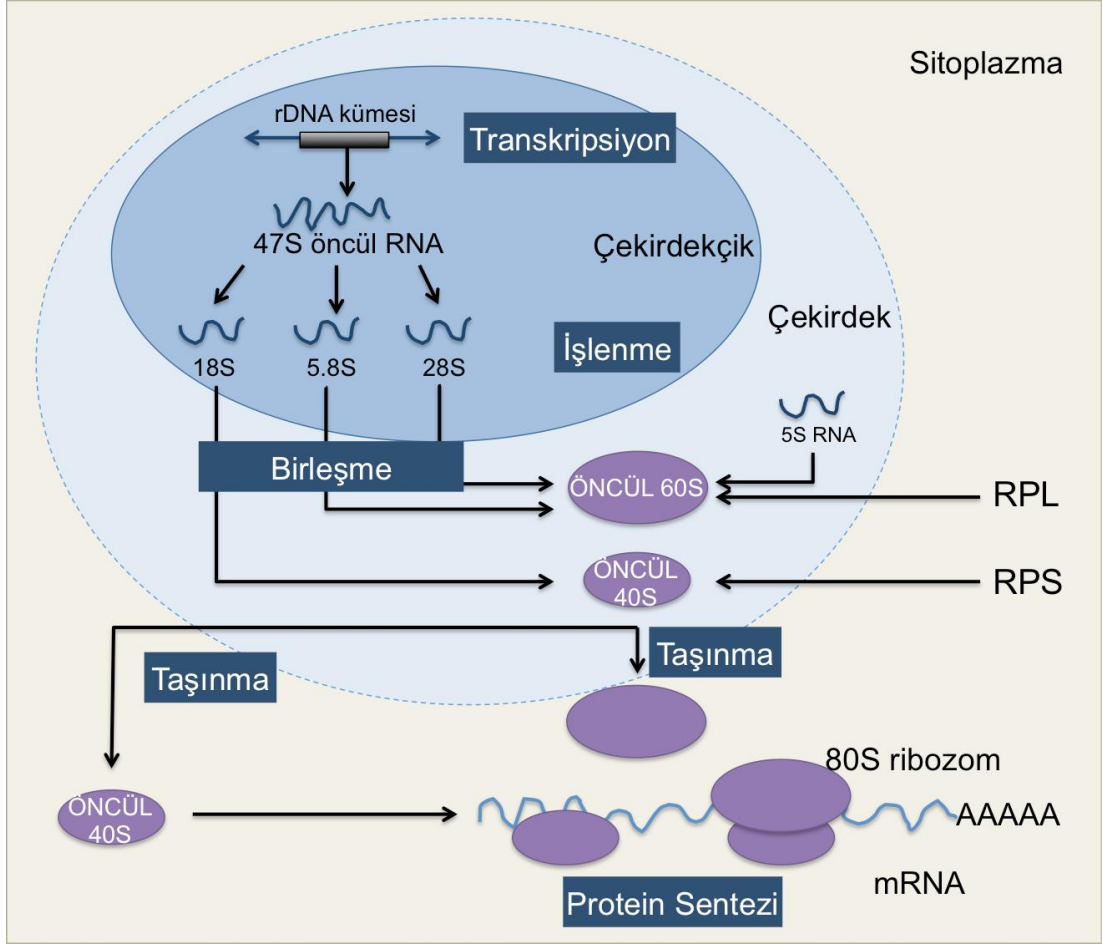
yaklaşık %1-5'ini oluşturmasına rağmen bu oran hücre tipine ve fizyolojik durumuna göre değişiklik gösterebilir. Bir memeli hücresinde yaklaşık 12.000 farklı transkriptten sentezlenen, 2 kb uzunlukta yaklaşık 200.000 mRNA molekülü vardır (20). Bazı mRNA'lar toplam mRNA havuzunun %3'ünü oluştururken, diğerleri %0.1'den az olabilir. Az miktardaki veya nadir bulunan bu mRNA'lar, hücre başına sadece 5-15 molekül kopya sayısına sahip olabilir (21).

rRNA ve ribozomal proteinlerin birleşim kombinasyonu, translasyon sonrası modifikasyonları ve özgül hücresel gelişimsel görevleri sonucunda, hücre ve dokuya özgül ribozomal proteinler oluşur (17). Aynı alt ünite, iki farklı başka alt ünite ile birleşerek hem hücre içerisinde ekonomi sağlar hem de çeşitlilik yaratılmış olur (4, 22). Ribozom biyogenezi dinamik bir süreçtir, alt üniteler farklı zamanlarda farklı hücresel görevlerde geri dönüşümlü olarak kullanılır. Her hücrenin gereksinimi farklı olduğu için doku veya hücreye 'özgüleşmiş ribozomlar' bulunur (17). Ribozomların yapı veya görevlerinde çeşitli varyasyonlar bulunur ve bu değişiklik translasyona da yansyarak dokuya özgül ifade sağlanmış olur. Bu varyasyonlar, farklı dokularda ifade olan ribozomal protein paraloglarını, embriyogenezde veya erişkin dönemde ribozomal protein ifade heterojenitesini, translasyon sonrası modifikasyonları, ribozomal proteinler dışındaki diğer ribozom ilişkili faktörleri ve rRNA yapısındaki heterojeniteyi içerir (4).

Ribozomal proteinler, rRNA işlenmesi, alt ünitelerin olgunlaşması, sitoplazmaya taşınmaları ve ribozomun son yapısının stabilizasyonundan sorumludur. Ancak, DNA tamiri, transkripsiyon, RNA işlenmesi ve apoptoz gibi ekstra ribozomal görevleri de vardır (23).

Hücre içerisinde ribozom heterojenitesi vardır. Bu heterojenite, ribozomal proteinlerin duplike olması ve translasyon sonrası modifikasyonları, rRNA modifikasyonları ve uzun kodlanmayan RNA ile ribozom etkileşimi olmak üzere farklı mekanizmalarla sağlanır. Örneğin RPL22 geni işlev kaybına sebep olan bir mutasyona uğradığında, RPL2211 (*RPL22 like 1*) geni ifadeye başlayıp RPL22'nin görevini yaparak bir aksaklık olmamasını sağlar (23).

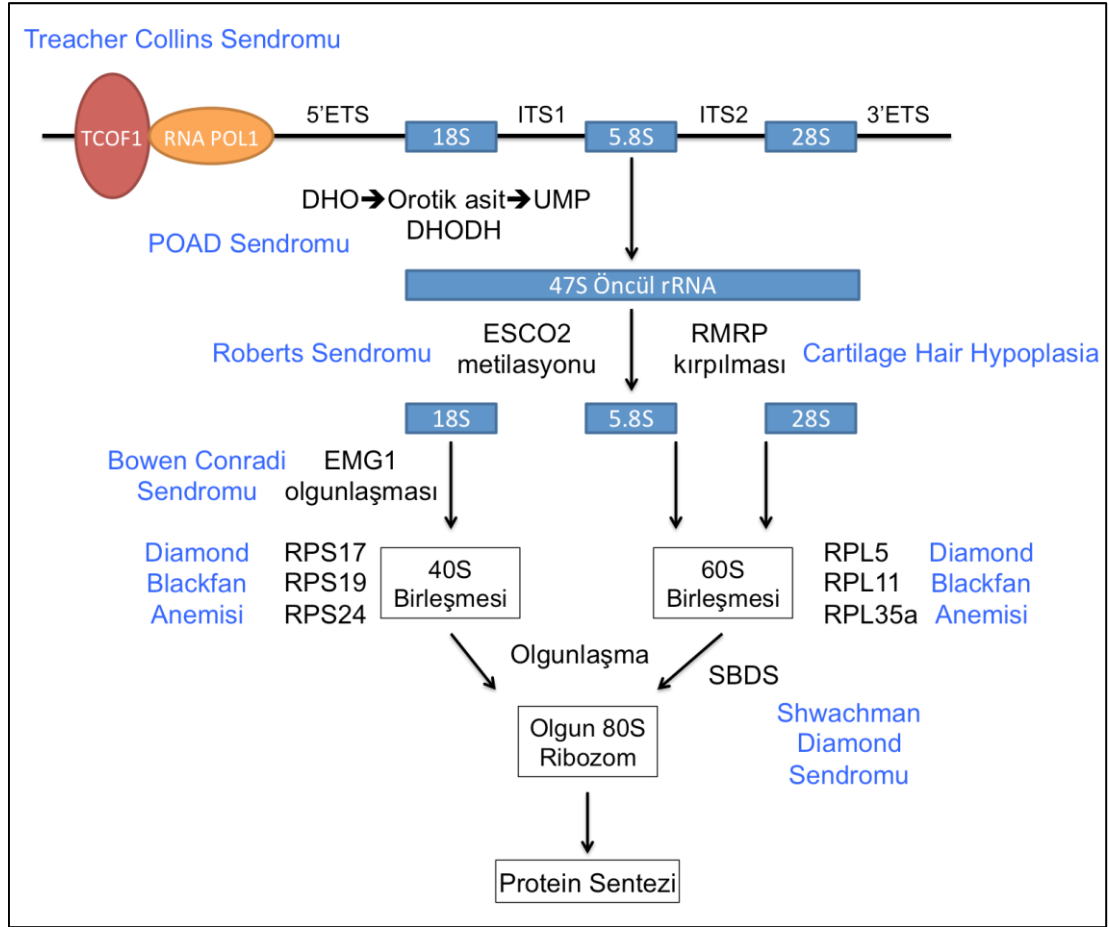
Ribozomlar hücrenin protein sentezinden sorumlu organelleridir. Ribozomun yapımı, diğer adıyla “ribozom biyogenezi” hücre çekirdeği içerisindeki nükleolusta başlar. rDNA (ribozomal DNA), RNA polimeraz I enzimi tarafından transkribe edilir ve öncül 47S rRNA oluşur. Bu süreç 18S, 5.8S ve 28S rRNA'lara kırılması ile devam eder. Kırılan bu rRNA'lar proteinler yardımı ile çekirdek içerisine taşınır. 5S rRNA ise çekirdekte RNA polimeraz III tarafından sentezlenir. Öncül 60S büyük alt ünite 5.8S, 28S ve 5S rRNA'ların büyük alt ünite proteini (RPL) yardımı ile bir araya gelmesiyle, öncül küçük alt ünite ise 18S rRNA'nın küçük alt ünite proteini (RPS) ile birleşmesiyle oluşur. RPL ve RPS'ler RNA polimeraz II tarafından sentezlenir. Oluşan bu öncül alt üniteler RPL ve RPS'ler tarafından sitoplazmaya taşınır. Öncül 40S alt ünite, hedef mRNA üzerindeki başlangıç kodonunu tanır ve tutunur, ardından 60S alt ünite de üzerine tutunarak olgun 80S ribozom yapısını tamamlamış olur ve protein sentezi başlar. 40S küçük alt ünite başlangıç kodonunu tanımadan, 60S büyük alt ünite de amino asitler arasındaki peptid bağının yapılmasından sorumludur (22, 24, 25) (Şekil 2.1.). Ribozom biyogenezindeki alt ünitelerin nükleolustan çıkarılmasındaki hatalarda bu taşımaya katılamayan ribozomal proteinler hemen yıkılır, dolayısıyla bu tip hasarlarda serbest ribozomal proteinler bulunmaz (26). Tüm ribozomal proteinler taşımaya katılmaz, bazıları regülasyonda görev alır.



Şekil 2.1. Hücre içerisindeki ribozom biyogenezi (24).

### 2.2.2. Ribozomopati

Bazı ribozomal proteinlerin mutasyonunda ‘ribozomopati’ adı verilen hastalık grubu ortaya çıkar (27), ancak her birinin kendine özgü fenotipik bulguları vardır ve etkilediği dokular farklıdır (1). Ribozom biyogenezinin her aşamasında farklı ribozomal proteinler görev alır. Bu biyolojik sürecin herhangi bir aşamasındaki ribozomal proteinin aksaklığı, farklı hastalık fenotiplerinin oluşmasına neden olur (28). Örneğin, sürecin başında görev alan TCOF1 genindeki bir mutasyon sonucunda Treacher Collins Sendromu ortaya çıkarken, 80S olgun ribozom yapısının oluşmasında görev alan SBDS genindeki mutasyon Shwachman Diamond Sendromu fenotipine yol açar (28, Şekil 2.2.).



**Şekil 2.2.** Ribozom biyogenezi farklı aşamalardan oluşan, her aşamada farklı genlerin dahil olduğu bir süreçtir. Sürecin herhangi bir aşamasındaki bir mutasyon farklı hastalık fenotiplerinin oluşmasına sebep olur (28).

Hastalığı oluşturan bir mutasyonun ardından ribozom biyogenezi azalır ve bunu takiben yetersiz protein üretimi olur; anemi ve kemik iliği yetmezlikleri gibi fenotipik sonuçlar doğurabilir. Bu durumda hücrede genetik bir darboğaz olur ve hücre popülasyonundaki genetik çeşitlilik azalır. Bu mekanizmayı kontrol eden sistemler bu hasarı tespit edebilir. Ancak tespit edilmez ve bu mekanizmada ikinci bir mutasyon olursa ribozom üretimi artar. Bunun sonucunda da hasarlı ribozom üretimi olur, gen ifadesindeki değişimler kansere yol açar. Bu aşamada hücrede klonal artış olur, hücreler büyümeyi ve proliferasyonu artıracak yeni mutasyonlar kazanır (29).

Ribozomopati olan hastalık gruplarında kemik iliği yetmezliği, nötropeni, solid tümör ve fiziksel anomaliler gibi pek çok ortak fenotip ortaya çıkar. Bu hastalık grupları ve fenotipik bulgular için genotip fenotip korelasyonu henüz aydınlatılamamıştır (9).

### **2.3. Kök Hücre Tanımı ve Alt Grupları**

Bir hücrenin kök hücre olabilmesi için hem kendini yenileyebilmesi hem de kendinden farklı hücre tiplerine farklılaşabilme kapasitesine sahip olması gerekir. Ancak vücut içerisindeki her kök hücre aynı kapasiteye sahip değildir. Kök hücreler farklılaşma kapasitelerine göre totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olmak üzere farklı alt gruplara ayrılırlar (30, 31). Totipotent kök hücreler yaşayan organizmanın tüm hücrelerini oluşturabilme kapasitesine sahiptir. Embriyonik ve embriyo dışı dokuları oluşturabilirler. Sadece zigot aşamasındaki hücreler totipotent kapasitededir (32). Pluripotent kök hücreler totipotent hücrelerden köken alan ve 3 farklı germ yaprağındaki hücelere farklılaşma kapasitesine sahiptir (32). Embriyonik kök hücreler pluripotent karakterdedir. Multipotent kök hücreler ise bir germ yaprağı içerisindeki tüm hücre tiplerine farklılaşma kapasitesine sahiptir. Erişkin kök hücreler multipotent karakterdedir. Unipotent kök hücreler ise sadece kendinin aynısı olan tek bir hücre tipini üretebilir. Fakat normal hücrelerden farklı olarak kendini yenileme yeteneğine sahiptir (32).

Kök hücreler, kordon kanı, plasenta, göbek kordonu gibi embriyonik dokulardan ve kemik iliği, yağ (adipoz) dokusu, kan, beyin, göz, karaciğer, deri (fibroblast), diş pulpası, iskelet kası, pankreas gibi erişkin dokulardan izole edilebilirler (33). Kök hücreler, izole edildikleri dokunun hücrelerine farklılaşmaya daha yatkındır. Örneğin kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler kemik veya kıkırdak hücrelerine adipoz kökenli mezenkimal kök hücelere göre daha yüksek verimle farklılaşırlar.

### **2.4. Kemik İliği Yapısı**

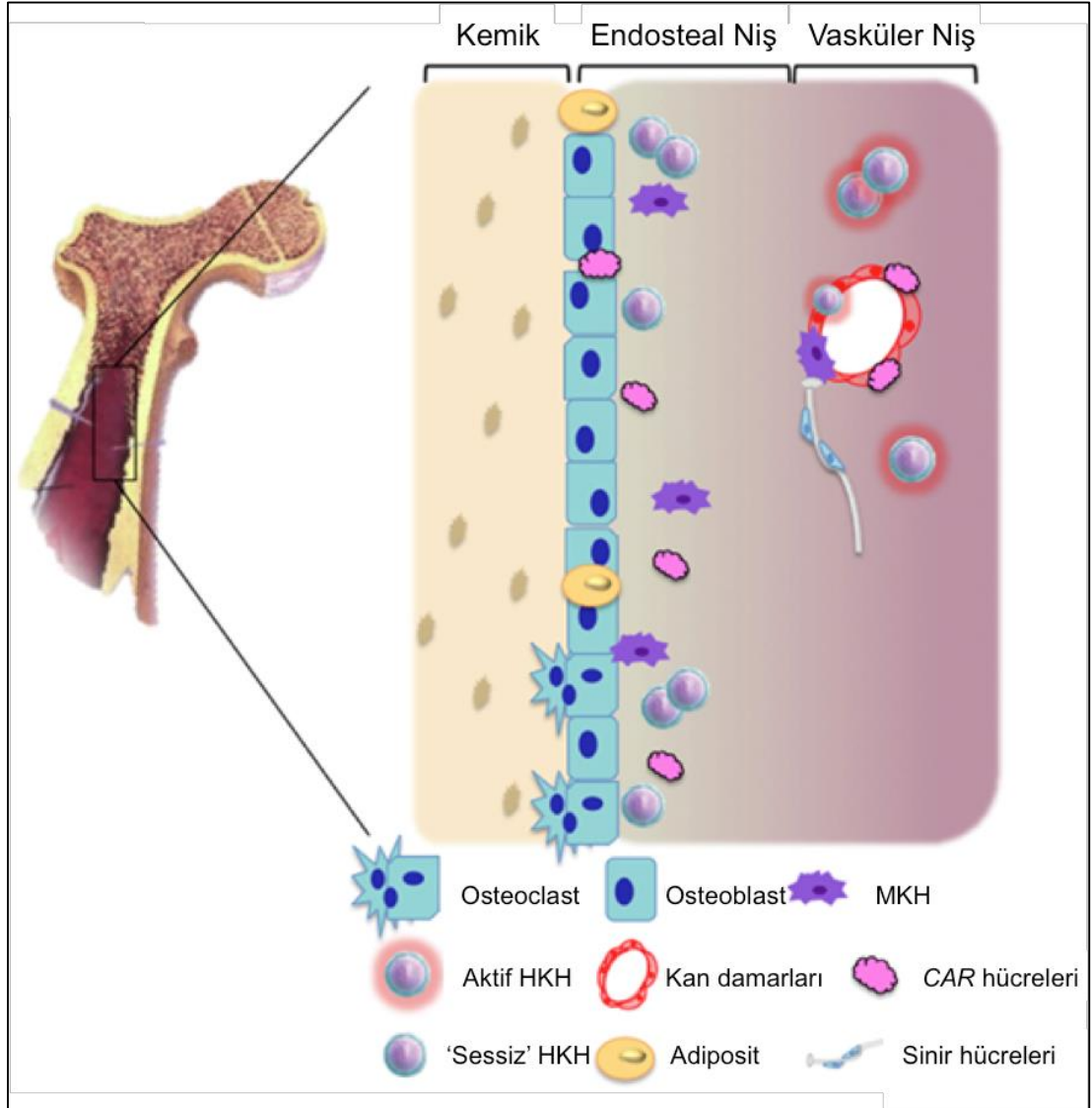
Kemik iliği, trabeküler kemiklerin içinde bulunan, hematopoezden sorumlu bir organdır. Kemik iliği yapısı içinde Mezenkimal Kök Hücre (MKH),

Hematopoetik Kök Hücre (HKH), sinir hücreleri, kan damarları, perisitler, osteoblastlar, osteoklastlar, yağ hücreleri ve CAR (*CXCL12-abundant reticular*) hücreleri bulunur (34-37). Kök hücreler vücutta her zaman kendilerine özgül niş yapıları içerisinde bulunur. Bu niş yapısı orada bulunan hücelere stromal destek, sinyal, oksijen ve besin kaynağı sağlar. Kemik iliğindeki hücreler de niş yapısı içerisinde bulunurlar. Kemik iliğinde vasküler ve endosteal olmak üzere iki farklı niş yapısı bulunmaktadır (36-38). Endosteal niş kemiğe yakın olan kısımdır. Buradaki hücreler osteoblast ve osteoklastlar ile direk temas halinde bulunurlar. Kemiğe daha yakın olan kısım olduğu için oksijen yoğunluğu daha az olan hipoksik bir ortamdır. Dolayısıyla hücreler, özellikle de HKH'ler reaktif oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden korunurlar. Hücreler burada daha sessiz konumda ve G0 evresinde bulunurlar, bölünmezler veya herhangi bir hücresel aktivite göstermezler. Vasküler niş ise kemik iliğindeki damarlara yakın olan niş bölgesidir. Burada oksijen yoğunluğu daha yüksektir. Kemik iliğindeki hücreler herhangi bir sinyal geldiğinde bu nişten dolaşıma katılarak ihtiyaç bölgesine göç ederler. Dolayısıyla buradaki hücreler harekete ve bölünmeye hazır konumdadır (36-38).

#### **2.4.1. Kemik İliğinde Mezenkimal Kök Hücrelerin Rolü**

Mezenkimal Kök Hücreler (MKH), mezoderm kökenli, bu germ yaprağının farklı hücre tiplerine (osteosit, adiposit, kondrosit, miyosit, tendinosit, ligamentosit) farklılaşma kapasitesine sahip, multipotent kök hücrelerdir (39). İğsi, fibroblast benzeri yapıda, aderen, çekirdekli hücrelerdir ve kemik iliğinde diğer hücelere stromal destek sağlayarak kemik iliği nişinde önemli rol oynar (40). Kemik iliği başta olmak üzere yağ dokusu, plasenta, amniyon sıvısı, kordon kanı ve diş pulpası gibi çeşitli kaynaklardan izole edilebilir (41). Kültüre edildiklerinde; yüzey belirteçlerinden CD90 (Thy-1), CD105 (*Transforming Growth Factor-B Receptor III*), CD73 (*Ecto 5 Nucleotidase*), CD44 (*Hyaluronan Receptor*), CD146 (*Melanoma-Cell Adhesion Molecule*, Mel-CAM) için pozitif, hematopoetik belirteçler olan CD11b, CD14, CD45, CD34 ve HLA-DR için negatiftir (41-44). Henüz tam olarak kanıtlanmamış olmakla birlikte, kemik iliğinin vasküler bölgesinde bulunan MKH'lerin, oradaki damarlar üzerinde yerleşmiş olan perisit hücrelerinden köken aldığı düşünülmektedir (42). Vasküler nişte yer aldıkları için sinyal geldiğinde

kolay ve hızlıca damar yoluna girerek hasarlı bölgeye göç edip orada tamir veya dokunun yenilenmesinde direk rol oynar (40-42).



**Şekil 2.3.** Kemik iliği niş yapısı ve yapı içerisindeki farklı hücreler (36). MKH: Mezenkimal Kök Hücre, HKH: Hematopoetik Kök Hücre, CAR: *CXCL12-abundant reticular* hücreler.

#### 2.4.2. Kemik İliğinde Hematopoetik Kök Hücrelerin Rolü

Hematopoetik kök hücreler (HKH), tüm kan hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahip multipotent kök hücrelerdir. *Long-term* HKH'ler (LT-HKH) yüksek kendini yenileme kapasitesinde, CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> hücreler olup, hayat boyu hematopoezin sağlanmasından sorumludur. Bu hücreler CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup>, kendini



yenileme kapasitesi daha düşük olan *short-term* HKH'lere (ST-HKH) farklılaşmalar (35, 45, 46). Daha sonra salınan çeşitli sitokinler ile bu hücreler ortak myeloid kökene veya ortak lenfoid kökene farklılaşır. Myeloid kökenli kök hücrelerden eritrosit, megakaryosit, nötrofil, eozinofil, bazofil ve makrofaj hücreleri oluşurken, lenfoid kökenli kök hücrelerden B lenfosit, T lenfosit, doğal öldürücü hücreler oluşur (46). Oluşan tüm bu kan hücreleri çeşitli sürelerde vücutta kalır ve var olan öncül kök hücreler sayesinde sürekli yapılıp yıkılarak sağlıklı bir hematopoetik sistemin idamesinden sorumludur (47).

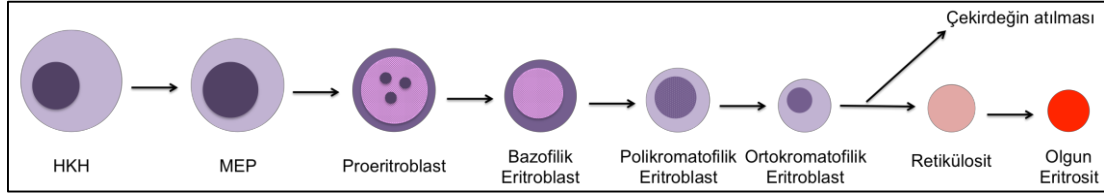
HKH'ler, erişkin bireylerde kemik iliğinde üretilir. Sessiz (*quiescent*) durumdaki, G0 evresindeki HKH'ler, kemik hücrelerine yakın olan endosteal nişte, osteoblastlar ve mezenkimal kök hücrelerle direk temas halinde bulunur (36-38). Nişteki hücrelerden gelen sinyallere göre hücre döngüsüne girmeye başlayarak damarlara yakın olan bölgeye göç eder ve vasküler nişe yerleşir. Vücudun ihtiyacına göre vasküler nişten çıkıp kan damarlarına geçerek dolaşıma katılır (35).

### **2.4.3.Hematopoetik Kök Hücreler ve Eritropoez**

Kırmızı kan hücrelerinin (eritrositlerin) yapımı eritropoez olarak adlandırılır. HKH'ler, kemik iliğindeki çeşitli sitokinlerin varlığında ortak miyeloid seriye ve ardından megakaryosit eritrosit öncül hücrelere (MEP) farklılaşır. Böbrekten salınan eritropoetin varlığında da eritrosit hücreler meydana gelir (48).

Eritroid seri farklılaşması, pek çok farklı hücre tipinin arka arkaya oluşması ile gerçekleşen bir süreçtir. MEP'lerden sonra proeritroblast hücreleri oluşur. Bu hücrelerin çekirdeği hücrenin yaklaşık %80'ini oluşturur. Bu aşamada aşırı bir ribozom sentezi gerçekleşir, artan ribozom sentezinden dolayı nükleolus da hacmen büyür. Mitotik bir fazla devam edecek olan süreçte, ileriki aşamalarda atacağı çekirdekten sonra meydana gelecek olan eritrositlerin yaklaşık 120 günlük ömrünü idame edebilmesi için bu aşamada ribozom sentezini artırır. Proeritroblast hücrelerinden sonra sırasıyla bazofilik eritroblast, polikromatofilik eritroblast ve ortokromatofilik eritroblast hücreleri oluşur (Şekil 2.4.). Bu farklılaşma saatlerle değişecek kadar hızlı olur (49). Olgun eritrositlerin oluşumuna giderken, mitotik fazdan mitotik olmayan faza geçilmiş olur, hücre hacmi giderek küçülür, yüzey

belirteçleri değişir ve hemoglobin taşıma kapasitesi artar (48). Daha sonra hücrenin çekirdeğini atmasıyla sırasıyla retikülosit ve olgun eritrosit hücresi oluşur. Oluşan bu eritrosit yaklaşık 120 gün boyunca kanda kalır (46-48).



**Şekil 2.4.** Olgun eritrosit, pek çok öncül eritrosit hücre tipinin seri farklılaşması ile oluşur.

## 2.5. Transkriptomik Penceresinden Diamond Blackfan Anemisi Etiyolojisine Bakış

Nadir hastalıkların genotip fenotip korelasyonunun anlaşılabilmesi için sorumlu genlerin aydınlatılması kritik öneme sahiptir. Bu aşamadan sonrası ise hastalıklarda ilişkilendirilmiş olan genlerin işlevlerinin aydınlatılmasıdır. Ribozomopatiler, ribozom biyogenezi sürecinde rol oynayan genlerde meydana gelen mutasyonlarla karakterize bir hastalık grubudur. DBA fenotipine yol açan genlerin büyük çoğunluğu bilinmekle birlikte, ribozom biyogenezi sürecinde rol oynadıklarından ötürü işlevleri hakkında da kabaca fikir sahibi olunabilmiştir. Hala cevap bulunamamış bir soru ise; tüm ökaryotik hücrelerde yüksek miktarda bulunmalarına rağmen, ribozomal protein mutasyonlarının neden ağırlıklı olarak eritrositopeni fenotipine yol açtığıdır. Pek çok nadir hastalıkta olduğu gibi, fenotipin oluşmasına neden olan moleküler patolojinin, hastalıkla alakalı dokularda ve hücre tiplerinde araştırılması gerekmektedir. Dolayısıyla, eritrosit üretiminin gerçekleştiği kemik iliği nişinin hastalık patogenezi anlamına kritik öneme sahip olduğu söylenebilir. Kalıtım kalıbı açısından da düşünüldüğünde, DBA'ya neden olan ribozomal protein mutasyonlarının tamamı heterozigot durumda hastalık fenotipini oluşturmaktadır. Bu mutasyonların tamamının haplo-yetersizlik nedeni ile söz konusu fenotipe neden olduğu düşünüldüğünde ribozom biyogenezi ve ribozomların idamesinde ribozomal proteinlerin miktarının kritik öneme sahip olduğu söylenebilir.

Omik veri setleri (genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik gibi) son yıllarda en kıymetli araştırma çıktılarından biri haline gelmiş olup, hastalıklara özgü biyo-belirteç ve moleküler imzaların aydınlatılmasında sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. İlgili literatür incelendiğinde DBA hastalarından elde edilen primer hücrelerle yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmüştür (6-8, 12, 50). Kemik iliği kaynaklı farklı hücre tiplerinin araştırma konusu olarak alındığı herhangi bir çalışmaya ise rastlanmamıştır. Bu tez çalışması kapsamında, bir ribozomopati olan DBA'da, kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler ve hematopoetik kök hücreler transkriptomik bakış açısı ile incelenmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler ve Bireyler

##### 3.1.1. Mezenkimal Kök Hücre Kültürü

Ficoll (Biosera)

Tripan mavisi (VWR Life Science)

Dulbecco's Modified Eagle Medium-Low Glucose (Biosera)

Fetal Bovine Serum (FBS) (Biowest)

Penicillin Streptomycin (Pen/Strep) (100X, Biowest)

L-glutamine (100X, Biowest)

PBS (Phosphate buffered saline) (Biowest)

Trypsin %25 (Biosera)

##### Adipojenik farklılaşma besiyeri

Adipojenik farklılaşma temel besiyeri (Gibco)

Adipojenik farklılaşma ek besiyeri (Gibco)

Gentamisin (5 µg/ml, Gibco)

##### Osteojenik farklılaşma besiyeri

Osteojenik/Kondrojenik farklılaşma temel besiyeri (Gibco)

Osteojenik farklılaşma ek besiyeri (Gibco)

Gentamisin (5 µg/ml, Gibco)

##### Kondrojenik farklılaşma besiyeri

Osteojenik/Kondrojenik farklılaşma temel besiyeri (Gibco)

Kondrojenik farklılaşma ek besiyeri (Gibco)

Gentamisin (5 µg/ml, Gibco)

##### Histokimyasal boyamalar

Paraformaldehit (PFA) (%3.7, Sigma)

Oil Red O Boyası

Alizarin Red S Boyası  
 Metilen Mavisi Boyası  
 PBS (Phosphate buffered saline) (Biowest)  
 Distile su

### 3.1.2. Eritroid Seri Farklaşma Besiyeri

Turk's boyası  
 Eritropoetin katkılı metilselüloz besiyeri (Stem Cell Technologies)  
 Hemin ( $2 \times 10^{-3}$  M, Sigma)  
 Stem Cell Factor (10 ug/ml, Biolegend)  
 Iscove's Modified Dulbecco's Medium (Gibco)  
 Kör uçlu iğne (*blunt end needle*)  
 3 ml şırınga  
 100 mm petri  
 35 mm petri

### 3.1.3. Mononükleer Hücrelerden Yüzey Belirtecine Göre Hücre Alt Türlerinin Ayrıştırılması

MKH besiyeri  
 Hücre Yıkama Solüsyonu (*Cell Wash*) (BD Biosciences)  
 RPMI 1640 hücre kültürü ortamı  
 FACS Aria II (BD Biosciences)  
 Kullanılan antikorlar Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** İmmüfenotipleme ve hücre ayrıştırmada kullanılan antikor bilgileri.

Antikor	Klon	Floresan	Üretici Firma
CD34	8G12	FITC	BD Biosciences
CD38	HIT2	PE/Cy7	Biolegend
CD71	CY1G4	Purified	Biolegend
CD117	104D2	PE	BD Biosciences
eFluor660	F(ab') <sub>2</sub>	eFluor660	eBiosciences

### 3.1.4. RNA İzolasyonu

TRIZOL (Sigma)

Kloroform (Sigma)

Etanol (Sigma)

DEPC-H<sub>2</sub>O

NanoDrop Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific)

Qubit dsDNA Assay (*high sensitive*) (Thermo Fisher Scientific)

Qubit Florometre 2.0 (Thermo Fisher Scientific)

### 3.1.5. Az Sayıda Hücreden RNA İzolasyonu ve Amplifikasyonu

RL Tampon (Norgen Biotek Corporation)

Etanol

Yıkama Solüsyonu (Norgen Biotek Corporation)

Çözme Solüsyonu (Norgen Biotek Corporation)

RNA kolonu

1.5 ml tüp

DEPC-H<sub>2</sub>O

Denatürasyon Solüsyonu (Qiagen)

DNA uzaklaştırıcı tampon (Qiagen)

RT/polimeraz tamponu (Qiagen)

Random primer (Qiagen)

DNA polimeraz (Qiagen)

Ligaz tamponu (Qiagen)

Ligaz karışımı (Qiagen)

Reaksiyon tamponu (Qiagen)

### 3.1.6. Yeni Nesil Dizileme

VILO Superscript cDNA sentez kiti

Agencourt® AMPure® XP Kit Beckman Coulter A63880

Dynabeads M-270 Streptavidin (Invitrogen 653-05)

Ion AmpliSeq™ Human Gene Expression Chef RDY Kit

Ion PI™ Hi-Q OT2 200 Kit v3  
 Ion PI™ Hi-Q Sequencing 200 Kit v3  
 Ion Chef otomatize hazırlık cihazı  
 Ion One Touch klonal amplifikasyon cihazı  
 Ion One Touch ES manyetik nanopartikül zenginleştirme cihazı  
 Ion Proton Semicunductor yeni nesil dizileme cihazı  
 Torrent Server Veri analiz ve depolama sunucusu

### 3.1.7. Bireyler

Bu tez çalışması Avrupa DBA Konsorsiyumu projesi (TÜBİTAK 315S192) kapsamında gerçekleştirilmiştir. Avrupa DBA Konsorsiyumu projesi (EuroDBA), DBA hastalığının moleküler etiyojisini araştırmaya yönelik olarak Avrupa Birliği 7. Çerçeve ERA-NET programı kapsamında, E-Rare konsorsiyumu tarafından desteklenen bir uluslararası proje olup sunulan tez çalışması, ilgili projenin yalnızca MKH ve HKH ile yapılan iş paketlerini kapsamaktadır. Tüm çalışmalar Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayı alınarak (İzin Tarihi: 18.11.2015, İzin No: GO 15/721-19) gerçekleştirilmiştir (EK-1). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematolojisi Bilim Dalı'nda takip edilen DBA tanısı almış olan hastalardan (6 birey) tanı koymak ve Pediatrik Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'ne kemik iliği donörü olarak gelen sağlıklı bireylerden (6 birey) kemik iliği nakli yapmak için alınmış kemik iliği aspirasyon örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Seçilen donörler, DBA hastaları ile yaş, cinsiyet ve G-CSF (*Granulocyte-colony stimulating factor*) alma durumuna göre uyumlu olarak seçilmiştir. Tez çalışması kapsamında kullanılan örnekler Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde arşivlenmiş ve hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın transkriptom analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. EuroDBA projesinin başlıca iş paketlerinden olan klinik değerlendirme ve yüksek ölçekli genomik analizler, tez çalışmasının kapsamında olmamakla birlikte, çalışmaya dahil edilen bireylerin seçilmesinde kritik öneme sahip olmuştur. Çalışmaya dahil edilen bireylere ait olan ve EuroDBA projesi kapsamında elde edilmiş hasta bilgileri Tablo 3.2'de verilmiştir.

**Tablo 3.2.** Tez çalışmasına dahil edilen bireylerin mutasyon, yaş ve cinsiyet bilgileri.

Örnek Kodu	Grup	Mutasyon	Yaş	Cinsiyet	G-CSF Alımı
DBA-1	DBA	<i>CECRI</i> (Homozigot, yanlış anlamalı)	5	K	-
DBA-2	DBA	<i>CECRI</i> (Homozigot, indel)	3	K	-
DBA-3	DBA	<i>RPS19</i> (Heterozigot, erken dur kodonu)	6	E	-
DBA-4	DBA	Bilinmiyor	1	E	-
DBA-5	DBA	Bilinmiyor	6	K	+
DBA-6	DBA	Bilinmiyor	11	K	-
SD-1	Sağlıklı	-	6	K	-
SD-2	Sağlıklı	-	3	K	-
SD-3*	Sağlıklı	-	24	E	-
SD-4	Sağlıklı	-	1	E	-
SD-5	Sağlıklı	-	6	K	+
SD-6	Sağlıklı	-	11	K	-

G-CSF: *Granulocyte-colony stimulating factor*, K: Kadın, E: Erkek. \*Bu örnek ATCC'den (*American Type Culture Collection*) temin edilmiştir (ATCC No: PCS-500-012™ Seri No: 63208778). Sağlıklı donörlere ek olarak referans bir materyal olarak kullanılmıştır.

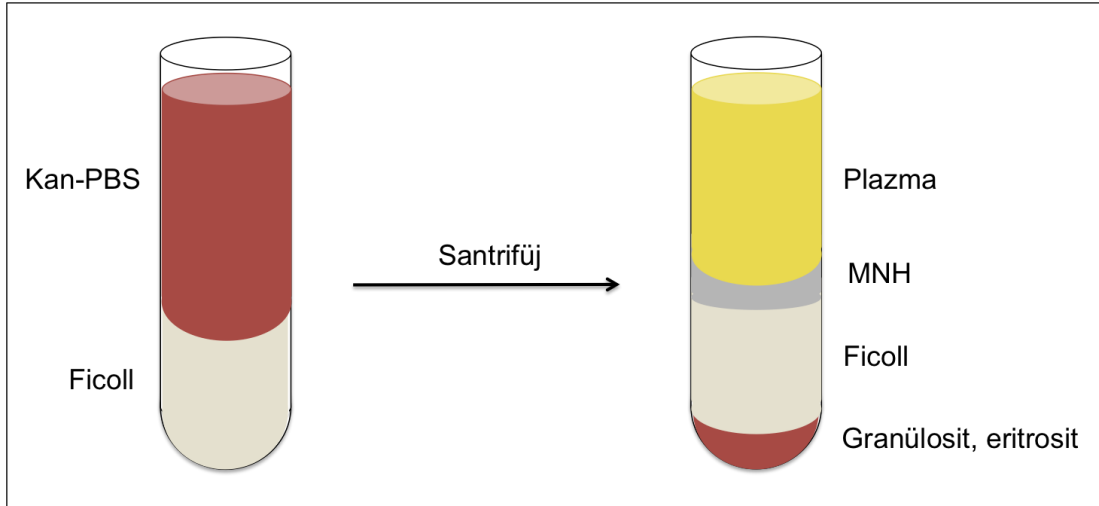
## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1. Kemik İliği Aspirasyon Materyalinden Mezenkimal Kök Hücre İzolasyonu

- Kemik iliği aspirasyon örneği, plazma izolasyonu için 15 ml'lik tüplere aktarıldı.
- Plazma 1.5 ml tüplere toplandı ve -80°C'de saklandı.



- Son hacim baştaki örnek miktarının iki katı olacak şekilde eklenen PBS içinde hücreler çözüldü.
- 15 ml'lik tüpe plazması uzaklaştırılmamış en baştaki kan örneği miktarı kadar Ficoll eklendi.
- Kan/PBS karışımı yavaşça Ficoll üzerine yayıldı.
- 200 g'de 20 dakika frensiz santrifüj edildi.
- Mononükleer hücreleri içeren bulutsu, opak ara faz toplandı ve yeni 15 ml'lik tüpe alındı (Şekil 3.1).
- Bir kez PBS ile yıkandı, 453 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı ve oluşan pelet tüpün altına elle vurularak kaldırıldı.
- 5-10 ml PBS eklenerek tekrar yıkandı.
- Oda sıcaklığında 453 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı, hücre peleti nazikçe vurularak çözüldü ve 5 ml PBS eklendi.
- Homojen bir şekilde karıştırılarak 25 µl çekildi, 25 µl Tripan mavisi boyası ile karıştırılarak hemositometreye 10 µl koyuldu. Mikroskop altında canlı hücreler sayıldı.
- Elde edilen hücre sayısına göre kültüre edildi veya dondurularak arşivlendi.



**Şekil 3.1.** Kemik iliği aspirasyon örneği kendisiyle aynı miktarda PBS ile karıştırılıp aynı miktarda Ficoll üzerine yayıldı. Frensiz santrifüjden sonra bulutsu, opak ara faz toplandı. MNH: Mononükleer hücre.

### 3.2.2. Mezenkimal Kök Hücre Kültürü, Pasajlanması ve İdamesi

- %10 FBS, %1, Pen/Strep, %1 L-glutamine içeren DMEM-LG ile MKH besiyeri hazırlandı.
- Çözülen MNH'ler 1 ml içinde  $25 \times 10^6$  hücre olacak şekilde içerisinde 10 ml MKH besiyeri olan T75 kültür kaplarına ekildi.
- Ortalama 7-10 gün sonra %80 yoğunluğa ulaşınca besiyeri çekildi.
- PBS ile yıkandı.
- 4 ml Tripsin eklendi, 37°C inkübatörde 5 dakika bekletildi.
- 8 ml besiyeri ile tripsin inaktive edildi ve 50 ml'lik tüp içerisine toplandı.
- 453 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı, hücre peleti nazikçe vurularak çözüldü ve 5 ml PBS eklendi.
- Homojen bir şekilde karıştırılarak 25 µl çekildi, 25 µl Tripan mavisi boyası ile karıştırılarak hemositometreye 10 µl koyuldu. Mikroskop altında canlı hücreler sayıldı.
- Elde edilen hücre sayısına göre kültür kaplarına bölündü. cm<sup>2</sup> başına yaklaşık 3.000 hücre ekildi.
- Hücreler 0. pasajdan 3. pasaja getirilene kadar devam ettirildi. Besiyeri haftada 2 kez değiştirildi.

### 3.2.3. Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması

- Tüm farklılaşma deneyleri için 3. pasaja getirilmiş hücreler kullanıldı. Duplike çalışıldı.
- Adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşmalar için hücreler 12'li kültür kabına ekildikten sonra 2 gün bekletildi.
- Daha sonra besiyeri çekilerek, PBS ile yıkandı ve farklılaşma besiyerleri kültür ortamında eklenerek 21 günlük farklılaşma süreci başlatıldı. Besiyeri haftada 2 kez değiştirildi.

### **Adipojenik farklılaşma**

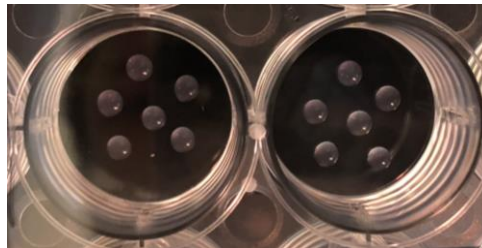
- Adipojenik farklılaşma için  $\text{cm}^2$  başına 10.000 hücre ekildi.
- Adipojenik farklılaşma temel besiyeri içerisine adipojenik farklılaşmaya özgül ek besiyeri 90:10 oranında eklendi. Hazırlanan 100 ml besiyeri içerisine 50  $\mu\text{l}$  Gentamisin eklendi.

### **Osteojenik farklılaşma**

- Osteojenik farklılaşma için  $\text{cm}^2$  başına 5.000 hücre ekildi.
- Osteojenik/Kondrojenik farklılaşma temel besiyeri içerisine osteojenik farklılaşmaya özgül ek besiyeri 90:10 oranında eklendi. Hazırlanan 100 ml besiyeri içerisine 50  $\mu\text{l}$  Gentamisin eklendi.

### **Kondrojenik farklılaşma**

- Kondrojenik farklılaşma için 50  $\mu\text{l}$  besiyeri içinde 800.000 hücre olacak şekilde süspansiyon hazırlandı.
- Daha sonra homojen hale getirilen bu karışımdan 5  $\mu\text{l}$  alınarak boş kültür kaplarında damlacık şeklinde bırakıldı (Şekil 3.2).
- Osteojenik/Kondrojenik farklılaşma temel besiyeri içerisine kondrojenik farklılaşmaya özgül ek besiyeri 90:10 oranında eklendi. Hazırlanan 100 ml besiyeri içerisine 50  $\mu\text{l}$  Gentamisin eklendi.
- 2 saat inkübatör içerisinde bekletildikten sonra kondrojenik farklılaşma besiyeri kültür ortamına eklendi.



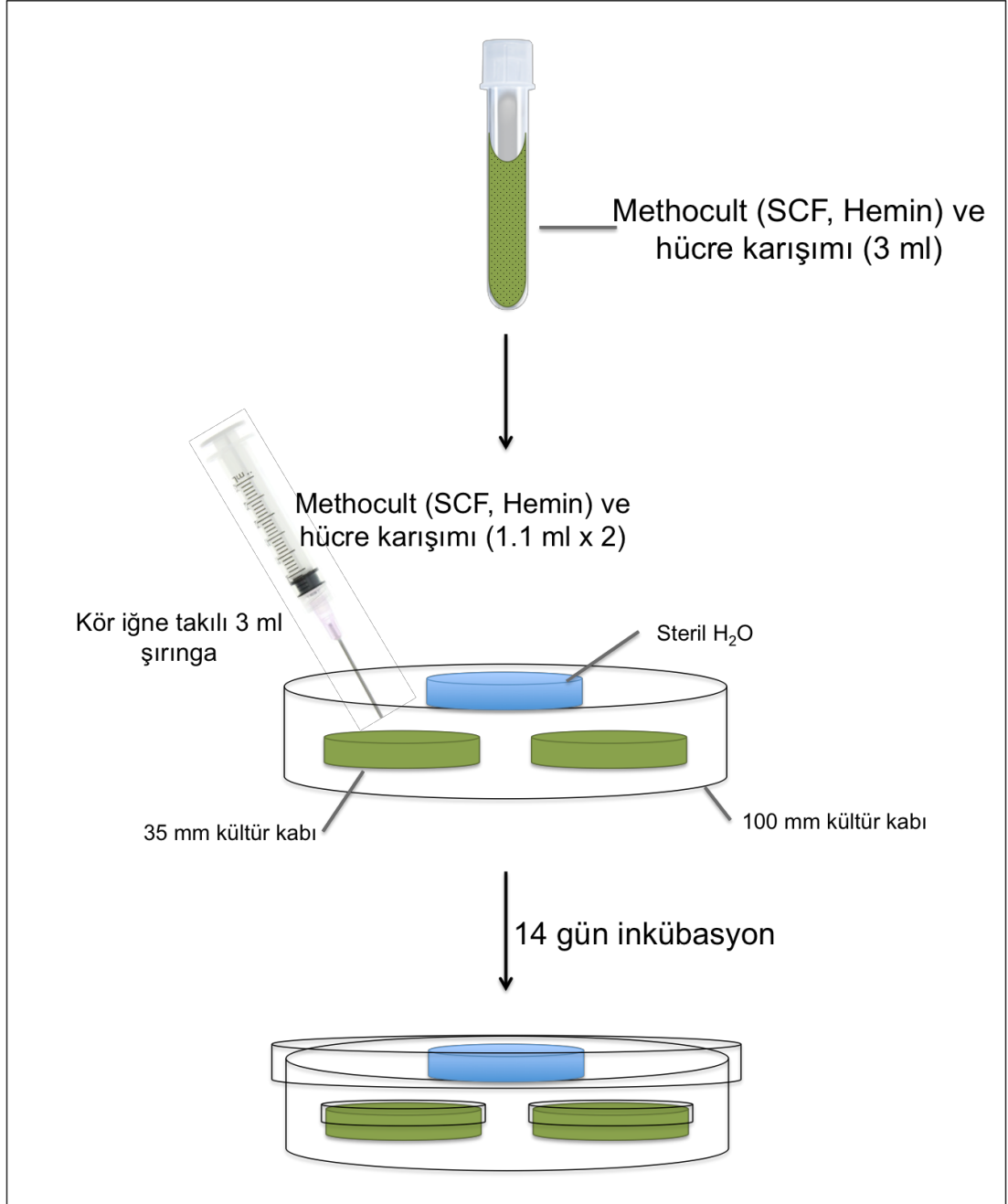
**Şekil 3.2.** 800.000 hücre 50  $\mu\text{l}$  MKH besiyeri içinde süspansiyon edilerek 5  $\mu\text{l}$  damlacıklar olarak kültür kabına eklendi.

### **Histokimyasal boyamalar**

- Kùltür kabından farklılaşma besiyeri çekildi.
- PBS ile yıkandı.
- %3.7 PFA (paraformaldehit) ile 30 dakika fikse edildi.
- 3 kez PBS ile yıkandı.
- Adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşmalar için sırasıyla Oil Red O, Alizarin Red S ve Metilen mavisi boyaları eklenerek 10 dakika bekletildi.
- 3 kez distile su ile yıkandı ve görüntülendi.

### **3.2.4. Kemik İliği Aspirasyon Materyalinden Eritroid Koloni Oluşturma**

- Kemik iliğinden izole edilen veya dondurulmuş mononùklear hücreler (MNH) 10 ml çözüme tamponu içinde süspanse edildi.
- 453 g'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant atıldı, hücre peleti nazikçe vurularak çözüldü ve 5 ml PBS eklendi. 475 µl Turk's boyası 25 µl hücre süspanسیونu karıştırılıp hemositometre ile sayıldı.
- 1.000.000 hücre 2 ml IMDM içerisinde çözüldü.
- 300 µl Hemin, 30 µl SCF ve IMDM içindeki hücre süspanسیونunundan 300 µl (150.000 hücre) eritropoetin içerikli metilselüloz besiyeri içine eklendi ve iyice karıştırıldı. 3 ml, homojen, koyu yeşil bir karışım elde edildi.
- 100 mm petri içine 3 tane 35 mm petri yerleştirildi, birine steril su dolduruldu, sulu olanın kapağı açık bırakıldı.
- Hazırlanan besiyeri-hücre karışımı kör uçlu iğneye takılı 3 ml şırıngaya çekildi, boş kalan 2 tane 35 mm'lik petriye 1.1'er ml enjekte edildi, kapakları kapatıldı (Şekil 3.3).
- 100 mm'lik petrinin kapağı kapatıldı ve inkübatöre yerleştirildi. 14 gün boyunca kontrollü bir şekilde kùltüre devam edildi.
- Süreç sonunda oluşan koloniler sayılarak fotoğraflandı.
- Kùltürde oluşan kırmızı (eritroid) koloniler toplanarak RNA izolasyonu için TRIzol içerisine alınıp -80°C'de depolandı.



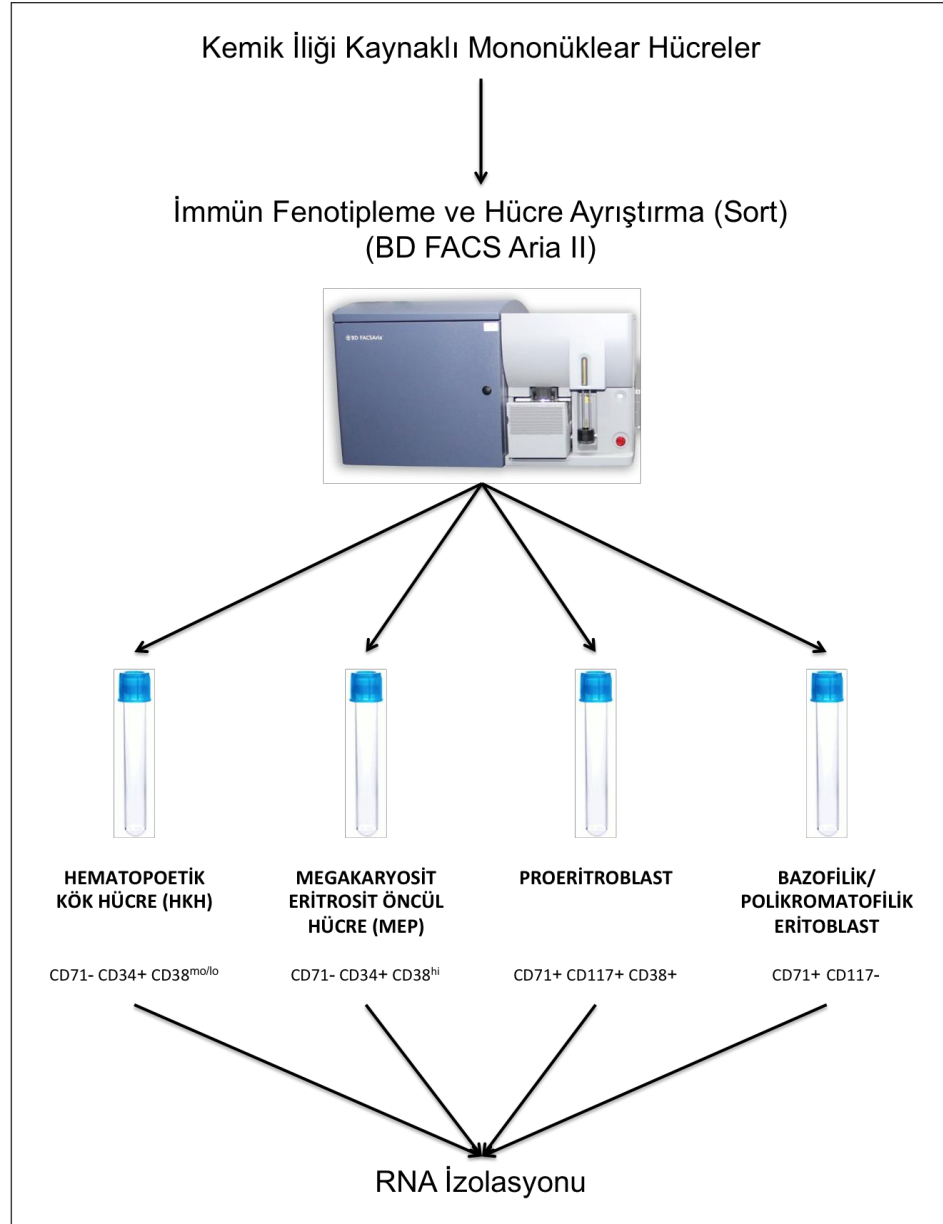
**Şekil 3.3.** 2.4 ml Eritropoetin içerikli *methocult* besiyeri içine 300 ul Hemin, 30 ul SCF ve 2 ml IMDM içinde süspanse edilmiş 1.000.000 hücre karışımından 300 ul eklenip karıştırıldı. Kör iğne takılı 3 ml şırınga içerisine çekilerek 35 mm petri kaplarına 1.1 ml olarak eklendi. Boş bir 35 mm petri kabına steril su eklendi ve hepsi 100 mm petri içine yerleştirildi, kapağı kapatıldı. 14 gün boyunca kontrollü olarak inkübe edildi. SCF: *stem cell factor*.

### 3.2.5. Akım Sitometri ile Mononükleer Hücrelerden Yüzey Belirtecine Göre İmmünofenotipleme ve FACS (*Fluorescence-activated cell sorting*) ile Eritroid Seri Alt Hücre Tiplerinin Ayrıştırılması

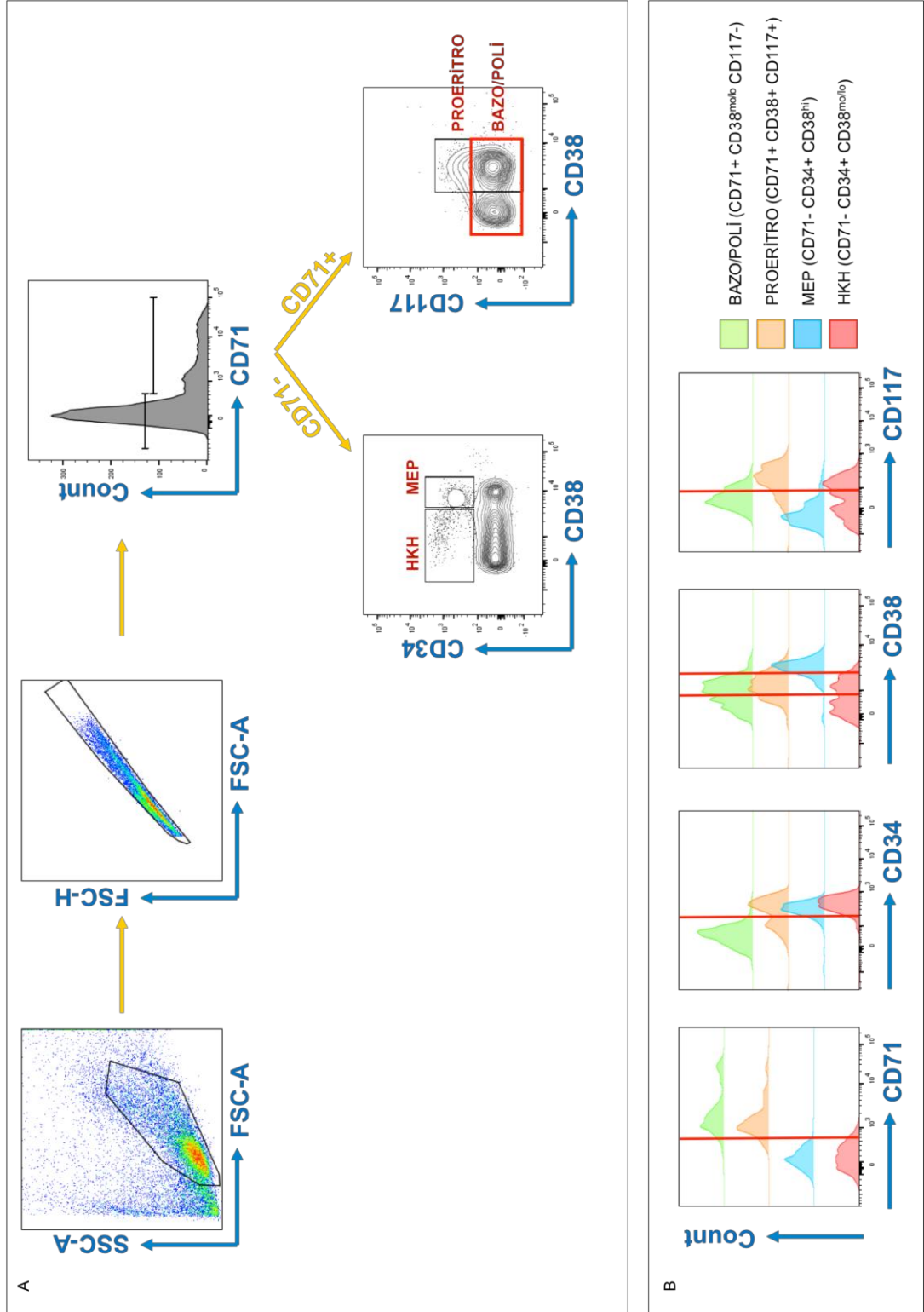
- Mononükleer hücreler MKH besiyeri içinde süspansiyon edildi.
- Hücreler 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, hücreler 1 ml hücre yıkama solüsyonu (*cell wash*) içinde çözüldü.
- CD71 primer antikorunu eklendi, 25 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 2.5 ml hücre yıkama solüsyonu eklendikten sonra 1800 rpm de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatantı atıldı ve 1 ml hücre yıkama solüsyonu içinde çözüldü.
- eFluor660 flurokrom taşıyan F(ab')<sub>2</sub> sekonder antikorunu CD71 antikorunu ile işaretlenen hücreleri boyamak için eklendi, 20 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi.
- Hücreler 2.5 ml hücre yıkama solüsyonu eklendikten sonra 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatantı atıldı, ve 1 ml hücre yıkama solüsyonu içinde çözüldü.
- CD34, CD38 ve CD117 antikorları eklendi, 25 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi.
- 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, süpernatantı atıldı, hücre yıkama solüsyonu ile yıkandı.
- İşaretlenen mononükleer hücreler tam RPMI 1640 hücre kültürü ortamı ile yaklaşık 3 ml hacme tamamlandı. Ayrılacak olan eritroid seri alt tipleri için 4 ayrı tüpe tam RPMI 1640 hücre kültürü ortamı eklendi.
- *Accudrop* işlemi yapıldıktan sonra Hematopoetik Kök Hücreler (HKH) için CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>mo/lo</sup>, CD71<sup>-</sup>, Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücreler (MEP) için CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>hi</sup>, CD71<sup>-</sup>, Proeritroblast Hücreleri için CD38<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup>, Bazofilik Eritroblast Hücreleri için CD38<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup>, Polikromatofilik Eritroblast Hücreleri için CD38<sup>-</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup> hücreler seçilerek akım sitometri yöntemiyle hücrelerin immünofenotiplemesi ve ile *Fluorescence-activated cell sorting* (FACS) ile ayrımı yapıldı. Bazofilik ve

Polikromatofilik Eritroblast hücreleri aynı tüpte toplandı (Bazo/Poli) (Şekil 3.4.). Yapılan kapılama stratejisi Şekil 3.5’de verilmiştir.

- Ayrılan hücrelerin üzerine 2 ml tam RPMI 1640 hücre kültürü ortamı eklendi.
- İzole edilen hücre gruplarında ayrıştırma kontrolü (Şekil 3.5.) yapıldı.



**Şekil 3.4.** Kemik iliğinden gelen MNH’lere FACS yöntemi ile yüzey belirteçlerine göre immüno-fenotipleme ve ayrıştırma işlemi yapıldı. 4 farklı hücre alt türü; HKH’ler CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>mo/lo</sup>, CD71<sup>-</sup>, MEP’ler CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>hi</sup>, CD71<sup>-</sup>, Proeritroblastlar CD38<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup>, Bazo/Poli eritroblastlar CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup>, olmak üzere ayrı tüplerde toplandı ve az hücreden RNA eldesi yapıldı. mo: *moderate*, lo: *low*, hi: *high*.



**Şekil 3.5.** Akım sitometri ile immünofenotipleme ve FACS ile hücre ayırıştırma detayları. A) Kemik iliği MKH'lerine yapılan immünofenotipleme ve hücre ayırıştırmadaki kapı alma stratejisi. B) Hücre ayırıştırma sonrasında ayrılan popülasyonun saflık analizi yapıldı. Dört hücre alt tipinin de yüzey belirteçlerine göre doğru ayrılmış olduğu görüldü. mo: moderate, lo: low, hi: high.



### 3.2.6. RNA İzolasyonu

- İstenilen yoğunluğa ulaşılan hücrelerin bulunduğu kültür kabından besiyeri çekildi, PBS ile yıkandı ve 1 ml TRIzol eklendi.
- TRIzollenmiş örnek 1.5 ml tüpe alınıp 13.000 rpm'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edildi.
- Üstte kalan faz yeni bir tüpe alınıp oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
- 300 µl kloroform eklenip 10 saniye vorteks ile çalkalandı ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
- 13.000 rpm'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edildi ve üst faz yeni tüpe alındı.
- %100 etanolden 500 µl eklenip 5 kez alt üst yapıldıktan sonra en az 30 dakika -20°C'de bekletildi.
- 13.000 rpm'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edilip üstte kalan faz pelete zarar vermeden atıldı.
- DEPC'li su ile hazırlanmış %70 etanolden 500 µl eklenip yıkama yapıldı.
- Etanolün fazlası çekildi, kalanın da uçması için en az 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 22 µl DEPC-H<sub>2</sub>O eklenip 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra spektrofotometre ile RNA ölçümü yapıldı.
- İşlem bitince ilerideki deneylerde tekrar kullanabilmek için -80°C'de saklandı.

### 3.2.7. Az Sayıda Hücreden RNA İzolasyonu ve Amplifikasyonu

- Ayrıştırılan hücreler üzerine 100 µl RL tamponu eklendi ve karıştırıldı.
- 100 µl %70 etanol eklenip iyice karıştırıldı.
- Elde edilen karışım tüp içine koyulan kolon üzerine koyularak 3500 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
- Altta kalan kısım atılıp kolon içerisine 400 µl yıkama solüsyonu koyulup 14.000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı, altta kalan kısım atıldı.
- Kurutmak için 14.000 g'de 2 dakika santrifüj yapıldı.

- Yeni tüpe koyulmuş kolon üzerine 8 µl çözüme solüsyonu eklendi 200 g'de 1 dakika ve 14.000 g'de 1 dakika santrifüj yapıldı.
- İzole edilen RNA'lardan 5 µl alınıp DEPC-H<sub>2</sub>O ile 8 µl'ye tamamlandı. Üzerine 3 µl denatürasyon tamponu eklenerek 95°C'de 3 dakika tutulup buz üzerine alındı.
- 2 µl DNA uzaklaştırıcı tampon eklenip 42°C'de 10 dakika tutulup buz üzerine alındı.
- Hazırlanan 13 µl karışımın üzerine 4 µl RT/polimeraz tamponu, 1 µl Random primer ve 1 µl enzim eklenerek 42°C'de 60 dakika, 95°C'de 3 dakika tutulup buz üzerine alındı.
- Karışımın üzerine 8 µl ligaz tamponu ve 2 µl ligaz karışımı eklenerek 24°C'de 30 dakika, 95°C'de 5 dakika tutulup buz üzerine alındı.
- Karışım üzerine 29 µl reaksiyon tamponu, 1 µl DNA polimeraz eklenip 30°C'de 2 saat, 65°C'de 5 dakika tutulup buz üzerine alındı.
- İzole edilip çoğaltılmış olan RNA örneği, ilerideki deneylerde tekrar kullanabilmek için -80°C'de saklandı.

### 3.2.8. Transkriptom Analizi

- Kantitatif transkriptom analizi için, her bir RNA örneğinden 10 ng alınarak VILO Superscript cDNA sentez kiti ile cDNA sentezi gerçekleştirildi.
- Akım sitometri sonrası ayrıştırma yapılan örnekler için ise, RNA eldesini takiben REPLI-G ile RNA amplifikasyonu ve çift zincir cDNA sentezi yapılmasından ötürü, diğer örneklerle aynı anda cDNA sentezi yapılmadan doğrudan kütüphane hazırlığına geçildi.
- Kütüphane eldesi için her bir gene özgül olarak dizayn edilmiş primer havuzu kullanılarak (Ion AmpliSeq™ Human Gene Expression Panel) *ultra-high* mültipleks PZR yapıldı. Kütüphane oluşturulması sırasında yapılan amplifikasyon ve barkodlama aşamaları Ion Chef cihazı kullanılarak otomatize şekilde gerçekleştirildi. Kütüphane oluşturulurken her bir örneğe ayrı bir barkod dizisi eklenerek, örneklerin aynı yeni nesil dizileme koşulunda dizilenmesine olanak sağlandı.

- Kütüphanelerin kantitatif miktar tayini Qubit cihazı ve PicoGreen kit kullanılarak florometrik yöntem ile yapıldı. Qubit dsDNA High Sensitive Quantitation kit içerisindeki standartlar yardımı ile çift zincirli DNA moleküllerinin miktarı saptandı.
- Ion Chef cihazından alınan birleştirilmiş kütüphaneler emülsiyon PCR ile yapılan klonal amplifikasyon için 10 pM konsantrasyona getirildi. Kütüphanelerin klonal amplifikasyonu Ion PI Hi-Q OT2 200 kiti kullanıldı.
- Yeni nesil dizileme reaksiyonu Ion PI Hi-Q Sequencing 200 Kit kullanılarak Ion Proton cihazında gerçekleştirildi.
- Veri analizi için Torrent Server üzerinde bulunan analiz plug-in kodları kullanıldı.
- Yeni nesil dizileme reaksiyonu sonrası elde edilen tüm okumalar RPM (*reads per million*) metodu ile normalize edildi ve karşılaştırmalı olarak incelendi.
- Elde edilen okuma yüzdeleri Tablo 3.3'te verilmiştir.
- Elde edilen gen ifade değerleri 3. parti yazılımlar (iDEP, Morpheus ve STRING) ile çeşitli parametrelere göre görselleştirildi.

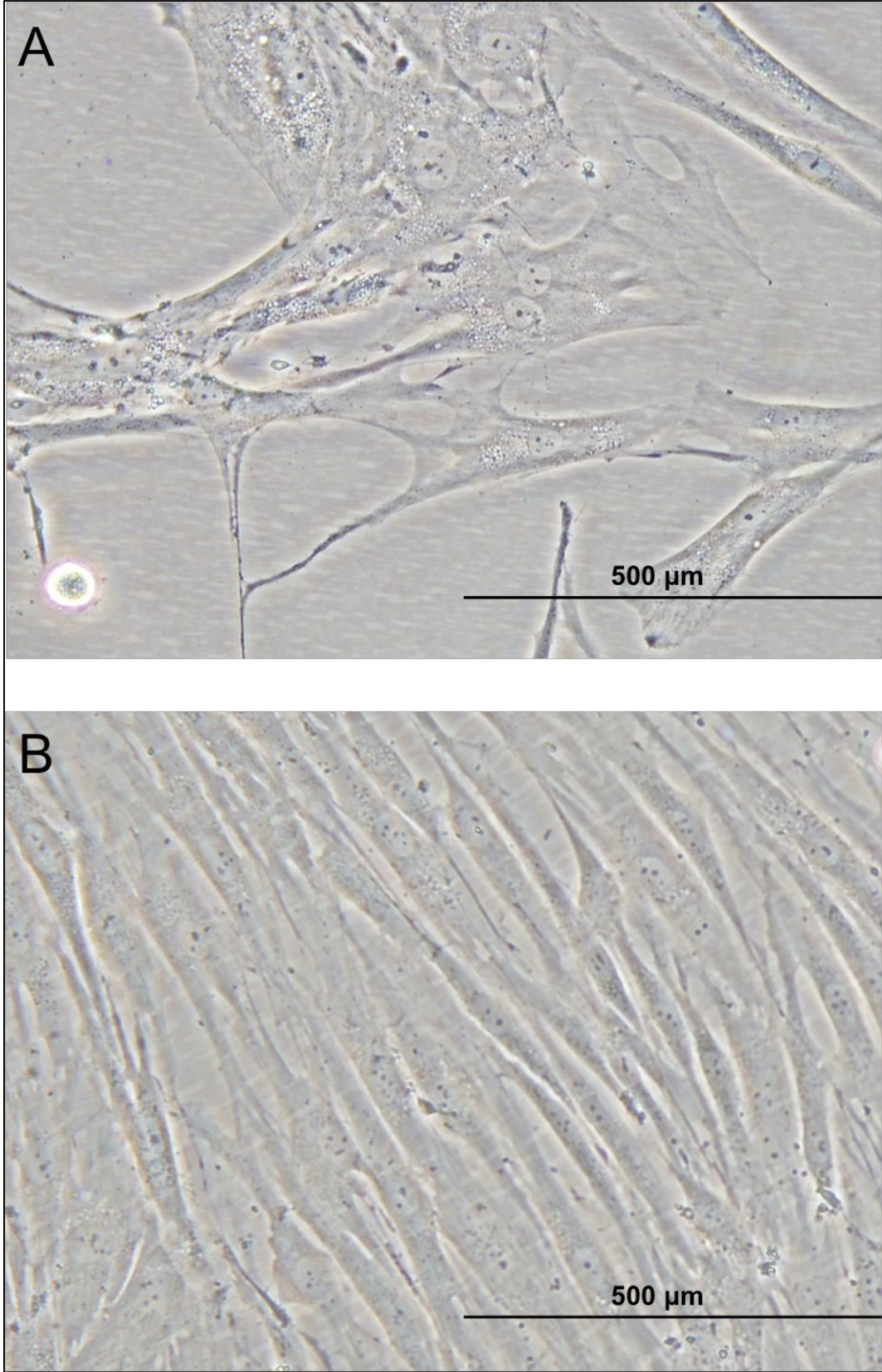
**Tablo 3.3.** Yapılan transkriptom analizi sonrasında tüm örneklerden gelen haritalanan okuma miktarı ve doğru okumalar, eşleştirilen hedeflerin yüzdeleri. MKH: Mezenkimal kök hücre, SD: sağlıklı donör, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, CFUE: Eritroid koloni yapılmış hücre, Proeritro: Proeritroblast, Osteo: osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH.

	<b>Haritalanan okumalar</b>	<b>Doğru okumalar (%)</b>	<b>Eşleştirilen hedefler (%)</b>
MKH-SD-1	9,935,103	94.33	57.19
MKH-SD-2	9,447,469	93.19	58.33
MKH-SD-3	10,004,730	94.58	57.09
MKH-SD-4	10,352,229	94.65	57.01
MKH-SD-5	9,586,894	94.37	56.31
MKH-SD-6	7,812,837	92.90	56.90
MKH-DBA-1	9,891,987	95.62	56.39
MKH-DBA-2	10,123,483	93.55	57.85
MKH-DBA-3	9,100,198	93.33	57.70
MKH-DBA-4	10,323,651	93.86	59.03
MKH-DBA-5	9,625,850	95.52	57.79
CFUE-SD-2	8,853,326	75.06	53.90
CFUE-DBA-2	9,752,618	74.25	53.98
Proeritro-SD	9,373,291	89.84	21.74
Proeritro-DBA-3	10,226,414	89.68	43.87
Osteo-SD-3	9,602,830	92.59	58.39
Osteo-DBA-3	9,570,331	95.23	58.14
Fibroblast	9,481,581	92.21	58.44
Monosit	9,401,606	89.78	57.25
Nötrofil	6,451,408	78.86	50.03

## 4. BULGULAR

### 4.1. Mezenkimal Kök Hücre Morfolojisi

Çalışmaya dahil edilen tüm örneklerin morfolojik özellikleri ışık mikroskopisinde farklı pasajlarda incelenmiştir. MKH'ler iğsi, fibroblast benzeri, aderen karakterde ve plastiğe yapışma özelliği olan hücrelerdir (41). Buna göre, sağlıklı donörlerin kemik iliği kaynaklı MKH'lerinin klasik MKH morfolojisi ile uyumlu olduğu gösterilirken, DBA hastalarından elde edilen hücrelerin bazılarında (DBA-3, DBA-4 ve DBA-6) MKH'lerinin klasik iğsi yapıdaki hücre morfolojisinden farklı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.1.). Özellikle, karakteristik iğsi hücre uzantılarının azaldığı, yayvan-yıldız benzeri şekil aldığı kaydedilmiştir. Yüksek mikroskopik büyütmede daha detaylı olarak hücre morfolojileri incelendiğinde, DBA hastalarına ait MKH'lerin Şekil 4.1'de gösterildiği gibi mikrovezikül/vakuol benzeri yapıları sitoplazmada biriktirmiş olduğu görülmüştür. Bu gözlemden yola çıkılarak, farklı pasaj sayılarında kaydedilen ışık mikroskopisi görüntüleri, tüm sağlıklı donörler ve DBA hasta örnekleri için yeniden değerlendirilmiştir. DBA hastalarının MKH'lerinde mikrovezikül/vakuol benzeri yapıları sağlıklı donörlere göre çok daha fazla miktarda birikmiş oldukları Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Bu bulgulara ek olarak, MKH çalışmaları sırasında yapılan bir diğer gözlem ise, bazı DBA hastalarından elde edilen hücrelerin (DBA-3, DBA-4 ve DBA-6), diğer hasta bireyler ve sağlıklı donörlere göre daha düşük proliferasyon hızına sahip olduğudur. Proliferasyon hızı düşük olan DBA örneklerinde mikrovezikül/vakuol birikimlerinin daha fazla olmasından ötürü, bu iki farklı hücresel karakterin aynı moleküler etkenden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.



**Şekil 4.1.** DBA-3 (A) ve SD-1 (B) kodlu örneklerin 3. pasajdaki MKH morfolojik görüntüleri. Mikrovezikül/vakuol benzeri yapılara odaklanılmıştır.

**Tablo 4.1.** Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin kültüre edilen MKH'lerinin farklı pasajlardaki mikrovezikül/vakuol benzeri yapı miktarı.

Örnek Kodu	Pasaj 1	Pasaj 3
SD-1	+	
SD-2	-	+
SD-3		+
SD-4		-
SD-5	++	
SD-6	-	+
DBA-1	-	++
DBA-2	+	++
DBA-3		+++
DBA-4	+++	+++
DBA-5	++	+
DBA-6	+++	+++

#### 4.2. Mezenkimal Kök Hücre Farklılaşması

Tez kapsamına dahil edilen MKH'lerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşmaları 12 kuyucuklu kültür kaplarında (yüzey alanı 3.8 cm<sup>2</sup>), triplike olarak 21 gün süreyle takip edilmiştir. Sağlıklı donör kaynaklı MKH'lerin tamamı 3 farklı kökene de başarılı bir şekilde farklılaşmıştır. DBA hastalarından elde edilen MKH'lerin ise bazı kökenlere farklılaşamadığı/gecikmiş şekilde farklılaşmaya gittiği tespit edilmiştir (Tablo 4.2.).

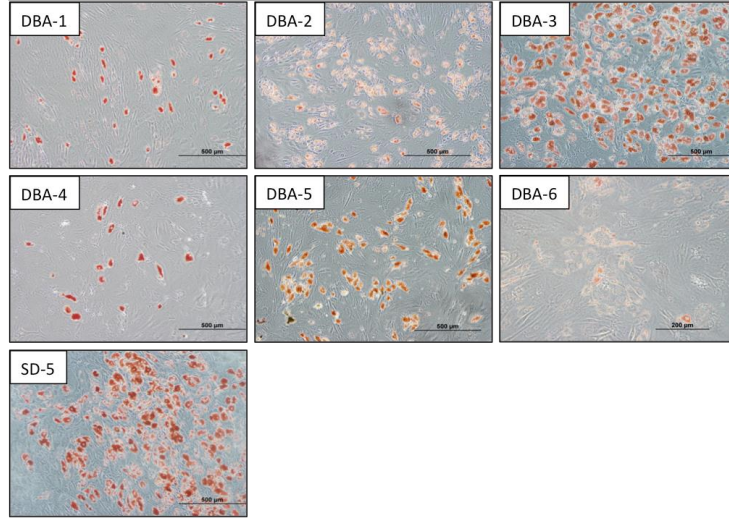
**Tablo 4.2.** Çalışmaya dahil edilen sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma sonuçları. Farklılaşanlar (+), farklılaşmayanlar (-) ile gösterilmiştir.

Örnek Kodu	Adipojenik	Osteojenik	Kondrojenik
DBA-1	+	-	-
DBA-2	+	-	-
DBA-3	+	-	-
DBA-4	+	-	-
DBA-5	+	+	+
DBA-6	-	-	-
SD-1	+	+	+
SD-2	+	+	+
SD-3	+	+	+
SD-4	+	+	+
SD-5	+	+	+
SD-6	+	+	+

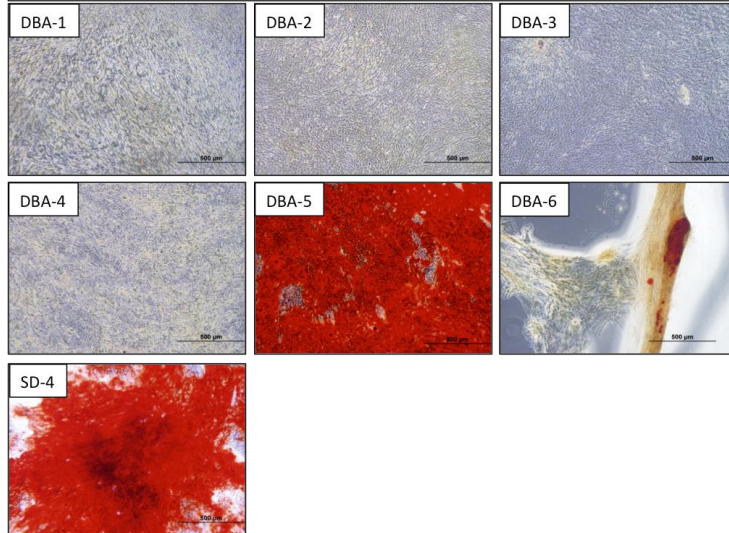
DBA-1, DBA-2, DBA-3 ve DBA-4 kodlu bireyler sadece adipojenik farklılaşmayı tamamlamış, osteojenik ve kondrojenik farklılaşmalarda ise gecikme/eksik farklılaşma görülmüştür (Şekil 4.2.). DBA-5 kodlu birey ise 3 kökene de başarılı bir şekilde farklılaşmıştır. DBA-6 kodlu etkilenmiş bireyin MKH'lerinin 3 farklı kökene de farklılaşamamış olması dikkat çekicidir (Şekil 4.2.). Dondurulup arşivlenmiş örneklerden aynı bireyin farklı bir MKH örneği yeniden kültüre edildiğinde, bölünme hızının da düşük olması nedeniyle yeterli miktarda hücre çoğaltılamamış, dolayısıyla deney tekrarı yapılamamıştır. Bu nedenle DBA-6 kodlu örnek sonraki bölümlerde bütüncül analizlerin dışında tutulmuş, MKH transkriptom profili diğer DBA hasta örneklerinden ayrı olarak değerlendirilmiştir.



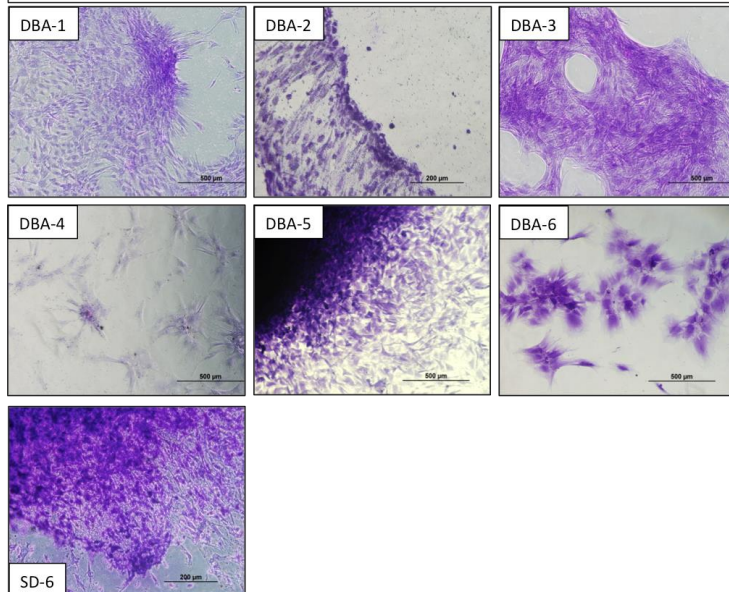
### Adipojenik farklılaşma sonrası boyama görüntüleri



### Osteojenik farklılaşma sonrası boyama görüntüleri



### Kondrojenik farklılaşma sonrası boyama görüntüleri



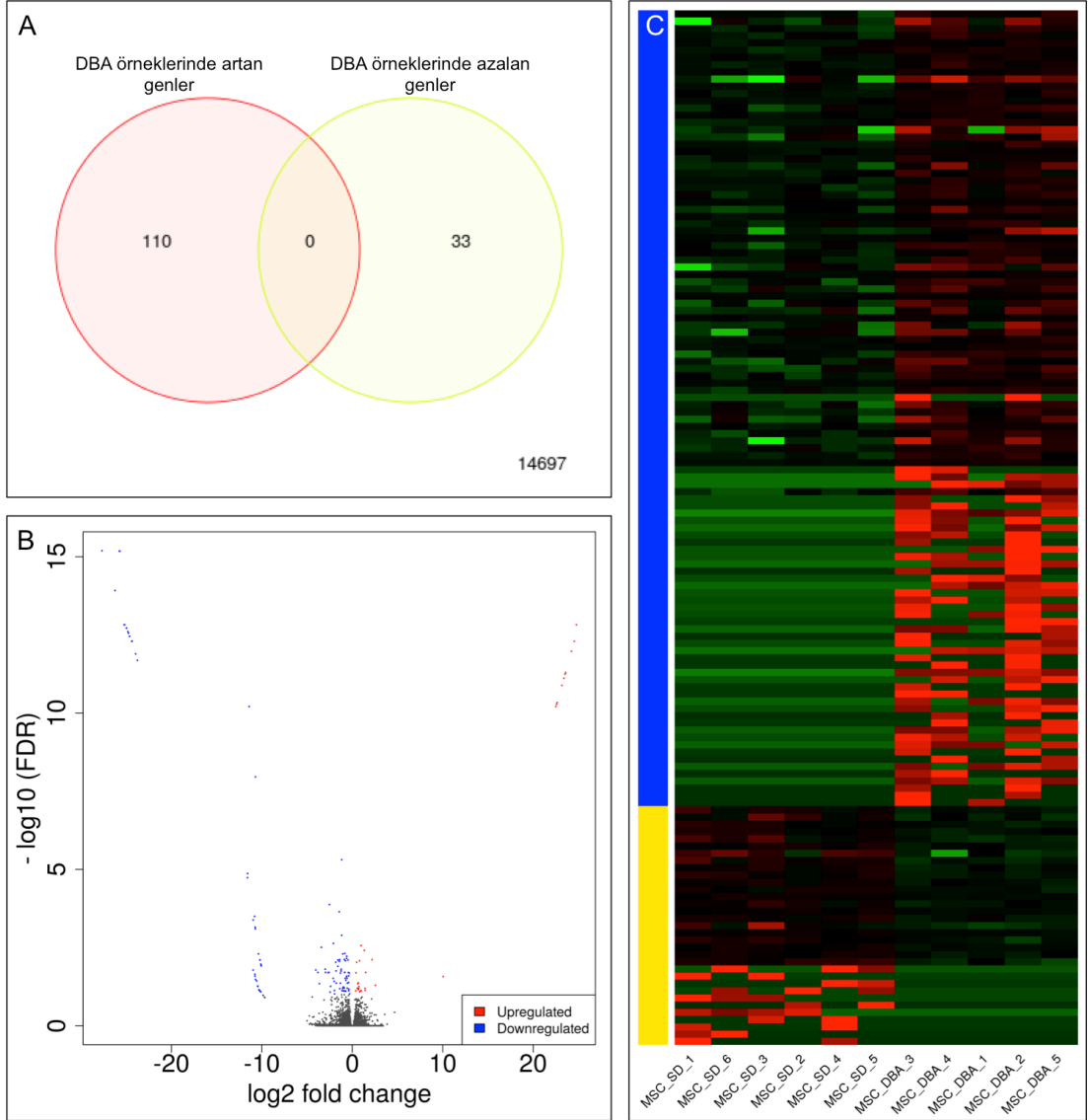
**Şekil 4.2.** Tüm DBA'lı birey MKH'lerinin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaşma sonrası sırasıyla Oil Red O, Alizarin Red S ve metilen mavisi ile boyama sonrası görüntüleri. Sağlıklı donörlerden örnek olarak birer bireyin fotoğrafları verilmiştir. DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, SD: sağlıklı donör.

### **4.3. Mezenkimal Kök Hücrelerin Transkriptom Profili**

#### **4.3.1. Sağlıklı Donörlerin ve DBA hastalarının MKH Transkriptom Analizi**

3. pasaja getirilmiş, %80 yoğunluğa ulaşmış tüm sağlıklı ve DBA'lı bireylerin MKH'lerinde RNA eldesini takiben yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak transkriptom analizi yapılmıştır. Bir önceki kısımda belirtildiği gibi, hasta ve sağlıklı donör grupları arasında yapılan analize DBA-6 kodlu birey dahil edilmemiştir.

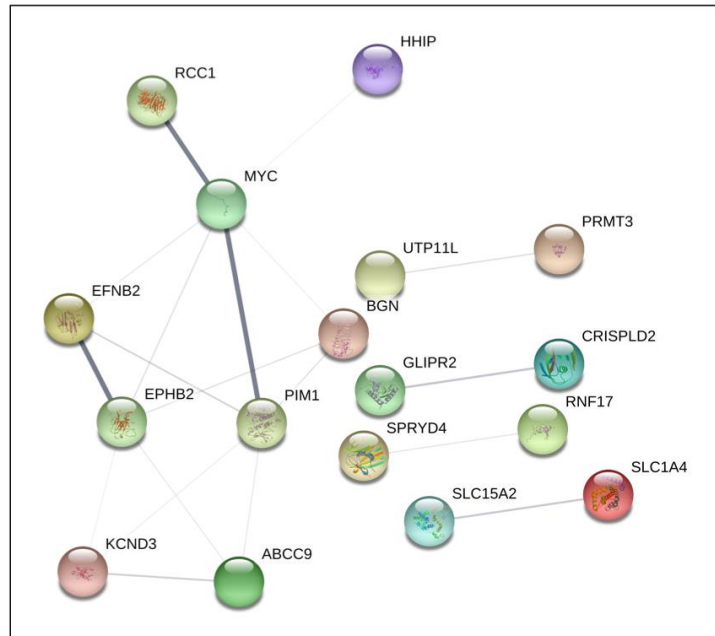
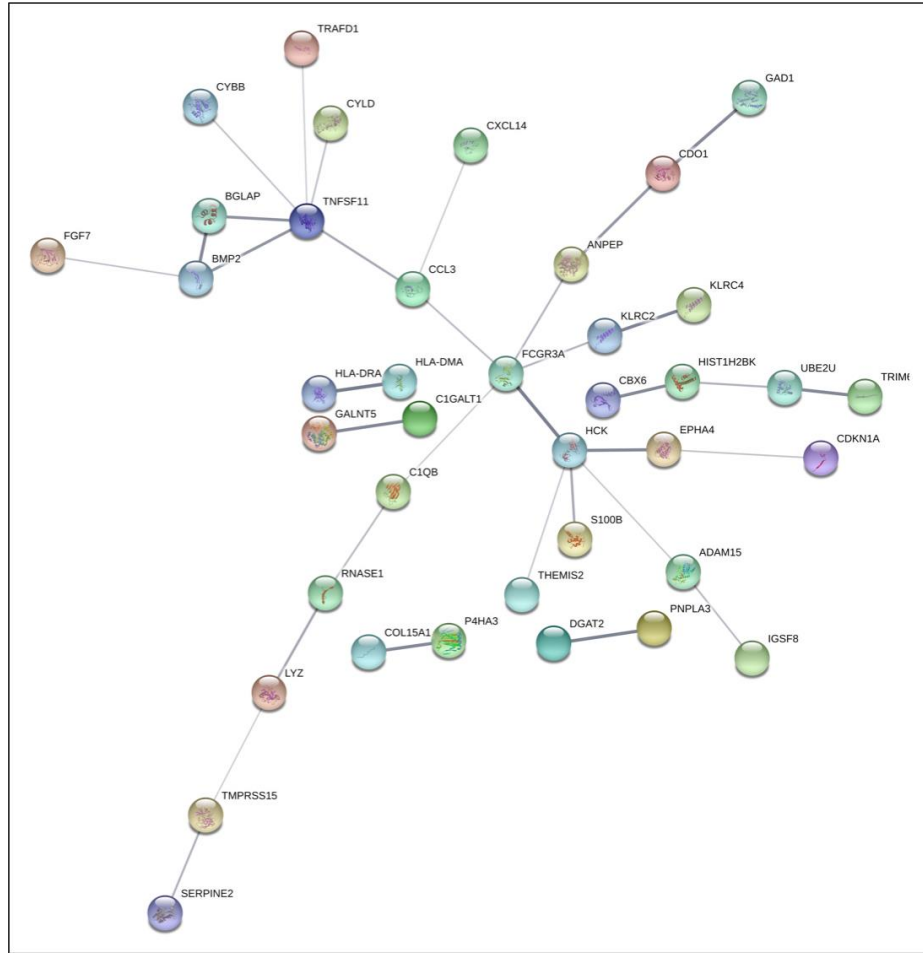
DESeq2 ile yapılan, farklı gruplar arasındaki ifade değişimlerini saptamaya yönelik “*Differentially Expressed Genes*” analizine göre en az 2 kat üzeri ve istatistiksel olarak anlamlı olan gen ifade değişimleri Şekil 4.3 ve Tablo 4.3'te gösterilmiştir. Bu analizde DBA hastalarının MKH'lerinde sağlıklı donörlere göre 110 genin ifadesinin arttığı, 33 genin ise ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir. İfadesi değişen genlerin protein ürünleri STRING analizi ile değerlendirilerek, hangi yollarda beraber rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.3.** Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'lerinden yapılan transkriptomik verilerin karşılaştırılması: A) DBA'lı bireylerde artan ve azalan gen sayıları *Venn* şeması ile gösterilmiştir. B) İki grubun verileri bir arada karşılaştırılıp '*Volcano*' grafiği çizilmiştir. Gruplar arasında gen ifade değişiminde FDR kat sayısı 0.1'in altında olanlar anlamlı kabul edilmiştir. C) İki grup arasında anlamlı olarak değişen gen örüntüsü ısı haritası ile gösterilmiştir. Mavi renkle gösterilenler DBA'lı bireylerde artan 110 geni, sarı ile gösterilenler ise DBA'lı bireylerde azalan 33 geni temsil etmektedir. Gen ifade seviyesi yeşilden kırmızıya artmaktadır. SD: sağlıklı donör, MSC: Mezenkimal Kök Hücre, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey.

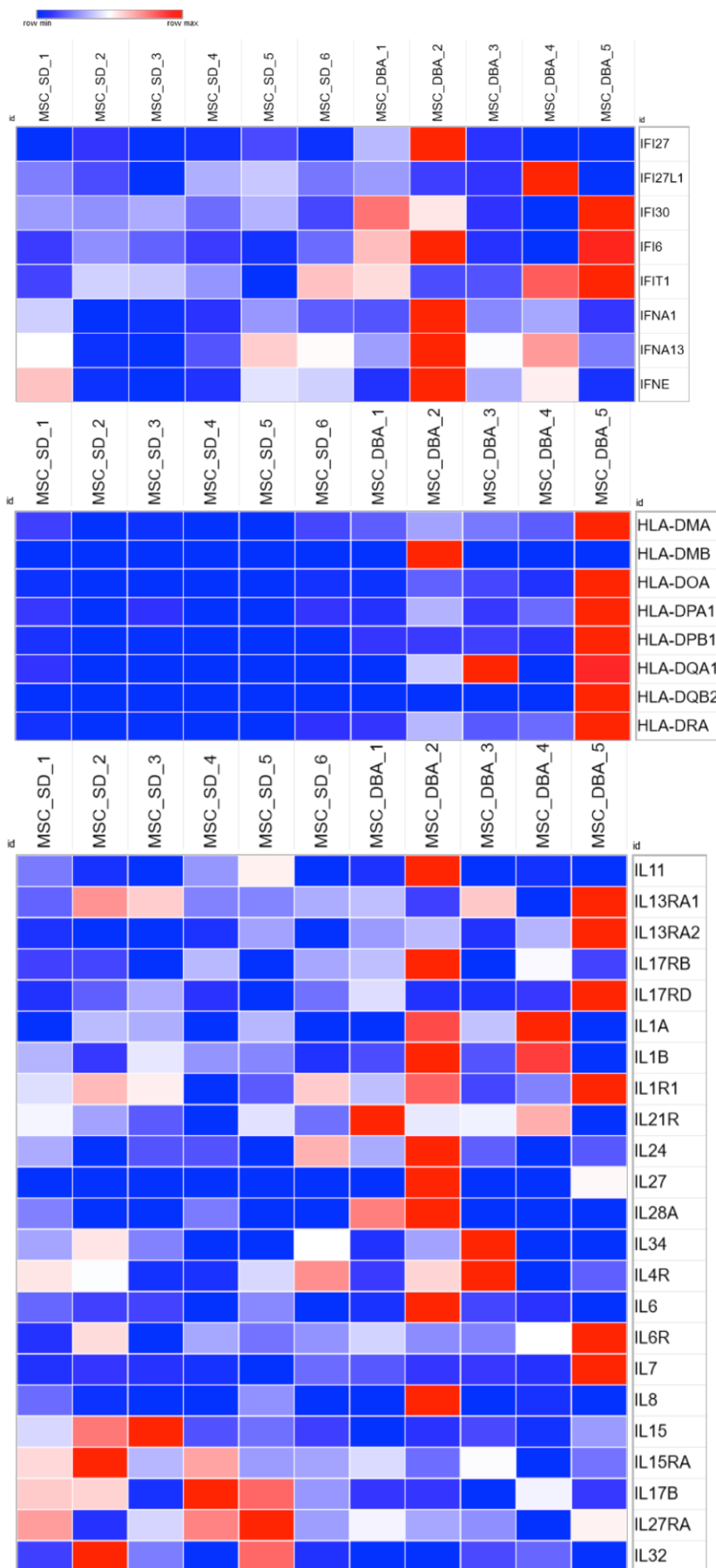
**Tablo 4.3.** Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında 2 kat üzerinde anlamlı olarak değişen gen listesi. DBA'lı bireylerde 110 gen artmış, 33 gen ise azalmıştır. Gen adları alfabetik sırayla verilmiştir.

<b>DBA'lı bireylerin MKH'lerinde artan genler</b>				
ADAM15	DEDD2	HLA-DRA	OR8I2	SMCR7
ANKH	DGAT2	HS3ST1	OR8J3	SMIM3
ANKRD29	DTNA	IGFBP2	P4HA3	SMPX
ANPEP	DUSP6	IGSF8	PCDH19	SNORA7B
ATXN3L	ENG	IKZF2	PDE4B	SSTR2
BGLAP	ENPP5	KLRC2	PFKFB1	SYNDIG1
BMP2	EPB41L4A	KLRC4	PMP2	TACC2
C1GALT1	EPHA4	KRTAP6-3	PNPLA3	THEMIS2
C1QB	ERAP2	LAMA3	PTPN5	TKTL2
CBX6	ERGIC2	LRRC6	RAB2B	TM4SF19
CCL3	FAM174B	LYZ	RAB9BP1	TMEM38A
CD84	FAM198B	MUL1	RAI2	TMPRSS15
CDKN1A	FCGR3A	MXD4	RDH5	TNFSF11
CDO1	FGF7	NKAIN3	REPS2	TRAFD1
CHN2	FUCA1	NRN1	RNASE1	TRIM69
COL15A1	GAD1	NXF3	RNASE10	TRPM2
CTNNA2	GALNT5	OR10K1	RNASE6	TTN
CXCL14	GM2A	OR13C2	S100B	UBE2DNL
CYBB	GRIA3	OR13F1	SEPP1	UBE2U
CYLD	HCK	OR4A47	SERPINE2	WFDC2
CYP2S1	HIST1H2BK	OR4S2	SERPINI1	WIPI2
DCBLD2	HLA-DMA	OR8B2	SIK3	ZNF385D
<b>DBA'lı bireylerin MKH'lerinde azalan genler</b>				
ABCC9	EPHB2	MYC	RNF150	SPRYD4
ADAM3A	FADS2	N4BP2	RNF17	STARD4-AS1
BGN	FAM46B	OR6P1	SEPT7P2	TRIM59
C5ORF55	GLIPR2	PADI3	SLC15A2	TSEN15
CHAC1	HHIP	PIM1	SLC1A4	UTP11L
CRISPLD2	KCND3	PRMT3	SLITRK6	
EFNB2	LCNL1	RCC1	SORBS3	



**Şekil 4.4.** Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MKH'leri karşılaştırıldığında DBA'lı bireylerde artan (*üst*) ve azalan genlerin (*alt*) STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.400 olarak belirlenmiştir.

DBA ve sağlıklı donör grupları arasında anlamlı olarak değiştiği saptanan bu genlerin biyolojik işlev açısından yakın ilişkide oldukları diğer genler ve/veya gen ailesi üyeleri, her bir birey için manuel olarak da incelenmiş ve ifade değerleri görselleştirilmiştir. İmmün sistemle ilişkili olan bazı gen gruplarında (bazı interferon genlerinde ve HLA-D grubunda) DBA hastalarında artış olduğu saptanmıştır. İnterlökkin (IL) ailesine üye olan bazı genlerin ifadesi DBA hastalarında artmış iken bazılarında düşüş olduğu gösterilmiştir (şekil 4.5.).



**Şekil 4.5.** İnterferon ile ilişkili (*üst*), HLA-D grubu (*orta*) ve IL grubu (*alt*) bazı genlerin ifade değişimleri. Gen ifade seviyesi maviden kırmızıya artmaktadır. MSC: Mezenkimal Kök Hücre, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, SD: sağlıklı donör, IL: İnterlökin.

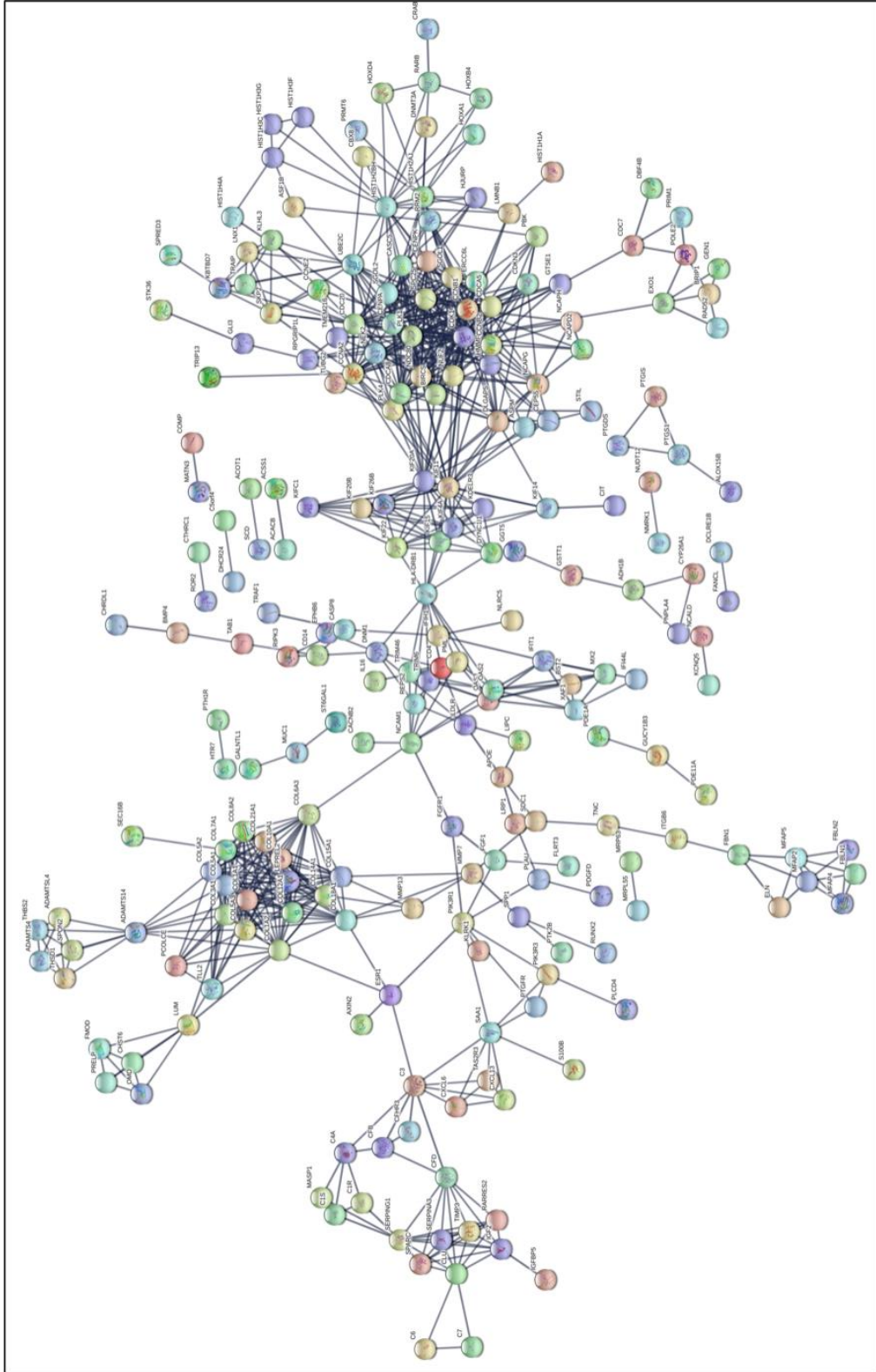
#### 4.3.2. Osteojenik Farklılaşmaya Tabi Tutulmuş MKH'lerin Transkriptom Analizi

*RPS19* mutasyonu bulunan ve klasik DBA fenotipine uyan DBA-3 kodlu etkilenmiş birey ile SD-3 kodlu donörün MKH'leri 21 gün boyunca osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş ve sürecin sonunda bu hücrelerden RNA eldesi ve transkriptom analizi gerçekleştirilmiştir. Bu iki örneğin karşılaştırmalı analizi sonucunda  $\log_2 4$  kat (16) üzeri artan ve azalan genler Tablo 4.4'te listelenmiştir. Buna ek olarak  $\log_2 1.5$  kat (yaklaşık 2.83) üzerinde değişim gösteren genlerin tamamı EK-2'de listelenmiş ve STRING kullanılarak yolak analizi yapılmıştır (Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.).

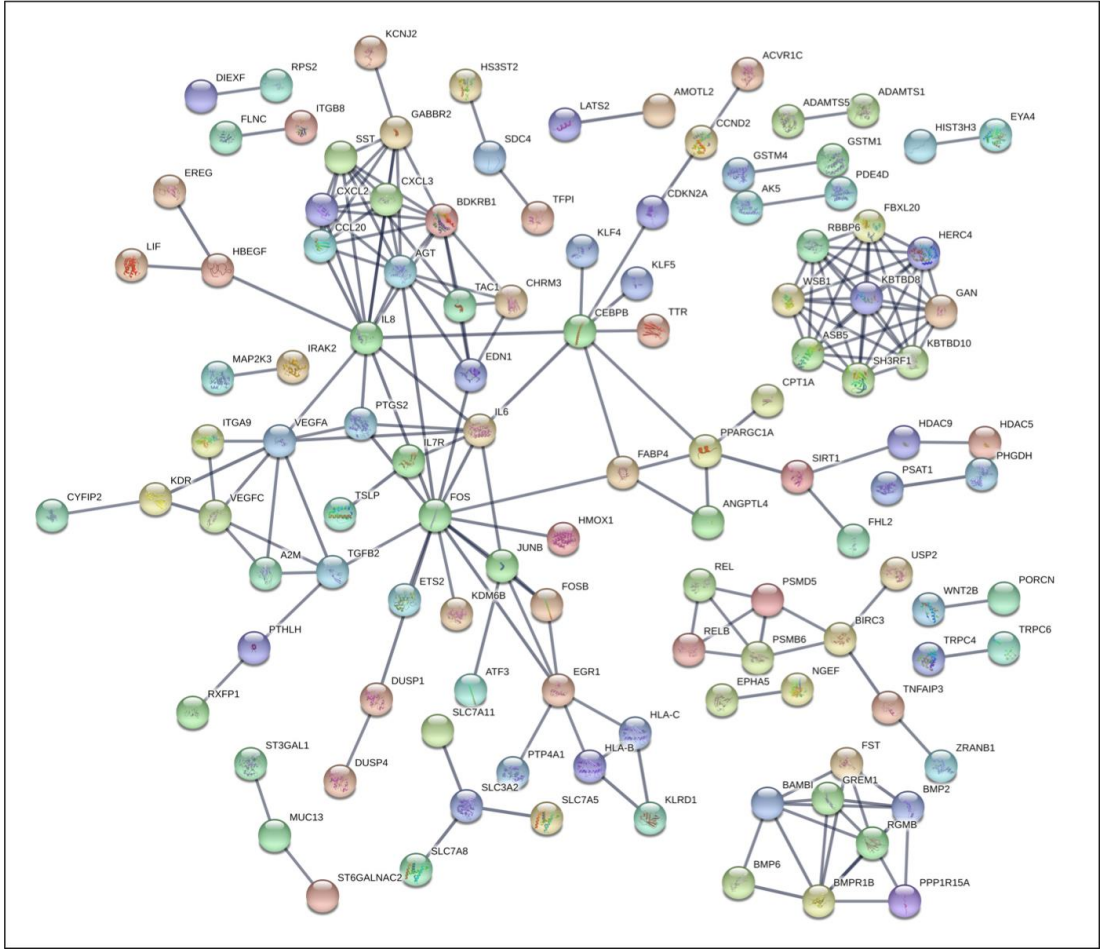
**Tablo 4.4.** SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 4$  kat üzeri ifadesi değişen gen listesi. Gen adları alfabetik sırayla verilmiştir.

DBA-3 kodlu bireyde $\log_2 4$ kat üzeri artan genler				
AQP1	COL10A1	FLG	MMP13	SERPINF1
ASPEN	CRABP2	IBSP	MXRA5	SFRP5
BMP4	DDIT4L	IGFBP5	OLFML1	TACSTD2
C7	DPT	LAPTM5	PDPN	TXNIP
CA2	FAM20A	LRRC15	S100A4	WISP1
CADM3	FAM21C			
DBA-3 kodlu bireyde $\log_2 4$ kat üzeri azalan genler				
AREG	CXCL2	HLA-C	NR4A1	PSMB6
ASNS	CXCL3	IFNA1	NR4A2	PTGS2
ATF3	EREG	IL6	NR4A3	RRAGD
C17orf58	FAM129A	IL8	PDE4D	SLC16A6
C2orf66	FOSB	JARID2	PDK4	TAC1
CTH	GPRC5A	MEDAG		





**Şekil 4.6.** SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'leri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde artan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.900 olarak belirlenmiştir.

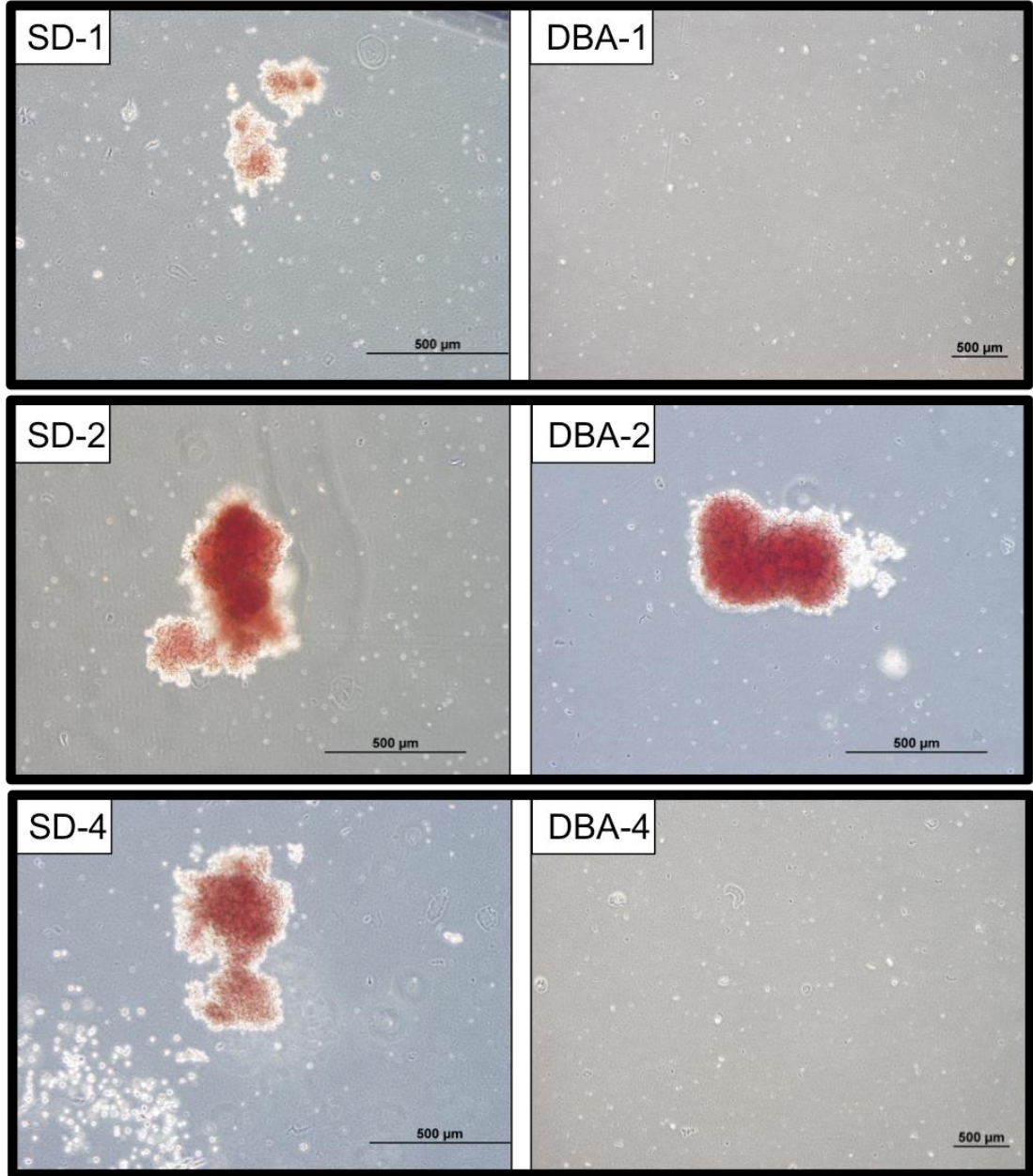


**Şekil 4.7.** SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'leri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde azalan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.900 olarak belirlenmiştir.

#### 4.4. Kemik İliği Mononükleer Hücrelerinden Eritroid Seri Farklılaşması

##### 4.4.1. Eritroid Koloni Oluşturma

Sağlıklı donörler (SD-1, SD-2 ve SD-4) ve DBA grubundan (DBA-1, DBA-2 ve DBA-4) bazı bireylerin kemik iliği kaynaklı MNH'lerinden yarı katı (metilselüloz) besiyerinde eritroid seri farklılaşması yapılmıştır. 14 gün süren farklılaşma süreci sonucunda sağlıklı donörler ve DBA-2 kodlu bireyde eritroid kolonilerin oluştuğu gözlenmiştir. Ancak DBA-1 ve DBA-4 kodlu bireylerde koloni oluşumu saptanmamış, buna ek olarak 14 günlük süreç sonunda kültür ortamında canlı hücre kalmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.8.).



**Şekil 4.8.** Sağlıklı donör ve DBA'lı bireylerin MNH'lerinin metilselüloz besiyerinde 14 günlük eritroid seri farklılaşma görüntüleri. SD: sağlıklı donör, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey.

#### 4.4.2. Eritroid Kolonilerde Transkriptom Analizi

DBA grubundan eritroid koloni oluşumu gerçekleşen DBA-2 kodlu örnek ve bu bireyin yaş ve cinsiyetçe kontrolü olan SD-2 kodlu sağlıklı donörden RNA eldesi yapılmış ve karşılaştırmalı transkriptom analizi gerçekleştirilmiştir. Bu iki örneğin karşılaştırmalı analizi sonucunda  $\log_2$  (4) kat üzeri artan ve azalan genler Tablo

4.5'te listelenmiştir. Buna ek olarak,  $\log_2 1.5$  kat (yaklaşık 2.83) üzerinde değişim gösteren genlerin tamamı EK-2'de listelenmiş ve STRING kullanılarak yolak analizi yapılmıştır (Şekil 4.9.). İki bireydeki koloni oluşumunda mikroskobik düzeyde farklılık gözlenmese de, DBA-2 kodlu bireyin CFU-E örneğinde inflamasyon ve immün sistemle ilişkili bazı genlerin ifade değişimi dikkat çekmiştir (Tablo 4.5'te koyu renkle yazılmış olan genler).

**Tablo 4.5.** SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonilerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 2$  üzeri değişen gen listesi. Gen adları alfabetik sırayla verilmiştir.

<b>DBA-2 kodlu bireyin eritroid kolonilerinde <math>\log_2 2</math> kat artan genler</b>				
AHI1	<b>ETS2</b>	MRPS6	PRRG4	<b>TAGLN</b>
ATP1B1	FAM216A	MTRR	PXN-AS1	TBC1D10A
CAB39L	FAM21C	NAP1L5	<b>RASD1</b>	<b>TPSB2</b>
CBR1	FGD6	NDRG2	RERE	<b>TSPAN33</b>
<b>CDK2AP1</b>	FLJ35024	<b>NEO1</b>	RPS6KL1	<b>UCA1</b>
CETN1	GAS7	OR52B4	<b>S100A11</b>	<b>UGT2A2</b>
<b>COL1A1</b>	<b>HSPA7</b>	PAK6	<b>S100A2</b>	UPK3B
DDX43	<b>IL9R</b>	PARD6B	SFMBT2	<b>VIM</b>
<b>EDNRB</b>	<b>LGALS7B</b>	PDE4DIP	<b>SIRT3</b>	<b>VLDLR</b>
<b>EMILIN2</b>	LOC257358	PLD6	SLC2A3	WDR67
EPB41L2	LOC654433	PNLIPRP3	<b>SLC44A1</b>	
<b>EREG</b>	MIPEP	<b>PRG2</b>	<b>SLC5A3</b>	
<b>DBA-2 kodlu bireyin eritroid kolonilerinde <math>\log_2 2</math> kat azalan genler</b>				
<b>A4GALT</b>	<b>CR1</b>	KLC3	PI4KAP1	SLC28A3
<b>ACSM3</b>	DPCD	LIPH	PIK3IP1	<b>SLC2A4</b>
<b>AKAP13</b>	GHRLOS	LOC100134868	PLCL2	<b>SNAI2</b>
ASL	GLIPR2	MTM1	PLK1S1	SOSTDC1
ATP10D	GOLM1	MTVR2	<b>PLS3</b>	TENM1
BZW2	<b>GPR146</b>	NLN	<b>PTCD2</b>	<b>TXK</b>
CCDC169	<b>GSTT1</b>	OR2T10	RANBP17	<b>TYRO3</b>
<b>CD99</b>	<b>HLA-C</b>	OR2T11	RGPD1	WASH5P
CLIP3	IDS	OR8G1	SDC4P	ZNF138
CMBL	<b>IRAK2</b>	OSGIN1	SFRP2	ZNF215
CPED1	<b>ITLN1</b>			





**Şekil 4.9.** SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonileri karşılaştırıldığında; DBA-2 kodlu bireyde artan (*üst*) ve azalan genlerin (*alt*) STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.400 olarak belirlenmiştir.

#### 4.5. Kemik İliği Mononükleer Hücrelerinden Yüzey Belirtecine Göre Eritroid Seri Alt Tiplerinin Ayrıştırılması ve Transkriptom Analizi

##### 4.5.1. Eritroid Seri Alt Tiplerinin İmmünofenotiplenmesi ve Ayrıştırılması

Sağlıklı donör ve DBA hastalarından alınan kemik iliği aspiratından izole edilen mononükleer hücrelerinden, akım sitometri ile immünofenotiplenme ve devamında FACS ile hücre ayırıştırma işlemi yapılmıştır. DBA hastalarında eritroid seride bir azalma görüldüğü için sadece eritroid serideki hücre tipleri analiz edilmiştir (2). Hematopoetik Kök Hücrelerden başlayarak sırasıyla; Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre, Proeritroblast, Bazofilik Eritroblast, Polikromatofilik Eritroblast, Ortokromatik Eritrositler ve son aşamada olgun eritrositlerin oluştuğu bilinmektedir (51). Yüzey belirteçlerine göre 5 farklı hücre türü incelenmiştir. CD71<sup>-</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>mo/lo</sup> hücreler Hematopoetik Kök Hücre (HKH), CD71<sup>-</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>hi</sup> hücreler Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre (MEP), CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup> hücreler Proeritroblast, CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup>, CD38<sup>+</sup> hücreler Bazofilik Eritroblast ve CD71<sup>+</sup>, CD117<sup>-</sup>, CD38<sup>-</sup> hücreler ise Polikromatofilik Eritroblast (52) olarak seçilmiştir (Tablo 4.6.). Bu hücre tiplerinin kemik iliği kaynaklı MNH'ler içerisindeki yüzdeleri Tablo 4.7, Şekil 4.10. ve Şekil 4.11'de verilmiştir.

**Tablo 4.6.** İmmünofenotiplenme ve hücre ayırıştırmada kullanılan antikor paneli.

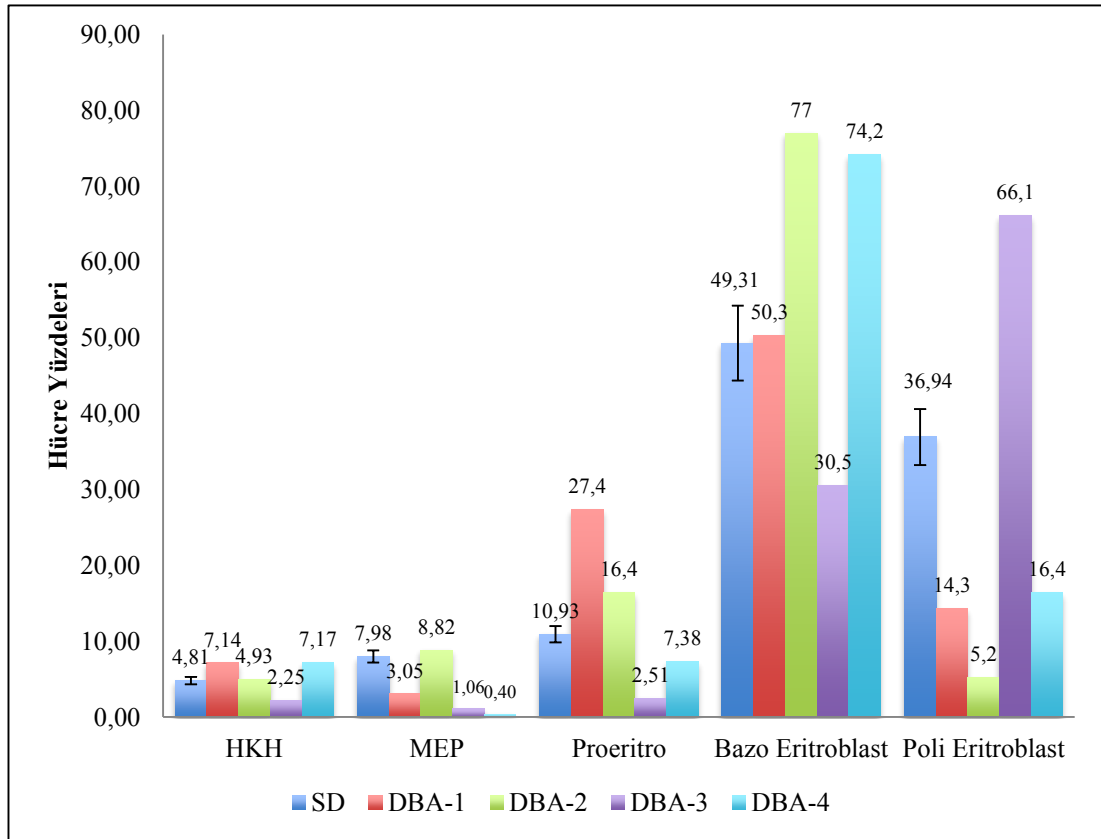
Hücre Tipi Belirteç	HKH	MEP	Proeritro	Bazo Eritroblast	Poli Eritroblast
CD34	+	+	mo/lo	-	-
CD38	mo/lo	hi	+	+	-
CD71	-	-	+	+	+
CD117	mo/lo	-	+	-	-

\*HKH: Hematopoetik Kök Hücre, MEP: Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre, Proeritro: Proeritroblast, Bazo: Bazofilik, Poli: Polikromatofilik, mo: *moderate*, lo: *low*, hi: *high*.

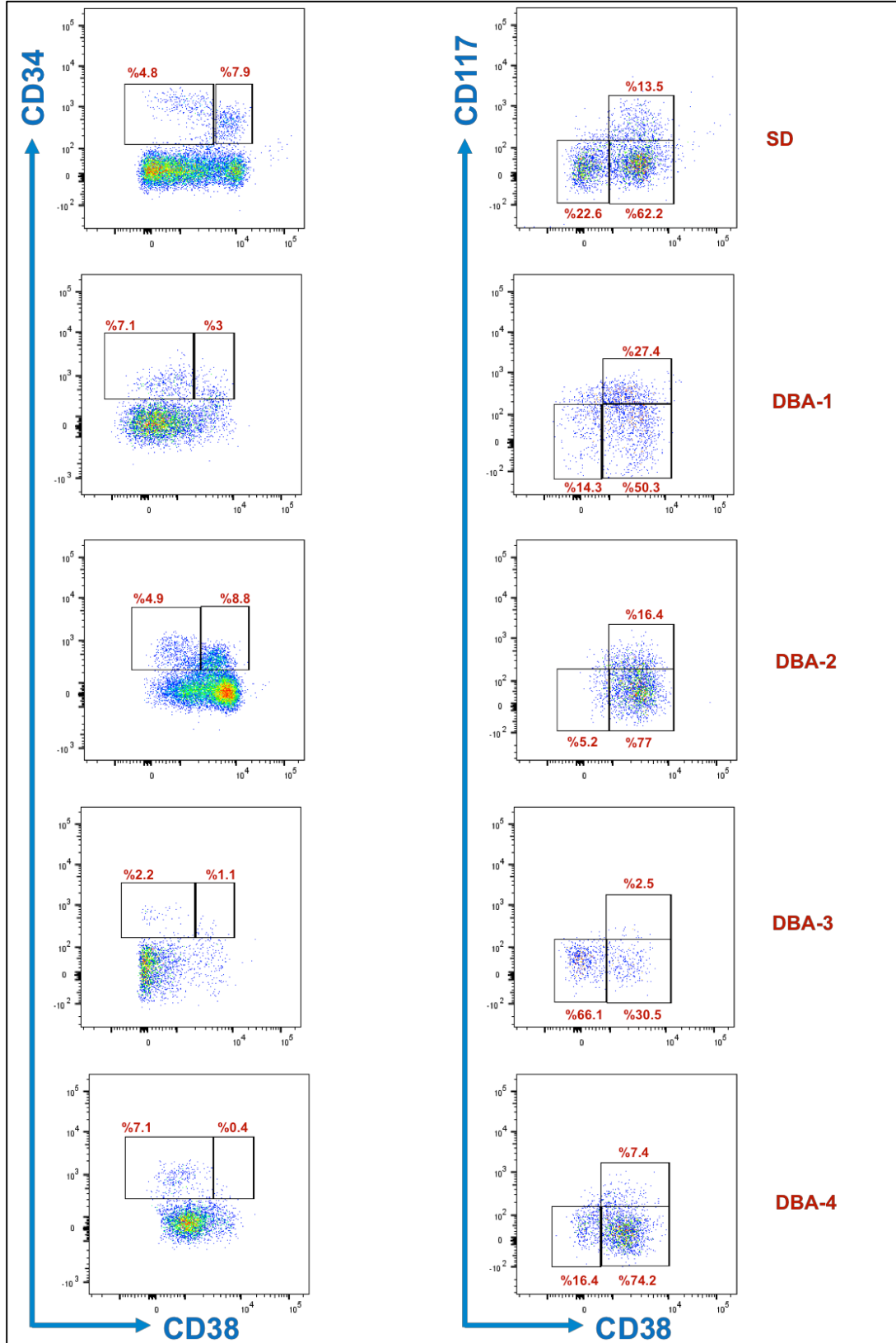
**Tablo 4.7.** Kemik iliği MKH'lerinin immüfenotipleme sonrasında elde edilen hücre yüzdeleri.

	HKH	MEP	Pro Eritroblast	Bazo Eritroblast	Poli Eritroblast	Bazo/Poli Eritroblast
SD	4,81	7,98	10,93	49,31	36,94	86,25
DBA-1	7,14	3,05	27,4	50,3	14,3	64,6
DBA-2	4,93	8,82	16,4	77	5,2	82,2
DBA-3	2,25	1,06	2,51	30,5	66,1	96,6
DBA-4	7,17	0,40	7,38	74,2	16,4	80,6

\*HKH: Hematopoetik Kök Hücre, MEP: Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre, Proeritro: Proeritroblast, Bazo: Bazofilik, Poli: Polikromatofilik, SD: Sağlıklı donörler (4 farklı bireyin birleştirilmiş hücreleri), DBA: Diamond Blackfan Anemili birey.



**Şekil 4.10.** Kemik iliği MNH'lerinden immüfenotipleme sonrası sağlıklı donörler (ortalama) ve DBA'lı bireylerin farklı hücre tiplerinin yüzde değerleri. SD: Sağlıklı donörler, HKH: Hematopoetik Kök Hücre, MEP: Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre, Proeritro: Proeritroblast, Bazo: Bazofilik, Poli: Polikromatofilik.



**Şekil 4.11.** Kemik iliği MNH'lerinden akım sitometri ile yapılan immünfenotipleme analizine ait nokta saçılım grafikleri. SD: Sağlıklı donör, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey.



Bu aşamada DBA-3 ve DBA-4 kodlu bireylerin Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre grubunda yüzdece bir azalma (sırasıyla %1,06 ve %0,4) olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak, DBA-3 kodlu bireyin proeritroblast hücrelerinde dramatik bir düşüş göze çarpmıştır (%2,51) (Tablo 4.7.).

İmmünofenotipleme sonrası 4 farklı alt tip için hücre ayrıştırması yapılmıştır. İlk grup Hematopoetik Kök Hücre, 2. grup Megakaryosit Eritrosit Öncül Hücre, 3. grup Proeritroblastlar ve 4. grup Bazofilik/polikromatofilik eritroblastlardan oluşmuştur. Tüm sağlıklı bireylerden ayrıştırılan hücreler aynı tüpte birleştirilmiş, hasta bireylerin hücreleri ayrı ayrı toplanmıştır.

#### 4.5.2. Proeritroblast Hücrelerinde Transkriptom Analizi

Ayrıştırılan 4 farklı hücre tipinden (HKH, MEP, Proeritro, Bazo/Poli eritro), biyolojik ve işlevsel genomik açıdan DBA fenotipi ile en yakın ilişkisi olduğu düşünülen proeritroblast hücreleri transkriptom analizine alınmıştır. DBA grubundan, proeritroblast hücrelerinde aşırı azalma saptanan DBA-3 kodlu bireyin örneği, sağlıklı donörlerden elde edilip birleştirilmiş örnek ile transkriptomik düzeyde karşılaştırılmıştır. Diğer deney gruplarına kıyasla çok daha fazla sayıda gen ifadesinin değişmiş olduğu görüldüğü için,  $\log_2 6$  kat (64 kat) üzerinde artan ve azalan genler Tablo 4.8’de verilmiştir. STRING ile yapılan yolak analizi için ise  $\log_2 5$  kat (yaklaşık 32) artan genler ve  $\log_2 1.5$  kat (yaklaşık 2.83) azalan genler listelenmiş kullanılmıştır (Şekil 4.12. Şekil 4.13.). Bahsi geçen analizlere alınan genlerin tamamı EK-2’te listelenmiştir. STRING ile yapılan yolak analizlerine dahil edilen genlerin hücresel işlevlerine göre gruplandırılarak elde edilen yolak analizi sonuçları ise Tablo 4.9’da sunulmuştur. Özellikle RNA metabolizması ile ilişkili olan genlerin (mRNA kırılması, mRNA poliadenilasyon kontrolü, histonlar, histon modifiye edici enzimler gibi) bir kısmında artış, bir kısmında ise azalma meydana gelmesi, iki hücre grubu arasında aynı hücresel yolların farklı elemanlar ile düzenlendiğini göstermektedir. Söz konusu bu gözlem, global gen ifade değişiminin bu denli yüksek olmasının bir açıklaması olarak sunulabilir. Eritropoez süreci için kritik öneme sahip olan transkripsiyon faktörleri de incelemeye alındığında, NFE2 ifadesinin DBA-3 kodlu bireyde sağlıklı donörlere göre yaklaşık 20 kat azaldığı, GATA1 ifadesinin ise yaklaşık 11 kat artmış olduğu görülmüştür. Ayrıca fetal

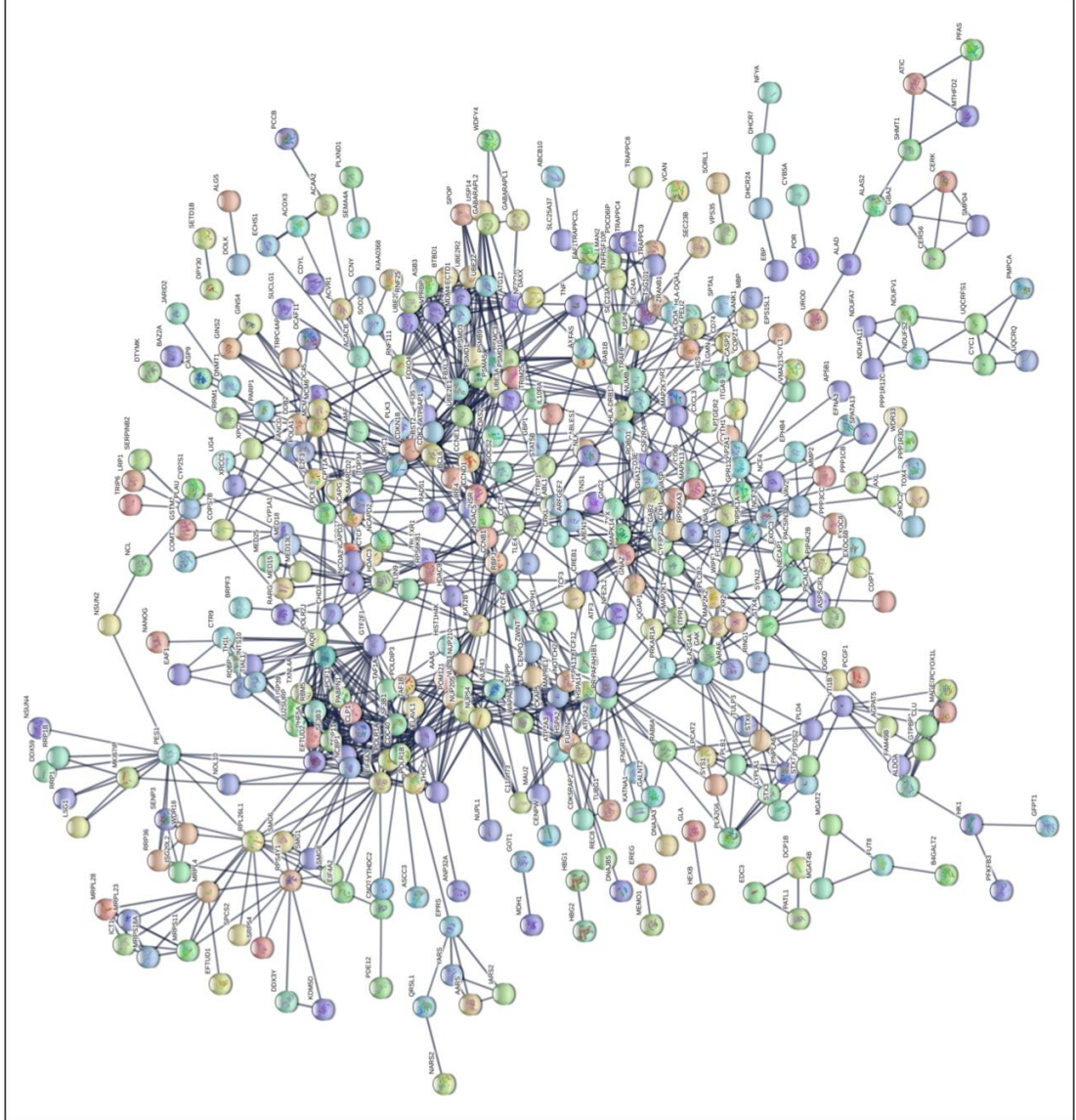
hemoglobin üretiminden sorumlu olan *HBG1* ve *HBG2* mRNA ifadesinin sağlıklı donörlerde hiç olmamasına rağmen, DBA-3 kodlu bireyde en çok ifade edilen genler içerisinde bu transkriptlere rastlanması dikkat çekicidir (Tablo 4.8.). *RPS19* mutasyonu olan etkilenmiş bireyin proeritroblastlarının tamamen farklı bir gen regülasyonu gösterdiği açıktır.

**Tablo 4.8.** Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücrelerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 6$  üzeri değişen gen listesi. Gen adları alfabetik sırayla verilmiştir.

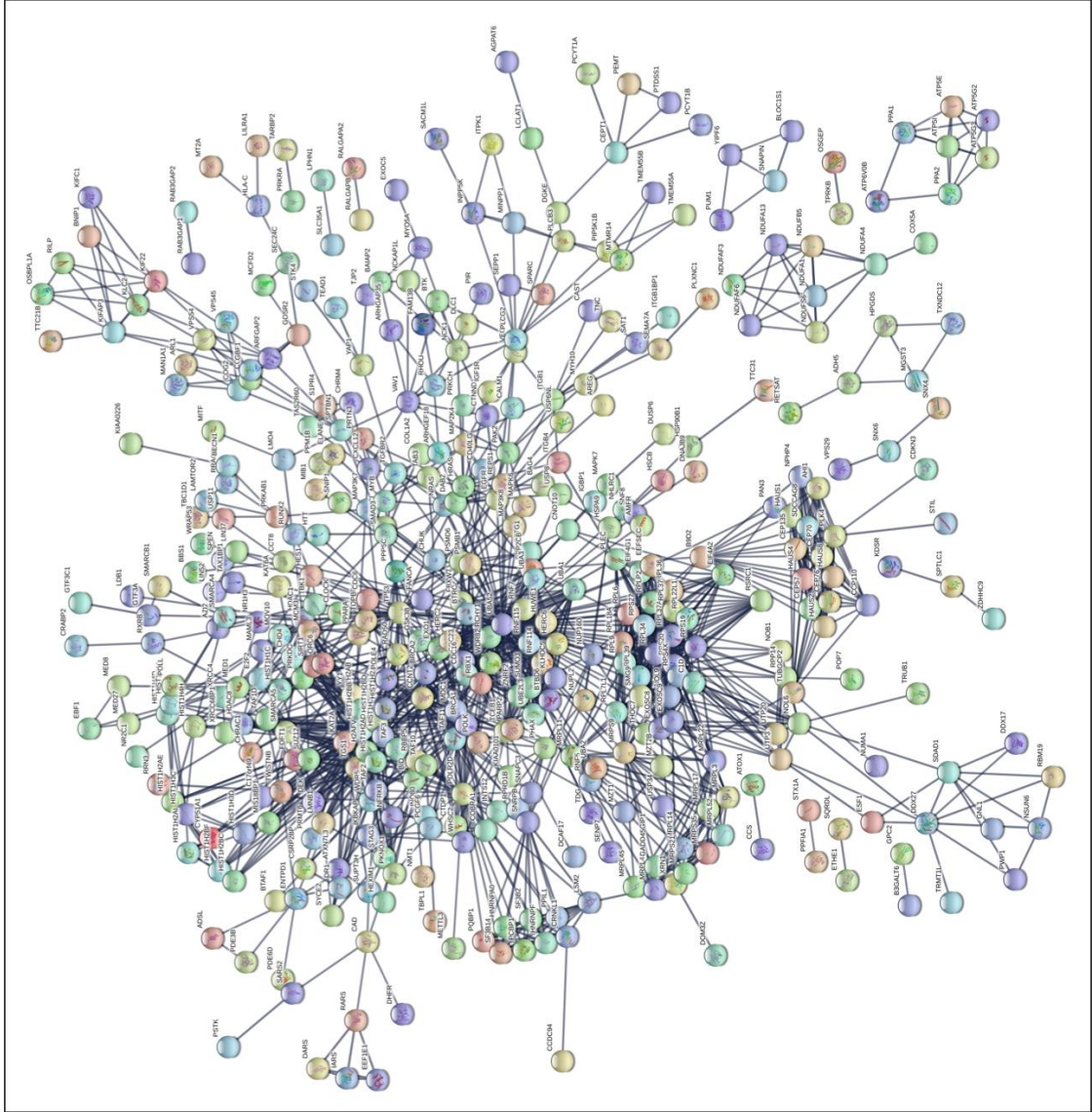
<b>DBA-3 kodlu bireyde <math>\log_2 6</math> kat üzeri artan genler</b>				
ALAS2	HBG2	PES1	SCAF1	SUCLG1
ATP2A2	IKZF1	PPP1R12C	SENP3	TDRD9
CAMK1D	JARID2	PRPF39	SIPA1L1	TLR2
FUT8	LAIR1	RASD1	SLC43A2	TNFRSF10B
HAVCR2	LIN9	RBM47	SLC6A6	TUBG1
HBG1				
<b>DBA-3 kodlu bireyde <math>\log_2 6</math> kat üzeri azalan genler</b>				
ALG10	CSRP2BP	HSCB	MUM1	SCAPER
ALKBH3	DHX33	IGFBP5	NHLRC1	SENP7
ALPK1	DZANK1	LOC100129794	NUDT7	ST18
BNIP1	GADD45GIP1	LOC145783	ORC6	TSTD1
C1D	GMCL1	LOC647859	PBXIP1	TYW5
CD40LG	HAUS8	MED27	PPARA	ZMYM6
COA4	HLA-C	MPC1L	RALGAPA2	ZNF136
COG2	HPGDS	MRAS	RGS16	ZNF675

**Tablo 4.9.** Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarının STRING ile yapılan yolak analizlerine dahil edilen genlerin hücresel işlevlerine göre gruplandırılarak elde edilen yolak analizi sonuçları.

<b>DBA-3 kodlu bireyde artan genler</b>			
<b>Yolak No</b>	<b>Yolak tanımı</b>	<b>Set içindeki gen sayısı</b>	<b><i>False discovery rate</i></b>
GO:0003723	RNA bağlanması	128	1.03e-10
GO:0000166	nükleotid bağlanması	162	2.77e-08
GO:0044822	poli(A) RNA bağlanması	98	2.77e-08
GO:0036094	küçük molekül bağlanması	174	6,00E-08
<b>DBA-3 kodlu bireyde azalan genler</b>			
GO:0003676	nükleik asit bağlanması	268	3.07e-14
GO:0003723	RNA bağlanması	141	1.8e-13
GO:0097159	organik süklus ürünü bağlanması	336	3.25e-09
GO:0044822	poli(A) RNA bağlanması	103	1.86e-08



**Şekil 4.12.** Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücreleri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde artan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.900 olarak belirlenmiştir.

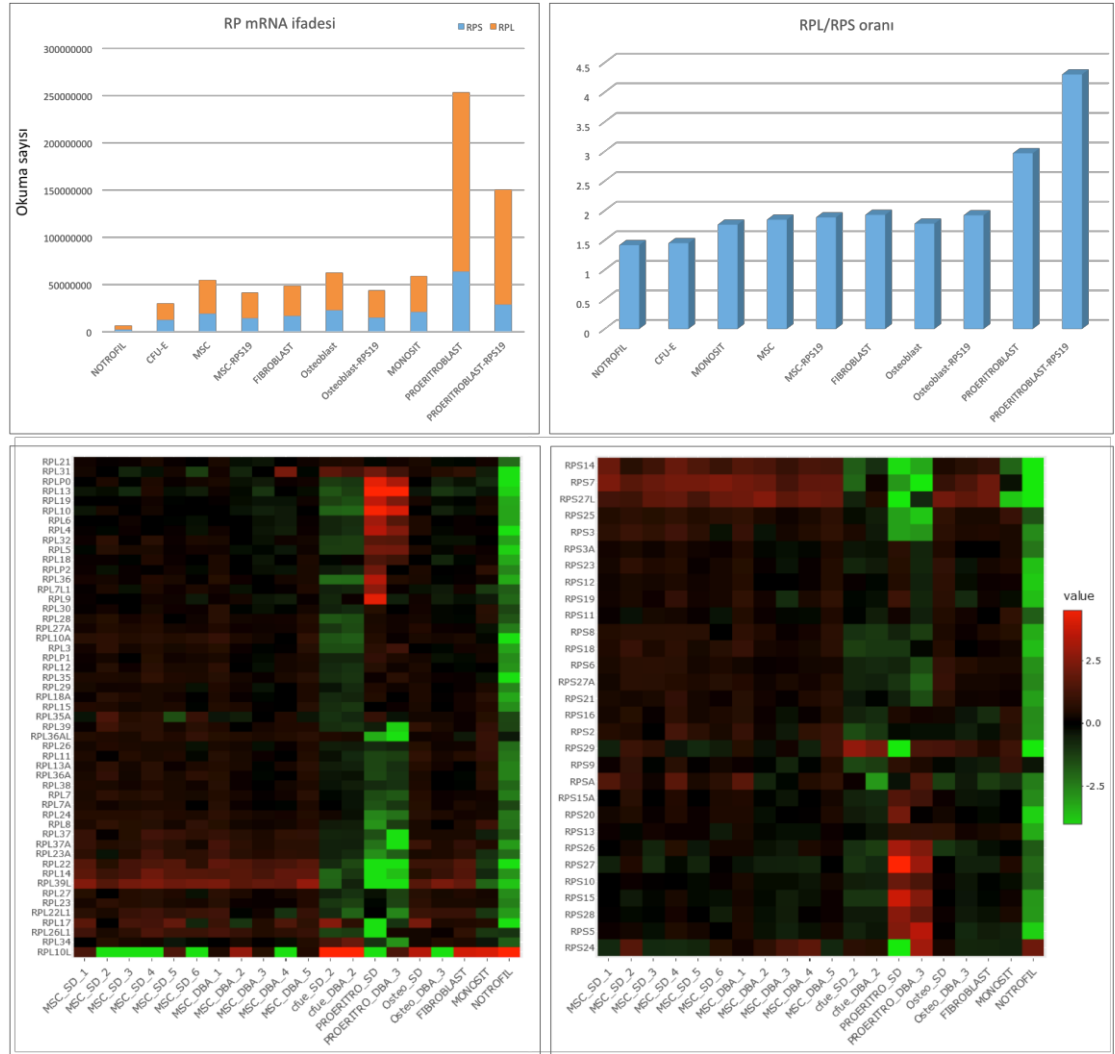


**Şekil 4.13.** Sağlıklı donörlerin ve DBA-3 kodlu bireylerin hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen proeritroblast hücreleri karşılaştırıldığında DBA-3 kodlu bireyde azalan genlerin STRING programı ile elde edilen yolak analizi görüntüsü. Güven aralığı 0.900 olarak belirlenmiştir.

#### 4.6. Transkriptom Verilerine Ribozomopati Penceresinden Yaklaşım

Tez çalışması kapsamında; MKH, osteojenik farklılaşmadaki MKH, eritroid koloniler ve proeritroblast gibi farklı hücrelerde transkriptom analizleri gerçekleştirilmiştir. Bundan önceki kısımlarda sağlıklı donörlerin hasta bireyler ile sadece belirli bir faza ait hücreleri karşılaştırmalı analizler ile incelenmiştir. Bu yaklaşım ile, hücre ve farklılaşma süreçlerine özgü moleküler imzalar ortaya

çıkarılmıştır. Bununla beraber, bir ribozomopati olan DBA'nın ve özellikle klasik DBA/ribozomopati fenotipini yansıtan *RPS19* mutasyonunu bulunduran bireyin hücrelerinden elde edilen verinin ribozom biyogenezi açısından incelenmesi kritik öneme sahiptir. Daha önce de bahsedildiği gibi, yaklaşık 80 farklı RP (Ribozomal Protein) geninin ifade seviyesi, hücrelerin biyolojik karakterlerini doğrudan yansıtabilen, biyobelirteç olarak kullanım potansiyeli olan kritik bir parametredir. Yapılan transkriptom analizlerinde 81 farklı ribozom alt ünitesini kodlayan genin ifade değerine odaklanıldığında, proeritroblastlarda diğer hücrelerin hepsinden daha fazla RP gen ifadesi olduğu göze çarpmıştır (Şekil 4.14.). Bu aşamada, RP ifadesini global olarak daha iyi anlamak adına, grubumuzun daha önce yapmış olduğu çalışmalarda elde ettiği sağlıklı fibroblast, monosit ve nötrofiller de analizlere dahil edilmiştir. Tez çalışmasında, gen ifade normalizasyonu yapılırken (RPM metodu), her hücre için mRNA miktarı toplamda 1 milyar kopya olacak şekilde düzenlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında, proeritroblastlardaki RP mRNA'larının toplamının yaklaşık 250 milyon kopya olduğu dikkat çekicidir. *RPS19* mutasyonu bulunan DBA-3 kodlu bireyin çalışmaya dahil edilen hücre tipleri, sağlıklı bireylerin hücreleri ile bu pencereden değerlendirildiğinde, özellikle proeritroblastlarda toplam RP gen ifadesinde azalma (yaklaşık 150 milyon kopya) meydana geldiği gösterilmiştir (Şekil 4.14). Bu aşamada incelenen örneklerin farklı ribozom kodu içerdiğini göstermek için RPS ve RPL'ler için ısı haritaları da çıkarılmıştır (Şekil 4.14).

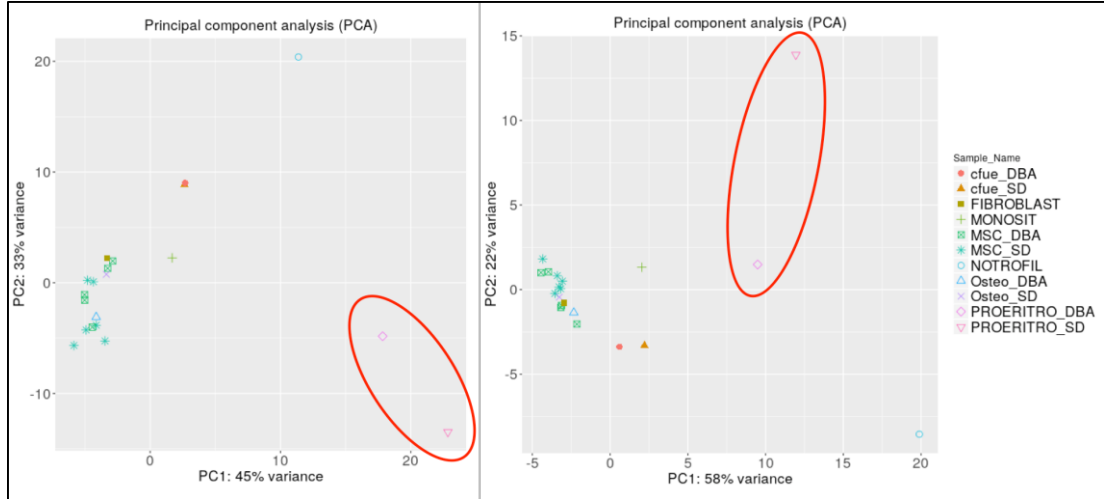


**Şekil 4.14.** 81 farklı RP gen ifadesinin farklı hücre tipleri için toplam değerleri (üst). Bu RP genleri içerisinde, büyük ribozom alt ünitesi (RPL) ve küçük ribozom alt ünitesi (RPS) kodlayan genlerin ifadelerinin birbirlerine oranı. Tez çalışmasına dahil edilen ve biyolojik kontrol olması açısından incelenen farklı hücre tiplerinin RPL (*alt, sol*) ve RPS (*alt, sağ*) gen ifade ısı haritası. Gen ifade seviyesi yeşilden kırmızıya artmaktadır. CFU-E: Eritroid koloni yapılmış hücre, MSC: Mezenkimal Kök Hücre, SD: Sağlıklı donör, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, Proeritro: Proeritroblast.

Buna ek olarak, küçük ve büyük ribozom alt ünitelerini oluşturan RP'lerin gen ifade oranları incelendiğinde, diğer hücrelerde yaklaşık 1.4-1.9 arasında değişen RPL/RPS oranının, proeritroblastlarda 2.98 olduğu, yani küçük alt ünite elemanlarını kodlayan (RPS) genlerin mRNA ifadesinin daha az olduğu ortaya çıkarılmıştır (Şekil 4.14). DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarındaki RPL/RPS oranının ise 4.32



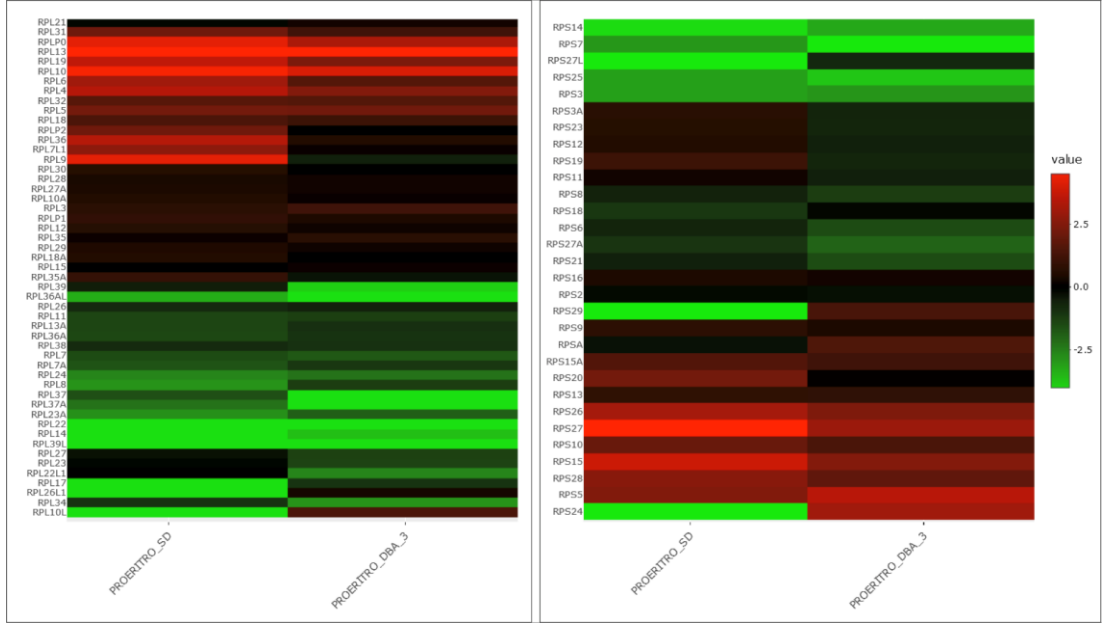
olduğu, yani küçük alt ünite elemanlarının çarpıcı şekilde azaldığı görülmüştür (şekil 4.14). RP ifade profili çıkarılmış olan örnekler ile yapılan iki farklı PCA (*Principal Component Analysis*) analizi, küçük alt üniteleri kodlayan genlerde (RPS) meydana gelen ifade değişimlerinin daha fazla olduğunu doğrulamıştır (Şekil 4.15).



**Şekil 4.15.** Farklı hücre tiplerinin RP gen ifade düzeyleri üzerinden yapılan PCA analizi (RPL *sol*, RPS *sağ*). RPS genleri açısından proeritroblast hücreleri birbirlerine daha uzak mesafede yerleşmiştir (*kırmızı halkalar*). CFU-E: Eritroid koloni yapılmış hücre, DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, SD: Sağlıklı donör, MSC: Mezenkimal Kök Hücre, Proeritro: Proeritroblast.

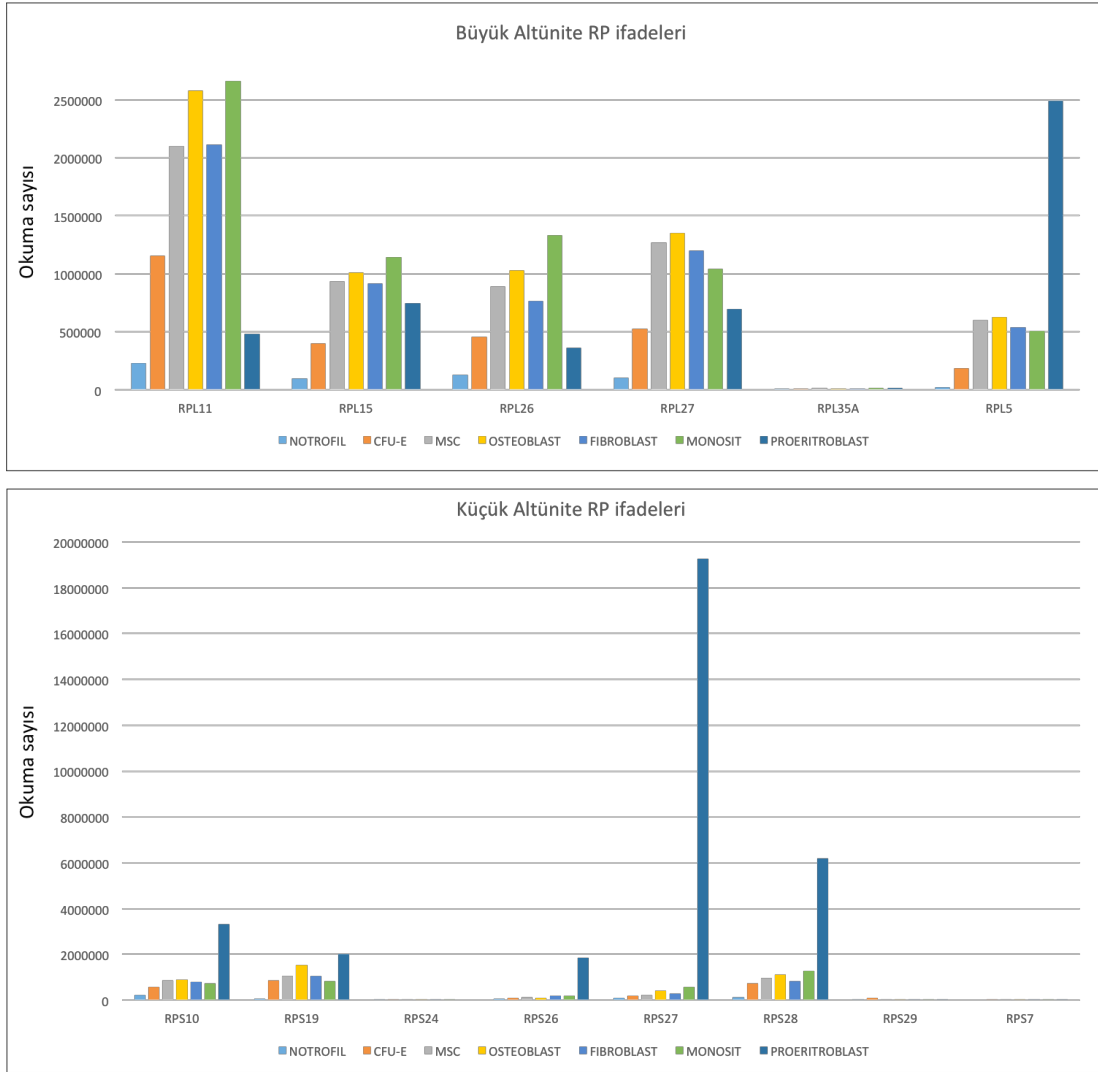
DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarında toplam RP gen ifadesinde saptanan azalmaya ek olarak, RP mRNA profilinin sağlıklı donörlere göre değişmiş olduğu da gösterilmiştir. Özellikle *RPS27*, *RPS20*, *RPS19*, *RPS23*, *RPS15*, *RPL6*, *RPL36*, *RPL9*, *RPLP2*, *RPL39* ifadesinde dramatik şekilde azalma görülürken, *RPS29* ve *RPL26L1* ifadesinde artış olduğu dikkat çekmiştir. Sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastları arasında ifadesi değişen RP genleri de ayrıca ısı haritası olarak görselleştirilmiştir (Şekil 4.16.).





**Şekil 4.16.** Proeritroblast transkriptom verilerine göre sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu bireydeki RP ifadesinin (RPL *sol*, RPS *sağ*) ısı haritası. Gen ifade seviyesi yeşilden kırmızıya artmaktadır. DBA: Diamond Blackfan Anemili birey, SD: Sağlıklı donör, MSC: Mezenkimal Kök Hücre, Proeritro: Proeritroblast.

Şimdiye kadar DBA hastalığından sorumlu olduğu tespit edilen genler açısından bakıldığında ise yine proeritroblast hücrelerine özgü bir ifade profili dikkat çekmiştir. DBA hastalığında en sık rastlanan *RPS19*, *RPL5*, *RPS10*, *RPS26*, *RPS28* ve *RPS27* mRNA ifade düzeylerinin, proeritroblastlarda, diğer hücre tiplerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.17.).



**Şekil 4.17.** DBA fenotipi ile ilişkilendirilmiş OMIM kaynaklı RP genlerinin farklı hücrelerdeki ifade miktarı. RP: Ribozomal Protein, RPL: Büyük alt ünite, RPS: Küçük alt ünite, CFU-E: Eritroid koloni yapılmış hücre, MSC: Mezenkimal Kök Hücre.

## 5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, nadir bir kemik iliği yetmezliği olan Diamond Blackfan Anemisi hastalığının moleküler etiyojisi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, etkilenmiş bireylerin kemik iliği kaynaklı mezenkimal ve hematopoetik kök hücreleri sağlıklı donörler ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

İlk olarak, mezenkimal kök hücreler hücre morfolojisi, farklılaşma ve transkriptomik açıdan karşılaştırılmıştır. Hücre morfolojisi incelendiğinde, DBA hastalarına ait hücrelerin henüz ilk pasajlarından itibaren mikrovezikül/vakuol benzeri yapıları biriktirmiş olduğu (Şekil 4.1.), bunların pasaj sayısı ile birlikte arttığı dikkat çekmiştir (Tablo 4.1.). Bu yapıların mikrovezikül, otofagozom ve/veya hücre içi inklüzyon benzeri birikimler olup olmadığı ayrı bir araştırma konusudur. Bununla beraber, bu tip yapıların hücresel stres ve/veya senesens kaynaklı olabileceği de olasıdır. Hasta hücrelerinin proliferasyon hızının da düşük olması söz konusudur. Farklı genlerde mutasyon olmasına rağmen, morfolojik açıdan tüm hasta hücrelerinin benzer fenotip göstermesi, hücrelerin geldiği kemik iliği nişinde DBA fenotipine özgü bir moleküler/hücresel etkenin bulunduğuna işaret etmektedir. Bu fikri destekleyen en önemli unsurlardan birisi, çalışmaya dahil edilen DBA hastalarından DBA-1 ve DBA-2 kodlu bireylerde homozigot *CECRI* mutasyonu bulunmasıdır. Mezenkimal kök hücrelerde *CECRI* ifadesi saptanmamış olmasına rağmen, bu mutasyonu bulduran hasta hücrelerinin de diğer DBA hastalarının hücreleri ile benzer morfolojiyi göstermesi, genotipten bağımsız olarak “DBA-spesifik bir kemik iliği mikroçevresi” olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır. Sağlıklı donör ve DBA’lı bireylerin karşılaştırmalı MKH transkriptom profili incelendiğinde, bu hipotezi doğrulayan başka bulgular da elde edilmiştir. Özellikle immün sistem ile ilişkilendirilmiş bazı gen kümelerinin (interferon, HLA-D ve interlekin grubu genler) hasta hücrelerinde artmış olması (Şekil 4.5.), kemik iliği mikroçevresinin plazma sitokinleri ve sekretom penceresinden de incelenmesi gerektiğini göstermiştir. Hasta hücrelerinin büyük çoğunluğunda meydana gelen farklılaşma defektleri de (Şekil 4.2.), proliferasyon kabiliyetindeki azalma ve doğrudan kanıt olmasa da kemik iliği mikroçevresindeki inflamasyon kaynaklı olabilir. DBA hastaları içinde, MKH’si 3 farklı kökene de farklılaşabilen tek birey olan DBA-5’i diğer hastalardan ayıran en

önemli fark, kemik iliği aspirasyonu öncesi G-CSF almış olmasıdır. Farklılaşma sürecindeki değişimlerin G-CSF kaynaklı olabileceğine dair literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Mezenkimal kök hücrelerin farklılaşma kabiliyeti DBA fenotipi açısından önemlidir. Literatürdeki çalışmalar, genotip-fenotip korelasyonu tam kurulmamış olsa da, bazı DBA hastalarında iskelet anomalileri ve büyüme geriliği olduğuna işaret etmektedir (4). *RPS19* mutasyonu bulunan DBA-3 kodlu bireyin MKH'leri osteojenik farklılaşmayı tamamlayamamıştır. Farklılaşma sürecinin sonunda, hücre morfolojilerinin osteojenik farklılaşmaya uygun şekilde değiştiği görülmüş ancak, kalsiyum birikintileri mikroskopik olarak görülmemiş, özgül histokimyasal boya olan Alizarin Red S ile de boyanmamıştır (Şekil 4.2.). Mikroskopik gözlem olarak 'gecikmiş' bir osteogenez sürecini işaret ettiği düşünülmektedir. Bu bireyin osteogeneze tabi tutulmuş MKH'sinde yapılan transkriptomik analiz, sağlıklı donöre göre (SD-3) farklı bir gen ifade profili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu farklılığın, "gecikmiş bir osteogenez" sürecini destekler nitelikte olduğu düşünülebilir. Bu fikri destekleyen en önemli bulgular ise, MKH-osteojenik farklılaşma sürecinde erken (1-4 gün) ve orta dönem (5-14 gün) belirteçlerinin (*RUNX2*, *COL1A1*, *BMP2* ve *SPP1* gibi) DBA-3 kodlu bireyde 21 günlük farklılaşma süreci sonucunda artmış olduğu görülmüştür. Bu genlerin sağlıklı donör ile yapılan farklılaşma deneyinde azalmış olduğu ancak etkilenmiş bireyde halen yüksek kaldığı tespit edilmiştir. Başka bir ifade ile, DBA-3 kodlu etkilenmiş bireyin osteojenik farklılaşması 21 gün geçmesine rağmen son faza (matürasyon) geçememiş, dolayısıyla kalsiyum depozitleri oluşmamıştır. Kemik malformasyonları, dismorfoloji ve büyüme geriliği penceresinden bakıldığında, bu sonuç DBA hastalığının fenotipini aydınlatma adına kritik öneme sahiptir. Osteojenik farklılaşmanın erken evresinde (1-4 gün) majör hücresel refleks proliferasyondur (53, 54). Hastalardaki proliferasyon bozukluğu/eksikliği nedeniyle, osteojenik farklılaşmanın erken evresinde artması gereken proliferasyon hızı gerekenin altında kalmış olabilir. Bu nedenle gecikmiş bir osteogenez görüldüğü öne sürülebilir. Bunlara ek olarak, bu iki örneğin (SD-3 ve DBA-3) transkriptom analizlerinde değişen gen sayılarının çok fazla olması, bu iki hücre tipinin oldukça farklı olduğuna dair dolaylı bir kanıt olabilir. Bu aşamada, farklı mutasyonları olan diğer DBA hastaları hakkında transkriptomik düzeyde

çalışma yapılmamış, dolayısıyla gecikmiş osteojenik farklılaşma örüntüsünün moleküler nedenleri hala aydınlatılmayı beklemektedir. Farklılaşmanın gecikmesinde kemik iliği nişi kaynaklı dış etkenlerin mi yoksa RP mutasyonlarının mı kardinal rol oynadığı ayrıca araştırılmalıdır. Bununla beraber, özellikle büyüme geriliği ve kemik yapısının idamesinin detaylı biçimde aydınlatılması için ileride yapılacak çalışmalarla kondrogenez süreci de transkriptom penceresinden incelenebilir. Çünkü, DBA'lı bireylerin MKH'lerinin kondrojenik farklılaşmaları da başarıyla tamamlanmamıştır.

Tez çalışmasının diğer bir ayağında, kemik iliği kaynaklı mononükleer hücreler eritropoez açısından incelenmiştir. Hücre kültürü ortamında bu konuda en sık kullanılan yöntemlerden biri olan eritroid koloni oluşturma deneyi (CFU-E) yapılmıştır. DBA hastalarından bir tanesi hariç (DBA-2) koloni oluşumu görülmemesi dikkat çekmiştir (Şekil 4.8.). Buna ek olarak, DBA-1 ve DBA-4 kodlu bireylerin kültür ortamında 14 günlük bu deney sonucunda canlı hücresi de kalmadığı gözlenmiştir. Söz konusu iki bireyin örneği kendi kontrolleri ile (SD-1 ve SD-4) aynı anda kültüre edilmiş ve sağlıklı donörlerin MNH'lerinin eritroid kolonileri oluşturduğu görülmüştür. DBA-2 kodlu bireyin kemik iliği kaynaklı mononükleer hücreleri ile yapılan immünofenotipleme sonuçlarına göre sağlıklı donörler ile aynı seviyede MEP hücresine sahip olması diğer DBA hastalarına (DBA-1, DBA-3 ve DBA-4) göre en önemli fark olarak kabul edilmiştir (Tablo 4.7., Şekil 4.10. ve Şekil 4.11.).

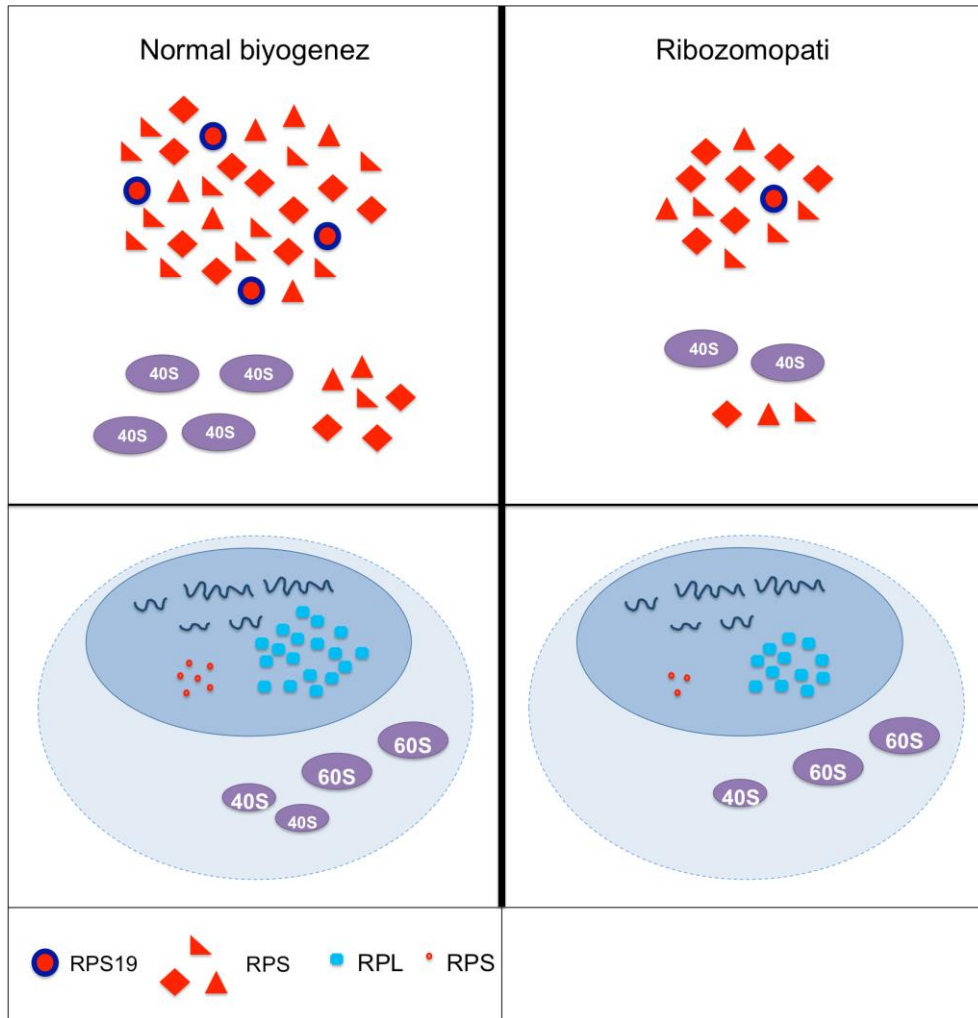
Her ne kadar DBA-2'de olduğu gibi DBA-1 de homozigot *CECRI* mutasyonuna sahip olsa da, bu hastanın koloni oluşturmamış olmasına getirilebilecek en mantıklı açıklama, kemik iliği plazmasındaki potansiyel sitokin profilinin farklı olabileceğidir. Aynı gende mutasyonu olan bu iki bireyin kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinde farklı bir interlökin gen ifadesi olması konusu bu noktada tekrar düşünülmelidir (Şekil 4.5.). Bu iki bireyin tüm kemik iliği hücre tipleri karşılaştırmalı olarak incelenmelidir.

Kemik iliği MNH materyalinin kıymeti ve düşük miktarı düşünülerek DBA-3 kodlu bireyde CFU-E çalışması yapılmamıştır. DBA-5 ve DBA-6 kodlu bireylerin ise kemik iliği aspiratlarından mononükleer hücre izole edilememiştir. Diğer yandan

immünofenotipleme çalışması, CFU-E çalışmasının DBA fenotipi için yeterli bir model olmadığı sonucunu ortaya çıkaran önemli bulguların elde edilmesini sağlamıştır. DBA-1 kodlu bireyde bazo/poli eritroblast yüzdesindeki düşüş dikkat çekicidir. Benzer şekilde DBA-2’de polieritroblast yüzdesinde azalma meydana gelmiştir. DBA klinik tablosunun ortaya çıktığı bu bireylerde söz konusu eritroblast hücrelerindeki moleküler/hücrel değişimler araştırılmalıdır.

DBA hastalığının moleküler etiyojisini aydınlatma adına, bu tez çalışmasını özgün ve kritik öneme sahip kılan unsurlardan en önemlisi proeritroblastlarda yapılan transkriptom analizleridir. İmmünofenotipleme sonucunda, DBA hastalığı için en önemli hücrel aşamalardan biri olan proeritroblastların, DBA-3 kodlu *RPS19* mutasyonu taşıyan bireyde azalmış olmasının gösterilmesi (Şekil 4.10.) tez çalışmasının yol haritası açısından kritik önem arz etmiştir. Çalışmaya dahil edilen diğer hücre tiplerine göre en yüksek RP ifadesinin proeritroblastlarda olması (tüm transkriptlerin yaklaşık %25’i RP genlerine ait), bu hücrelerin “ribozomopati” temalı analizler için kritik bir hücre tipi olduğuna işaret etmektedir. Buna ek olarak, DBA ile ilişkili RP genlerinin diğer hücre tiplerinde düşük düzeyde ifade edilirken proeritroblastlarda yüksek düzeyde saptanması da dikkat çekmiştir. *RPS19* mutasyonu sonucunda, ribozom küçük alt ünite elemanları başta olmak üzere, değişen RP ifadesi ve bunların diğer genlerin ifadesine yansımaları “ribozom kodu” şeklinde ifade edilen kavramın doğruluğunu ispatlar niteliktedir. Proeritroblastlarda *RPS19*’un yetersiz üretimi nedeniyle değişen ribozom kodu, sağlıklı donörlere kıyasla, gen ifade yelpazesini büyük ölçüde değiştirmiştir. DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarında yapılan transkriptom analizi üzerinden yola çıkılarak, *RPS19* mutasyonunun tahmini etkileri bir modelleme ile Şekil 5.1’de gösterilmiştir. Bu modele göre, proeritroblastların “ribozom kodu”nda küçük alt ünite elemanları (RPS) daha az bulunmalarından ötürü kritik öneme sahiptir. DBA hastalığında mutasyona uğradığı tespit edilen genlerin büyük çoğunluğunun küçük alt ünite (RPS) proteini olması bu fikri desteklemektedir. Tek bir alleldeki mutasyondan ötürü *RPS19* ifadesinde meydana gelen azalma, küçük alt ünite elemanlarının birleşmesi sırasında RPS19 eksikliği kaynaklı bir düzensizliğe neden olabilir. Bu durumda, diğer küçük alt ünite elemanları RPS19 yetersizliği nedeniyle yeterli miktarda birleşme gerçekleştiremediği için nükleolus içerisinde monomer olarak kalacaktır. Kendi gen

ifadelerini düzenledikleri bilinen RP'lerin, monomer olarak kaldıklarında transkripsiyonlarını negatif yönde regüle ettiği bilinmektedir (55). Transkriptom analizlerinde görülen azalmış RPS ifadesi bu hipotezi doğrular niteliktedir. Ribozom kodundaki değişim ve ribozom sayısında azalma gibi olası yansımaların yanı sıra ribozomdan-bağımsız görevleri bulunan RP'lerin (RNA kırılması, poli adenilasyon, DNA tamiri gibi) ifade değişimi nedeniyle proeritroblastların adeta "farklı bir hüvyete kapıldığı" açıktır. Transkriptom analizleri, bu yollarla ilgili bir çok gen ailesinde yüksek düzeyde ifade değişimi olduğunu göstermiştir (Tablo 4.9.). Fetal dönemde ifade edilen *HBG1* ve *HBG2* transkriptleri sağlıklı donörlerde bulunmazken, hasta hücrelerinde yüksek oranda ifade edilmesi, *RPS19* yetersizliğinin proeritroblastlarda yarattığı çarpıcı değişimlere en güzel örnektir.



Şekil 5.1. *RPS19* mutasyonu kaynaklı ribozomopatide RP'lerin değişen stokiyometrisi.

*RPS19* mutasyonu bulunan DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarında mRNA ifadesinin azalmış olduğu tespit edilen *RPS20*'nin ribozomdan-bağımsız görevi vardır. Naora ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, lösemi hücrelerinin apoptozu sırasında *RPS20*'nin azalmış olduğu ortaya çıkarılmıştır (56). Bu tez çalışmasında incelenen hasta örneğinde, mRNA ifadesi azalmış olan *RPS19*, kolon hücre karsinomlarındaki malignansi potansiyeli ile ilişkilendirilmiştir (57). DBA fenotipine neden olan genlerden biri olan ve yine çalışmadaki hasta bireyin proeritroblastlarında ifadesi azalan *RPS15*'in ise ribozom küçük alt ünite öncüllerini çekirdekten dışarı taşımada rol aldığı rapor edilmiştir (58). Bu açıdan düşünüldüğünde, *RPS* proteinlerindeki azalma, dolaylı yoldan ribozom alt ünitelerinde zincirleme şeklinde büyük bir düşüşe yol açabilir. Şekil 5.1'de önerilen ribozomopati mekanizması bu bilgi ile desteklenmektedir. Ribozomdan-bağımsız görevleri olan RP'lerden biri olan *RPS29*'un, tez çalışmasındaki analizlerde hasta bireyin proeritroblastlarında arttığı gösterilmiştir. Khanna ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu proteinin apoptozu indüklediği bildirilmiştir (59). DBA-3 kodlu bireyin proeritroblastlarında transkriptom seviyesinde global bir apoptoz örüntüsü saptanmamış olsa da, diğer donörlere göre proeritroblast yüzdesinin daha az olması *RPS29* ifadesindeki artış ile açıklanabilir. Yine de proeritroblastlarda proliferasyon, farklılaşma ve apoptozun, kontrollü deneylerle modellenip araştırılması önerilmiştir.

*RPS19* mutasyonu olan bireyde (DBA-3), proeritroblast sonrasındaki safhalarda bulunan eritrosit öncüllerinin sağlıklı donörlerle benzer yüzdelerde saptanmasına rağmen, aplastik eritrositlerin varlığı, gen ifade profili tamamen değişmiş proeritroblastların eksik/hatalı farklılaşması ile açıklanabilir. Bu aşamada bir kez daha dikkat edilmesi gereken sonuç, *RPS19* yetersizliği nedeniyle apoptoz ve/veya mitotik fazın durmasından ziyade, proeritroblastlardaki karakter değişimi olabilir. İleride yapılacak çalışmalarla, proeritroblast sonrasındaki safhalarda yer alan hücrelerin detaylı incelenmesi faydalı olacaktır. Klasik DBA fenotipini gösteren ve RP mutasyonu bulunan başka bireylerin hücrelerinin de aynı yaklaşım ile analiz edilmesi, moleküler patolojiyi aydınlatma adına önemlidir.

İleride yapılması önerilen çalışmalardan bir tanesi de kantitatif transkriptom analizlerine ek olarak total mRNA dizilemesidir. Alternatif kırılma, alternatif poli-



adenilasyon gibi mekanizmalarda rol oynayan genlerin de etkilendiği görülen proeritroblastlardaki mRNA varyantlarını ortaya çıkarmak ve mevcut veri setine eklemek gereklidir.

Bu ve benzeri çalışmalarda dikkat edilmesi gereken teknik bir unsur da, hücre ayrıştırması sonucu elde edilen hücre ve RNA miktarıdır. DBA-3 kodlu bireyin yaklaşık 1.770 tane proeritroblast hücresi ayrıştırılmış ve RNA eldesi sonrası tüm transkriptomu amplifiye edilmiştir. Her ne kadar karşılaştırmalı analiz yapılan sağlıklı donörlerin proeritroblastlarının RNA örnekleri de aynı şekilde çoğaltılmış olsa da, diğer deneylere göre fazladan bir amplifikasyon aşaması yapılmıştır. Dolayısıyla gen ifade değişimlerine odaklanırken dikkatli olunmalıdır.

Bu tez çalışması ile, DBA hastalığına yönelik olarak ilk kez MKH'ler, osteojenik farklılaşma yapılmış MKH'ler, CFU-E kolonileri ve proeritroblastlar aynı metodoloji ile omik seviyesinde incelendi. Literatürde daha önce yapılan çalışmalar araştırıldığında transkriptomik yaklaşımı açısından benzer çalışmalara rastlansa da kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler ve hematopoetik kök hücreler ile DBA hastalığına yönelik bir çalışma bulunmamıştır. Gazda ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı çalışmada, ileri yaşlarda (30-46) 3 DBA'lı ve 6 sağlıklı bireyin kemik ilgili kaynaklı hücreleri ile mikroarray çalışmaları yapılmıştır (8). Koga ve arkadaşları, 2 DBA'lı, 2 Aplastik Anemili ve 5 sağlıklı bireyin periferik kan hücreleri ile oligo çip tabanlı çalışma yapmıştır (12). Avondo ve arkadaşları ise 4 DBA'lı birey ve 6 sağlıklı bireyin deri fibroblastını model olarak kullanmıştır (7). Aspesi ve arkadaşları, eritrosit hücre hatları üzerinde çalışmalar yaparak mikrodizin sonuçları yayınlamıştır (6). Son olarak, Pesciotta ve arkadaşları, 6 DBA hastasının periferik kan kaynaklı eritrositlerinde proteom çalışması yapmıştır (50). Terminal ve erken dönem eritrositlerin incelendiği başka çalışmalarda, sağlıklı bireylerin hücreleri ile transkriptom analizleri yapılmıştır (60, 61). Ancak bu tez çalışmasında odaklanılan proeritroblast hücreleri, daha önce hiçbir çalışmada incelenmemiştir. Literatürdeki DBA ile ilgili bu çalışmalar göz önüne alındığında, bireylerin hem MKH hem de HKH'si ile aynı anda yapılmış bir çalışma olmadığı görülmüştür. Bu tez kapsamında erken yaşta bireylerin dahil edilmiş olması, kemik iliği nişindeki en temel iki hücre tipinin kullanılmış olması, hücre ayrıştırması yapılması ve transkriptom gibi ileri bir

teknolojinin kullanılmış olması, bu çalışmayı literatürdeki diğer çalışmaların kapsam olarak oldukça önüne geçirmiş, hastalığın doğru şekilde modellenmesini sağlamıştır.

Tez çalışması sonunda, tüm doku ve hücrelerde yüksek oranda ifade edildiği bilinen RP mutasyonlarının “spesifik olarak eritrosit gelişimini etkilemesi”nin aydınlatılması adına önemli adımlar atılmıştır. Nadir hastalıkların pek çoğunda klinik tablo açısından en önemli doku ve hücre tiplerinde yapılan araştırmaların önemi bir kez daha ortaya çıkmıştır. Diğer yandan, tek bir allelde mutasyon olması durumunda bile ortaya çıkabilecek hastalıklar için moleküler patolojiyi anlama adına örnek teşkil edecek moleküler mekanizmalar tez kapsamında tartışılmıştır. Haplo-yetersizlik nedeni ile DBA fenotipine sebep olan ribozomal proteinlerin ribozom biyogenezi translayonu dışında oynadıkları roller de transkriptomik veriler ışığında tartışılmıştır. Elde edilen bulgular ışığında, sadece DBA değil, diğer ribozomopatiler için de benzer yaklaşımların uygulanmasının kritik önem arz ettiği sonucuna varılmıştır. RP mutasyonu ve haplo-yetersizlik sonucu meydana gelen transkriptomik değişimlerin hücresel etkilerini araştırma adına, bu tez çalışmasında üretilen veriler sayesinde pek çok devam projesi geliştirilmesi söz konusu olacaktır. Özellikle ribozomopati bulunan bireylerin, ilerleyen yaşlarda diğer popülasyona göre daha fazla oranda kansere yatkın olmasının nedeni henüz keşfedilmemiştir. Bu tez çalışması sürecinde elde edilen bilgi birikimi bu alanda yapılacak çalışmalar için de rehber niteliği taşıyabilir.

Ribozom biyogenezinin arttığı kanser, inflamasyon, immün aktivasyon, nörogenez, proliferasyon gibi koşullarda, ribozom kodlarını ortaya çıkaracak şekilde zamansal ve mekansal analizlerin yapılması çok önemlidir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

### 6.1. Sonuçlar

- DBA hastalara ait mezenkimal kök hücrelerin, sağlıklı donörlerden farklı olarak mikrovezikül/vakuol benzeri yapılar biriktirdikleri görülmüş, ilerleyen pasajlarda bu yapıların arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda proliferasyon hızlarının da azaldığı görülmüştür.
- DBA hastalarında mezenkimal kök hücrelerin osteojenik ve kondrojenik farklılaşma potansiyelinde azalma olduğu gösterilmiştir.
- DBA MKH'lerinin transkriptom profilleri sağlıklı donörler ile karşılaştırıldığında artmış bir inflamatuvar cevap olduğu görülmüştür.
- *RPS19* mutasyonu bulunan DBA hastasının MKH'sinin osteojenik farklılaşma sonucunda yapılan transkriptom analizinde, osteojenik farklılaşma sürecinin erken veya orta döneminde ifadesinin yüksek olması gereken genlerin hala yüksek düzeyde ifade olduğu, ileri dönemde artması gereken genlerin ise düşük seviyede ifade olduğu görülmüştür. Bu bulgu 'gecikmiş' osteogenez gözlemini desteklemiştir.
- *CECRI* homozigot delesyonu bulunan bireyde CFU-E süreci sonunda yapılan transkriptom analizinde, inflamasyon ve immün sistemle ilişkili olan genlerde ifade değişimleri saptanmıştır. Tüm DBA hastalarında CFU-E deneyi yapılamamış olsa da, çalışmaya dahil edilen diğer DBA'lı bireylerde koloni oluşmadığı görülmüştür.
- Akım sitometri ile yapılan immünofenotipleme sonucunda, *RPS19* mutasyonu bulunan DBA-3 kodlu bireyin proeritroblast hücre popülasyonunun dikkat çekici şekilde yüzdece azaldığı görülmüştür.
- Proeritroblastlarda yapılan transkriptom analizi, sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu birey arasında mRNA düzenlenmesi, RNA işleme, ribozom

biyogenezi gibi temel hücresel yollarda rol oynayan genlerde büyük ifade farklılıkları olduğunu ortaya çıkarmıştır.

- Ribozom kodu penceresinden yapılan analizler, pek çok farklı hücre tipi içinde proeritroblastların en yüksek ribozomal protein gen ifadesine sahip olduğu, diğer hücrelere göre küçük alt ünite elemanlarını daha az ürettikleri ve DBA ile ilişkilendirilmiş pek çok RP geninin bu hücre tipinde maksimum ifade düzeyine çıktığı görülmüştür. *RPS19* mutasyonunun ise ribozom alt ünite ifadelerinde azalmaya yol açtığı, bu azalmanın, küçük alt üniteleri kodlayan genlerde daha dramatik düzeyde olduğu kaydedilmiştir.

## 6.2. Öneriler

- DBA MKH'lerindeki mikrovezikül/vakuol benzeri yapıların hangi hücresel yanıt/süreçten kaynaklandığı araştırılmalıdır.
- DBA MKH'lerindeki inflamatuvar cevap, kemik iliği plazmasında yapılacak metabolom, proteom, sekretom ve eksozom seviyelerinde incelendiği takdirde sadece DBA için değil, diğer kemik iliği yetmezliklerine yönelik olarak da kullanılabilecek bir biyomolekül kütüphanesi elde edilebilir. Bu büyük veri sayesinde tanı, hastalık seyri ve belki de tedavi için yeni yöntemlerin keşfedilmesi söz konusu olacaktır.
- Farklı DBA hastalarında yapılacak yeni transkriptom çalışmaları hem MKH hem de MKH farklılaşma süreçlerinde (adipogenez, osteogenez ve kondrogenez) saptanan eksiklik/gecikmeleri aydınlatma adına büyük önem arz etmektedir. Bu analizlerin farklılaşma süreçleri boyunca, belirli zaman aralıklarını kapsayacak şekilde tasarlanması önerilir.
- Proeritroblastlar, DBA fenotipini aydınlatma adına en kritik hücre tipi olarak belirtilse de, hücre ayrıştırması sonrasında elde edilen 4 farklı hücre tipi (HKH, MEP, Proeritroblast, Bazo/Poli eritroblast) için de transkriptom analizi yapılmalı ve böylece eritroid seri gelişimindeki normal/patolojik moleküler imzalar aydınlatılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Danilova N ve Gazda HT. Ribosomopathies: how a common root can cause a tree of pathologies. *Disease Models & Mechanisms*. 2015; 8: 1013-1026.
2. Garçon L, Ge J, Manjunath SH, Mills JA, Apicella M, Parikh S ve arkadaşları. Ribosomal and hematopoietic defects in induced pluripotent stem cells derived from Diamond Blackfan anemia patients. *Blood*. 2013;122(6):912-21. doi: 10.1182/blood-2013-01-478321.
3. Jaako P, Debnath S, Olsson K, Modlich U, Rothe M, Schambach A, ve ark. Gene therapy cures the anemia and lethal bone marrow failure in a mouse model of RPS19-deficient Diamond-Blackfan anemia. *Haematologica*. 2014; 99(12):1792-8.
4. Nakhoul H, Ke J, Zhou X, Liao W, Zeng SX ve Lu H. Ribosomopathies: Mechanisms of Disease. *Clinical Medicine Insights: Blood Disorders*. 2014; 7: 7–16.
5. Pereboom TC, Bondt A, Pallaki P, Klasson TD, Goos YJ, ve Essers PB. Translation of branched-chain aminotransferase-1 transcripts is impaired in cells haploinsufficient for ribosomal protein genes. *Exp Hematol*. 2014; 42 (5), 394-403.
6. Aspesi A, Pavesi E, Robotti E, Crescitelli R, Boria I, Avondo F ve arkadaşları. Dissecting the transcriptional phenotype of ribosomal protein deficiency: implications for Diamond-Blackfan Anemia. *Gene*. 2014 545(2):282-9. doi: 10.1016/j.gene.2014.04.077.
7. Avondo F, Roncaglia P, Crescenzo N, Krmac H, Garelli E, Armiraglio M ve arkadaşları. Fibroblasts from patients with Diamond-Blackfan anaemia show abnormal expression of genes involved in protein synthesis, amino acid metabolism and cancer. *BMC Genomics*. 2009; 10:442. doi: 10.1186/1471-2164-10-442.
8. Gazda HT, Kho AT, Sanoudou D, Zaucha JM, Kohane IS, Sieff CA, Beggs AH. Defective ribosomal protein gene expression alters transcription, translation, apoptosis, and oncogenic pathways in Diamond-Blackfan anemia. *Stem Cells*. 2006;24(9):2034-44.
9. Ruggero D, Shimamura A. Marrow failure: a window into ribosome biology. *Blood*. 2014; 124(18):2784-92.
10. Sasa GS, Elghetany MT, Bergstrom K, Nicholas S, Himes R, Krance RA ve arkadaşları. Adenosine Deaminase 2 Deficiency As a Cause of Pure Red Cell Aplasia Mimicking Diamond Blackfan Anemia. *Blood*. 2015: 126-3615.
11. Ben-Ami T, Revel-Vilk S, Brooks R, Shaag A, Hershfield MS, Kelly SJ. Extending the Clinical Phenotype of Adenosine Deaminase 2 Deficiency. *J Pediatr*. 2016; 177:316-320. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.06.058.
12. Koga Y, Ohga S, Nomura A, Takada H, Hara T. Reduced gene expression of clustered ribosomal proteins in Diamond-Blackfan anemia patients without RPS19 gene mutations. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2006; 28(6):355-61.

13. Yelick PC ve Trainor PA. Ribosomopathies: Global process, tissue specific defects. *Rare Diseases*. 2015; 3(1).
14. Taylor AM, Humphries JM, White RM, Murphey RD, Burns CE, Zon LI. Hematopoietic defects in rps29 mutant zebrafish depend upon p53 activation. *Exp Hematol*. 2012;40(3):228-237.e5. doi: 10.1016/j.exphem.2011.11.007.
15. Kamimae-Lanning AN, Kurre P. L-Leucine alleviates Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2012 Sep 13;120(11):2157-8. doi: 10.1182/blood-2012-07-443978.
16. Thomson E, Ferreira-Cerca S, Hurt E. Eukaryotic ribosome biogenesis at a glance. *J Cell Sci*. 2013;126(Pt 21):4815-21. doi: 10.1242/jcs.111948.
17. Zhou X, Liao WJ, Liao JM, Liao P, Lu H. Ribosomal proteins: functions beyond the ribosome. *J Mol Cell Biol*. 2015;7(2):92-104. doi: 10.1093/jmcb/mjv014.
18. O'Donohue MF, Choemmel V, Faublader M, Fichant G, Gleizes PE. Functional dichotomy of ribosomal proteins during the synthesis of mammalian 40S ribosomal subunits. *J Cell Biol*. 2010;190(5):853-66. doi: 10.1083/jcb.201005117.
19. Yoshikawa M, Fujii YR. Human Ribosomal RNA-Derived Resident MicroRNAs as the Transmitter of Information upon the Cytoplasmic Cancer Stress. *Biomed Res Int*. 2016;7562085. doi: 10.1155/2016/7562085.
20. Shapiro E, Biezuner T, Linnarsson S. Single-cell sequencing-based technologies will revolutionize whole-organism science. *Nat Rev Genet*. 2013;14(9):618-30. doi: 10.1038/nrg3542.
21. Marinov GK, Williams BA, McCue K, Schroth GP, Gertz J, Myers RM, Wold BJ. From single-cell to cell-pool transcriptomes: stochasticity in gene expression and RNA splicing. *Genome Res*. 2014;24(3):496-510. doi: 10.1101/gr.161034.113.
22. Brombin A, Joly JS, Jamen F. New tricks for an old dog: ribosome biogenesis contributes to stem cell homeostasis. *Curr Opin Genet Dev*. 2015; 34:61-70.
23. Goudarzi KM, Lindström MS. Role of ribosomal protein mutations in tumor development. *Int J Oncol*. 2016; 48(4):1313-24.
24. Riggelen J, Yetil A ve Felsher DW. MYC as a regulator of ribosome biogenesis and protein synthesis. *Nature Reviews Cancer*. 2010; 10(4):301-309.
25. Nazar RN. Ribosomal RNA processing and ribosome biogenesis in eukaryotes. *IUBMB Life*. 2004;56(8):457-65.
26. Fatica A ve Tollervey D. Making ribosomes. *Current Opinion in Cell Biology*. 2002; 14:313-318.
27. Keersmaecker KD, Sulima SO, ve Dinman JD. Ribosomopathies and the paradox of cellular hypo- to hyperproliferation. *Blood*. 2015; 125(9): 1377-1382.

28. Trainor PA, Merrill AE. Ribosome biogenesis in skeletal development and the pathogenesis of skeletal disorders. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2014; 1842: 769–778.
29. Sulima SO, Patchett S, Advani VM, De Keersmaecker K, Johnson AW, Dinman JD. Bypass of the pre-60S ribosomal quality control as a pathway to oncogenesis. *PNAS*. 2014; 111(15):5640-5.
30. He S, Nakada D, Morrison SJ. Mechanisms of stem cell self-renewal. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2009;25:377-406. doi: 10.1146/annurev.cellbio.042308.113248.
31. Kitambi SS, Chandrasekar G. Stem cells: a model for screening, discovery and development of drugs. *Stem Cells Cloning*. 2011;4:51-9. doi: 10.2147/SCCAA.S16417.
32. Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell*. 2008;132(4):567-82. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.015.
33. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry--part I: stem cell sources. *J Prosthodont Res*. 2012;56(3):151-65. doi: 10.1016/j.jpor.2012.06.001.
34. Mendelson A ve Frenette PS. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration. *Nat Med*. 2014; 20(8): 833–846.
35. Al-Drees MA, Yeo JH, Boumelhem BB, Antas VI, Brigden KVL, Colonne CK ve Fraser ST. Making Blood: The Haematopoietic Niche throughout Ontogeny. *Stem Cells International*. 2015; 2015:571893.
36. Coste C, Neirinckx V, Gothot A, Wislet S ve Rogister B. Are neural crest stem cells the missing link between hematopoietic and neurogenic niches? *Front Cell Neurosci*. 2015; 17(9):218.
37. Balakumaran A, Mishra PJ, Pawelczyk E, Yoshizawa S, Sworder BJ, Cherman N ve arkadaşları. Bone marrow skeletal stem/progenitor cell defects in dyskeratosis congenita and telomere biology disorders. *Blood*. 2015;125(5):793-802. doi: 10.1182/blood-2014-06-566810.
38. Hsu YC, Fuchs E. A family business: stem cell progeny join the niche to regulate homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(2):103-14. doi: 10.1038/nrm3272.
39. Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods*. 2016;99:62-8. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.09.016.
40. García-García A, de Castillejo CL, Méndez-Ferrer S. BMSCs and hematopoiesis. *Immunol Lett*. 2015;168(2):129-35. doi: 10.1016/j.imlet.2015.06.020.
41. Kim N ve Cho SG. Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med*. 2013;28:387-402 <http://dx.doi.org/10.3904/kjim.2013.28.4.387>.

42. Pontikoglou C, Deschaseaux F, Sensebé L, Papadaki HA. Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: Biological Properties and Their Role in Hematopoiesis and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Stem Cell Rev and Rep.* 2011;7:569–589. DOI 10.1007/s12015-011-9228-8
43. Mundra V, Gerling IC ve Mahato1 RI. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy *Mol Pharm.* 2013; 10(1): 77–89. doi:10.1021/mp3005148.
44. Chong PP, Selvaratnam L, Abbas AA, Kamarul T. Human peripheral blood derived mesenchymal stem cells demonstrate similar characteristics and chondrogenic differentiation potential to bone marrow derived mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 2012;30(4):634-42. doi: 10.1002/jor.21556.
45. Costa G, Kouskoff V, Lacaud G. Origin of blood cells and HSC production in the embryo. *Trends Immunol.* 2012;33(5):215-23. doi: 10.1016/j.it.2012.01.012.
46. Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3(4):a011601. doi: 10.1101/cshperspect.a011601.
47. Seita J ve Weissman IL. Hematopoietic Stem Cell: Self-renewal versus Differentiation. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 2010; 2(6): 640–653.
48. Wojda U, Noel P, Miller JL. Fetal and adult hemoglobin production during adult erythropoiesis: coordinate expression correlates with cell proliferation. *Blood.* 2002;99(8):3005-13.
49. Warren AJ. Decoding erythropoiesis. *Blood.* 2017;129(5):544-545. doi: 10.1182/blood-2016-12-755538.
50. Pesciotta EN, Lam HS, Kossenkov A, Ge J, Showe LC, Mason PJ ve arkadaşları. In-Depth, Label-Free Analysis of the Erythrocyte Cytoplasmic Proteome in Diamond Blackfan Anemia Identifies a Unique Inflammatory Signature. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140036. doi: 10.1371/journal.pone.0140036.
51. Attar A. Changes in the Cell Surface Markers During Normal Hematopoiesis: A Guide to Cell Isolation. *Global Journal of Hematology and Blood Transfusion.* 2014, 1, 20-28.
52. Chen K, Liu J, Heck S, Chasis JA, An X, Mohandas N. Resolving the distinct stages in erythroid differentiation based on dynamic changes in membrane protein expression during erythropoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106(41):17413-8. doi: 10.1073/pnas.0909296106.
53. Huang Z, Nelson ER, Smith RL, Goodman SB. The sequential expression profiles of growth factors from osteoprogenitors to osteoblasts in vitro. *Tissue Eng.* 2007;13(9):2311-20.
54. Kulterer B, Friedl G, Jandrositz A, Sanchez-Cabo F, Prokesch A, Paar C ve arkadaşları. Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow during expansion and osteoblast differentiation. *BMC Genomics.* 2007 12;8:70.
55. Tasheva ES, Roufa DJ. Regulation of human RPS14 transcription by intronic antisense RNAs and ribosomal protein S14. *Genes Dev.* 1995;9(3):304-16.



56. Naora H. Involvement of ribosomal proteins in regulating cell growth and apoptosis: translational modulation or recruitment for extraribosomal activity? *Immunol Cell Biol.* 1999;77(3):197-205.
57. Kondoh N, Schweinfest CW, Henderson KW, Papas TS. Differential expression of S19 ribosomal protein, laminin-binding protein, and human lymphocyte antigen class I messenger RNAs associated with colon carcinoma progression and differentiation. *Cancer Res.* 1992;52(4):791-6.
58. Gazda HT, Sheen MR, Vlachos A, Choemmel V, O'Donohue MF, Schneider H ve arkadaşları. Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia patients. *Am J Hum Genet.* 2008;83(6):769-80. doi: 10.1016/j.ajhg.2008.11.004.
59. Khanna N, Reddy VG, Tuteja N, Singh N. Differential gene expression in apoptosis: identification of ribosomal protein S29 as an apoptotic inducer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;277(2):476-86.
60. An X, Schulz VP, Li J, Wu K, Liu J, Xue F ve arkadaşları. Global transcriptome analyses of human and murine terminal erythroid differentiation. *Blood.* 2014;123(22):3466-77. doi: 10.1182/blood-2014-01-548305.
61. Li J, Hale J, Bhagia P, Xue F, Chen L, Jaffray J ve arkadaşları. Isolation and transcriptome analyses of human erythroid progenitors: BFU-E and CFU-E. *Blood.* 2014;124(24):3636-45. doi: 10.1182/blood-2014-07-588806.

## 8. EKLER

### EK-1: Tez Çalışması ile İlgili Etik Kurul İzni



T.C.  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 -1214

#### ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 18 Kasım 2015 ÇARŞAMBA  
**Toplantı No** : 2015/23  
**Proje No** : GO 15/721 (Değerlendirme Tarihi: 18.11.2015)  
**Karar No** : GO 15/721 - 19

Üniversitemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Şule ÜNAL'ın sorumlu araştırmacı olduğu Uzm.Bio. Beren KARAOSMANOĞLU, Yrd.Doç.Dr. Ekim TAŞKIRAN, Doç.Dr. Pelin Özlem Şimşek KİPER, Prof.Dr. Duygu Uçkan ÇETİNKAYA, Prof.Dr. Mualla ÇETİN, Prof.Dr. Fatma GÜMRÜK ve Prof.Dr. A. Nurten AKARSU ile birlikte çalışacakları, GO 15/721 kayıt numaralı ve "Avrupa Diamond\_Blackfan Anemisi Konsorsiyumu (EURODBA)" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

#### KATILMADI

- |   |   |
|---|---|
| 1.Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan)      | 9 Prof. Dr. Rahime Nohutçu (Üye)                  |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye)    | 10. Prof. Dr. R. Köksal Özgül (Üye)               |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım Sara (Üye)     | 11. Prof. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye)               |
| 4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye)   | 12. Prof. Dr. Leyla Dinç (Üye)                    |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye)      | İZİNLİ<br>13.Prof. Dr. Hatice Doğan Buzoğlu (Üye) |
| 6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | İZİNLİ<br>14.Doç.Dr. S. Kutay Demirkan (Üye)      |
| 7. Prof. Dr. Ali Düzova (Üye)           | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye)        |
| 8. Prof.Dr. Levent Akın (Üye)           | GÖREVLİ<br>16. Av. Meltem Onurlu (Üye)            |

**EK-2: Gen ifade tabloları.**

SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 1.5$  kat üzeri ifadesi artan gen listesi.

Gen Adı	Osteo DBA-3	Osteo SD-3	log2 (DER)	Gen Adı	Osteo DBA-3	Osteo SD-3	log2 (DER)
TACSTD2	276.053	1.125	7.939	SERPING1	362.183	91.442	1.986
MMP13	298.436	3.262	6.516	PPL	8.448	2.137	1.983
FLG	98.528	0.450	6.453	FAM198B	143.732	36.442	1.980
DDIT4L	59.029	0.787	5.714	EML2	16.787	4.274	1.974
DPT	534.113	11.135	5.584	APOL3	6.583	1.687	1.964
FAM20A	53.104	1.125	5.561	CFHR3	4.389	0.225	1.964
S100A4	77.901	2.362	5.044	GAS7	15.800	4.049	1.964
TXNIP	371.180	11.810	4.974	GLYATL2	4.389	0.562	1.964
CADM3	302.715	9.673	4.968	LIPC	4.389	0.000	1.964
LRRC15	36.427	1.237	4.880	SGOL1	4.389	0.225	1.964
OLFML1	39.279	1.350	4.863	SPATA6	7.461	1.912	1.964
AQP1	32.477	0.562	4.852	VSIG8	4.389	0.112	1.964
FAM21C	26.881	0.562	4.579	ZSWIM3	5.267	1.350	1.964
COL10A1	113.120	4.836	4.548	FKBP7	106.866	27.556	1.955
SERPINF1	271.665	13.047	4.380	DBF4B	9.107	2.362	1.947
CRABP2	23.151	0.787	4.363	OAS2	9.107	2.362	1.947
LAPTM5	22.602	0.562	4.329	SLPI	8.229	2.137	1.945
WISP1	53.653	2.699	4.313	CKAP2L	7.790	2.025	1.944
CA2	60.675	3.262	4.217	PTGIS	103.026	26.769	1.944
IGFBP5	203.748	11.585	4.136	PIK3R3	44.875	11.697	1.940
C7	19.749	0.562	4.134	CCL2	62.101	16.196	1.939
PDPN	19.749	0.562	4.134	ASAP3	23.260	6.074	1.937
MXRA5	68.136	3.937	4.113	DHODH	10.314	2.699	1.934
ASPN	141.757	8.323	4.090	FAM13C	4.279	0.787	1.928
IBSP	19.091	0.337	4.085	HOXD4	4.279	0.787	1.928
BMP4	41.584	2.474	4.071	MASP1	4.279	0.337	1.928
SFRP5	18.652	0.225	4.052	MMP17	4.279	0.787	1.928
AEBP1	140.441	8.885	3.982	POM121L4P	4.279	1.125	1.928
PDGFRL	28.417	1.800	3.981	ZBTB47	4.279	0.675	1.928
COL1A1	16.056.301	1.034.763	3.956	MFSD7	6.803	1.800	1.918
ANGPTL5	31.051	2.025	3.939	OLFML2B	66.709	17.658	1.918
LRRC17	24.577	1.687	3.865	DNMT3A	9.326	2.474	1.914
PTGFR	43.229	3.037	3.831	DMGDH	5.925	1.575	1.912
CPAMD8	18.652	1.350	3.789	ZNF642	10.972	2.924	1.908
PTGDS	202.980	14.734	3.784	HIST1H1A	8.009	2.137	1.906
RANBP3L	128.152	9.448	3.762	CENPK	18.104	4.836	1.904

CCDC8	15.141	1.012	3.751	TCF19	12.618	3.374	1.903
COL15A1	25.455	1.912	3.735	KIF15	12.179	3.262	1.901
ACOT1	14.922	0.000	3.730	SERPINA3	57.932	15.521	1.900
CFD	22.273	1.687	3.723	ACSS1	4.608	1.237	1.897
ADH1B	675.870	51.851	3.704	C14orf93	4.608	1.237	1.897
TMEM204	30.502	2.362	3.691	CNPY4	19.640	5.286	1.893
GSTT1	14.154	0.000	3.654	PITX2	25.894	6.973	1.893
FAM111B	13.934	1.125	3.631	AARS2	4.169	1.012	1.890
NPTX1	16.677	1.350	3.627	BHLHE41	6.254	1.687	1.890
TMEM100	16.677	1.350	3.627	C1QL1	4.169	0.675	1.890
SLC9A9	20.298	1.687	3.589	C4A	4.169	0.900	1.890
FBLN1	266.398	23.732	3.489	CDA	4.169	1.012	1.890
EPYC	12.508	0.337	3.475	CPB1	4.169	0.112	1.890
FNDC1	78.998	7.198	3.456	HMMR	12.508	3.374	1.890
COL8A2	22.163	2.025	3.453	MSLN	4.169	1.125	1.890
F3	12.289	0.900	3.450	MTMR9LP	4.169	0.562	1.890
SPP1	35.330	3.262	3.437	OR2A1	4.169	1.125	1.890
OCA2	11.850	0.000	3.397	SOD3	6.254	1.687	1.890
APCDD1	26.662	2.587	3.365	CEP128	7.900	2.137	1.886
STMN2	107.196	10.460	3.357	KBTBD7	7.900	2.137	1.886
SDC1	11.411	0.562	3.343	LDLR	92.274	24.969	1.886
CLU	158.764	15.746	3.334	PLCD4	5.815	1.575	1.885
COL3A1	2.917.761	291.758	3.322	CRLF1	240.175	65.123	1.883
SULF2	64.844	6.524	3.313	CORO6	14.922	4.049	1.882
MMP7	103.794	10.460	3.311	COL7A1	135.174	36.892	1.873
KRT14	27.430	2.812	3.286	AP4B1	6.583	1.800	1.871
MEGF10	10.643	1.125	3.242	ZNF826P	4.937	1.350	1.871
PLAC8	10.423	0.562	3.212	STK36	12.289	3.374	1.865
C17orf97	10.204	0.337	3.181	METTL7A	72.305	19.908	1.861
MFAP4	399.597	44.090	3.180	ZNF546	6.912	1.912	1.854
NOX4	39.609	4.386	3.175	ARHGAP33	4.060	0.675	1.852
FGF1	9.984	0.900	3.150	CASC5	8.119	2.249	1.852
RARRES2	9.984	0.562	3.150	CDC20	10.533	2.924	1.849
INMT	9.875	0.225	3.134	TSPAN2	37.634	10.460	1.847
MDFI	9.875	0.225	3.134	IFI44L	17.336	4.836	1.842
KLHL3	9.765	1.012	3.118	THBS3	37.853	10.573	1.840
SPON1	9.655	0.337	3.102	TPK1	8.448	2.362	1.839
TNC	1.329.796	156.339	3.088	AIM1	89.311	25.082	1.832
PLAU	128.810	15.184	3.085	DCLRE1B	13.605	3.824	1.831
ROS1	120.581	14.284	3.078	THSD1	5.596	1.575	1.829
LAMA2	235.457	27.894	3.077	COL18A1	4.389	1.237	1.827
ELN	1.565.473	188.169	3.056	NACAD	4.389	1.237	1.827
SUSD2	25.894	3.149	3.040	TMEM178A	15.909	4.499	1.822

CGNL1	9.216	1.125	3.035	FAM109B	35.768	10.123	1.821
CLSTN2	9.216	0.900	3.035	GLI3	146.914	41.615	1.820
ST8SIA1	9.216	0.337	3.035	MTERFD3	10.314	2.924	1.818
CCDC15	9.107	1.012	3.017	HCFC1R1	19.420	5.511	1.817
APOD	1.457.619	180.746	3.012	LEPREL2	79.876	22.720	1.814
PRELP	472.999	59.049	3.002	PIK3R1	197.165	56.125	1.813
COL14A1	45.533	5.736	2.989	APOL4	3.950	0.112	1.812
PEMT	8.887	0.000	2.982	ARHGEF26	3.950	1.012	1.812
C10orf116	21.176	2.699	2.972	CILP	3.950	0.225	1.812
PTH1R	8.668	0.225	2.946	LRIG1	9.875	2.812	1.812
DKK2	49.922	6.524	2.936	GTSE1	17.336	4.949	1.809
STEAP4	191.899	25.082	2.936	C4orf21	4.718	1.350	1.806
SLC29A1	94.797	12.485	2.925	ARRDC4	32.587	9.335	1.804
GDF5	29.624	3.937	2.912	HEMK1	5.486	1.575	1.801
KIAA0040	37.195	4.949	2.910	PNMAL1	5.486	1.575	1.801
PTGS1	8.448	0.337	2.909	OLFML2A	65.393	18.783	1.800
PCSK2	8.339	0.675	2.890	GEN1	21.505	6.186	1.798
KCNQ5	23.919	3.262	2.874	CDCA5	15.580	4.499	1.792
RSPO1	8.229	0.225	2.871	C1S	192.667	55.675	1.791
SCRG1	8.229	0.900	2.871	TRIM61	22.163	6.411	1.790
TRAIP	8.229	1.012	2.871	ZNF214	4.279	1.237	1.790
CCDC111	15.470	2.137	2.856	RUNX2	22.931	6.636	1.789
CELSR1	9.765	1.350	2.855	ACCS	4.608	1.350	1.772
COL21A1	31.489	4.386	2.844	ARVCF	3.840	1.125	1.772
CDCA8	8.009	0.562	2.832	CAPS2	3.840	1.012	1.772
FAM107A	8.009	0.450	2.832	CENPA	6.912	2.025	1.772
SLFN11	21.505	3.037	2.824	FLRT3	3.840	0.675	1.772
S100B	7.900	0.225	2.812	GMFG	3.840	0.450	1.772
LSP1	258.059	36.892	2.806	HENMT1	4.608	1.350	1.772
SERTAD4	25.784	3.712	2.796	LMNB1	16.129	4.724	1.772
IGF2	7.680	0.900	2.772	PIP	3.840	0.000	1.772
TENM2	14.593	2.137	2.772	SPC25	3.840	0.450	1.772
S100A3	7.571	0.450	2.751	STPG2	3.840	1.125	1.772
C1R	357.465	53.538	2.739	TAS2R3	6.144	1.800	1.772
ZNF43	11.191	1.687	2.730	CLEC2D	17.226	5.061	1.767
ZNF429	9.655	1.462	2.723	ZFP14	13.386	3.937	1.766
COL1A2	14.434.213	2.188.186	2.722	CTHRC1	1.262.648	371.502	1.765
ZNF462	40.047	6.074	2.721	TNFRSF11B	282.746	83.231	1.764
ELAC1	14.044	2.137	2.716	GATSL3	13.715	4.049	1.760
ATP8B3	18.433	2.812	2.713	JRKL	13.276	3.937	1.754
STXBP6	7.351	0.000	2.708	PPCDC	4.169	1.237	1.753
ANO2	15.361	2.362	2.701	KIF26B	26.113	7.761	1.751
KIF11	8.009	1.237	2.695	PRR5L	23.480	6.973	1.751

COMP	3.946.159	611.635	2.690	CCNE2	9.436	2.812	1.747
LOC64340 1	7.241	1.125	2.687	PCSK5	35.110	10.460	1.747
FMO2	19.530	3.037	2.685	BHMT2	16.568	4.949	1.743
GGT5	203.310	31.718	2.680	NUDT12	19.201	5.736	1.743
PDE1A	7.900	1.237	2.675	RRM2	82.070	24.519	1.743
ST6GAL1	22.273	3.487	2.675	ZNF187	19.201	5.736	1.743
EPHB6	9.326	1.462	2.673	ASF1B	10.533	3.149	1.742
PRMT6	9.326	1.462	2.673	SPARC	7.217.984	2.164.004	1.738
ANO1	17.116	2.699	2.665	BRIP1	6.364	1.912	1.735
CILP2	7.022	0.900	2.642	TENC1	19.091	5.736	1.735
FRMD4B	7.022	1.125	2.642	ADAMTS4	9.326	2.812	1.730
MATN3	47.070	7.648	2.622	ATG16L2	3.730	0.787	1.730
NDC80	8.997	1.462	2.621	BST2	11.191	3.374	1.730
CSRNP3	9.655	1.575	2.616	C5orf4	3.730	0.900	1.730
DNM3OS	22.054	3.599	2.615	CBX8	3.730	0.337	1.730
MOXD1	30.831	5.061	2.607	NHSL2	3.730	0.900	1.730
C3	53.104	8.773	2.598	SEMA6C	5.596	1.687	1.730
CLCA2	6.803	0.562	2.596	SERPINA5	3.730	0.450	1.730
CIT	20.298	3.374	2.589	UCP2	3.730	0.675	1.730
C2orf40	6.693	0.337	2.573	ZNF341	3.730	0.787	1.730
LDLRAD4	6.693	0.337	2.573	SNAI2	81.082	24.519	1.725
GOLGA8I	8.009	1.350	2.569	CPT1C	7.790	2.362	1.722
LUM	3.386.701	577.105	2.553	CD4	8.887	2.699	1.719
ADAM19	9.216	1.575	2.549	NCAPG	38.402	11.697	1.715
HIST1H2B H	9.216	1.575	2.549	YAE1D1	34.562	10.573	1.709
HLA- DRB1	6.583	0.225	2.549	LRRC37A3	8.448	2.587	1.707
SOBP	17.775	3.037	2.549	NUCB2	305.239	93.579	1.706
THBS2	404.205	69.172	2.547	SGOL2	23.809	7.311	1.703
ADARB1	183.999	31.718	2.536	AXIN2	4.389	1.350	1.701
KBTBD3	7.790	1.350	2.529	FAM134B	6.583	2.025	1.701
ADAMTS L4	29.844	5.174	2.528	NLRC5	25.565	7.873	1.699
APOL2	21.286	3.712	2.520	SLC38A4	86.898	26.769	1.699
SPON2	7.680	1.350	2.509	SGCD	39.060	12.035	1.698
ALOX15B	10.204	1.800	2.503	LOC10050638 5	8.009	2.474	1.695
IL27RA	6.364	0.450	2.500	HSD11B1	6.912	2.137	1.694
KCNK15	19.091	3.374	2.500	JPH2	4.718	1.462	1.690
RASL11B	6.364	0.787	2.500	ADAMTS14	3.621	0.000	1.687
CFB	12.069	2.137	2.498	C10orf55	3.621	0.112	1.687
CDCA3	8.887	1.575	2.497	CCDC170	3.621	1.125	1.687
CXorf69	8.887	1.575	2.497	CXCL6	3.621	0.787	1.687
CCL13	11.411	2.025	2.495	GDPGP1	3.621	0.675	1.687

RERG	11.411	2.025	2.495	ITGB6	3.621	1.012	1.687
KIF20A	17.006	3.037	2.485	LOC100131825	3.621	0.225	1.687
LFNG	8.778	1.575	2.479	MX2	3.621	0.787	1.687
COL12A1	8.245.175	1.487.921	2.470	TET1	3.621	0.112	1.687
CDC7	6.803	1.237	2.459	ZNF167	3.621	0.225	1.687
FAM83D	8.558	1.575	2.442	CDH4	9.765	3.037	1.685
NCAPH	9.765	1.800	2.440	ZKSCAN4	6.144	1.912	1.684
PILRB	21.834	4.049	2.431	SLC46A3	211.209	66.022	1.678
CH25H	6.035	1.012	2.424	ST5	19.420	6.074	1.677
FMO3	6.035	0.337	2.424	FBN1	1.744.754	546.062	1.676
NKD2	6.035	0.450	2.424	ARMCX2	49.922	15.634	1.675
RNF144A	6.035	0.337	2.424	LNX1	21.176	6.636	1.674
LURAP1L	123.324	23.170	2.412	HIST1H4A	28.308	8.885	1.672
CHRD1	17.775	3.374	2.397	LOC730101	10.752	3.374	1.672
SEC16B	5.925	0.900	2.397	P2RX6	5.376	1.687	1.672
PCOLCE	281.869	53.875	2.387	TMEM216	12.179	3.824	1.671
CCDC74B	5.815	0.787	2.370	IL16	20.408	6.411	1.670
C1QTNF6	13.934	2.699	2.368	LRRC6	6.803	2.137	1.670
TMEM119	83.606	16.196	2.368	PPFIA4	4.279	1.350	1.665
MTHFSD	6.364	1.237	2.363	RECQL5	14.263	4.499	1.665
ZNF441	6.364	1.237	2.363	HJURP	30.282	9.560	1.663
ACACB	12.069	2.362	2.353	TNFRSF21	31.709	10.010	1.663
SAA1	176.209	34.530	2.351	HIST1H2AJ	8.887	2.812	1.660
UHRF1	14.922	2.924	2.351	MKI67	43.010	13.609	1.660
BOC	5.705	1.012	2.343	ZNF438	7.461	2.362	1.659
CXCL13	5.705	0.225	2.343	BTN2A3P	4.608	1.462	1.656
SYNDIG1	5.705	0.675	2.343	KIAA1841	4.608	1.462	1.656
NUF2	10.204	2.025	2.333	MFAP2	133.528	42.515	1.651
CDO1	53.762	10.685	2.331	CDK1	74.499	23.732	1.650
ZNF793	7.900	1.575	2.327	RDH5	34.232	10.910	1.650
KIF20B	16.897	3.374	2.324	SERTAD4-AS1	19.420	6.186	1.650
EBF2	5.596	1.012	2.315	DKK3	226.570	72.321	1.647
RARB	5.596	0.337	2.315	ARHGAP44	3.511	0.900	1.642
BTN3A3	24.028	4.836	2.313	IFIH1	3.511	0.225	1.642
PDGFD	6.144	1.237	2.312	KLRC3	3.511	0.337	1.642
OAS3	13.386	2.699	2.310	NCALD	3.511	0.900	1.642
LOC100505875	7.241	1.462	2.308	PAPLN	3.511	1.125	1.642
CEP55	42.790	8.661	2.305	PNPLA4	8.778	2.812	1.642
LURAP1	10.533	2.137	2.301	SPRED3	3.511	1.125	1.642
SFRP2	19.311	3.937	2.294	TROAP	3.511	0.562	1.642
B3GALT2	28.527	5.849	2.286	FKBP2	14.702	4.724	1.638
KLRK1	5.486	0.562	2.286	MRPL55	16.458	5.286	1.638

REPS2	44.656	9.223	2.276	ZNF319	5.596	1.800	1.637
COL5A3	11.959	2.474	2.273	LIMD2	7.680	2.474	1.634
DNM1	5.376	0.675	2.257	ZNF682	3.840	1.237	1.634
SCD	98.308	20.583	2.256	KIAA0895L	9.765	3.149	1.633
LRRC8B	9.655	2.025	2.254	PGP	5.925	1.912	1.632
PCDH19	28.966	6.074	2.254	RAD52	11.850	3.824	1.632
FIBIN	60.784	12.822	2.245	VMO1	11.850	3.824	1.632
SKP2	23.370	4.949	2.239	UBE2C	61.223	19.795	1.629
BTN3A1	11.630	2.474	2.233	CROCCP3	4.169	1.350	1.627
APOE	98.308	20.920	2.232	PRR16	4.169	1.350	1.627
LEP	18.981	4.049	2.229	LRP1	2.159.602	699.477	1.626
DEPDC1B	5.267	1.125	2.227	PFAS	6.583	2.137	1.623
TACC3	18.872	4.049	2.221	PRIM1	6.583	2.137	1.623
PXMP4	10.862	2.362	2.201	FGFR1	4.498	1.462	1.621
FAM225A	20.627	4.499	2.197	PHLDB1	69.123	22.495	1.620
GIN1	5.157	1.125	2.197	WDR5B	20.737	6.748	1.620
GPR39	5.157	0.450	2.197	CCNB2	49.044	15.971	1.619
GXYLT2	5.157	1.012	2.197	PBK	25.894	8.436	1.618
TMEM106 A	15.470	3.374	2.197	MAGEH1	26.552	8.661	1.616
WISP2	5.157	0.787	2.197	NAGK	26.552	8.661	1.616
COL5A1	316.101	69.172	2.192	ZNF717	4.828	1.575	1.616
PLK1	36.427	7.986	2.190	SMOC2	51.678	16.871	1.615
HIST1H3G	21.505	4.724	2.187	SLFN12	9.984	3.262	1.614
TIMP3	2.672.320	589.590	2.180	TUT1	20.298	6.636	1.613
TMEM59L	22.931	5.061	2.180	ZNF471	22.712	7.423	1.613
COLEC12	5.047	0.675	2.166	RPGRIP1L	15.800	5.174	1.611
NCAM1	5.047	0.787	2.166	SYNC	122.337	40.041	1.611
TLL2	5.047	0.900	2.166	CDK10	27.759	9.110	1.607
UNC5C	17.665	3.937	2.166	HELLS	19.530	6.411	1.607
ZNF138	15.141	3.374	2.166	UPK3BL	25.016	8.211	1.607
C2orf68	8.558	1.912	2.162	ZNF689	5.815	1.912	1.605
CCNB1	56.396	12.597	2.162	DNAJB5	12.947	4.274	1.599
LOC64285 2	10.533	2.362	2.157	C3orf70	3.401	0.337	1.596
FIGNL1	8.009	1.800	2.154	CYP26A1	3.401	0.000	1.596
COL5A2	889.383	200.092	2.152	HOXA9	6.803	2.249	1.596
KRT16	5.486	1.237	2.149	PINLYP	3.401	1.012	1.596
CD14	17.445	3.937	2.148	SLC17A9	3.401	0.337	1.596
CLIC3	17.445	3.937	2.148	ST6GAL2	3.401	0.450	1.596
EVI2A	46.301	10.460	2.146	TRIM46	3.401	0.900	1.596
APOL1	38.073	8.661	2.136	ZNF668	3.401	0.787	1.596
CMAHP	23.699	5.399	2.134	GEMIN2	22.712	7.536	1.592
ESR1	4.937	0.787	2.134	OLFML3	937.440	311.441	1.590



EXO1	4.937	0.562	2.134	CASP8	4.060	1.350	1.589
OMD	279.674	63.773	2.133	ZNF418	4.060	1.350	1.589
AMACR	59.578	13.609	2.130	HIRIP3	12.508	4.162	1.588
RIPK3	6.364	1.462	2.122	ZNF439	4.389	1.462	1.586
KIF14	5.376	1.237	2.119	ZNF69	4.389	1.462	1.586
ESCO2	8.778	2.025	2.116	NMRK1	22.931	7.648	1.584
TTC30A	15.580	3.599	2.114	EMCN	5.047	1.687	1.581
CCDC102 B	6.803	1.575	2.111	CCDC110	5.376	1.800	1.579
HIST1H3F	6.803	1.575	2.111	HIST1H3C	72.195	24.182	1.578
TRIM6	6.803	1.575	2.111	HDHD3	5.705	1.912	1.577
HMCN1	83.935	19.458	2.109	DHCR24	172.588	57.924	1.575
LOC73127 5	18.433	4.274	2.109	CHURC1	6.693	2.249	1.573
PTGFRN	9.216	2.137	2.109	PRSS23	169.297	56.912	1.573
WDR27	9.216	2.137	2.109	RTKN	7.022	2.362	1.572
BIRC5	49.812	11.585	2.104	TAB1	28.417	9.560	1.572
FBLN2	4.828	0.225	2.102	HAS2	129.907	43.752	1.570
GALNTL1	4.828	0.000	2.102	PEX12	8.009	2.699	1.569
LAMP5	4.828	1.012	2.102	KIFC1	8.668	2.924	1.568
LOC65443 3	38.621	8.998	2.102	PARP9	8.668	2.924	1.568
PLK4	4.828	1.125	2.102	HOXB4	8.997	3.037	1.567
SAA2	4.828	0.337	2.102	KDEL3	517.765	175.910	1.557
SLC2A5	4.828	0.562	2.102	KIAA1199	671.262	228.323	1.556
XAF1	4.828	1.125	2.102	BCDIN3D	3.292	0.675	1.549
ZNF662	4.828	1.125	2.102	C6	3.292	0.225	1.549
S100A2	6.254	1.462	2.097	CA5B	18.433	6.299	1.549
FMOD	106.757	25.082	2.090	CCNA2	28.637	9.785	1.549
GLT8D2	131.444	30.930	2.087	HOXA1	3.292	0.900	1.549
TENM4	51.129	12.035	2.087	HTR7	5.267	1.800	1.549
EEPDI	10.972	2.587	2.085	KCNK2	8.558	2.924	1.549
PODNL1	121.569	28.681	2.084	L3MBTL2	4.279	1.462	1.549
RRN3P2	7.132	1.687	2.080	LDB2	4.279	1.462	1.549
MUC1	15.141	3.599	2.073	LOC595101	3.292	0.900	1.549
ZNF449	19.859	4.724	2.072	NHLRC1	3.292	0.787	1.549
ERCC6L	4.718	0.900	2.069	PDE11A	3.292	0.112	1.549
SSR4P1	4.718	0.675	2.069	RNF180	4.937	1.687	1.549
ZNF785	9.436	2.249	2.069	SAMD9	9.875	3.374	1.549
ZNF90	4.718	1.125	2.069	SCN2A	3.292	1.125	1.549
ADCK4	11.740	2.812	2.062	SMYD4	11.521	3.937	1.549
C1QTNF3	15.032	3.599	2.062	TASP1	5.267	1.800	1.549
PTK2B	181.256	43.415	2.062	NINJ2	27.869	9.560	1.544
TRIP13	22.492	5.399	2.059	ZNF436	27.540	9.448	1.543
PCDHGA1	5.596	1.350	2.052	KIF4A	24.138	8.323	1.536

1							
RASIP1	9.326	2.249	2.052	TUBG2	73.512	25.419	1.532
CKAP2	52.117	12.597	2.049	ACTG2	16.568	5.736	1.530
NEK2	22.273	5.399	2.045	C2orf44	7.790	2.699	1.529
DLGAP5	36.536	8.885	2.040	ZNF788	15.580	5.399	1.529
INSC	6.473	1.575	2.040	DYNC111	7.132	2.474	1.527
CRTAC1	4.608	0.000	2.035	NPL	6.144	2.137	1.524
EXTL1	4.608	0.787	2.035	ROR2	11.630	4.049	1.522
FRAS1	4.608	1.125	2.035	SLC27A3	5.815	2.025	1.522
ZNF578	4.608	0.450	2.035	ZBTB9	5.815	2.025	1.522
CDR1	9.746.352	2.392.214	2.027	MATN2	5.486	1.912	1.521
TOMM40L	8.229	2.025	2.023	IQGAP3	21.286	7.423	1.520
NUDT18	5.925	1.462	2.019	FJX1	20.298	7.086	1.518
ZNF491	11.850	2.924	2.019	C11orf75	39.279	13.722	1.517
MFAP5	505.696	124.959	2.017	ZNF569	14.483	5.061	1.517
GUCY1B3	6.803	1.687	2.012	CDKN3	53.324	18.671	1.514
TMEM150 C	8.119	2.025	2.004	RBM43	13.166	4.611	1.514
IFIT1	12.618	3.149	2.002	MRP63	4.169	1.462	1.512
SNED1	225.692	56.350	2.002	ZBTB20	4.169	1.462	1.512
FANCL	13.057	3.262	2.001	PML	51.897	18.221	1.510
ANKRD35	4.498	0.900	2.000	KIF22	3.840	1.350	1.509
CHST6	4.498	0.000	2.000	TRAF1	3.840	1.350	1.509
CYP27C1	4.498	1.012	2.000	NCAPD2	82.180	28.906	1.507
INHBB	4.498	0.112	2.000	STIL	24.248	8.548	1.504
POLE2	4.498	1.125	2.000	COL6A3	1.011.940	356.993	1.503
PSRC1	4.498	0.450	2.000	FHL3	44.327	15.634	1.503
ZNF85	4.498	1.125	2.000	CACNB2	3.182	0.900	1.500
ASPM	75.926	19.008	1.998	HVCN1	3.182	1.012	1.500
CRISPLD1	65.502	16.421	1.996	MMP24	3.182	0.787	1.500
LOC10050 6844	21.066	5.286	1.995	PRG4	3.182	0.000	1.500
PAMR1	10.752	2.699	1.994	ZNF133	3.182	0.450	1.500
ZNF30	5.376	1.350	1.994	ZNF323	3.182	1.012	1.500
SLIT3	71.537	17.996	1.991	ZNF596	3.182	1.125	1.500

SD-3 ve DBA-3 kodlu bireylerin osteojenik farklılaşmaya tabi tutulmuş MKH'lerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında log<sub>2</sub>1.5 kat üzeri ifadesi azalan gen listesi.

Gen Adı	Osteo DBA-3	Osteo SD-3	log <sub>2</sub> (DER)	Gen Adı	Osteo DBA-3	Osteo SD-3	log <sub>2</sub> (DER)
NR4A2	0.878	259.028	-7.883	GATA6	0.658	4.499	-2.036
IL6	0.549	204.928	-7.545	GOLGA6L1 0	1.865	7.648	-2.036

NR4A3	0.658	171.186	-7.286	RXFP1	1.207	4.949	-2.036
GPRC5A	1.097	146.329	-7.059	ZNF703	1.426	5.849	-2.036
PTGS2	2.853	291.196	-6.674	ABL2	62.430	254.304	-2.026
NR4A1	0.329	89.080	-6.343	CABLES1	10.862	44.202	-2.025
IL8	7.132	520.306	-6.189	MST4	5.157	20.920	-2.020
FOSB	0.549	78.732	-6.165	BMPRI1B	14.154	57.249	-2.016
HLA-C	2.194	157.014	-6.161	IFNE	9.875	39.816	-2.012
PDK4	20.188	1.129.803	-5.806	SLC7A2	6.693	26.769	-2.000
FAM129A	2.633	106.401	-5.337	DISP2	0.768	4.386	-1.999
TAC1	5.705	228.435	-5.323	FABP4	0.658	4.386	-1.999
PSMB6	0.000	42.065	-5.261	IL11	0.987	4.386	-1.999
ATF3	0.768	41.503	-5.241	KRT8P41	1.097	4.386	-1.999
RRAGD	0.768	27.556	-4.650	OR11H12	0.658	4.386	-1.999
PDE4D	1.097	25.307	-4.528	C9orf72	4.279	17.096	-1.998
ASNS	8.339	172.535	-4.371	ZRANB1	45.643	180.071	-1.980
CXCL3	0.219	22.495	-4.358	HDAC5	21.505	84.356	-1.972
EREG	0.329	21.708	-4.306	ACTR3BP2	0.439	4.274	-1.962
MEDAG	34.342	672.933	-4.292	HP	0.000	4.274	-1.962
IFNA1	0.987	21.258	-4.276	NEB	0.768	4.274	-1.962
C17orf58	1.207	22.270	-4.206	OR2K2	0.219	4.274	-1.962
C2orf66	0.768	20.133	-4.198	USP17L5	0.219	4.274	-1.962
AREG	0.658	19.908	-4.181	ART3	4.937	19.008	-1.945
CTH	1.646	29.131	-4.146	FHIT	1.317	5.061	-1.943
CXCL2	1.207	20.583	-4.092	IL7R	2.194	8.436	-1.943
SLC16A6	1.646	27.781	-4.077	PHLDA1	90.299	346.196	-1.939
JARID2	6.803	111.799	-4.039	ARID3B	4.279	16.309	-1.930
BIRC3	1.865	29.356	-3.976	ABTB2	4.498	17.096	-1.926
IER3	11.191	175.010	-3.967	NQO1	158.215	600.275	-1.924
C7orf63	2.633	40.266	-3.935	GPR183	0.439	4.162	-1.923
STC1	26.003	395.234	-3.926	HES4	0.549	4.162	-1.923
TRIB1	3.840	58.149	-3.921	IPMK	0.878	4.162	-1.923
C11orf96	4.828	72.208	-3.903	LINC00161	0.000	4.162	-1.923
KRTAP1-5	31.380	459.795	-3.873	RASGEF1B	1.097	4.162	-1.923
ID4	1.317	19.008	-3.852	SPATA31C 1	1.097	4.162	-1.923
BDKRB1	0.878	15.296	-3.801	SDC4	61.114	231.359	-1.921
SMOX	6.912	95.828	-3.793	TCP11L2	15.580	58.824	-1.917
RPL21P44	2.962	40.491	-3.773	ZHX2	7.680	28.793	-1.906
CHRM3	1.097	14.734	-3.747	OR4F21	1.865	6.973	-1.903
KCNJ2	1.317	17.658	-3.745	VEGFA	22.492	83.906	-1.899
LINC00622	0.878	14.509	-3.725	MAFK	8.448	31.380	-1.893
SLC2A3	58.041	737.493	-3.667	HBP1	119.813	444.386	-1.891

SNHG5	57.932	730.632	-3.657	SCUBE3	26.771	99.315	-1.891
SERPINB2	0.329	13.834	-3.656	SOX9	5.815	21.483	-1.885
KCNG1	1.097	13.609	-3.633	ATOH7	0.000	4.049	-1.884
BMP6	34.342	424.928	-3.629	LOC100188 947	0.987	4.049	-1.884
PRDM1	4.279	52.188	-3.608	LRRC4	0.549	4.049	-1.884
PSAT1	39.828	482.739	-3.599	NPC1	53.433	197.280	-1.884
SLC7A5	8.448	101.902	-3.592	RGMB	20.408	75.133	-1.880
NEFM	0.110	12.935	-3.559	CADPS2	1.317	4.836	-1.877
KDR	0.219	12.822	-3.547	JUNB	41.913	153.190	-1.870
DUSP5	9.436	110.112	-3.545	SNORA64	70.988	258.241	-1.863
GSTM1	0.000	12.710	-3.534	ATP13A3	104.672	379.488	-1.858
FOS	11.411	129.570	-3.505	CRY1	6.912	24.969	-1.853
PSMD5	0.329	11.810	-3.428	ECI1	7.351	26.431	-1.846
EGR3	1.756	18.783	-3.419	ACRC	1.536	5.511	-1.843
BMP2	1.646	17.209	-3.386	ATP1B3	81.850	293.558	-1.843
SHOX	6.144	63.885	-3.378	EIF2AK3	12.727	45.665	-1.843
AGT	3.072	31.493	-3.358	HCN2	1.097	3.937	-1.843
CHMP1B	92.054	933.986	-3.343	LOC100506 083	0.658	3.937	-1.843
SLC7A11	9.436	95.603	-3.341	LONRF3	0.329	3.937	-1.843
KBTBD8	1.426	14.284	-3.324	P2RX5	0.658	3.937	-1.843
MYPN	5.705	56.125	-3.298	SOCS2	0.658	3.937	-1.843
REL	12.947	125.634	-3.279	USP2	0.439	3.937	-1.843
VCL	0.658	10.460	-3.253	DOT1L	11.082	39.703	-1.841
WSB1	15.690	146.891	-3.227	LOC650623	3.401	12.147	-1.836
FHL2	91.177	842.769	-3.208	SIRT1	16.787	59.949	-1.836
TTR	0.329	9.898	-3.173	MTHFD2	53.982	192.443	-1.834
KLHL24	12.289	105.726	-3.105	C2CD2	18.433	65.460	-1.828
EPHA5	1.536	13.159	-3.099	LOC646329	7.132	25.307	-1.827
AVP11	17.006	144.192	-3.084	NUPR1	120.801	428.189	-1.826
PLIN2	68.355	575.418	-3.073	FGF5	17.555	62.086	-1.822
HMOX1	28.527	239.907	-3.072	CNST	7.680	27.106	-1.819
NRARP	0.000	8.998	-3.036	HS3ST2	1.756	6.186	-1.817
SLC38A1	7.900	64.673	-3.033	GSTM4	3.072	10.798	-1.813
ULBP1	0.878	8.773	-2.999	ZNF697	3.072	10.798	-1.813
DMRTA1	1.207	9.560	-2.986	PLK2	72.085	252.730	-1.810
KLRD1	1.097	8.661	-2.981	PITPNC1	14.702	51.513	-1.809
KRT34	0.987	8.661	-2.981	DYRK3	18.433	64.448	-1.806
DUSP10	21.286	165.337	-2.957	SH3RF1	15.909	55.562	-1.804
HBEGF	15.361	118.098	-2.943	HSPB7	55.189	192.556	-1.803
CCL20	1.097	8.323	-2.923	FNBP4	24.028	83.793	-1.802
TRIB3	7.900	59.836	-2.921	WTAP	12.837	44.765	-1.802

PORCN	34.452	256.666	-2.897	CPXM2	0.219	3.824	-1.801
HDAC9	0.000	8.098	-2.884	LINC00547	0.987	3.824	-1.801
SIPA1L2	1.097	8.098	-2.884	MCOLN2	0.987	3.824	-1.801
CEACAM1 9	2.524	18.558	-2.879	N4BP2L1	0.549	3.824	-1.801
CLCF1	9.436	67.934	-2.848	ASB5	1.207	4.162	-1.786
PCK2	4.608	33.067	-2.843	YOD1	10.533	36.329	-1.786
DACT1	14.154	101.339	-2.840	TYW1B	3.401	11.697	-1.782
BEX1	2.743	19.121	-2.801	CDKN2A	2.194	7.536	-1.780
RPSAP52	0.768	7.648	-2.801	DNMBP	20.847	71.309	-1.774
CPED1	7.241	50.276	-2.796	GAN	11.630	39.703	-1.771
PHGDH	13.166	90.767	-2.785	SNTB1	29.624	100.889	-1.768
DLC1	58.261	400.521	-2.781	TRIM16L	2.743	9.335	-1.767
IFNA13	0.219	7.536	-2.780	ST3GAL1	7.241	24.632	-1.766
LIF	5.157	35.317	-2.776	EYA4	6.254	21.258	-1.765
SIK1	14.483	98.302	-2.763	NUDT14	1.756	5.961	-1.764
RNF152	0.987	7.423	-2.758	TRPC6	1.756	5.961	-1.764
EID3	10.204	68.384	-2.745	FN3K	2.853	9.673	-1.762
GEM	6.473	43.190	-2.738	RAET1K	1.426	4.836	-1.762
MCOLN3	0.768	7.311	-2.736	HLA-B	0.658	3.712	-1.758
DIRC2	13.715	89.417	-2.705	RPS6KA5	0.219	3.712	-1.758
TRPC4	0.987	7.086	-2.691	ST6GALNA C2	1.097	3.712	-1.758
PFKFB3	3.730	24.069	-2.690	VSNL1	0.987	3.712	-1.758
CHAC1	1.207	7.761	-2.685	ZNF599	0.768	3.712	-1.758
CSRNP1	3.840	24.407	-2.668	HERC4	116.851	394.784	-1.756
IRAK2	1.097	6.973	-2.668	KDM3A	22.712	76.595	-1.754
ACVR1C	0.219	6.861	-2.645	AK5	8.558	28.793	-1.750
C20orf26	1.207	7.536	-2.642	NCOA7	15.470	51.851	-1.745
ERRFI1	1.756	10.910	-2.636	CRTAM	2.194	7.311	-1.736
REXO1L1	0.658	6.748	-2.621	FLJ42627	9.655	32.168	-1.736
FOXC1	10.423	63.211	-2.600	CHIC2	43.449	144.079	-1.729
NGEF	0.768	6.636	-2.596	PRKCE	3.292	10.910	-1.729
PPP1R15A	7.680	45.665	-2.572	FBXL20	10.643	34.979	-1.717
STARD10	1.097	6.524	-2.572	FLJ36000	0.878	3.599	-1.714
WNT2B	1.097	6.524	-2.572	PCDHB2	0.987	3.599	-1.714
GREM1	1.426	8.436	-2.564	SLC16A14	1.097	3.599	-1.714
ETS2	3.511	20.695	-2.559	SLC7A8	8.997	29.468	-1.712
TNFAIP3	22.054	129.795	-2.557	OTUD1	2.853	9.335	-1.710
ITGB8	5.157	30.256	-2.553	PCDH10	7.022	22.945	-1.708
FLNC	26.881	156.452	-2.541	SLC12A7	1.756	5.736	-1.708
SPHK1	24.906	144.529	-2.537	PCDH7	2.414	7.873	-1.706
ITPRIP	1.865	10.798	-2.533	FLJ43663	40.596	131.932	-1.700

AQP7P1	0.878	6.299	-2.521	GLCCII	11.630	37.791	-1.700
NAMPT	94.468	538.077	-2.510	PVR	31.489	102.239	-1.699
EGR1	18.433	104.826	-2.508	ANKRD37	8.778	28.456	-1.697
MCTP1	3.621	20.583	-2.507	PPTC7	36.756	119.110	-1.696
SIM2	1.426	8.098	-2.505	SOX4	5.376	17.321	-1.688
MIR22HG	5.596	31.718	-2.503	RBBP6	13.386	43.078	-1.686
FMN2	4.169	23.620	-2.502	SQSTM1	351.211	1.127.441	-1.683
CYFIP2	0.219	6.186	-2.495	ATOX1A	3.511	11.247	-1.680
DPYSL4	0.987	6.186	-2.495	ZBTB10	6.144	19.683	-1.680
PARM1	0.549	6.186	-2.495	SLC20A2	19.530	62.423	-1.676
C9	0.110	6.074	-2.469	ZSWIM6	13.276	42.290	-1.672
GABBR2	0.658	6.074	-2.469	ZNF295	20.298	64.560	-1.669
KBTBD10	0.878	6.074	-2.469	AQP7	0.878	3.487	-1.668
LOC286367	0.878	6.074	-2.469	FOXP2	0.878	3.487	-1.668
OR11H2	0.987	6.074	-2.469	HSPB3	0.219	3.487	-1.668
SLC3A2	43.120	235.746	-2.451	PAPPA2	1.097	3.487	-1.668
ADAMTS5	2.304	12.485	-2.438	POTED	0.658	3.487	-1.668
BTG1	162.933	882.698	-2.438	LRRN3	6.693	21.145	-1.660
SNORA5C	9.107	49.151	-2.432	NHS	8.448	26.656	-1.658
CSDAP1	2.304	12.372	-2.425	MTSS1	24.797	78.057	-1.654
KLF4	14.702	78.395	-2.415	PHLPP1	1.646	5.174	-1.652
C2CD4A	0.000	5.849	-2.414	WARS	72.963	228.660	-1.648
HIVEP2	8.778	46.789	-2.414	RNASET2	8.448	26.431	-1.646
DENND3	1.646	8.661	-2.396	ID2	25.565	79.857	-1.643
FOXQ1	0.768	5.736	-2.386	AMIGO2	3.401	10.573	-1.636
ADAMTS1	67.148	350.807	-2.385	MAP2K3	25.565	79.294	-1.633
CEBPB	1.865	9.673	-2.375	IGFBP1	6.693	20.695	-1.629
ITGA9	1.975	10.123	-2.358	NFKBIZ	58.700	181.083	-1.625
OR5J2	1.756	8.998	-2.358	DCBLD2	79.327	244.519	-1.624
SLC13A4	0.000	5.624	-2.358	FST	67.697	208.415	-1.622
TSLP	0.110	5.624	-2.358	ACTC1	2.853	8.773	-1.621
FGD4	36.975	189.294	-2.356	C3orf52	2.743	8.436	-1.621
OVGP1	2.414	12.260	-2.345	FAM57A	5.815	17.883	-1.621
LRRC2	4.389	22.270	-2.343	KDM6B	7.351	22.607	-1.621
PIEZO2	3.621	18.333	-2.340	MAP2	0.878	3.374	-1.621
DKK1	205.065	1.037.687	-2.339	RNF128	3.621	11.135	-1.621
LOC644172	0.110	5.511	-2.329	SLC22A3	1.097	3.374	-1.621
STX3	5.815	28.793	-2.308	TMEM180	0.878	3.374	-1.621
MMP15	11.630	57.362	-2.302	PDLIM5	467.184	1.434.271	-1.618
CCND2	6.693	32.955	-2.300	LBH	28.198	86.493	-1.617
SECTM1	0.439	5.399	-2.299	CARS	2.962	8.998	-1.603

TMEM236	0.549	5.399	-2.299	TFPI	114.986	348.670	-1.600
ZNF517	1.536	7.536	-2.295	VEGFC	42.461	128.333	-1.596
AKAP12	22.054	107.300	-2.283	AP1S3	1.756	5.286	-1.590
DIEXF	29.514	143.292	-2.279	ZDBF2	19.859	59.724	-1.589
DOK5	1.207	5.849	-2.277	JHDM1D	27.540	82.669	-1.586
KIRREL3	1.756	8.436	-2.265	PRMT10	7.461	22.382	-1.585
SLC39A10	1.975	9.448	-2.258	KRTAP2-3	4.389	13.159	-1.584
PIM3	6.693	31.943	-2.255	RMND5A	37.305	111.799	-1.583
PPARGC1A	7.351	34.979	-2.250	KLF15	1.317	3.937	-1.580
DHRS3	11.082	52.301	-2.239	SNORA28	87.336	261.165	-1.580
SST	0.000	5.174	-2.237	CD83	1.207	3.599	-1.576
CCDC74A	1.317	6.186	-2.232	IGF2BP3	2.304	6.861	-1.574
GDF15	3.072	14.397	-2.228	BAMBI	11.082	32.955	-1.572
ASPHD1	1.756	8.211	-2.226	TESK2	0.878	3.262	-1.572
HIST3H3	1.207	5.624	-2.220	LOC100506 451	8.229	24.407	-1.569
PGAP1	17.336	80.644	-2.218	RASA2	30.392	90.092	-1.568
FAM83G	3.950	18.333	-2.215	PEG10	2.962	8.773	-1.566
PKIB	0.987	5.061	-2.206	RND3	198.043	585.878	-1.565
PTHLH	0.549	5.061	-2.206	HCLS1	1.865	5.511	-1.563
TEKT4P2	0.110	5.061	-2.206	CHKA	2.633	7.761	-1.559
USP17L6P	0.658	5.061	-2.206	DUSP1	394.221	1.161.746	-1.559
SLC39A4	2.524	11.585	-2.199	MGC57346	2.633	7.761	-1.559
ABCA1	19.859	90.992	-2.196	AMOTL2	92.384	271.738	-1.557
ATXN7	1.426	6.524	-2.193	C19orf26	1.646	4.836	-1.555
ERO1LB	1.317	5.961	-2.179	DOCK4	8.448	24.744	-1.550
SNRK	5.267	23.845	-2.179	SERPINB9	3.072	8.998	-1.550
A2M	10.533	47.577	-2.175	DUSP4	11.521	33.630	-1.546
MSC	2.194	9.898	-2.173	SESN2	31.928	93.241	-1.546
ZCCHC2	10.204	45.777	-2.166	NFIB	4.279	12.485	-1.545
TGIF1	2.633	11.810	-2.165	RELB	8.558	24.969	-1.545
SPRY2	33.793	151.165	-2.161	GABARAP L1	71.647	208.752	-1.543
MARK1	3.182	14.172	-2.155	ZNF331	16.129	46.902	-1.540
NPAS1	3.511	15.634	-2.155	EDN1	8.668	25.082	-1.533
CALB2	1.975	8.773	-2.151	KLF9	54.969	159.039	-1.533
PTP4A1	103.575	459.907	-2.151	MAP3K2	29.514	85.368	-1.532
CPEB4	27.759	123.047	-2.148	PCED1B	1.207	3.487	-1.531
BACH2	0.439	4.836	-2.140	TGFB2	54.640	157.801	-1.530
MUC13	0.000	4.836	-2.140	SSFA2	79.656	229.785	-1.528
C3orf35	1.207	5.286	-2.131	USP32P2	2.304	6.636	-1.526
SDCBP2	1.207	5.286	-2.131	CRYAB	545.085	1.567.891	-1.524
LOC100507	3.292	14.397	-2.129	C2CD4B	0.110	3.149	-1.521

632							
CHD1	23.041	100.552	-2.126	CLDN15	1.646	4.724	-1.521
RASSF8	66.161	284.335	-2.104	FNDC7	0.000	3.149	-1.521
SNORA55	7.351	31.605	-2.104	FOLR4	0.549	3.149	-1.521
KLF5	15.361	65.797	-2.099	IL17B	0.110	3.149	-1.521
ARRDC3	7.461	31.830	-2.093	LEAP2	0.658	3.149	-1.521
MICA	10.752	45.889	-2.093	OPLAH	1.097	3.149	-1.521
CREBRF	56.835	241.595	-2.088	OR13C5	0.000	3.149	-1.521
MFHAS1	4.279	18.108	-2.081	PIP5K1P1	0.658	3.149	-1.521
TLE3	11.521	48.476	-2.073	PROX1	0.768	3.149	-1.521
AGBL3	1.097	4.611	-2.071	SAMD11	0.768	3.149	-1.521
EGFL7	0.878	4.611	-2.071	SEMA3F	6.912	19.795	-1.518
GABPB1- AS1	1.097	4.611	-2.071	LATS2	20.737	59.274	-1.515
LOC339807	0.000	4.611	-2.071	RAPGEF2	9.875	28.231	-1.515
MIR548I1	1.097	4.611	-2.071	LMBR1L	15.251	43.528	-1.513
OR5D14	0.878	4.611	-2.071	ATE1	3.511	10.010	-1.512
EFHD1	15.141	63.323	-2.064	ZC3H12C	20.956	59.724	-1.511
ANGPTL4	20.188	84.243	-2.061	PELI2	8.448	24.069	-1.510
UGCG	18.433	76.482	-2.053	CPT1A	18.323	51.963	-1.504
VLDLR	6.144	25.307	-2.042	DND1	4.608	13.047	-1.501
NTN4	65.941	271.400	-2.041	FBXO33	20.737	58.712	-1.501
ABCC2	0.329	4.499	-2.036				



SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonilerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 1.5$  üzeri artan gen listesi.

Gene	CFUe DBA-2	CFUe SD-2	$\log_2$ (DER)	Gene	CFUe DBA-2	CFUe SD-2	$\log_2$ (DER)
FAM21C	87.559	1.354	5.863	RIC8A	185.613	51.615	1.846
EREG	53.723	1.204	5.158	AMPD2	5.386	1.204	1.840
RASD1	1.377.186	56.882	4.598	PSMD5	5.386	0.301	1.840
WDR67	35.493	0.000	4.560	CARD6	40.327	11.286	1.837
SLC44A1	231.326	10.233	4.499	C1orf63	519.966	145.667	1.836
TPSB2	44.056	2.408	4.194	TIMP1	126.090	35.363	1.834
IL9R	28.450	1.806	3.978	CHKA	5.248	1.354	1.802
PRRG4	178.984	11.437	3.968	MARCKSL1	7.872	2.257	1.802
PLD6	336.286	23.626	3.831	PPP1R18	5.248	0.602	1.802
SLC2A3	103.993	9.029	3.526	CACNA1I	15.192	4.364	1.800
FLJ35024	16.435	0.752	3.449	LOC100506134	12.568	3.612	1.799
VLDLR	16.020	0.000	3.412	LSM5	12.015	3.461	1.796
AHI1	209.920	20.315	3.369	OR2AT4	57.728	16.704	1.789
EDNRB	15.330	1.505	3.349	FLCN	337.115	98.867	1.770
SLC5A3	583.771	60.343	3.274	LOC729737	60.490	17.757	1.768
NDRG2	59.385	6.320	3.232	CBWD1	24.030	7.073	1.765
DDX43	14.639	1.655	3.145	FRRS1L	5.110	0.903	1.764
MRPS6	483.645	56.882	3.088	UBE2Q2	14.225	4.214	1.755
SIRT3	162.964	20.616	2.983	DNM1P46	10.082	3.010	1.744
PRG2	1.551.751	203.452	2.931	CD52	26.516	7.976	1.733
MIPEP	79.134	10.534	2.909	GULP1	86.730	26.184	1.728
CDK2AP1	16.435	2.257	2.864	GNA15	4.972	1.354	1.724
EPB41L2	11.877	1.655	2.843	LZTS2	4.972	0.903	1.724
UCA1	16.158	2.408	2.747	ERI1	325.928	99.168	1.717
CBR1	10.082	0.150	2.744	PMCH	18.230	5.568	1.711
PNLIPRP3	22.649	3.461	2.710	OR4N4	14.225	4.364	1.705
PDE4DIP	21.406	3.311	2.693	TNFAIP3	35.769	10.985	1.703
OR52B4	9.391	0.000	2.642	LRRC16A	5.386	1.655	1.702
NEO1	29.969	4.815	2.638	WIPF1	5.386	1.655	1.702
NAP1L5	202.739	32.956	2.621	FAM53B	118.494	36.718	1.690
COL1A1	8.563	1.505	2.508	C1orf98	4.834	1.505	1.684
EMILIN2	11.877	2.107	2.495	CD83	4.834	1.505	1.684
CAB39L	140.867	25.431	2.470	FAM73A	5.800	1.806	1.684
SFMBT2	8.286	0.752	2.461	FZD7	12.568	3.913	1.684
LOC654433	8.010	1.354	2.412	KCNJ13	4.834	0.150	1.684
GAS7	20.025	3.913	2.356	TPTE2P3	4.834	1.204	1.684
S100A11	63.114	12.941	2.286	IER3	80.101	24.980	1.681
PXN-AS1	8.701	1.806	2.268	SCD	107.998	33.708	1.680

LOC257358	7.181	1.505	2.255	CAPN12	23.478	7.374	1.671
PAK6	7.043	1.505	2.227	TJP2	33.283	10.534	1.660
TAGLN	7.043	0.752	2.227	DHTKD1	16.158	5.116	1.659
HSPA7	6.905	0.000	2.198	PLTP	18.506	5.869	1.657
LGALS7B	6.905	0.150	2.198	WDR41	16.987	5.417	1.649
UPK3B	6.905	1.053	2.198	EPHB4	8.010	2.558	1.647
PARD6B	206.191	44.994	2.196	RSPH9	9.391	3.010	1.642
S100A2	9.529	2.107	2.177	THBS1	4.696	0.451	1.642
RPS6KL1	6.629	1.053	2.139	GADD45B	76.925	24.679	1.640
ATP1B1	15.192	3.461	2.134	RFC1	111.313	35.815	1.636
VIM	23.616	5.417	2.124	SETDB2	64.495	20.767	1.635
TBC1D10A	12.291	2.859	2.104	CHD6	14.915	4.815	1.631
FAM216A	8.977	2.107	2.091	LEPR	30.936	10.082	1.617
RERE	153.711	36.116	2.090	SLC38A10	16.158	5.267	1.617
CETN1	6.353	1.053	2.078	SCG5	9.667	3.160	1.613
ETS2	60.628	14.446	2.069	PCDHB8	14.639	4.815	1.604
MTRR	36.598	8.728	2.068	ABCA9	4.557	0.602	1.599
FGD6	23.892	5.718	2.063	FN1	4.557	0.301	1.599
UGT2A2	8.010	1.956	2.034	LYN	4.557	1.505	1.599
TSPAN33	6.077	1.354	2.014	NAT14	4.557	1.204	1.599
LOC730101	82.725	21.218	1.963	DPY19L2P1	4.557	1.354	1.599
SOGA2	23.892	6.170	1.953	SVIP	208.953	69.071	1.597
DPY19L2	13.396	3.461	1.953	ARL17A	12.706	4.214	1.592
CCNB3	5.800	0.602	1.947	VIL1	27.069	9.029	1.584
AGAP1	70.710	18.359	1.945	FAM129B	9.391	3.160	1.571
BEX1	24.307	6.320	1.943	TANC1	44.884	15.199	1.562
CELF3	18.920	4.966	1.930	RRH	4.419	1.505	1.554
FXYD5	9.115	2.408	1.921	WWOX	4.419	1.204	1.554
ZNF84	19.887	5.267	1.917	TTC28	11.463	3.913	1.551
FAM157B	27.759	7.374	1.913	ZBTB41	13.672	4.665	1.551
NT5C3L	5.662	0.000	1.912	HIST4H4	4.834	1.655	1.546
LIMA1	6.215	1.655	1.909	NAGK	5.662	1.956	1.533
PIK3R3	38.393	10.233	1.908	ZNF814	16.987	5.869	1.533
SRD5A3	11.048	3.010	1.876	IMPG2	9.115	3.160	1.528
RNF144A-AS1	31.902	8.728	1.870	NT5M	34.526	12.039	1.520
MTSS1	22.511	6.170	1.867	LOC93622	7.320	2.558	1.517
SMAD5	8.701	2.408	1.853	CDC42BPG	4.281	0.752	1.508
GNG8	7.596	2.107	1.850	MMRN1	5.110	1.806	1.501

SD-2 ve DBA-2 kodlu bireylerin eritroid seriye farklılaşmış kolonilerinin transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 1.5$  üzeri azalan gen listesi.

Gene	CFUe DBA-2	CFUe SD-2	$\log_2$ (DER)	Gene	CFUe DBA-2	CFUe SD-2	$\log_2$ (DER)
HLA-C	1.933	160.565	-6.376	SYNE1	0.276	4.665	-1.756
LOC100134868	2.900	134.230	-5.532	OR2W3	18.092	60.795	-1.749
GSTT1	0.000	17.606	-3.672	GTF2H5	1.657	5.568	-1.748
ZNF215	1.519	17.606	-3.535	MARCH2	33.421	112.109	-1.746
OR2T11	0.000	15.048	-3.446	LOC100506804	1.933	6.471	-1.743
OR2T10	0.000	12.791	-3.211	SGIP1	2.210	7.374	-1.739
LIPH	1.381	12.490	-3.177	ZNF746	7.458	24.529	-1.718
PIK3IP1	0.691	12.340	-3.159	C6orf225	1.105	4.514	-1.709
KLC3	4.281	38.222	-3.158	LRRC73	1.795	5.869	-1.709
ITLN1	9.115	78.100	-3.099	SAMD12	0.414	4.514	-1.709
RGPD1	0.000	11.136	-3.011	ZNF607	1.243	4.514	-1.709
SFRP2	5.248	39.426	-2.909	ZNF783	0.967	4.514	-1.709
NLN	1.381	10.082	-2.868	FPGT	0.691	4.514	-1.709
GLIPR2	1.657	11.738	-2.824	SERF1A	1.657	5.417	-1.709
SLC28A3	2.900	20.466	-2.819	SIN3B	5.662	18.359	-1.697
MTVR2	0.000	9.330	-2.756	MBP	3.315	10.684	-1.689
OR8G1	0.000	9.179	-2.733	ZNF429	1.933	6.170	-1.674
AKAP13	0.967	9.029	-2.709	C2CD2	1.657	5.267	-1.668
GPR146	14.639	92.848	-2.665	MACC1	14.501	46.048	-1.667
TXK	1.381	8.277	-2.583	GTSF1L	1.519	4.815	-1.664
CD99	1.105	8.126	-2.557	C17orf97	1.381	4.364	-1.660
A4GALT	3.176	18.058	-2.507	ITPR3	0.552	4.364	-1.660
ATP10D	1.105	7.675	-2.474	MED17	6.767	21.368	-1.659
GOLM1	0.276	7.223	-2.387	SH3GLB2	34.388	108.498	-1.658
ACSM3	20.854	106.240	-2.349	NEK4	5.939	18.660	-1.652
TENM1	2.210	11.136	-2.333	ZNF532	15.606	49.057	-1.652
IRAK2	0.552	6.922	-2.325	SLC38A7	2.348	7.374	-1.651
WASH5P	1.105	6.922	-2.325	URB2	4.557	14.296	-1.649
OSGIN1	1.519	7.524	-2.308	FKBPL	2.762	8.577	-1.635
IDS	12.291	60.193	-2.292	PSMB6	67.119	208.267	-1.634
PLK1S1	7.596	37.169	-2.291	C9orf72	3.176	9.781	-1.623
ASL	1.657	7.976	-2.267	PI4KAP2	22.925	70.576	-1.622
CR1	6.215	29.495	-2.247	RPIA	37.841	116.323	-1.620
PLCL2	5.524	26.033	-2.237	BAIAP2L2	1.519	4.665	-1.619
CMBL	0.552	6.320	-2.194	ARAP2	9.805	30.096	-1.618
SOSTDC1	0.552	6.320	-2.194	TBC1D3F	11.739	35.965	-1.615
DPCD	10.082	46.048	-2.191	UFL1	7.043	21.519	-1.611
BZW2	68.776	313.454	-2.188	GOLGA6L10	0.414	4.214	-1.609

SLC2A4	8.563	38.674	-2.175	MUC20	0.829	4.214	-1.609
PI4KAP1	11.601	52.368	-2.174	DPH1	8.148	24.830	-1.608
CPED1	0.000	6.170	-2.159	FBXL4	4.557	13.694	-1.587
PTCD2	1.381	6.170	-2.159	APLNR	10.496	31.451	-1.583
ZNF138	0.967	6.170	-2.159	KRTAP5-11	2.210	6.621	-1.583
GHRLOS	1.933	8.577	-2.149	ZNF212	1.657	4.966	-1.583
PLS3	0.691	6.019	-2.124	ZNF514	1.657	4.966	-1.583
TYRO3	0.414	6.019	-2.124	ZNF187	7.458	22.271	-1.578
CCDC169	1.243	6.019	-2.124	SEPT8	5.110	15.199	-1.573
RANBP17	3.867	16.252	-2.071	CRYGS	4.972	14.747	-1.569
MTM1	1.657	6.922	-2.062	CAMKMT	0.691	4.063	-1.557
SNAI2	1.105	5.718	-2.050	GALNT7	1.105	4.063	-1.557
CLIP3	1.243	5.568	-2.011	PDE4D	0.414	4.063	-1.557
SDC4P	4.005	16.102	-2.007	PSAPL1	1.105	4.063	-1.557
CTIF	5.248	20.917	-1.995	SNURF	1.243	4.063	-1.557
EPSTI1	10.082	40.028	-1.989	CLDN4	1.795	5.267	-1.553
ERCC2	2.486	9.781	-1.976	ZNF566	3.591	10.534	-1.553
BCAM	0.691	5.417	-1.972	MIB1	12.015	35.062	-1.545
HEPACAM 2	26.931	104.886	-1.962	RNF167	45.575	132.876	-1.544
RALGPS2	1.519	5.869	-1.950	ACRBP	1.657	4.815	-1.539
KCNK1	0.414	5.267	-1.931	ITM2A	2.072	6.019	-1.539
MNT	0.552	5.267	-1.931	ATXN7	2.762	7.976	-1.530
ABCB7	19.473	73.586	-1.918	OR2T12	2.762	7.976	-1.530
AAK1	6.215	23.475	-1.917	FAM138D	2.348	6.772	-1.528
ACSF3	3.176	11.888	-1.904	IL16	2.348	6.772	-1.528
B4GALT4	1.933	7.223	-1.901	C19orf60	1.519	4.364	-1.522
DZIP3	8.839	32.655	-1.885	C19orf77	3.038	8.728	-1.522
DUSP18	1.795	6.621	-1.883	EGLN1	3.038	8.728	-1.522
PLEKHM3	2.900	10.534	-1.861	INTU	4.557	13.092	-1.522
TAC3	5.110	18.509	-1.857	CMC1	3.315	9.480	-1.516
HEY2	2.762	9.932	-1.846	MRPL10	8.286	23.626	-1.512
PPARD	0.967	4.966	-1.846	CCDC176	10.772	30.698	-1.511
STYK1	0.967	4.966	-1.846	CCPG1	1.795	5.116	-1.511
KIAA1377	5.386	19.111	-1.827	CYB5D1	1.795	5.116	-1.511
FANK1	2.762	9.781	-1.824	CSDA	64.081	182.234	-1.508
GPR183	2.762	9.781	-1.824	SLC2A4RG	5.248	14.898	-1.505
APOO	16.296	57.635	-1.822	ALOX15	0.967	3.913	-1.502
ROBO3	2.900	10.233	-1.819	EPM2A	3.453	9.781	-1.502
OSBPL5	2.486	8.728	-1.812	FAM102B	1.105	3.913	-1.502
C6orf162	2.762	9.631	-1.802	FAM115A	1.105	3.913	-1.502
TBC1D22A	0.967	4.815	-1.802	FARS2	1.243	3.913	-1.502
ADM	7.181	24.980	-1.798	GPR37L1	1.381	3.913	-1.502

ZNF708	1.519	5.267	-1.794	KIAA0825	1.105	3.913	-1.502
QSOX2	18.920	65.460	-1.791	LRRC71	1.381	3.913	-1.502
MICALCL	13.396	46.048	-1.781	PCNX	1.105	3.913	-1.502
CR2	5.386	18.359	-1.769	PRSS16	0.967	3.913	-1.502
OR10G2	4.005	13.543	-1.758	RSPH10B	0.414	3.913	-1.502
FAM81B	0.414	4.665	-1.756	SH3TC2	1.243	3.913	-1.502
HCG4B	0.552	4.665	-1.756	ZNF585A	6.215	17.606	-1.502
PARP3	1.243	4.665	-1.756	APOPT1	0.829	3.913	-1.502

Sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu bireylerin proeritroblastlarının transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 5$  üzeri artan gen listesi.

Gene	Proeritro DBA-3	Proeritro SD	$\log_2$ (DER)	Gene	Proeritro DBA-3	Proeritro SD	$\log_2$ (DER)
SLC43A2	3.405.528	0.000	11.486	SUGP2	66.625	0.000	5.810
HBG2	3.056.481	0.000	11.330	LOC81691	66.516	1.069	5.808
PES1	1.585.052	0.475	10.382	NOTCH2	358.534	6.413	5.805
TUBG1	1.374.381	0.000	10.177	PRDM8	66.407	0.356	5.805
HBG1	1.254.324	0.000	10.045	CENPB	66.298	0.594	5.803
TDRD9	661.129	0.000	9.121	HVCN1	66.298	0.000	5.803
SCAF1	612.169	0.000	9.010	MAP2K1	556.884	9.975	5.803
IKZF1	603.881	0.000	8.990	NPNT	66.080	0.000	5.798
RASD1	566.152	0.475	8.897	TAF1B	66.080	0.000	5.798
CAMK1D	546.306	0.475	8.846	EPB41L3	65.644	0.000	5.789
JARID2	790.999	1.781	8.795	HDAC3	65.644	0.000	5.789
TNFRSF10B	471.285	0.000	8.633	FAM32A	65.208	0.831	5.779
SLC6A6	463.761	0.000	8.609	OSBPL8	65.208	0.594	5.779
LIN9	444.678	0.000	8.549	STT3A	65.208	1.069	5.779
PRPF39	440.862	0.000	8.536	TRAPPC4	64.881	0.000	5.772
PPP1R12C	702.129	1.900	8.530	RIC8A	64.772	0.000	5.769
ATP2A2	408.040	0.713	8.425	SLC5A6	64.772	0.000	5.769
SENP3	771.154	2.256	8.417	ZCCHC14	64.445	0.238	5.762
HAVCR2	384.813	0.119	8.340	CHMP1A	64.226	0.000	5.757
SUCLG1	749.454	2.375	8.302	TRAFD1	64.226	0.000	5.757
TLR2	371.401	0.000	8.289	CENPV	64.117	0.000	5.755
FUT8	370.965	0.119	8.287	DHTKD1	64.117	0.000	5.755
ALAS2	387.649	1.306	8.213	CDCA7L	64.008	0.119	5.752
RBM47	318.951	0.594	8.069	C16orf80	63.899	0.000	5.750
LAIR1	317.425	0.475	8.062	RASSF1	63.681	0.000	5.745
SIPA1L1	307.393	0.000	8.016	DNAJC16	63.463	0.000	5.740
PSMA5	300.741	0.000	7.984	OTUD1	63.463	0.000	5.740
GSG2	299.324	0.475	7.978	RBM42	63.463	0.950	5.740
PICALM	298.233	0.238	7.972	FANCG	63.354	0.000	5.737

GLRX3	296.816	0.238	7.965	JMJD8	63.136	0.000	5.732
STX6	296.598	0.000	7.964	ATXN7L3B	63.027	0.950	5.730
PTDSS2	1.249.853	5.106	7.935	FAM20B	75.458	1.425	5.727
POGZ	282.422	1.069	7.894	KBTD4	62.918	0.950	5.727
CRKL	272.172	0.000	7.840	PCYOX1L	62.918	0.000	5.727
JMJD6	516.429	2.256	7.838	BBX	69.133	1.306	5.726
HLA-DQA1	270.972	0.000	7.834	SHISA5	62.700	0.119	5.722
CD38	256.361	0.475	7.754	HERC2P9	62.700	0.238	5.722
ARFGF2	255.706	0.594	7.750	MPDU1	62.482	0.356	5.717
NAAA	253.634	0.475	7.739	NAA10	62.482	0.000	5.717
MED18	250.581	0.000	7.721	TBL1XR1	62.482	1.069	5.717
SLC25A37	249.709	0.000	7.716	HCAR2	62.373	0.000	5.715
CDK5RAP3	246.438	0.119	7.697	RNF25	62.373	0.000	5.715
LGALS3	242.621	0.000	7.675	HSPA14	62.046	0.000	5.707
CAPN2	241.640	1.188	7.669	PABPN1	99.229	1.900	5.707
LATS1	239.350	0.356	7.655	AXIN1	61.937	0.356	5.705
AIM1	239.132	0.000	7.654	C7orf60	61.937	0.000	5.705
PCGF1	238.914	0.475	7.652	ABL1	61.827	0.356	5.702
TXNDC11	308.810	1.544	7.644	SERINC1	246.329	4.750	5.696
IQGAP1	233.243	0.119	7.618	RRBP1	61.500	0.000	5.695
STARD7	230.626	0.000	7.601	RSC1A1	86.144	1.663	5.695
MRPL4	228.555	0.950	7.588	UBE2R2	61.173	0.475	5.687
RPS4Y1	225.828	0.950	7.571	GINS4	60.955	0.000	5.682
CERK	221.249	0.475	7.542	GOT1	114.822	2.256	5.669
HGS	219.831	0.000	7.532	SORL1	60.410	0.000	5.669
LIG4	218.850	0.000	7.526	HMBOX1	72.296	1.425	5.665
HDAC5	217.214	0.475	7.515	GBA2	60.083	0.000	5.661
VAT1	217.214	0.475	7.515	C20orf96	59.865	0.000	5.656
PIP5K1A	216.124	0.594	7.508	EPHB4	59.865	0.000	5.656
PHLPP2	214.815	0.000	7.499	MANBA	59.865	0.000	5.656
SLC25A19	213.943	0.713	7.493	ALG5	59.756	0.000	5.653
GNG2	210.999	0.119	7.473	TRPC4AP	59.756	0.713	5.653
CSF2RA	209.799	0.238	7.465	TOP3A	59.647	0.000	5.650
WAS	1.330.654	7.719	7.430	SMC6	59.538	0.000	5.648
PPTC7	204.456	0.119	7.428	DDX3Y	59.429	0.000	5.645
PDIA5	202.711	0.831	7.415	NCAPG	59.429	1.188	5.645
C1orf50	200.967	0.000	7.403	MTHFD2	59.320	0.000	5.642
MCM4	200.749	0.000	7.401	PRKCD	59.320	0.000	5.642
ENOSF1	198.786	0.119	7.387	IVNS1ABP	59.210	0.000	5.640
UBXN4	198.459	0.950	7.385	GID4	58.992	0.000	5.635
MAPK11P1L	196.714	1.069	7.372	DRAM1	58.883	0.000	5.632

BNIP3L	195.296	0.000	7.362	HK1	58.665	0.119	5.626
RASSF3	192.570	0.000	7.341	SPOP	58.665	0.000	5.626
AP5B1	191.153	0.000	7.331	CRELD2	58.447	0.000	5.621
TPST2	187.445	0.831	7.302	DDB2	58.338	0.713	5.618
DPY30	185.046	0.475	7.284	EREG	58.338	0.831	5.618
NDUFA7	184.392	0.356	7.279	DDHD2	58.229	0.000	5.616
DTYMK	184.065	0.594	7.276	MGAT4B	58.229	0.713	5.616
NCF4	256.906	1.663	7.272	PNPLA6	58.229	0.000	5.616
ELOVL1	182.647	1.188	7.265	SHMT1	58.229	0.000	5.616
LMAN2	182.538	0.713	7.264	CD3E	58.120	0.000	5.613
LRRC8C	181.666	0.356	7.257	ERN1	58.120	0.000	5.613
ADD1	339.888	2.256	7.235	CTNNA1	58.011	0.594	5.610
FCAR	178.286	0.238	7.230	LOC202781	58.011	0.000	5.610
YTHDC1	283.512	1.900	7.221	FOXJ2	57.902	0.000	5.608
SETD5	614.349	4.156	7.208	SEMA4A	57.793	0.238	5.605
CYTH1	174.360	0.000	7.198	COPZ1	974.301	20.069	5.601
MTMR12	174.251	0.238	7.197	PKN2	57.466	0.238	5.597
ITGA9	174.142	0.000	7.196	AKAP17A	57.357	0.950	5.594
PFKFB3	174.033	0.238	7.195	CENPO	252.326	5.225	5.594
TIAL1	173.597	0.594	7.192	ZNF521	57.357	0.000	5.594
GNAZ	172.397	0.000	7.182	IARS2	57.030	0.000	5.586
SNORA10	172.070	0.000	7.179	HGSNAT	56.812	0.356	5.580
UBE2Z	206.310	1.425	7.178	NOMO1	56.812	0.475	5.580
TFEB	169.126	0.000	7.154	SHQ1	56.812	0.119	5.580
HDAC9	168.690	0.000	7.150	RASAL3	56.593	0.000	5.575
EIF4A3	168.472	0.000	7.148	MGAT2	56.484	0.000	5.572
CENPW	167.817	0.119	7.143	TRIB2	56.484	0.000	5.572
TNFRSF10D	167.599	0.119	7.141	EXOC3	163.456	3.444	5.569
GSDMD	166.727	0.000	7.133	SNX30	56.375	0.000	5.569
SFXN1	166.727	0.000	7.133	PLAGL2	157.786	3.325	5.568
INSR	166.618	0.000	7.132	SEC23B	56.157	0.000	5.563
MED13L	166.073	0.119	7.128	STX4	56.157	0.238	5.563
PATL1	165.309	0.238	7.121	BTBD1	55.939	0.831	5.558
ASXL2	161.602	0.119	7.088	SGPL1	55.939	0.000	5.558
CPEB4	160.948	0.000	7.083	GFPT1	55.939	1.188	5.558
CYC1	160.839	0.000	7.082	PLB1	55.721	0.000	5.552
EMID1	160.184	0.000	7.076	PGD	55.612	1.069	5.549
MRPS18A	160.184	0.119	7.076	PROM1	55.612	0.000	5.549
FASTKD3	159.966	0.000	7.074	CD9	55.503	0.000	5.547
LETMD1	159.857	0.000	7.073	POR	55.503	0.000	5.547
TCF25	159.312	0.119	7.068	SLC24A1	55.503	0.000	5.547
C1orf123	158.658	0.000	7.062	TMEM222	55.503	0.000	5.547

HSPA2	158.549	0.950	7.061	LARP1	55.394	0.119	5.544
RBM18	157.240	0.594	7.049	PQLC2	55.394	0.000	5.544
COX18	156.913	0.119	7.046	ZYX	199.222	4.275	5.542
DDX19B	156.586	0.238	7.043	AXL	55.285	0.000	5.541
C11orf30	295.398	2.256	7.033	BRPF3	99.120	2.138	5.535
STARD5	154.623	0.475	7.025	PAK1	55.067	0.238	5.535
SFSWAP	152.333	0.119	7.003	SELK	55.067	0.356	5.535
FAM46A	151.679	1.069	6.997	PI4KAP2	55.067	0.475	5.535
ANXA2	151.352	0.119	6.994	PLEKHB2	54.849	0.000	5.529
VAR5	150.589	0.238	6.987	IGJ	54.740	0.000	5.527
HIATL1	148.735	0.000	6.969	KAT2B	54.740	0.000	5.527
CYP1A1	148.299	0.000	6.964	DAXX	54.522	0.000	5.521
XPO6	148.299	0.831	6.964	EIF4ENIF1	54.522	0.000	5.521
OSBP2	146.663	0.000	6.948	MDM4	54.522	0.238	5.521
PPP3CC	146.445	0.000	6.946	SYNJ2	54.522	0.000	5.521
WDR33	146.009	0.119	6.942	KATNA1	54.413	0.000	5.518
MICA	145.355	0.000	6.935	POM121	59.865	1.306	5.518
RAB6A	145.246	0.831	6.934	GAB2	54.304	0.475	5.515
CNPPD1	144.046	0.000	6.922	TMEM70	54.194	0.000	5.512
DOCK4	143.283	0.000	6.915	NSUN4	53.976	0.356	5.506
RRP1B	142.410	0.238	6.906	SEC23A	53.867	0.000	5.503
HOXA9	142.083	0.000	6.903	ULBP3	53.867	0.000	5.503
THOC5	140.448	0.119	6.886	P2RX1	91.378	2.019	5.500
TAB2	238.368	2.019	6.884	MYOF	53.649	0.000	5.498
MRPL23	140.121	0.119	6.883	UBP1	96.612	2.138	5.498
MSRA	140.121	1.188	6.883	POLR1B	69.679	1.544	5.496
TMEM104	140.121	0.000	6.883	CES1	53.540	0.000	5.495
NCAPD2	139.793	0.119	6.879	MPP1	310.337	6.888	5.494
ALDOA	139.793	0.000	6.879	VCAN	96.285	2.138	5.493
GAS7	138.158	1.188	6.862	REC8	53.431	0.000	5.492
EIF2AK1	138.049	0.475	6.861	UQCRQ	53.431	0.356	5.492
MARCH8	137.831	0.000	6.859	NDST1	53.213	0.950	5.486
GOLGA7	137.394	0.950	6.854	SF3B3	53.213	0.475	5.486
NUPL1	137.394	1.188	6.854	WIPF1	53.213	0.831	5.486
GIGYF1	136.413	0.119	6.844	DAAM1	52.995	0.238	5.480
XRCC5	231.608	2.019	6.842	RRP36	52.886	0.475	5.477
KDM5D	134.777	0.000	6.826	TXNDC15	52.886	0.356	5.477
SMG8	134.668	0.000	6.825	SOCS2	52.777	0.000	5.474
PRKAR1A	133.905	0.000	6.817	URB2	52.777	0.000	5.474
ANXA5	520.027	4.631	6.811	DGKD	52.668	0.000	5.471
CASP4	133.360	0.713	6.811	PLSCR3	52.668	0.000	5.471
SAMSN1	132.597	0.000	6.803	MAPK13	52.341	0.000	5.462



VASP	130.743	0.000	6.783	UBE2D2	52.341	0.356	5.462
CCND1	130.525	0.000	6.780	SF3B1	151.570	3.444	5.460
NUCB1	130.307	0.000	6.778	CYP2S1	52.232	0.000	5.459
STAT5B	130.307	0.238	6.778	C10orf54	52.014	1.069	5.453
DCUN1D 2	129.543	0.000	6.769	CRIP1	83.091	1.900	5.451
ABCF2	129.107	0.238	6.764	HECTD1	51.905	0.831	5.450
MRFAP1	128.889	0.000	6.762	DNAJC5	51.796	0.000	5.447
TCF4	128.889	0.000	6.762	MN1	51.796	0.000	5.447
HDGF	128.344	0.000	6.756	PITPNA	51.796	0.000	5.447
C9orf89	127.472	0.000	6.746	CYBRD1	51.686	0.000	5.444
PLK3	127.362	0.000	6.745	MRPL28	51.686	0.000	5.444
ANXA11	127.253	0.000	6.744	SULF2	51.686	0.000	5.444
EHD4	126.926	0.000	6.740	ARHGAP15	51.577	1.188	5.441
ICT1	126.926	0.000	6.740	MARCH2	51.577	0.713	5.441
PTPN23	126.272	0.000	6.732	ZNF330	51.577	0.119	5.441
EXOC8	126.163	0.000	6.731	NLK	51.468	0.000	5.438
ELAVL1	299.433	2.850	6.715	TAF1A	51.468	0.000	5.438
ZFAND6	124.418	0.000	6.711	AKR1A1	51.359	0.713	5.435
CHD3	123.873	0.831	6.705	IPO7	51.359	0.713	5.435
KANK1	123.873	0.000	6.705	YARS	51.359	0.119	5.435
CDIPT	123.764	0.000	6.704	TCF12	102.610	2.375	5.433
DAP	123.219	0.000	6.697	CCNY	51.250	0.000	5.432
COMT	122.892	1.188	6.693	CTBP1	51.250	0.000	5.432
ZNF827	121.801	0.000	6.680	SFT2D1	51.250	0.000	5.432
BACH1	121.692	0.119	6.679	USP4	51.250	0.000	5.432
GINS2	121.583	0.238	6.678	ARAF	51.141	0.594	5.428
CD7	121.365	0.119	6.675	EPRS	51.032	0.000	5.425
PLD4	120.166	1.069	6.661	CCNL2	50.814	1.188	5.419
KIAA024 7	119.948	0.475	6.658	HEATR2	50.814	0.713	5.419
IMMT	347.085	3.444	6.655	MMP2	50.814	0.356	5.419
IDH3B	131.397	1.306	6.652	SMG1	50.814	0.119	5.419
MCM6	118.857	0.000	6.645	UBE3A	50.814	0.475	5.419
ECHS1	118.639	0.000	6.642	ERO1L	50.705	0.475	5.416
PABPC4	118.203	0.950	6.637	FAM188A	50.705	0.000	5.416
FOXO4	117.003	0.000	6.622	CAMLG	50.378	0.000	5.407
AQP9	116.785	0.119	6.620	TH1L	50.269	0.000	5.404
NOL10	116.567	0.000	6.617	N4BP1	49.942	0.000	5.394
RAPH1	116.567	0.000	6.617	ERAP2	49.724	0.000	5.388
NLRP3	116.458	0.000	6.616	KANSL2	49.724	0.238	5.388
PLAC8	116.458	0.356	6.616	TMBIM1	54.631	1.306	5.386
MAPK14	116.240	0.000	6.613	PACSIN3	49.506	0.000	5.382
SLCO3A1	116.240	0.000	6.613	PRRC2B	59.320	1.425	5.379

EBP	555.248	5.700	6.606	CCDC86	127.908	3.088	5.373
ACVR1	115.259	0.000	6.601	HLA-DRB1	5.260.462	126.945	5.373
HBS1L	115.150	0.238	6.599	GTF2F1	49.178	0.000	5.372
YTHDC2	114.059	0.000	6.586	GTF3C5	49.178	0.356	5.372
PARP1	113.187	0.119	6.575	EMC8	98.248	2.375	5.370
GCLM	169.235	1.781	6.570	GLA	137.394	3.325	5.369
NUAK2	112.642	0.000	6.568	RARG	49.069	0.713	5.369
ZKSCAN1	123.764	1.306	6.566	SCYL1	48.960	0.000	5.366
EMP1	111.660	0.831	6.555	TBCE	48.960	0.594	5.366
TBC1D17	111.333	0.000	6.551	VMA21	48.960	0.000	5.366
ASPSCR1	111.333	0.000	6.551	CXorf38	48.851	0.000	5.362
TRAF6	110.570	0.356	6.541	MINA	48.851	0.000	5.362
URGCP	110.352	0.000	6.538	PLA2G4A	48.851	0.000	5.362
PPP1CB	109.479	0.356	6.527	PPP1R3D	48.851	0.000	5.362
TSG101	109.261	0.356	6.524	SLC7A1	292.672	7.125	5.360
GPN1	108.825	0.000	6.518	CDH1	48.742	0.119	5.359
SLC29A1	140.993	1.544	6.513	OAS2	48.524	0.000	5.353
KIAA0368	108.280	0.119	6.511	PMAIP1	48.524	0.000	5.353
CASP2	108.171	0.950	6.509	TMEM181	48.415	0.000	5.349
ACPL2	107.626	0.000	6.502	RAB3D	48.197	0.000	5.343
MKI67IP	107.626	0.000	6.502	AHDC1	48.088	0.000	5.340
WBP1L	107.299	0.000	6.498	FAM104B	48.088	0.000	5.340
PIGL	107.299	0.000	6.498	FAM208A	48.088	0.000	5.340
POLA1	107.080	0.119	6.495	MAP2K2	48.088	0.356	5.340
ASPHD2	106.971	0.000	6.493	NSFL1C	48.088	0.119	5.340
SNTB1	106.753	0.000	6.490	DMAP1	47.979	0.000	5.336
GAK	181.230	2.019	6.488	PRDM1	47.979	0.000	5.336
IRF4	106.535	0.000	6.487	PIM1	100.538	2.494	5.333
SMPD4	106.099	0.000	6.481	VEZT	47.870	0.238	5.333
MBNL3	105.772	0.000	6.477	SLC15A4	47.652	0.000	5.327
AGPAT5	105.227	0.119	6.469	ALAD	47.543	0.238	5.323
UQCRFS1	104.681	0.950	6.462	ITPR1	47.543	0.119	5.323
ZNF689	104.572	0.356	6.460	NPC1	47.543	0.000	5.323
STX7	104.136	0.000	6.454	PPT2	47.325	0.119	5.317
ASCC3	104.027	0.000	6.453	SNORA65	47.325	0.000	5.317
PRR11	135.214	1.544	6.453	ZBP1	47.216	0.000	5.313
NCBP1	249.055	2.850	6.449	MTF1	254.507	6.413	5.311
ENTPD7	103.046	0.000	6.439	HSPA13	47.107	0.000	5.310
RDBP	102.937	1.188	6.438	SPCS2	47.107	0.119	5.310
NCAPD3	102.610	0.119	6.433	ACAA2	46.998	0.713	5.307
TLE4	102.392	0.831	6.430	NCF2	46.998	0.238	5.307
USP42	101.955	0.950	6.424	CHCHD10	46.889	0.000	5.303

BAZ2A	2.473.972	28.857	6.422	OCIAD1	46.889	0.000	5.303
MAGED2	101.846	0.475	6.422	POLR2J	60.955	1.544	5.303
LY6G5B	101.628	0.000	6.419	STARD3NL	46.889	0.000	5.303
SZT2	101.410	0.000	6.416	DNMBP	187.445	4.750	5.302
CREB1	141.429	1.663	6.411	FBXO3	46.780	0.000	5.300
CISD2	100.865	0.475	6.408	HDC	46.780	0.000	5.300
SH3BP4	100.756	0.238	6.407	POLR1A	46.780	0.000	5.300
PPIL2	110.679	1.306	6.405	LILRB3	46.561	0.000	5.293
RNF122	100.647	0.000	6.405	PLBD1	46.561	0.000	5.293
CPT1A	100.429	0.831	6.402	TET3	46.561	0.000	5.293
HNRNPU L2	99.447	0.000	6.388	EFNA3	46.343	0.000	5.286
SLC52A2	99.120	0.000	6.383	GBP1	46.343	0.000	5.286
C22orf13	98.466	0.238	6.374	GSTM2	46.343	0.000	5.286
HECTD4	98.139	0.000	6.369	ACOX3	46.234	0.000	5.283
SLC39A1 4	98.139	0.000	6.369	ITFG1	46.234	0.000	5.283
RBM27	136.958	1.663	6.364	PLXND1	46.234	0.119	5.283
U2SURP	97.485	1.188	6.359	SMG6	46.234	0.000	5.283
ZNF516	97.157	0.000	6.354	RBM38	46.125	0.119	5.280
ERAL1	97.048	0.950	6.353	SEPHS1	46.125	0.594	5.280
C7orf41	96.721	0.000	6.348	ZNF629	46.125	0.000	5.280
ESYT1	241.204	2.969	6.344	C22orf32	138.049	3.563	5.276
MAU2	95.958	0.831	6.336	PPIP5K1	46.016	0.000	5.276
GOLPH3	220.376	2.731	6.334	RAET1K	46.016	0.000	5.276
ACOT13	95.740	0.000	6.333	TNFAIP6	46.016	0.475	5.276
SSH1	95.522	0.000	6.330	SEC24A	45.907	1.188	5.273
C1orf174	95.413	0.000	6.328	EXOC6B	45.798	0.119	5.269
SSX2IP	95.304	0.000	6.327	XPC	45.798	0.000	5.269
NANOG	94.868	0.000	6.320	PDCD6IP	123.546	3.206	5.268
LOC2839 22	94.431	0.000	6.313	GPATCH2L	45.689	0.000	5.266
PSMD3	94.431	0.000	6.313	SERINC2	45.689	0.000	5.266
WAPAL	94.213	0.238	6.310	TRAPPC9	45.689	0.950	5.266
EFTUD1	93.995	0.119	6.307	SLC22A23	45.580	0.000	5.262
ZNF592	93.886	0.000	6.305	LOC100506 804	45.471	0.000	5.259
MNF1	93.777	0.950	6.303	UBL3	45.471	0.000	5.259
UROD	93.668	1.188	6.302	GPR132	45.362	0.000	5.255
HIST1H4 K	140.121	1.781	6.298	PDE12	204.020	5.344	5.255
CDC40	93.014	0.119	6.291	PELI2	45.362	0.000	5.255
PRG2	93.014	0.000	6.291	RAB31	130.961	3.444	5.249
RABGGT A	92.905	0.000	6.290	WDR45L	45.144	1.188	5.249
GABARA PL1	92.796	0.831	6.288	VPRBP	63.136	1.663	5.247

TRMT10 A	92.796	0.000	6.288	DNAJB5	45.035	0.000	5.245
MOB4	92.360	0.000	6.281	CENPP	44.926	0.000	5.242
CLP1	92.251	0.000	6.280	SETD1B	462.779	12.231	5.242
PARVB	92.251	0.119	6.280	LYPLA1	44.708	0.950	5.235
SLC35E1	202.384	2.613	6.276	CD86	44.599	0.713	5.231
SH2B3	91.378	0.000	6.266	NCL	316.443	8.431	5.230
MDH1	91.160	0.713	6.262	FCER1G	53.431	1.425	5.229
RBM5	91.160	0.000	6.262	GNA12	155.823	4.156	5.228
BEND4	90.942	0.000	6.259	FOPNL	44.490	0.000	5.227
NDUFV1	90.833	0.238	6.257	MEN1	44.490	0.000	5.227
PCSK7	90.724	0.000	6.255	SIRPB1	44.490	0.000	5.227
CMIP	90.615	0.119	6.254	CASS4	44.381	0.000	5.224
SERPINB 2	1.110.278	14.606	6.248	ZNF609	44.381	1.188	5.224
BST2	90.179	0.713	6.247	ATG12	115.150	3.088	5.221
GPBP1	90.179	0.713	6.247	NUDT4	44.272	0.238	5.220
TBC1D22 B	90.179	0.594	6.247	NUMB	579.565	15.556	5.219
NAE1	89.743	0.950	6.240	WDR18	44.162	0.000	5.217
ABCB10	89.634	0.000	6.238	LOC100288 778	44.162	0.950	5.217
CCT2	89.634	1.069	6.238	VDR	44.053	0.000	5.213
FURIN	89.524	0.950	6.236	AP2A1	43.944	0.000	5.210
GABARA PL2	89.197	0.594	6.231	MARCH9	43.944	0.000	5.210
PTPLB	89.197	1.069	6.231	PCNXL3	43.944	0.594	5.210
FAM193B	346.866	4.631	6.227	C5orf25	43.944	0.000	5.210
NUDT5	265.520	3.563	6.220	SNORA81	43.944	0.000	5.210
NUP43	88.543	0.000	6.220	BCL7A	43.835	0.000	5.206
EPS15L1	88.434	0.000	6.219	SLC41A1	43.835	0.594	5.206
SMARCD 2	132.706	1.781	6.219	ABCB6	43.726	0.000	5.202
TSC22D4	88.434	0.831	6.219	CD97	196.387	5.344	5.200
C11orf73	88.107	0.356	6.213	RPS6KB1	43.617	0.356	5.199
ZBED6	87.998	0.119	6.211	AIG1	43.508	0.475	5.195
ZBTB44	87.998	0.000	6.211	TXNL4A	43.399	0.000	5.192
NARS2	447.840	6.056	6.208	CHKB	47.652	1.306	5.189
NDUFA11	139.684	1.900	6.200	VPS39	43.290	1.069	5.188
DTX3	87.126	0.238	6.197	ZC3H14	43.181	0.000	5.184
TNS1	87.126	0.000	6.197	FAF1	111.878	3.088	5.179
NECAP1	86.798	0.000	6.192	PLA2G6	42.854	0.000	5.173
GLTSCR1	86.689	0.000	6.190	FAM136A	42.745	0.000	5.170
SLC44A1	86.689	0.000	6.190	UPRT	42.745	0.000	5.170
TULP3	86.580	0.000	6.188	STX3	42.636	0.000	5.166
C21orf91	86.471	0.000	6.186	VWDE	42.636	0.000	5.166
TGFBI	86.471	0.713	6.186	DNAJA3	42.527	0.000	5.162

SPRTN	86.362	0.000	6.184	SNRK	42.527	0.119	5.162
CLEC16A	86.035	1.188	6.179	RANBP1	216.451	6.056	5.159
CYFIP2	85.817	0.000	6.175	SLC7A6OS	42.418	0.475	5.159
RGS10	85.708	0.356	6.173	PORCN	80.474	2.256	5.157
ANKRD1 3C	85.599	0.000	6.172	ZBTB4	50.814	1.425	5.156
SRP54	85.599	0.000	6.172	MORC2	63.463	1.781	5.155
VPS35	85.381	0.594	6.168	TBC1D5	42.309	0.000	5.155
SIRT3	85.272	0.356	6.166	CLU	42.309	0.950	5.155
RASSF2	136.086	1.900	6.162	CDK5RAP2	42.200	0.356	5.151
TBC1D23	84.727	0.000	6.157	FBXL3	42.200	0.000	5.151
TCF3	101.519	1.425	6.155	PFAS	42.200	0.594	5.151
AKIRIN2	84.399	0.000	6.151	RRM1	42.200	0.238	5.151
ISG20L2	84.181	0.000	6.147	TTC37	42.200	0.475	5.151
ANO6	83.963	0.000	6.144	B4GALT2	42.091	0.000	5.147
TTL	83.963	1.188	6.144	FDXACB1	42.091	0.000	5.147
PWWP2A	83.854	0.238	6.142	ATPAF2	41.982	0.000	5.144
AQR	83.745	0.000	6.140	PCF11	41.982	0.000	5.144
MAF	83.636	0.000	6.138	PHF5A	41.982	0.119	5.144
AAAS	83.309	0.000	6.132	PTGER2	41.982	0.238	5.144
DNMT1	83.309	0.000	6.132	TMEM87A	41.982	0.119	5.144
FAM122B	83.309	0.000	6.132	CASP9	41.873	0.000	5.140
GCH1	83.309	0.475	6.132	NUP54	41.873	0.831	5.140
NSUN2	83.091	0.238	6.129	CDK17	54.413	1.544	5.139
ATIC	149.171	2.138	6.125	GTPBP2	41.764	0.119	5.136
CAMTA2	1.035.583	14.844	6.124	RAD51	41.764	0.000	5.136
TMEM12 7	82.764	0.000	6.123	FNIP1	100.211	2.850	5.136
SRRD	107.299	1.544	6.119	ATXN7	41.655	0.713	5.132
ADA	82.437	0.119	6.117	DCP1B	41.655	0.950	5.132
IQCE	82.437	0.000	6.117	PMPCA	41.545	0.594	5.129
ROBO1	82.328	0.000	6.115	TRIP6	41.545	0.000	5.129
SLC22A4	82.219	0.119	6.113	CCDC104	58.011	1.663	5.125
CTR9	82.110	0.119	6.112	CHP1	364.750	10.450	5.125
PARVG	204.892	2.969	6.109	PCCB	41.436	0.119	5.125
DHCR7	81.782	0.000	6.106	SPECC1	41.436	0.000	5.125
GALNT2	81.782	0.119	6.106	IFI35	41.327	0.000	5.121
BSDC1	81.673	0.238	6.104	DENND4B	41.218	0.238	5.117
MRPS11	81.564	0.000	6.102	SLC7A11	41.218	0.000	5.117
PLAU	81.455	0.000	6.100	ASF1A	57.575	1.663	5.114
PPT1	235.969	3.444	6.098	CD34	41.109	0.119	5.113
ELOVL6	81.237	0.000	6.096	LRPPRC	41.109	0.594	5.113
ANTXR2	81.019	0.950	6.092	CNNM3	41.000	0.119	5.110
CDC123	81.019	0.000	6.092	EFTUD2	41.000	0.119	5.110

MAP2K7	80.910	0.000	6.090	TPP2	369.220	10.688	5.110
MFSD11	80.692	0.000	6.086	CCNB1	65.535	1.900	5.108
RAB1B	80.692	0.119	6.086	ZRANB1	40.891	0.000	5.106
ARID3B	80.256	0.000	6.079	EAF1	330.837	9.619	5.104
LRP1	79.820	0.000	6.071	NFYA	97.921	2.850	5.103
PCNX	87.235	1.306	6.061	CD82	40.782	0.000	5.102
TTI2	79.165	0.000	6.059	PSMC3	97.812	2.850	5.101
MED15	78.729	0.475	6.051	RNASEH2C	126.381	3.681	5.101
ATP6AP1	86.362	1.306	6.047	SERINC5	40.673	0.000	5.098
C6orf89	78.402	0.000	6.045	SHOC2	52.886	1.544	5.098
ANKH	78.293	0.238	6.043	TFIP11	40.673	0.000	5.098
SNHG12	78.075	0.356	6.039	ASB3	40.673	0.000	5.098
CCDC93	77.639	0.356	6.031	BLMH	40.564	0.000	5.094
TRIM25	248.509	3.800	6.031	NUP205	40.564	0.000	5.094
CD74	363.986	5.581	6.027	USP14	40.564	0.356	5.094
RING1	77.421	0.000	6.027	ATN1	165.964	4.869	5.091
LPCAT2	77.312	0.356	6.025	DOLK	40.455	0.475	5.090
RCBTB2	77.312	0.000	6.025	EDC3	40.455	0.000	5.090
LILRB2	77.094	0.594	6.021	HSPH1	40.455	0.356	5.090
ZNF398	77.094	0.000	6.021	LGMN	40.455	1.069	5.090
SVIL	76.439	0.119	6.008	ANKHD1	96.939	2.850	5.088
SYS1	76.439	0.119	6.008	ARHGAP25	104.900	3.088	5.086
PLCB2	76.221	0.119	6.004	OLR1	40.346	0.831	5.086
MEA1	76.112	0.950	6.002	SLC25A30	40.237	0.000	5.083
NOMO2	76.112	0.831	6.002	ATP2A3	48.197	1.425	5.080
CNOT1	75.458	0.713	5.990	FAM219A	40.128	0.119	5.079
TRAPPC2 L	75.240	0.000	5.985	MRFAP1L1	40.128	0.000	5.079
E2F3	75.131	0.594	5.983	UBE2E1	40.019	0.356	5.075
SPTA1	75.131	0.119	5.983	AARS	39.910	0.000	5.071
COPS7B	180.030	2.850	5.981	EDEM2	39.910	0.000	5.071
JAZF1	74.913	0.000	5.979	ATP13A1	43.835	1.306	5.069
UBASH3 B	74.804	0.000	5.977	NUP93	51.796	1.544	5.068
DHCR24	74.586	0.000	5.973	ACTA2	39.801	0.000	5.067
IFNGR1	74.586	0.713	5.973	KPNA5	39.801	0.000	5.067
PITHD1	74.367	0.000	5.969	POLE	39.801	0.000	5.067
FUBP3	74.258	0.000	5.967	PSMD10	39.801	0.000	5.067
CXCL3	74.040	0.119	5.962	ZNF652	39.801	1.188	5.067
RNF111	73.931	0.000	5.960	ZWINT	39.801	0.000	5.067
SPATA13	73.931	0.238	5.960	CDK2	39.692	0.831	5.063
MED25	132.815	2.138	5.957	LEMD3	39.692	0.119	5.063
CDYL	73.495	0.000	5.952	NDUFS2	39.692	0.831	5.063
SLC9A7	72.732	0.000	5.937	TM9SF2	39.692	0.000	5.063

INTS10	72.623	0.000	5.934	HEXB	39.583	1.188	5.059
DDX59	72.296	0.000	5.928	RBMS2	39.583	0.119	5.059
USP39	390.375	6.413	5.928	ATF3	63.245	1.900	5.057
WDR77	72.296	0.000	5.928	C1orf198	39.474	0.000	5.055
VTI1B	72.078	0.594	5.924	NBPF14	39.474	1.069	5.055
TRAPPC8	71.969	0.000	5.921	RTTN	39.474	0.000	5.055
TPRA1	71.859	0.000	5.919	TNF	39.474	0.238	5.055
CAMSAP1	71.423	1.188	5.910	PPP1R11	39.365	1.188	5.051
NCOA2	71.314	0.000	5.908	FAM49B	176.977	5.344	5.050
NFE2L2	149.716	2.494	5.908	CLN3	39.256	0.000	5.047
C8orf76	70.987	0.000	5.902	RBPJ	39.256	1.069	5.047
NEDD4L	70.987	0.594	5.902	WDR20	39.256	0.000	5.047
PAPD5	70.987	0.950	5.902	VIPAS39	39.147	0.000	5.043
DHRS3	70.878	0.000	5.899	GORASP2	121.365	3.681	5.043
CYB5A	84.727	1.425	5.894	RPS6KA3	39.147	0.119	5.043
MAPRE1	70.551	0.119	5.893	TSPYL2	97.703	2.969	5.040
POLDIP3	70.551	1.069	5.893	HLA-DOA	39.037	0.000	5.039
ANK1	77.530	1.306	5.891	SLC33A1	39.037	0.000	5.039
GGNBP2	70.442	0.831	5.890	ZMIZ1	39.037	0.000	5.039
PSMB9	190.062	3.206	5.889	USP48	46.780	1.425	5.037
ZBTB11	70.333	0.000	5.888	RPL26L1	38.928	0.119	5.035
SMAP2	69.897	0.119	5.879	SLC16A6	38.928	0.000	5.035
FAM49A	69.570	0.000	5.872	TMEM184B	38.928	0.000	5.035
SNX32	69.570	0.000	5.872	APOBEC3B	38.819	0.000	5.031
C11orf1	69.242	0.000	5.866	FAS	38.819	0.000	5.031
STT3B	117.658	2.019	5.865	CERS6	93.014	2.850	5.028
IL10RA	69.024	0.119	5.861	CDKN1B	38.710	0.000	5.027
WDR26	89.743	1.544	5.861	PLEKHM2	38.710	0.000	5.027
ORC1	613.695	10.569	5.860	RFTN1	38.710	0.000	5.027
DCAF11	68.806	0.000	5.857	CLCN7	81.237	2.494	5.026
PAFAH1B1	68.806	0.000	5.857	ANP32A	38.492	0.356	5.019
UHMK1	68.588	0.000	5.852	PRKRIP1	38.492	0.000	5.019
RRP1	68.479	0.000	5.850	PSMD1	38.492	0.000	5.019
NUP210	68.370	0.713	5.847	CKAP5	53.867	1.663	5.018
ACACB	68.043	0.000	5.840	MEMO1	38.383	0.238	5.014
BCL6	81.564	1.425	5.839	CABLES1	38.274	0.594	5.010
EIF4EBP2	94.868	1.663	5.834	CRHBP	38.274	0.000	5.010
CCNYL1	67.716	0.356	5.833	CSRP1	38.274	0.119	5.010
MBP	67.607	0.000	5.831	RAPGEF6	38.274	0.000	5.010
TBC1D7	67.389	0.000	5.826	TOX4	218.086	6.769	5.010
FAM83D	67.280	0.000	5.824	VAV2	38.274	0.000	5.010
FXR2	67.280	0.000	5.824	CTCF	57.357	1.781	5.009

CDC45	67.062	0.000	5.819	SLC1A4	301.832	9.381	5.008
FLII	67.062	0.000	5.819	API5	38.165	0.238	5.006
VGLL4	66.843	0.119	5.815	FASTKD2	38.165	0.119	5.006
CCNE1	66.734	0.356	5.812	PIP4K2B	41.982	1.306	5.006
LSG1	66.625	0.238	5.810	QRSL1	38.165	0.000	5.006
MECP2	79.929	1.425	5.810	WDFY4	38.165	0.000	5.006
SOD2	133.251	2.375	5.810				

Sağlıklı donörler ve DBA-3 kodlu bireylerin proeritroblastlarının transkriptom profilleri karşılaştırıldığında  $\log_2 1.5$  üzeri azalan gen listesi.

Gene	Proeritro DBA-3	Proeritro SD	$\log_2$ (DER)	Gene	Proeritro DBA-3	Proeritro SD	$\log_2$ (DER)
CSRP2BP	0.000	705.501	-9.338	IGF1R	187.663	1.322.532	-2.817
LOC100129794	0.000	681.394	-9.287	PMFBP1	0.436	7.600	-2.801
PPARA	0.654	635.675	-9.187	RAPGEF4	0.000	7.600	-2.801
TSTD1	0.763	626.175	-9.166	SMARCA4	67.716	468.592	-2.791
HPGDS	1.199	578.556	-8.914	TAF10	29.878	206.271	-2.787
MPC1L	0.327	409.098	-8.551	SLC41A3	2.944	20.306	-2.786
ZMYM6	4.253	1.443.658	-8.407	GPSM2	32.604	224.677	-2.785
ALPK1	0.436	353.166	-8.339	ZNF791	14.721	101.057	-2.779
LOC647859	0.000	335.828	-8.267	NCK1	12.758	87.045	-2.770
HSCB	0.000	284.884	-8.029	RNF114	158.440	1.075.648	-2.763
C1D	0.763	262.321	-7.910	TRNAU1AP	3.926	26.600	-2.760
CD40LG	1.854	444.248	-7.905	SACM1L	29.878	201.996	-2.757
MED27	1.636	340.935	-7.703	FRMD6	0.109	7.363	-2.755
SCAPER	1.199	227.646	-7.568	MED8	4.253	28.619	-2.751
DHX33	1.309	246.409	-7.557	NDUFA1	3.598	24.225	-2.751
MUM1	0.218	198.789	-7.510	DUSP11	14.939	100.463	-2.750
LOC145783	0.109	168.389	-7.271	GINM1	3.817	25.650	-2.749
ST18	0.000	137.514	-6.979	ZBTB2	65.535	440.329	-2.748
TYW5	0.872	137.276	-6.976	PCBP1	588.615	3.928.051	-2.738
RGS16	0.000	136.326	-6.966	PCDHB15	0.000	7.244	-2.732
NHLRC1	6.434	793.377	-6.946	RNASEH1	0.000	7.244	-2.732
ZNF675	1.963	238.927	-6.928	WDR44	0.436	7.244	-2.732
HAUS8	2.944	354.828	-6.913	ATXN2	124.091	821.046	-2.726
DZANK1	0.872	120.295	-6.786	C7orf23	11.340	74.813	-2.722
ZNF136	0.109	119.345	-6.774	CTDSPL2	7.960	52.488	-2.721
SENP7	0.545	117.207	-6.748	KIAA1147	44.053	289.278	-2.715
GADD45GI P1	0.327	113.526	-6.702	IARS	112.205	736.020	-2.714
HLA-C	5.016	517.280	-6.688	SNX15	4.253	27.907	-2.714
PBXIP1	2.072	213.396	-6.686	DARS	71.969	471.561	-2.712
MRAS	0.000	112.220	-6.685	DNAJC30	0.981	7.125	-2.708



COG2	4.471	432.492	-6.596	HAAO	3.271	21.375	-2.708
COA4	0.763	104.382	-6.581	KIFC1	5.670	37.050	-2.708
BNIP1	0.654	103.432	-6.568	LINC00526	0.218	7.125	-2.708
ALKBH3	1.418	131.101	-6.531	MON1B	1.527	9.975	-2.708
ALG10	0.109	100.701	-6.529	ZNF623	0.218	7.125	-2.708
GMCL1	2.181	196.533	-6.494	SRBD1	25.407	165.302	-2.702
IGFBP5	0.000	96.782	-6.472	C11orf49	6.761	43.938	-2.700
RALGAPA2	13.194	1.140.724	-6.434	NDUFA4	47.543	308.041	-2.696
NUDT7	0.109	89.657	-6.361	SNIP1	6.543	42.394	-2.696
ORC6	11.886	972.453	-6.354	DTWD2	12.104	78.257	-2.693
IFFO1	0.000	88.470	-6.342	RNF115	15.375	99.395	-2.693
STEAP4	0.000	88.351	-6.340	C6orf1	3.598	23.156	-2.686
HAUS1	1.090	84.670	-6.279	SLC25A22	0.436	7.006	-2.684
TEX14	0.000	82.532	-6.242	TYW3	0.981	7.006	-2.684
INIP	0.218	80.513	-6.206	HIVEP2	63.681	407.792	-2.679
EBPL	14.939	1.101.061	-6.204	FHOD1	3.380	21.613	-2.677
NKD1	0.763	79.207	-6.183	ATOX1	5.452	34.794	-2.674
CEP135	0.981	77.188	-6.145	C6orf47	3.926	25.056	-2.674
ESM1	0.000	75.763	-6.119	RREB1	814.771	5.188.120	-2.671
ZNF268	1.745	120.889	-6.115	PKNOX1	14.176	90.013	-2.667
S1PR4	0.000	73.507	-6.075	ITGB4	0.981	6.888	-2.659
DNAJC13	3.489	233.109	-6.062	YAP1	0.436	6.888	-2.659
ALG10B	0.218	71.488	-6.035	MRPL22	9.487	59.851	-2.657
AGAP5	15.157	978.747	-6.013	KLHDC3	319.715	2.015.326	-2.656
CRNK1	2.181	140.245	-6.007	DOM3Z	3.380	21.256	-2.653
TANC1	0.218	68.044	-5.964	ST7	81.455	512.293	-2.653
TNC	0.000	67.332	-5.948	ZNF34	10.250	64.244	-2.648
FAM108C1	2.072	118.870	-5.842	SNORA70B	15.375	96.070	-2.643
KIAA1958	0.654	61.513	-5.818	BCKDHB	42.745	266.003	-2.638
TPRKB	1.090	60.801	-5.801	COG1	6.215	38.594	-2.634
TGFB2	0.654	59.613	-5.773	DTWD1	2.181	13.538	-2.634
TMEM14A	1.199	65.313	-5.767	TBX19	0.109	6.769	-2.634
EXO1	0.436	57.832	-5.729	ZNF570	1.090	6.769	-2.634
MFSD6L	0.436	57.357	-5.717	LOC653513	0.000	6.769	-2.634
WT1	0.000	56.882	-5.705	MOV10	14.285	88.588	-2.633
LYSMD1	0.000	56.644	-5.699	SSBP1	55.503	344.141	-2.632
RRN3P1	0.872	56.407	-5.693	TBCCD1	13.848	85.857	-2.632
ATF7IP2	0.872	55.219	-5.662	TMEM131	12.213	75.407	-2.626
CXCL12	0.000	55.101	-5.659	RPP14	16.575	102.245	-2.625
ZBTB25	2.617	131.220	-5.648	SMCR8	29.987	184.777	-2.623
IGFBP4	0.872	54.626	-5.647	HIST1H3D	37.511	228.833	-2.609
NPHP3	1.090	53.319	-5.612	SORD	45.362	274.790	-2.599
PET117	0.000	52.844	-5.599	BLOC1S1	434.210	2.626.657	-2.597

PDGFRL	0.000	52.369	-5.586	FBXO42	38.165	230.615	-2.595
SNORA16A	5.125	244.152	-5.574	PSEN1	130.634	789.458	-2.595
CRABP1	0.218	51.894	-5.573	RNF5	97.812	590.550	-2.594
B3GALT6	7.524	356.016	-5.564	MAPK6	21.918	131.933	-2.590
UTP3	0.872	50.232	-5.526	C6orf106	33.803	202.589	-2.583
ALOX12	15.375	704.076	-5.517	LOC100216545	5.888	35.269	-2.582
MAP2K4	2.290	104.857	-5.517	SAMD1	3.380	20.069	-2.570
EGFR	0.000	49.519	-5.505	BTRC	41.764	247.834	-2.569
RAPGEFL1	0.109	49.044	-5.491	KIF22	19.737	117.089	-2.569
TAF1D	7.633	341.885	-5.485	ARFGAP2	47.652	282.034	-2.565
C16orf93	1.309	58.307	-5.478	ZNF410	7.088	41.800	-2.560
CYP21A1P	0.000	48.094	-5.463	LRRC45	2.072	12.113	-2.548
RAB3GAP1	1.854	81.463	-5.458	VAV1	9.923	57.951	-2.546
TWF1	9.269	407.198	-5.457	NDUFS6	2.508	14.606	-2.542
ATRN	0.654	47.619	-5.449	RPS27	3.309.570	19.250.633	-2.540
AGPAT6	2.399	99.870	-5.380	C7orf50	1.309	7.600	-2.538
FMR1	1.963	81.463	-5.375	GRK5	0.872	6.294	-2.529
MCM3	2.944	121.601	-5.368	POLK	2.181	12.588	-2.529
USP17L5	1.418	56.882	-5.326	FASTKD5	1.854	10.688	-2.527
CD300E	0.654	43.582	-5.321	RFX1	31.623	181.689	-2.522
MIB1	0.981	43.463	-5.317	LAMP2	328.220	1.882.206	-2.520
DGKE	0.109	42.988	-5.301	MINPP1	14.285	81.701	-2.516
HRAS	1.418	55.457	-5.290	ARL4A	12.213	69.826	-2.515
RPL9	37.729	1.465.746	-5.280	CLIC4	536.165	3.061.049	-2.513
FAM65C	0.436	42.157	-5.273	ZNF165	12.867	73.388	-2.512
HNRNPA0	1.745	66.501	-5.252	CYTH4	6.543	37.288	-2.511
GLOD4	0.763	41.444	-5.248	UBA52	178.177	1.014.847	-2.510
LOC440354	5.779	218.740	-5.242	TAF3	39.256	223.252	-2.508
PHF14	4.144	153.902	-5.215	CBWD6	0.327	6.175	-2.502
HIST1H4H	74.367	2.721.658	-5.194	ZNF510	0.981	6.175	-2.502
S100A6	2.399	87.282	-5.185	MGST3	4.471	25.294	-2.500
CRABP2	20.609	748.251	-5.182	WDR83OS	1.527	8.550	-2.486
C20orf72	0.654	38.594	-5.145	SNRPB	33.803	189.052	-2.484
CEP70	1.090	38.594	-5.145	VPS29	15.048	83.957	-2.480
PLEKHG1	0.436	38.475	-5.141	MBNL1	553.067	3.083.493	-2.479
ALKBH2	4.580	156.633	-5.096	MEST	29.660	165.183	-2.477
ZDHHC9	1.636	55.219	-5.077	AHI1	0.436	6.056	-2.474
EMR4P	0.000	36.219	-5.054	STX1A	0.436	6.056	-2.474
LIN52	6.215	206.271	-5.053	LSM14B	2.835	15.675	-2.467
HYMAI	0.436	35.982	-5.044	CXorf26	1.636	9.025	-2.464
RXRβ	4.144	135.139	-5.027	ITM2A	85.817	471.086	-2.457
SMUG1	6.652	216.008	-5.021	JAGN1	18.755	102.482	-2.450

PIR	0.981	35.388	-5.020	ERI3	35.112	191.664	-2.449
ZNF432	0.109	35.388	-5.020	ASRGL1	0.218	5.938	-2.445
CHAF1B	2.617	84.076	-5.006	CTNND1	0.763	5.938	-2.445
NT5DC3	1.854	59.138	-4.996	ZNF777	0.436	5.938	-2.445
LPHN1	1.854	58.663	-4.984	RTFDC1	34.021	184.896	-2.442
PRDX4	5.125	159.958	-4.964	PRKDC	4.253	23.038	-2.438
FAM105A	5.670	174.089	-4.940	RPL37A	21.372	115.189	-2.430
MLLT11	0.872	33.369	-4.936	PLVAP	21.045	112.932	-2.424
TRMT1L	2.617	76.119	-4.862	PPIL3	2.726	14.606	-2.422
CNOT10	12.540	363.972	-4.859	ESCO2	25.080	134.189	-2.420
ZDHHC23	0.872	31.588	-4.856	FLJ10038	27.806	148.795	-2.420
LRRC47	3.926	112.339	-4.839	PLK4	2.399	12.825	-2.418
CHD4	24.535	698.019	-4.830	CD69	162.365	861.896	-2.408
ZNF93	0.327	30.757	-4.818	SNORA68	15.702	83.363	-2.408
LEPROT	13.739	387.010	-4.816	ZNF408	1.636	8.669	-2.406
ZNF83	0.218	30.282	-4.795	PODXL2	1.963	10.331	-2.396
PLCG2	4.253	116.257	-4.773	ASH1L-AS1	176.214	926.853	-2.395
ASNA1	56.375	1.532.603	-4.765	ZC3H13	10.795	56.763	-2.395
CNRIP1	52.450	1.418.364	-4.757	PCGF6	4.253	22.325	-2.392
SETD6	0.000	29.450	-4.755	SYCE2	25.189	131.933	-2.389
TMEM55B	0.545	29.332	-4.749	HMBS	37.184	194.514	-2.387
CCDC159	41.873	1.121.961	-4.744	RPLP2	1.749.598	9.154.290	-2.387
SPTLC1	7.960	209.358	-4.717	CLIP4	0.000	5.700	-2.386
YBX2	0.000	28.619	-4.714	PLEC	0.981	5.700	-2.386
SNX6	8.069	209.715	-4.700	TRUB2	21.918	114.476	-2.385
FLJ25758	0.000	28.263	-4.696	MAST2	5.779	30.044	-2.378
ATP2C1	4.035	104.026	-4.688	HUWE1	5.997	31.113	-2.375
ZNF273	0.872	28.025	-4.684	SPTBN1	8.505	44.057	-2.373
ZNF445	5.561	141.195	-4.666	QSER1	32.931	168.745	-2.357
SPEN	4.144	104.857	-4.661	NR1H3	0.000	5.581	-2.356
SEPP1	0.109	27.432	-4.653	CREB3	23.990	122.670	-2.354
RAB27A	27.915	701.819	-4.652	NRIP3	26.279	134.308	-2.354
NUDT6	0.545	26.957	-4.628	MRPS21	5.452	27.788	-2.350
RAB3GAP2	7.197	177.770	-4.627	SSFA2	216.342	1.102.605	-2.350
PIWIL4	1.309	32.300	-4.626	FAM217B	16.684	84.788	-2.345
TBCK	0.327	26.482	-4.602	COX5A	70.660	358.866	-2.344
HSD17B8	0.000	26.244	-4.589	TDG	22.354	113.289	-2.341
CTDP1	1.745	41.800	-4.582	SNF8	3.380	17.100	-2.339
CEP68	7.088	169.220	-4.577	WHSC2	82.000	412.898	-2.332
ANGPT2	0.000	26.007	-4.576	GBF1	76.003	382.498	-2.331
ZXDA	0.000	26.007	-4.576	C7orf73	25.080	125.876	-2.327
MLLT10	11.450	270.634	-4.563	LOXL2	0.000	5.463	-2.325
MRPL42	2.399	56.288	-4.552	OLFML3	0.000	5.463	-2.325

CUBN	0.000	25.532	-4.549	PDCD2L	0.327	5.463	-2.325
ZNF766	0.763	25.532	-4.549	DPH3	2.944	14.606	-2.311
NOB1	8.178	189.289	-4.533	FRY	28.896	142.026	-2.297
MARCH3	25.080	578.793	-4.528	SCARNA17	4.362	21.375	-2.293
ACBD5	0.436	25.056	-4.522	TRUB1	1.963	9.619	-2.293
POLL	2.399	54.982	-4.518	KXD1	147.754	723.313	-2.291
USP35	0.109	24.700	-4.502	IGSF6	10.250	50.113	-2.290
NR2C1	2.835	63.888	-4.494	E2F2	6.543	31.825	-2.282
RTCA	1.745	39.069	-4.485	ETHE1	8.287	40.257	-2.280
NPR3	3.707	82.888	-4.483	ZNF341	1.199	5.819	-2.278
RBFA	0.654	24.344	-4.481	HAUS2	18.101	87.638	-2.275
TWISTNB	11.340	252.465	-4.477	METAP1	60.519	292.128	-2.271
BEND5	1.527	33.963	-4.476	WDR6	6.870	33.132	-2.270
TMEM251	1.090	24.225	-4.474	LMO4	33.149	159.245	-2.264
TMEM161B	0.000	23.750	-4.445	OSGEP	6.870	32.894	-2.260
PGGT1B	1.090	23.513	-4.430	PPP1R2	8.178	39.069	-2.256
DOCK11	25.189	539.843	-4.422	HIST1H3C	561.354	2.677.839	-2.254
PLCB3	2.726	57.951	-4.410	AMFR	28.569	136.208	-2.253
TRANK1	2.072	43.938	-4.406	LSM2	18.210	86.570	-2.249
VPS45	29.660	624.037	-4.395	FDFT1	63.354	300.797	-2.247
LAMTOR2	3.817	79.801	-4.386	WRAP53	12.213	57.832	-2.243
PRKCI	1.745	36.338	-4.380	CEP76	11.122	52.607	-2.242
SUMO4	0.218	22.681	-4.379	TJP2	25.734	121.126	-2.235
ZBTB8OS	3.380	70.301	-4.378	PPP2CB	48.742	228.358	-2.228
PPA2	12.867	265.646	-4.368	YIPF6	26.825	125.639	-2.228
KIFAP3	1.090	22.444	-4.363	C12orf45	0.763	5.106	-2.227
SLC35A1	2.181	44.769	-4.360	ESPN	0.218	5.106	-2.227
COL1A2	0.000	22.325	-4.356	TMEM55A	0.000	5.106	-2.227
CLEC9A	1.527	31.113	-4.349	PDE6D	18.755	87.757	-2.226
LOC606724	43.072	876.384	-4.347	POP7	6.106	28.500	-2.223
MSMP	0.109	22.088	-4.340	SLC25A35	9.596	44.769	-2.222
ERAP1	13.194	266.478	-4.336	HIST1H2B C	43.944	204.133	-2.216
ST8SIA6	0.000	21.850	-4.325	HSP90B1	90.506	419.548	-2.213
MRPL52	3.271	64.838	-4.309	SUMO3	47.652	220.758	-2.212
PDE3B	1.090	21.613	-4.309	PSMD6	40.128	185.727	-2.211
ITGB1BP1	7.306	143.926	-4.300	KAT2A	17.229	79.563	-2.207
NFE2	6.652	130.864	-4.298	TEN1	3.707	17.100	-2.206
MYO5A	5.561	108.657	-4.288	CDC6	4.253	19.594	-2.204
HIST1H2BL	22.572	439.617	-4.284	SNHG11	13.085	59.969	-2.196
ICAM5	0.000	20.900	-4.261	HSPA9	172.833	790.170	-2.193
TAX1BP1	0.109	20.781	-4.252	G3BP1	82.873	378.341	-2.191
NPM3	163.783	3.108.312	-4.246	NAP1L1	18.974	86.095	-2.182

RRAGD	3.817	72.438	-4.246	CD101	4.035	18.288	-2.180
SNX4	0.545	20.544	-4.236	IGBP1	157.458	708.588	-2.170
CNIH4	4.580	85.738	-4.227	ZXDC	72.950	328.228	-2.170
NEMF	11.231	209.715	-4.223	RBX1	4.253	19.119	-2.169
ALDH6A1	0.436	20.306	-4.219	SPIN4	16.029	71.844	-2.164
CPED1	1.090	20.306	-4.219	TXNDC12	32.822	147.014	-2.163
ZNF468	5.452	101.532	-4.219	SF3B14	61.937	277.165	-2.162
CCDC40	0.000	20.188	-4.211	CEP57	1.090	4.869	-2.159
OSBPL1A	0.000	20.069	-4.202	RPS20	679.121	3.032.192	-2.159
FLOT1	61.282	1.118.398	-4.190	TPRXL	0.000	4.869	-2.159
BCORL1	0.000	19.831	-4.185	COQ10B	29.005	129.439	-2.158
TAS2R60	0.109	19.831	-4.185	EXOSC8	35.221	156.870	-2.155
CDC16	12.213	219.215	-4.166	NCAPH	249.818	1.108.780	-2.150
SFMBT2	6.543	117.207	-4.163	NUMA1	261.268	1.158.536	-2.149
TMEM60	2.290	40.969	-4.161	NRAS	49.178	217.671	-2.146
C3orf33	0.872	19.475	-4.159	LINC00641	12.649	55.694	-2.139
CCDC15	0.000	19.475	-4.159	ATG2B	66.298	290.109	-2.130
MR1	4.907	87.163	-4.151	PTTG1	0.436	4.750	-2.123
LOC339807	0.000	19.119	-4.132	UGP2	45.471	198.077	-2.123
TBC1D1	16.247	282.390	-4.119	ZNF362	2.944	12.825	-2.123
ZNF195	4.798	82.888	-4.111	ZNF76	0.109	4.750	-2.123
ATXN1	8.832	152.358	-4.108	SPECC1L	23.880	103.432	-2.115
FAM100A	76.766	1.323.363	-4.108	IPO5	111.442	481.892	-2.112
MS4A1	14.176	244.271	-4.107	NDUFB5	19.083	82.176	-2.106
PTPN4	1.309	22.325	-4.093	GTF3C1	129.216	555.874	-2.105
EXOC5	2.181	37.169	-4.091	PGPEP1	4.253	18.288	-2.104
SLC16A13	3.380	57.476	-4.088	B4GALT3	46.234	198.552	-2.102
GIGYF2	0.763	18.169	-4.059	SPAG5	9.596	40.850	-2.090
RILP	15.157	251.277	-4.051	C21orf58	0.327	4.631	-2.087
SMARCB1	9.814	162.570	-4.050	CLEC12B	0.000	4.631	-2.087
PRKCH	0.981	17.813	-4.030	LSMD1	36.966	157.108	-2.087
TTC31	2.072	33.725	-4.025	TOR1B	75.785	321.697	-2.086
AZI2	1.527	24.819	-4.023	CDC23	64.554	273.721	-2.084
ZDHHC21	0.327	17.694	-4.020	SF3B2	23.880	101.176	-2.083
HIST1H2B B	2.835	45.957	-4.019	PRTN3	44.490	187.389	-2.074
METTL3	25.189	408.029	-4.018	MIER3	16.684	70.182	-2.073
PIGP	1.418	22.800	-4.008	ATP5G2	44.162	185.252	-2.069
RETSAT	2.399	38.594	-4.008	MTMR14	83.418	349.722	-2.068
CDKN3	7.633	122.670	-4.006	PEX13	162.147	679.732	-2.068
ZNF618	3.162	50.707	-4.003	ANO10	2.835	11.875	-2.066
NOL9	40.237	640.663	-3.993	TMEM41B	3.489	14.606	-2.066
PSMG1	37.075	589.718	-3.992	ITPK1	54.849	229.427	-2.065

C19orf60	0.218	17.338	-3.991	WDR82	143.610	599.218	-2.061
MRPL14	264.212	4.196.666	-3.989	FOXO3B	3.162	13.181	-2.059
HIRIP3	5.125	81.226	-3.986	FECH	53.867	223.965	-2.056
ZNHIT3	0.327	17.219	-3.981	UQCRHL	3.926	16.269	-2.051
DLC1	12.540	197.839	-3.980	ABO	0.436	4.513	-2.049
ZNF33B	2.399	37.644	-3.972	CDCA7	0.000	4.513	-2.049
BOD1	2.726	42.632	-3.967	FMO5	0.000	4.513	-2.049
ZNF789	2.617	40.613	-3.956	RPL34	1.090	4.513	-2.049
ACYP2	0.000	16.863	-3.951	SH3BGRL2	0.000	4.513	-2.049
KIAA0101	23.117	357.441	-3.951	LONP1	2.617	10.806	-2.046
WRAP73	2.181	33.725	-3.951	KIAA1467	28.024	115.307	-2.041
TAB3	17.556	269.090	-3.938	DDX19A	3.926	16.150	-2.041
PPIL1	4.144	63.294	-3.933	G3BP2	31.841	130.983	-2.040
FANCA	33.803	515.974	-3.932	ARL6IP5	51.905	213.158	-2.038
LARP1B	0.654	16.625	-3.930	HERPUD2	79.383	325.141	-2.034
ZNF43	0.109	16.625	-3.930	WRNIP1	128.126	523.574	-2.031
MSL1	4.035	61.276	-3.925	CCDC94	41.436	169.220	-2.030
PCID2	11.450	173.733	-3.924	INTS12	5.234	21.375	-2.030
STRN	46.670	704.432	-3.916	BAIAP2	19.192	78.138	-2.026
MCTP2	20.936	314.809	-3.910	TMEM33	27.806	113.051	-2.024
HDAC1	6.979	104.620	-3.906	ENTPD1	26.061	105.926	-2.023
RARS	8.396	125.401	-3.901	PIP5K1B	28.460	115.664	-2.023
TMEM62	2.181	32.300	-3.889	ARMC10	26.061	105.570	-2.018
TBPL1	16.902	249.734	-3.885	VCPIP1	16.466	66.382	-2.011
ELANE	3.598	53.082	-3.883	KANSL1L	33.040	132.883	-2.008
LOC646999	0.109	16.031	-3.878	C14orf1	9.596	38.475	-2.003
LOC100507547	0.436	15.913	-3.867	KDSR	54.194	216.602	-1.999
LOC399753	10.359	149.389	-3.850	CAST	46.234	184.658	-1.998
ATP5I	1.745	25.056	-3.844	FAM13B	23.444	93.220	-1.991
PARP2	0.000	15.556	-3.835	CCDC53	3.707	14.725	-1.990
SSR4P1	2.617	37.288	-3.833	USP6NL	53.213	211.021	-1.988
ZNF485	0.000	15.438	-3.823	ATP6V0B	47.543	188.102	-1.984
NDUFA13	16.793	237.621	-3.823	MSN	155.932	616.556	-1.983
FAM120B	3.707	52.013	-3.810	ADCK3	31.404	123.739	-1.978
CCDC6	27.479	384.516	-3.807	MAP3K8	20.827	82.057	-1.978
DPAGT1	86.253	1.205.562	-3.805	MAN1A1	55.503	218.502	-1.977
KCTD15	0.109	15.200	-3.801	CD83	67.389	265.053	-1.976
BAZ2B	4.907	68.044	-3.794	SDHB	14.612	57.476	-1.976
CALU	7.088	98.326	-3.794	PAPD7	131.833	517.161	-1.972
KATNBL1	3.162	43.819	-3.793	TACC1	73.822	289.634	-1.972
STAU1	8.832	121.957	-3.787	EEF1E1	0.109	4.275	-1.971
CALM3	42.854	590.193	-3.784	ALDH5A1	15.484	60.563	-1.968

CLOCK	37.184	511.818	-3.783	FBXW7	23.335	90.370	-1.953
RPAIN	13.303	182.996	-3.782	SDAD1	13.739	53.082	-1.950
TMEM120B	7.415	101.176	-3.770	AGTRAP	31.950	123.382	-1.949
ARG2	35.766	486.524	-3.766	TNFAIP1	127.035	489.492	-1.946
OSBPL2	31.841	430.117	-3.756	UTP20	2.835	10.925	-1.946
ARL1	0.872	14.725	-3.755	S100A4	32.277	124.214	-1.944
EBF1	8.614	116.139	-3.753	CPA3	47.216	181.214	-1.940
WDSUB1	9.269	124.807	-3.751	DUSP6	198.022	759.057	-1.939
B9D2	4.689	63.057	-3.749	TTI1	2.944	11.281	-1.938
MMACHC	15.266	204.846	-3.746	UBA3	91.923	351.028	-1.933
FLJ14186	0.654	14.606	-3.744	CEBPE	0.000	4.156	-1.930
ARHGEF18	12.758	170.052	-3.736	ERV3-1	0.981	4.156	-1.930
SCAMP5	4.907	65.194	-3.732	SGCB	0.000	4.156	-1.930
NMT1	5.561	73.863	-3.731	NPC2	38.492	146.301	-1.926
GCLC	5.670	74.932	-3.724	DDX17	67.171	253.059	-1.914
HDAC8	0.327	14.369	-3.720	FLJ43663	13.739	51.776	-1.914
RUNX2	0.654	14.369	-3.720	WWP2	23.553	88.707	-1.913
WDR54	13.739	180.146	-3.713	UBA1	313.935	1.181.812	-1.912
DUSP18	23.553	307.922	-3.709	RNASE3	5.779	21.731	-1.911
BCL2L13	0.109	14.250	-3.708	MT2A	6.870	25.769	-1.907
RPL39	14.285	186.558	-3.707	CDK2AP1	37.620	139.770	-1.893
PRKAB1	122.019	1.589.603	-3.703	C10orf131	0.000	4.038	-1.889
NSUN6	1.636	21.138	-3.692	TMA16	0.000	4.038	-1.889
NKTR	3.489	45.007	-3.689	NOPI4-AS1	0.000	4.038	-1.889
BOLA2B	43.835	563.593	-3.684	IL21R	1.418	5.225	-1.882
CRYAB	0.000	14.013	-3.684	MAP3K7	3.162	11.638	-1.880
ZNF526	2.072	26.482	-3.676	PTPLAD1	67.825	248.902	-1.876
HSH2D	10.686	136.089	-3.671	HIST1H2A E	72.187	264.459	-1.873
NAALADL 1	0.654	13.894	-3.671	PUM1	487.532	1.786.374	-1.873
UCA1	0.436	13.894	-3.671	TAF2	83.418	305.547	-1.873
H2AFV	93.123	1.181.930	-3.666	EPCAM	7.851	28.738	-1.872
PPHLN1	2.835	35.982	-3.666	TBK1	52.995	193.446	-1.868
XRN1	2.072	26.244	-3.663	RBM19	8.832	32.182	-1.865
POLE4	1.309	16.506	-3.657	STK4	4.471	16.269	-1.864
LGALS2	13.848	172.664	-3.640	SPPL3	53.431	194.396	-1.863
MZT2B	8.287	102.720	-3.632	C5orf30	45.253	164.233	-1.860
TMCO1	25.625	316.591	-3.627	HTT	9.705	35.150	-1.857
GRAPL	0.218	13.419	-3.621	XYLB	2.399	8.669	-1.853
HDHD2	3.817	46.907	-3.619	SMAD3	11.340	40.850	-1.849
MTERFD2	2.399	29.213	-3.606	TMEM9B	18.210	65.551	-1.848
HIST1H4A	1.527	18.406	-3.592	PRKG2	0.000	3.919	-1.846
CCP110	15.811	189.408	-3.582	YIPF5	0.981	3.919	-1.846

PFKP	17.556	209.833	-3.579	CPNE8	11.559	41.444	-1.842
ALG11	0.000	12.944	-3.569	PPFIA1	38.819	138.939	-1.840
LY6G6C	3.271	38.832	-3.569	CEPT1	15.702	56.169	-1.839
MIR31HG	0.000	12.944	-3.569	ADSL	143.392	510.393	-1.832
SDCCAG8	27.479	324.547	-3.562	KIAA0100	65.753	233.940	-1.831
INPP5K	21.591	253.534	-3.554	PSIMCT-1	64.335	228.715	-1.830
SNAPIN	11.231	131.576	-3.550	MRPS9	17.011	60.444	-1.829
RHOA	3.817	44.650	-3.548	MPHOSPH9	3.380	11.994	-1.827
MIS18BP1	2.399	28.025	-3.546	RPS19	571.932	2.017.701	-1.819
TAF11	2.290	26.600	-3.538	RFXANK	20.936	73.151	-1.805
BTK	6.761	78.495	-3.537	SARS2	20.500	71.488	-1.802
HNRNPF	7.960	91.913	-3.529	YY1	477.173	1.663.704	-1.802
TEAD1	0.327	12.588	-3.529	CALCOCO 1	0.436	3.800	-1.801
DNAJB9	26.607	304.953	-3.519	CLDN22	0.000	3.800	-1.801
TGS1	5.452	62.463	-3.518	PSTK	0.218	3.800	-1.801
CSRNP2	0.327	12.469	-3.515	NSD1	11.559	40.257	-1.800
ZNF835	0.109	12.469	-3.515	CHD2	67.825	235.959	-1.799
ACTR10	43.399	495.192	-3.512	LOC440173	4.035	14.013	-1.796
LINC00515	7.197	81.938	-3.509	CCDC132	13.412	46.550	-1.795
HIST1H2AI	163.892	1.864.750	-3.508	ZC3H7B	1.854	6.413	-1.790
ITGB1	20.391	229.546	-3.493	UBAC2	8.942	30.875	-1.788
PHAX	0.981	12.231	-3.488	HOXA7	13.848	47.738	-1.785
VPS54	1.090	12.113	-3.474	GBGT1	3.380	11.638	-1.784
PWP1	5.125	56.644	-3.466	USP11	184.501	633.062	-1.779
GLT1D1	0.218	11.994	-3.459	MRPL3	542.054	1.836.131	-1.760
TTC24	0.000	11.994	-3.459	PTPN7	31.841	107.589	-1.757
GATC	30.532	335.235	-3.457	C19orf44	0.109	3.681	-1.755
PCYT1B	1.527	16.744	-3.455	GPC2	0.000	3.681	-1.755
ME3	1.963	21.494	-3.453	RRN3	0.436	3.681	-1.755
DAB2	23.553	256.859	-3.447	BCL7B	46.452	156.633	-1.754
GUSBP2	0.872	11.875	-3.445	STIL	85.054	286.072	-1.750
MITF	21.154	229.546	-3.440	CHRM4	2.835	9.500	-1.745
C16orf62	101.083	1.091.442	-3.433	TMOD3	23.117	77.426	-1.744
C12orf65	58.338	629.619	-3.432	PPP5C	31.186	104.145	-1.740
CRSP8P	0.218	11.756	-3.430	INO80	118.857	396.866	-1.739
HIST2H2A B	245.020	2.640.907	-3.430	C2orf47	88.979	295.928	-1.734
BRCA1	55.939	599.931	-3.423	NCKAP1L	198.241	658.356	-1.732
ERI2	0.000	11.638	-3.416	CCNL1	426.141	1.412.664	-1.729
C4orf27	4.035	42.988	-3.413	LOC595101	7.524	24.938	-1.729
PPP1R8	11.013	116.614	-3.404	ACOT2	2.944	9.738	-1.726
ESF1	0.109	11.519	-3.401	ISOC1	23.117	76.357	-1.724
DDX26B	79.602	834.583	-3.390	NUP160	8.178	26.957	-1.721



GNL1	28.678	299.965	-3.387	DRG1	53.431	175.633	-1.717
TMEM203	8.178	85.501	-3.386	HIST1H2B D	813.898	2.667.151	-1.712
NEIL1	1.309	13.656	-3.384	HIST1H2BF	264.757	867.002	-1.711
LTBP1	4.253	44.175	-3.377	DENND5B	0.000	3.563	-1.708
BTAF1	88.761	921.272	-3.376	ISCA1	2.072	6.769	-1.708
MZB1	2.508	26.007	-3.374	LOC100506 730	0.327	3.563	-1.708
ZNF776	15.593	161.620	-3.374	LOC729013	0.109	3.563	-1.708
PGS1	2.290	23.631	-3.367	RAD50	0.763	3.563	-1.708
ASNSD1	1.418	14.606	-3.365	SIRT1	8.614	28.144	-1.708
GSK3B	6.325	64.957	-3.360	UXT	165.855	540.793	-1.705
RCHY1	0.545	11.163	-3.356	SETDB1	4.798	15.556	-1.697
RSRC1	0.763	11.163	-3.356	ETV6	183.520	594.706	-1.696
LCLAT1	15.375	156.870	-3.351	C17orf49	364.313	1.179.793	-1.695
DHX40	11.668	118.870	-3.349	LASP1	125.727	406.604	-1.693
ID3	2.508	25.532	-3.348	ADH5	9.487	30.638	-1.691
RALGAPB	27.479	278.709	-3.342	PLXNC1	59.974	192.852	-1.685
RABL3	0.654	11.044	-3.340	C11orf10	4.362	14.013	-1.684
LOC100506 844	43.072	433.561	-3.331	RBBP5	12.758	40.969	-1.683
HDGFRP3	41.000	409.810	-3.321	DR1	32.604	104.382	-1.679
COBRA1	119.948	1.196.299	-3.318	LMNB1	3.707	11.875	-1.679
ATXN7L3	15.266	151.170	-3.308	HAUS4	22.899	73.151	-1.676
RP9	7.197	70.419	-3.291	KIAA0226	209.690	670.113	-1.676
METTL17	14.721	143.926	-3.289	LRP5L	1.418	4.513	-1.671
TPMT	0.872	10.569	-3.277	BCAP29	1.309	4.156	-1.667
NCOA7	27.806	269.328	-3.276	HIST1H1C	123.546	392.235	-1.667
XRCC4	4.907	46.669	-3.250	KAT6A	96.830	307.566	-1.667
POLR2D	92.687	880.896	-3.249	MRPS35	30.750	97.613	-1.666
EMB	0.763	10.331	-3.244	DTD2	0.109	3.444	-1.659
ZNRF2	19.519	184.777	-3.243	MYH10	10.904	34.438	-1.659
MCFD2	11.995	112.814	-3.233	PRRG4	0.763	3.444	-1.659
ZBED5	35.221	330.841	-3.232	SLC7A3	0.218	3.444	-1.659
PAK2	57.139	535.924	-3.229	SQRDL	0.654	3.444	-1.659
BECN1	24.317	227.765	-3.228	THOC7	0.872	3.444	-1.659
FKBP15	28.787	268.971	-3.224	UBXN10	0.000	3.444	-1.659
BRCA2	9.160	85.263	-3.219	TMEM245	90.615	285.834	-1.657
SLC11A2	26.716	248.665	-3.218	USP8	41.000	129.320	-1.657
CYP21A2	0.000	10.094	-3.211	CD52	14.503	45.719	-1.656
NID2	0.000	10.094	-3.211	SEC24C	15.484	48.807	-1.656
SEMA7A	12.976	119.464	-3.203	NOL6	4.907	15.438	-1.654
CTU2	0.327	9.856	-3.176	TTC21B	8.614	27.075	-1.652
KLHDC5	6.652	60.088	-3.175	ATPIF1	22.681	71.132	-1.649
TEFM	4.035	36.338	-3.171	NFRKB	29.987	94.051	-1.649

RNF7	90.506	813.802	-3.169	CCDC88C	6.215	19.475	-1.648
SMG9	34.894	312.078	-3.161	THUMPD2	18.319	57.357	-1.647
MIOS	25.843	230.852	-3.159	DHFR	43.944	137.039	-1.641
ARL6IP6	23.771	211.971	-3.157	GTF3A	188.863	588.768	-1.640
CA5B	3.817	33.963	-3.154	HIAT1	46.234	143.808	-1.637
TCEB1	22.027	195.464	-3.150	CCT8	54.849	170.289	-1.634
NOTCH2NL	406.840	3.584.385	-3.139	PCIF1	221.358	686.619	-1.633
RPL36	609.115	5.359.953	-3.137	TP53	63.354	196.533	-1.633
SLC35B1	83.309	729.845	-3.131	CAD	9.160	28.382	-1.632
LIN37	62.918	548.987	-3.125	FOXJ3	64.008	197.958	-1.629
TXNDC17	3.489	30.400	-3.123	BAG4	75.240	232.515	-1.628
PIGS	96.176	836.958	-3.121	MRPL11	167.927	518.943	-1.628
EXOSC9	22.027	191.308	-3.119	EGFL7	6.434	19.831	-1.624
SYNCRIP	26.934	233.346	-3.115	HIST1H2AH	255.270	786.370	-1.623
ATP5G3	30.859	266.478	-3.110	SMEK1	205.437	632.706	-1.623
HIVEP1	22.245	191.783	-3.108	ARHGAP35	85.381	262.796	-1.622
BBS1	0.654	9.381	-3.105	SUV420H1	26.170	80.513	-1.621
DSCR3	4.689	40.019	-3.093	RNASEK	161.602	496.142	-1.618
UBA2	18.864	160.195	-3.086	SLAIN2	37.947	116.257	-1.615
SNHG8	1.854	15.675	-3.080	MALAT1	192.134	587.937	-1.614
MAML3	2.181	18.406	-3.077	AZU1	18.101	55.338	-1.612
AAGAB	13.521	113.526	-3.070	AREG	214.270	654.200	-1.610
ARSB	37.620	315.997	-3.070	SUZ12	46.016	140.483	-1.610
GRAMD1A	0.981	9.144	-3.068	CEP57L1	0.000	3.325	-1.608
SNORA63	64.663	541.505	-3.066	GPR146	0.109	3.325	-1.608
GOSR2	10.577	88.232	-3.060	HERC6	0.000	3.325	-1.608
KIAA0825	4.798	39.900	-3.056	LOC389765	0.000	3.325	-1.608
POC1B	15.375	127.658	-3.054	STAG3	0.000	3.325	-1.608
NTMT1	2.290	19.000	-3.053	TARBP2	0.000	3.325	-1.608
NUDCD3	7.306	60.563	-3.051	THAP5	0.109	3.325	-1.608
SUPT3H	4.580	37.882	-3.048	MTCH2	93.341	283.934	-1.605
ZNF124	2.290	18.881	-3.044	CYP51A1	44.381	134.901	-1.604
ATP5E	3.271	26.719	-3.030	RPRD1B	35.875	109.014	-1.603
BTBD6	0.981	8.906	-3.030	TOPBP1	14.939	45.363	-1.602
BID	1.090	8.906	-3.030	PCYT1A	21.263	64.482	-1.601
HERC2	17.556	143.214	-3.028	TMEM161A	3.053	9.263	-1.601
CALM2	12.867	104.620	-3.023	BCL7C	4.907	14.844	-1.597
HACL1	4.689	38.119	-3.023	UBE2L3	111.660	337.253	-1.595
VSTM1	7.306	58.782	-3.008	ZNF367	27.043	81.701	-1.595
GPN3	6.106	48.925	-3.002	PPM1B	1.418	4.275	-1.593
KIAA1737	2.181	17.456	-3.001	PRKCSH	136.086	410.642	-1.593
SNAPC3	5.452	43.582	-2.999	RC3H1	189.517	570.837	-1.591

GGCX	6.652	53.082	-2.996	RPL6	3.226.916	9.724.414	-1.591
DCAF17	0.545	8.669	-2.991	MRPL17	34.349	103.432	-1.590
VPS13A	0.000	8.669	-2.991	LRRC8B	14.285	42.988	-1.589
HPS3	12.976	102.601	-2.983	NUPL2	9.487	28.500	-1.587
PAN3	19.519	154.020	-2.980	SUV420H2	1.309	3.919	-1.582
PEMT	15.702	123.857	-2.980	DEK	2.072	6.175	-1.576
PUS3	17.774	139.414	-2.972	REPS1	45.580	135.733	-1.574
SMPDL3A	0.000	8.550	-2.971	FAM129B	16.902	50.232	-1.571
TUBGCP2	4.907	38.475	-2.971	MS4A3	8.723	25.888	-1.569
PTAR1	17.556	137.514	-2.970	SDF4	20.718	61.276	-1.564
SPARC	100.974	790.527	-2.969	CALM1	102.173	301.984	-1.563
LILRA1	5.561	43.463	-2.966	MED1	49.942	147.014	-1.558
FEZ2	3.926	30.400	-2.953	CA5BP1	38.383	112.932	-1.557
MMP11	0.000	8.431	-2.951	CD200R1	0.000	3.206	-1.556
WDR5	114.059	881.727	-2.951	HES1	0.545	3.206	-1.556
LOC100294 145	0.436	8.431	-2.951	PILRA	23.990	70.538	-1.556
KTI12	20.609	158.533	-2.943	PVRL1	0.000	3.206	-1.556
ZNF414	4.144	31.707	-2.936	VEGFC	0.000	3.206	-1.556
ZNF8	11.122	84.670	-2.928	ZNF502	0.000	3.206	-1.556
EDF1	82.000	622.494	-2.924	CCNT2	29.005	85.145	-1.554
USP34	2.617	19.831	-2.922	OR2W3	2.726	7.956	-1.545
SMARCA5	27.588	208.527	-2.918	PTDSS1	51.250	149.508	-1.545
MDC1	15.484	115.782	-2.903	TRPS1	31.295	91.320	-1.545
CNST	25.407	189.527	-2.899	MPL	69.570	202.827	-1.544
NDUFAF6	2.072	15.438	-2.897	ZNF295	32.713	95.357	-1.543
KLC2	34.240	255.078	-2.897	SCARNA2	2.944	8.550	-1.538
CHRAC1	301.177	2.241.547	-2.896	PSMB1	32.168	93.338	-1.537
COL4A3BP	5.779	42.988	-2.895	LDB1	557.102	1.612.760	-1.534
DDX27	11.450	85.145	-2.895	MRPL45	12.758	36.932	-1.533
MZT1	5.343	39.663	-2.892	ATXN1L	72.514	209.358	-1.530
XRCC6BP1	11.886	88.113	-2.890	PPA1	195.733	564.899	-1.529
EXO2	0.327	8.075	-2.889	CA13	3.053	8.788	-1.525
RPL22L1	8.614	63.532	-2.883	NDUFAF3	160.948	462.298	-1.522
HIST1H4D	266.611	1.961.532	-2.879	HEXIM1	33.149	95.001	-1.519
KDM2A	159.748	1.174.687	-2.878	PQBP1	2.072	5.938	-1.519
PRKRA	49.833	364.804	-2.872	SYPL1	153.315	439.498	-1.519
HM13	0.109	7.956	-2.867	STK17B	42.200	120.889	-1.518
RPL37	1.090	7.956	-2.867	MYB	23.553	67.332	-1.515
ICK	287.983	2.077.552	-2.851	MAPK7	20.391	58.188	-1.513
PRMT6	3.707	26.719	-2.849	MTFP1	4.580	13.063	-1.512
SCAF11	73.059	525.593	-2.847	GRAMD1B	3.926	11.163	-1.508
ERG	3.817	27.432	-2.846	ZNF496	23.335	66.144	-1.503

NSRP1	0.327	7.838	-2.846	ANKRD20 A4	0.109	3.088	-1.502
CHUK	6.870	49.163	-2.839	NFX1	0.000	3.088	-1.502
CCS	25.625	183.233	-2.838	NPHP4	0.763	3.088	-1.502
HIST1H2A D	41.655	296.878	-2.833	PDCD5	0.000	3.088	-1.502
RPL7L1	63.027	445.792	-2.822	PSD4	0.109	3.088	-1.502
IKBKAP	14.285	100.938	-2.821	RPS4X	5.559.786	15.752.46 1	-1.502
EEFSEC	9.487	66.857	-2.817	SCARNA12	43.944	124.451	-1.502
EIF4G1	251.781	1.774.142	-2.817	SAT1	152.988	432.967	-1.501

## 9. ÖZGEÇMİŞ

**Beren KARAOSMANOĞLU**

---

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 22.08.1990

Uyruğu : T.C.

Kurum : Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A. D., Sıhhiye,  
ANKARA

Pozisyon : Öğretim Görevlisi

Telefon : 0538 638 1615

### EĞİTİM

---

Doktora (2014-2018) : Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kök  
Hücre Bilimleri

Doktora Tez Başlığı: Mezenkimal Kök Hücrelerin Diamond Blackfan  
Anemisi Hastalığındaki Rolünün Araştırılması (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi  
Ekim Z. Taşkiran)

Yüksek Lisans (2011-2013) : Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji  
Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tez Başlığı: Nörofibromatozis Tip 1 ile İlişkili Tümörlerde C-  
X-C Kemokin Reseptör Tip 4 Gen İfade Düzeyinin Belirlenmesi (Danışman:  
Prof. Dr. Şükriye Ayter)

Lisans (2007-2011) : Bilkent Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler  
Biyoloji ve Genetik Bölümü

Lise (2004-2007) : TED Ankara Koleji (1 yıl IB (Uluslararası Bakalorya)  
Programı)

## STAJLAR (Yurtdışı-Yurtiçi)

---

Haziran – Ağustos 2014 : Alabama Üniversitesi, Kök Hücre Enstitüsü (Tim Townes Labı) Birmingham, ABD

Hastalıkların *in vitro* modellenmesi için kullanılabilen bir yöntem olan indüklenmiş pluripotent kök hücre üretimi konusunda sürecin tamamının gözlemlenmesi ve bireysel olarak gerçekleştirilmesi.

Haziran – Ağustos 2010 : Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Temel moleküler laboratuvar tekniklerinin uygulanması.

## PROJE DENEYİMLERİ

---

- Avrupa Diamond-Blackfan Anemi Konsorsiyumu (EuroDBA) (Avrupa Birliği Projesi (E-Rare), TÜBİTAK 1001, 315S192) (Bursiyer)
- Neonatal Kolestatik Hastalıkların Moleküler Genetik Analizi (Hacettepe Üniversitesi, Altyapı Projesi, TSA-2017-15482) (Araştırmacı)
- Pediatrik Rabdomiyosarkom Alt Tiplerinde Moleküler Patolojik Belirteçlerin Analizi (Hacettepe Üniversitesi, Altyapı Projesi, TSA-2017-15478) (Araştırmacı)
- Endokannabinoidler ve Reseptörlerinin İnsan Hematopoetik Kök Hücreleri ve Kemik İliği Kaynaklı Mezenkimal Kök Hücrelerindeki Varlığı ve Düzeyinin Araştırılması (TÜBİTAK 1001, 113S819) (Bursiyer)
- Nörofibromatozis Tip1 ile ilişkili tümörlerde Koronin-1A ifadesinin belirlenmesi ve p53 ile ilişkilendirilmesi (TÜBİTAK 1001, 111S262) (Bursiyer)

## ARAŞTIRMA DENEYİMİ

---

- Kalıtsal hastalıklarda *in vitro* modellerin oluşturulması
- Kök hücre araŐtırmaları
- Transkriptom analizleri
- İndüklenmiş pluripotent kök hücre (iPS) retimi

## YAYINLAR

---

- **Karaosmanoğlu B**, Kocafee Y, Söylemezoğlu F, Anlar B, Varan A, Vargel İ, Ayter S. Heightened CXCR4 and CXCL12 expression in NF1-associated neurofibromas. *Childs Nerv Syst.* 2018 May;34(5):877-882. doi: 10.1007/s00381-018-3745-6.
- Taskiran EZ, **Karaosmanoğlu B**, KoŐukcu C, Doğan A, Taylan-Őekerođlu H, Şimşek-Kiper P, Utine EG, Boduroğlu K, AlikaoŐifođlu M. Homozygous indel mutation in CDH11 as the probable cause of Elshay-Waters syndrome. *Am J Med Genet A.* 2017 Oct 8. doi: 10.1002/ajmg.a.38495.
- Utine GE, Taşkiran EZ, KoŐukcu C, **Karaosmanoğlu B**, Gleray N, Doğan A, Kiper P, Boduroğlu K, AlikaoŐifođlu M. HERC1 mutations in idiopathic intellectual disability. *Eur J Med Genet.* 2017 Mar 18. pii: S1769-7212(16)30281-6. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.03.007.
- Kse S, Aerts-Kaya F, Kpr Z, Nemutlu E, KuŐkonmaz B, **Karaosmanoğlu B**, Taşkiran EZ, UÇkan-Çetinkaya D, Altun B. Bone Marrow Human Mesenchymal Stem Cells Secrete Endocannabinoids That Stimulate In Vitro Hematopoietic Stem Cell Migration Effectively Comparable To Beta Adrenergic Stimulation. *Experimental Hematology.* 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2017.09.009>

## POSTER SUNUMLARI

---

- S Kose, ZC Kopru, **B Karaosmanoglu**, EZ Taskiran, F Aerts Kaya, E Nemutlu, B Altun, FD Uckan, P Korkusuz. P025 Mesenchymal stem cells regulate the hematopoietic stem cell mobilization through the endocannabinoids. (Changing the Face of Modern Medicine: Stem Cells and Gene Therapy, Floransa, İtalya. 18-21 Ekim, 2016)
- Akar Soycan I, **Karaosmanoglu B**, Cetin M, Uckan Cetinkaya D, Taskiran E, Ayter S, Vargel I, Evans S, Varan A, Anlar B. Role of Mesenchymal Stem/Stromal Cells as a Mesodermal Component in NF Tissues. (17th European Neurofibromatosis Meeting, Padova, İtalya. 8-11 Eylül, 2016)
- Varan A, Akar Soycan I, **Karaosmanoglu B**, Cetin M, Uckan Cetinkaya D, Taskiran E, Ayter S, Vargel I, Evans S, Anlar B. Mesenchymal Stem/Stromal Cells in NF1 Migrate Faster. (17th European Neurofibromatosis Meeting, Padova, İtalya. 8-11 Eylül, 2016)
- **Karaosmanoglu B**, Kocaefe CY, Soylemezoglu F, Ayter S. CXCR4 and CXCL12 Expression Levels in NF1 Associated Tumors. (16th European Neurofibromatosis Meeting, Barselona, İspanya. 4-7 Eylül, 2014)
- **Karaosmanoglu B**, Kocaefe CY, Soylemezoglu F, Ayter S. Detection of the Expression Level of CXCR4 in NF 1 Associated Tumors. (Uluslar Arası Katılımlı Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, Aydın-Türkiye. 27-30 Ekim 2013)
- Ayter S, **Karaosmanoglu B**, Kocaefe CY, Anlar B, Varan A. Detection of the Expression Level of CXCR4 in NF 1 Associated Tumors. (Children's Tumor Foundation NF Conference, Monterey, ABD. 9-12 Haziran 2012)



## KATILINAN SEMİNER VE SUNUMLAR

---

26-29 Ekim 2017

Liberty Hotels Lykia World Resort Hotel, Fethiye, Türkiye.

‘15. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)’

7 Ekim 2016 (**Veri sunumu**)

Rangueil Paul Sabatier Üniversitesi, Toulouse, Fransa.

‘EuroDBA Consortium Meeting’

24 Şubat 2016 (**Verilen seminer**)

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Ribozom Biyogenezi ve Ribozomopatiler’

21 Kasım 2015

Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Kök Hücre Günü’

28 Mayıs 2015 (**Verilen seminer**)

Kök Hücre Bilimleri, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Kalıtsal İskelet Hastalıkları’

27-30 Ekim 2015

Liberty Hotels Lykia World Resort Hotel, Fethiye, Türkiye.

‘14. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)’

21 Ekim 2015

Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘TÜBA-Kök Hücre Tedavilerine Güncel Yaklaşımlar Sempozyumu’

19 Kasım 2014

Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Kök Hücre Günü’

4-7 Eylül 2014 (**Poster sunumu**)

AXA Kongre Merkezi, Barselona, İspanya.

‘16th European Neurofibromatosis Meeting’

27-30 Ekim 2013 (**Poster sunumu**)

Pine Bay Hotel Kuşadası, Aydın, Türkiye.

‘13. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı)’

6-9 Eylül 2012

Lütfi Kırdar Uluslararası Kongre ve Sergi Sarayı, İstanbul, Türkiye.

‘15th European Neurofibromatosis Meeting’

29 Mayıs 2012

JW Marriott Hotel, Ankara, Türkiye.

‘QIAGEN SABioscience PCR Array Seminar’

18 Mayıs 2012 (**Verilen seminer**)

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Tümör Gelişiminde Tümör Mikroçevresinin Rolü’

30 Eylül 2010

Rixos Grans Hotel, Ankara, Türkiye.

‘10. Türkiye Eczacılık Kongresi – Özel Başlık: Pharmacogenomics’

(Konuşmacı: Dr. Gregory Stock (The Genetic Counselor of Barrack Obama))

1-2 Mayıs 2008

Bilkent Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

‘Horizons of Molecular Biology and Genetics’