

***Drosophila melanogaster'* DE *lim homeobox 1* GENİNİN
FENOTİPİK İFADESİNİ ETKİLEYEN GENOMİK
VARYANTLARIN SAPTANMASI**

**DETERMINATION OF GENOMIC VARIANTS AFFECTING
THE PHENOTYPIC EXPRESSION OF THE GENE *lim*
homeobox 1 IN *Drosophila melanogaster***

MEMET GÖZÜBÖYÜK

PROF. DR. ERGİ DENİZ ÖZSOY
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2019

Memet Gözübüyük'ün hazırladığı "*Drosophila melanogaster*'DE *lim homeobox 1* GENİNİN FENOTİPİK İFADESİNİ ETKİLEYEN GENOMİK VARYANTLARIN SAPTANMASI" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ayşe Nurten AKARSU

Başkan

Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

Danışman

Doç. Dr. Efe SEZGİN

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Didem YÜCEL YILMAZ

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Çağatay TARHAN

Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak/...../..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimler Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA 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 kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak 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 haricinde 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.
- Enstitü/Fakülte yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir.
- Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmiştir.


10/01/2019
Memet GÖZÜBÖYÜK

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite ve başka bir üniversitede tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.



10/01/2019

Memet GÖZÜBÖYÜK

ÖZET

***Drosophila melanogaster'* DE *lim homeobox 1* GENİNİN FENOTİPİK İFADESİNİ ETKİLEYEN GENOMİK VARYANTLARIN SAPTANMASI**

Memet GÖZÜBÖYÜK

YÜKSEK LİSANS, BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

Ocak 2019, 105 sayfa

Bu tez çalışmasında bacak gelişiminde önemli rolü olduğu bilinen *lim1* homeobox geninin ifadesini etkileyen genlerin saptanması hedeflenmektedir. Bacak gelişiminde etkisi olduğu bilinen homeobox genlerinden *lim1* geni, yalnızca tarsal segment oluşumu açısından ele alınmıştır. Bu tez kapsamında *lim1* geni bacak gelişimi sürecinde femur uzunluğuna olan etkisi açısından ilk defa çalışılmıştır. 122 DGRP soyu, *lim1* genine ait homozigot mutant alele sahip mutant soy ve bu soyun yaratıldığı kontrol soyu deneyler süresince kullanılmıştır. Kontrol soyuna ve mutant soyuna ait femur uzunlukları, incelendiğinde femur uzunlukları arasındaki farkın hem genotipe hem de eşeye bağlı olduğu görülmüştür. Gerçekleştirilen çaprazlar sonucunda elde edilen F₁ dölüne ait bireylerden yalnızca dişi bireyler analiz edilmiştir. Çaprazlardan elde edilen F₁ bireylerine ait femur uzunlukları varyans analizi ile incelendiğinde, ortaya çıkan farklılıkların Soy, Genotip ve Genotip x Soy etkileşim terimleriyle ilişkili olduğu ve ilişkilendirme istatistiksel olarak yüksek anlamlılıkta olduğu görülmüştür (p<0,001). Genom boyu ilişkilendirme çalışmasında (GWAS) DGRP x Kontrol Soyu femur uzunluğu ortalamalarından, DGRP x Mutant Soyu'na ait femur uzunluğu ortalama farkları alınarak elde edilen sonuçlar GWAS girdisi olarak kullanılmıştır. GWAS her üç bacak için de bu şekilde gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen üç GWAS sonucunda toplamda 54 varyant tespit

edilmiştir. Bu varyantlardan 21 tanesi *Drosophila* genleri olarak belirlenmiş ve bu genlerle ortoloji gösteren 53 insan geni ile ilişki kurulmuştur. Elde edilen bu genlerin, hücre hareketliliği, hücre farklılaşması ve metabolik yollarla ilgili önemli genler olduğu görülmüştür. İlk defa bu tez kapsamında bacak gelişiminde etkisi olduğu düşünülen 20 adet *Drosophila* geni aday gen olarak literatüre kazandırılmıştır. Tespit edilen aday genler arasında bulunan *gce* geni, önceki çalışmalarda sadece juvenil hormon aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen üç GWAS sonucunda da bacak gelişimi ile ilişkisi ortaya konmuştur. *CG44153*, *Cp1*, *Doc1* ve *Egfr* genleri görev aldıkları gelişim aşamaları ile ilişkili olarak incelendiği zaman bu genlere ait insan ortologlarının farklı kanser türleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak sunulan bu tez ile, gelişim biyolojisi literatürüne önemli katkılar sağlanacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Homeobox, *lim1*, Bacak gelişimi, *Drosophila melanogaster*, Gelişim Genetiği, Genom Boyu İlişkilendirme (GWA)

ABSTRACT

DETERMINATION OF GENOMIC VARIANTS AFFECTING THE PHENOTYPIC EXPRESSION OF THE GENE *lim homeobox 1* IN *Drosophila melanogaster*

Memet GÖZÜBÖYÜK

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

January 2019, 105 pages

In this thesis, it is aimed to determine the genes that affect the expression of *lim1* homeobox gene which is known to have an important role in leg development. The *lim1* gene from homeobox genes, which is known to have an effect on the leg development, has been studied only in terms of the formation of tarsal segments. *lim1* gene was studied for the first time in terms of the effect on femur length during the leg development process. One hundred and twenty two DGRP strains, the mutant strain having the homozygous mutant allele of the *lim1* gene and the control strain from which this strain was created were used during the experiments. The femoral lengths of the control strain and the mutant strain were examined, and the difference between the femur lengths was found to be dependent on both genotype and sex. Only female individuals from the F₁ progeny obtained as a result of the crosses were analyzed. When the femur lengths of the F₁ individuals obtained from the crosses were analyzed by the analysis of variance, it was seen that the resulting differences were related to Strain, Genotype and Genotype x Strain interaction terms and the correlation was statistically significant ($p < 0.001$). In the genome wide association study, DGRP x Control mean femoral length averages,

DGRP x Mutant femur length mean differences were obtained and the results were used as GWAS input. GWAS was performed in all three legs in this way. A total of 54 variants were identified in the three GWAS results. Twenty-two of these variants were identified as *Drosophila* genes and were associated with 53 human genes showing orthology with these genes. These genes have been found to be important genes for cell mobility, cell differentiation and metabolic pathways. For the first time in this thesis, 20 *Drosophila* genes, which are thought to have an effect on leg development, were introduced into the literature as a candidate gene. The *gce* gene found among the identified candidate genes has been associated with juvenile hormone activation only in previous studies. As a result of the three GWAS performed in the scope of this study, the related with the leg development was revealed. When *CG44153*, *Cp1*, *Doc1* and *Egfr* genes were examined in relation to their developmental stages, human orthologs of these genes were found to be related to different types of cancer. As a result, it is thought that this thesis will make significant contributions to the literature of developmental biology.

Key Words: Homeobox, *lim1*, Leg development, *Drosophila melanogaster*, Development Genetic, Genom Wide Association (GWA)

TEŞEKKÜR

Lisans döneminden başlayarak bana entelektüel anlamda ve bilimsel etik anlamında kattıklarının yanı sıra, her zaman yanımda olduğunu bildiğim değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY'a çok teşekkür ederim.

Tez kapsamında gerçekleştirdiğim deneyler başladığı günden itibaren gün içinde en az elli defa benim ilginç sorularıma maruz kalan ve bu durumdan şikayet etmeyen değerli hocam, Sayın Dr. Murat YILMAZ'a benim üzerimdeki emekleri ve teze olan katkıları dolayısıyla çok teşekkür ederim.

Lisans öğrenimim sırasında tanıştığım bana sükûnetin önemini öğreten, duruşuyla ve insani değerlere verdiği önemle her zaman örnek aldığım değerli hocam Sayın Dr. Güzin EMECEN'e çok teşekkür ederim.

Tezin üretildiği projeye yürütücülük yapmış olması ve Tez Savunma Jürisi içerisinde olmayı kabul etmiş olması dolayısıyla değerli hocam Sayın Dr. Öğrt. Üyesi Didem YÜCEL YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

Uzun yıllardır arkadaşlıklarıyla yanımda olmaları ve tez çalışmam süresince her bir aşamada olan katkıları dolayısıyla çok değerli ve sevgili arkadaşlarım Gülnur İPEK ve Cansu YÖRGÜÇ'e her şey için çok çok teşekkür ederim. Uzun zamandır süren arkadaşlığımız ve geçtiğimiz son bir buçuk yıl içerisinde çok farklı bir noktaya taşınan dostluğumuz için, her fırsatta beni benim kadar iyi tanıdığı gösterdiği ve yanımda olduğu için sevgili dostum Begüm KARAOĞLU'na teşekkür ederim.

Arkadaşlığı, samimiyeti, ağabeyliği ve bana verdiği değer dolayısıyla hayatımda özel bir yere sahip olan değerli dostum ağabeyim Ahmet TAP'a hayatımda olduğu ve her zaman olacağı için çok teşekkür ederim.

Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen FBA-2017-14491 kodlu proje kapsamında gerçekleştirdiğim bu tez için Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olduklarını ve olacaklarını bildiğim, zor bir insan olmama alışık, gerginliğime ve aksiliğime sonsuz tahammül gösteren ve benden desteklerini esirgemeyen değerli anne babama beni ve çok sevdiğim güzeller güzeli kardeşlerimi var ettikleri için çok teşekkür ederim.

Ocak 2019

ANKARA

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
TEŞEKKÜR.....	v
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Gelişim Biyolojisi Kapsamında Homeobox Genleri.....	3
2.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de Bacak Gelişimi.....	5
2.3. <i>lim homeobox 1</i> Geninin <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişim Aşamalarında Üstlendiği Roller ve Bacak Gelişimine Olan Katkısı.....	8
2.3.1. <i>lim homeobox 1</i> Geninin Bacak Gelişimine Olan Katkısı.....	8
2.3.2. <i>lim homeobox 1</i> Geninin <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişimine Katkısı ve Diğer Canlılardaki Fonksiyonları.....	10
2.4. <i>lim homeobox 1</i> Geninin İnsan Ortoloğu LHX1'in Bilinen Fonksiyonları.....	11
2.5. <i>Drosophila</i> Genetik Referans Paneli Soyları ve Genom Boyu İlişkilendirme Analizi Çalışmaları.....	11
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	14
3.1 <i>Drosophila</i> Genetik Referans Paneli Soyları, <i>lim homeodomain 1</i> Mutant Soyu ve <i>w1118</i> Kontrol Soyu.....	14
3.2 Soyların Devamlılığı ve Kültür Koşulları.....	15
3.3 Çaprazların Yapılması, Örneklerin Saklanması ve Preparasyon Aşaması.....	15
3.3.1 Çaprazların Yapılması ve Örneklerin Saklanması.....	15
3.3.2 Preparasyon Aşaması.....	17
3.3.3 Femur Uzunluklarının Ölçümü.....	17
3.4 Verilerin Analizi.....	18
3.5 Varyans Analizi Üzerinden Epistatik Yaklaşım.....	18
3.6 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi (GWAS).....	19
4.BULGULAR.....	22

4.1 Femur Uzunlukları Ölçüm Sonuçları	22
4.1.1 w^{1118} Kontrol Soyu ve <i>lim1</i> Mutant Soyu için Femur Uzunlukları Ölçüm Sonuçları	22
4.1.2 Kontrol Soyu (<i>lim1</i> ⁺ / <i>lim1</i> ⁺ ; w^{1118}/w^{1118}) ve <i>lim1</i> mutant soyu (<i>lim1/lim1</i> ; w^{1118}/w^{1118}) ile DGRP Soylarının Çaprazlarına ait Femur Uzunluğu Verilerinin İstatistikleri	26
4.1.3 <i>lim1</i> Mutantı ve Kontrol Soyu w^{1118} Soylarının DGRP ile Gerçekleştirilen Çaprazlarından Elde Edilen Yavru Dölleri Arasında Ortaya Çıkan Femur Uzunluğu Farklarına Ait Analiz Sonuçları	32
4.2 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi (GWAS) Sonuçları.....	38
4.2.1 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi Sonunda Bulunan Genler.....	43
4.2.1.1 TNP Bağlantı Dengesizliğinin Kromozomlara Göre İncelenmesi.....	43
4.2.1.2 GWAS Sonuçlarının Üç Bacak Açısından Genel Değerlendirmesi	45
4.2.2 GWAS Sonucu Belirlenen Bazı Genlerin <i>Drosophila melanogaster</i> Gelişimi ve Fizyolojisindeki Rollerini	52
4.2.3 GWAS Sonucu Saptanan Genlerin Tanımlanan İşlevleri, Görev Aldıkları Süreçler ve İlişkilendikleri Hastalıklar Açısından Değerlendirilmeleri.....	53
5. TARTIŞMA	57
KAYNAKLAR.....	68
EKLER	74
ÖZGEÇMİŞ	92

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 4.1. Her Üç Bacak için Mutant ve Kontrol Soy ANOVA Sonuçları	26
Çizelge 4.2. DGRP x Kontrol Soyu (w^{1118}) ve DGRP x Mutant Soy (<i>lim1</i>) F ₁ Bireylerinde Üç Bacak için ANOVA Sonuçları	31
Çizelge 4.3. Normalite Testi Sonuçları	32
Çizelge 4.4. Üç Bacak için DGRP x w^{1118} – DGRP x <i>lim1</i> Soylarına ait ANOVA Sonuçları	37
Çizelge 4.5. Birinci bacak için Gerçekleştirilen GWAS Sonucu Saptanan Genler	47
Çizelge 4.6. İkinci bacak için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan genler	48
Çizelge 4.7. Üçüncü bacak için Gerçekleştirilen GWAS Sonucu Saptanan Genler	50
Çizelge 4.8. Tespit edilen aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları.....	52
Çizelge 4.9. Tespit Edilen Aday Genler ve İnsan Ortologları.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Homeobox genlerinin evrimsel açıdan karşılaştırılması [25]	5
Şekil 2.2. İmajinal diskler ve gelişim aşamaları arasındaki ilişki [32].....	6
Şekil 2.3. Normal gelişim sergileyen Drosophila bacağı [32]	7
Şekil 2.4. lim1 nakavt mutant bireyde femurun balon şeklini alması [6]	9
Şekil 3.1. lim1 geninin Drosophila genomundaki konumu.....	14
Şekil 3.2. lim1 genini mutant hale getirmek için eklenen transpozunun konumu	14
Şekil 3.3. Çaprazların Şematik Gösterimi	16
Şekil 3.4. Gerçekleştirilen ölçümlerin kapsadıkları aralıklar (her bacak için).....	18
Şekil 4.1. Birinci bacak için femur uzunluklarının kontrol ve mutant soylar içerisinde eşeye bağlı değişimi	23
Şekil 4.2. İkinci bacak için femur uzunluklarının kontrol ve mutant soylar içerisinde eşeye bağlı değişimi	24
Şekil 4.3. Üçüncü bacak için Femur Uzunluklarının Kontrol ve Mutant Soylar İçerisinde Eşeye Bağlı Değişimi	25
Şekil 4.4. Kontrol soyu ve mutant soy çaprazlarına ait 1. bacak femur uzunluğu ortalamaları	27
Şekil 4.5. Kontrol soyu ve mutant soy çaprazlarına ait 2. bacak femur uzunluğu ortalamaları	28
Şekil 4.6. Kontrol soyu ve mutant soy çaprazlarına ait 3. bacak femur uzunluğu ortalamaları	29
Şekil 4.7. Her üç bacağa ait Normal Dağılım grafikleri.....	33
Şekil 4.8. Birinci bacak için femur uzunluklarının DGRP soyları'ndan elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri	34
Şekil 4.9. İkinci bacak için femur uzunluklarının DGRP soyları'ndan elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri	35
Şekil 4.10. Üçüncü bacak için femur uzunluklarının DGRP soyları'ndan elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri	36
Şekil 4.11. Birinci bacağa ait varyantların kromozomlara dağılımı.....	39
Şekil 4.12. İkinci bacağa ait varyantların kromozomlara dağılımı	40
Şekil 4.13. Üçüncü bacağa ait varyantların kromozomlara dağılımı	41
Şekil 4.14. Birinci bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik	42

Şekil 4.15.	İkinci bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik.....	42
Şekil 4.16.	Üçüncü bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik.....	43
Şekil 4.17.	Birinci bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği	44
Şekil 4.18.	İkinci bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği.....	44
Şekil 4.19.	Üçüncü bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği.....	45
Şekil 4.20.	Üç bacak için gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda tespit edilen varyantlar..	46
Şekil 4.21.	Üç bacak için gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı	46
Şekil 4.22.	Saptanan TNP'lerin ilişkilendikleri işlevsel lokasyonlar	46
Şekil 4.23.	Birinci bacak için yapılan GWAS Sonucu Tespit edilen Varyantların Kromozomlara Dağılımı	48
Şekil 4.24.	Birinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı.....	48
Şekil 4.25.	İkinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı.....	49
Şekil 4.26.	İkinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı.....	50
Şekil 4.27.	Üçüncü bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı	51
Şekil 4.28.	Üçüncü bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı.....	51

1.GİRİŞ

Model organizma olarak uzun yıllardır biyoloji biliminde kullanılan ve meyve sineği olarak bilinen *Drosophila melanogaster* holometabol bir organizmadır. Yumurtadan ergine olan gelişim sürecinde üç larva aşaması ve bir pupa aşaması olmak üzere dört farklı aşamadan geçer [1, 2]. *Drosophila melanogaster*, embriyo aşamasında vücut yapısı açısından şekillenmeye ve farklılaşmaya başlar. Bu süreçte homeobox genleri olarak adlandırılan gen ailesine ait genler bu şekillenmede görev alır [3-5]. Tez süreci boyunca yapılan bütün çalışmaların odak noktası olan *lim1* geni homeobox gen ailesine ait bir genidir. *lim1* homeobox 1 olarak da adlandırılan bu gen, *Drosophila melanogaster* gelişimi süresince birçok farklı organ ve yapının gelişim aşamasında rol oynar. Tez kapsamında çalışılan işlevi ise bacak gelişimi sürecinde üstlendiği görevdir [6-8]. *lim1* bacak gelişiminde, özellikle anteriyor ve posteriyor yönelimlerde rol oynayan başlıca genler arasındadır. Bununla beraber bacağın birçok farklı bölgesinde de ifade edildiği bugüne kadar yapılan çalışmalarla bilinmektedir [9, 10].

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ışığında *lim1* geninin işlevleri, moleküler yapısı ve *Drosophila melanogaster* gelişimine olan katkısı ciddi bir şekilde açıklığa kavuşturulmuştur. *lim1* geninin *Drosophila melanogaster* bacak gelişiminde etkili olduğuna dair en ufak bir şüphe bulunmamaktadır. Ancak bacak gelişimi, ilişkili olduğu gelişimsel yolların ifade ettiği gibi çoklu genli bir genetiğe sahiptir. Bacak gelişiminin kompleks (çoklu genli) genetik altyapısına dair elimizde bulunan bilgiler ise, az sayıda gene ait susturulmuş gen çalışmalarına (P elementi, piggyBac transpozonu ve UAS-GAL4 yöntemleriyle müdahale edilmiş soylar üzerine yapılmış çalışmalara) dayanmaktadır. Sunulan tez çalışmasının temel hedefi, bacak gelişimine etkileşerek katkıda bulunan genleri, *lim1* ile etkileşimleri çerçevesinde saptamak olmuştur.

Sunulan tez kapsamında odak fenotip olarak, *lim1* geninin etki ettiği özelliklerden biri olan femur uzunluğu seçilmiştir. Femur uzunluğunun incelenecek fenotipik karakter olarak seçilmesinin nedeni *lim1* genine ait nakavt mutanti içeren soya ait

bireylerde femur yapısını çok ciddi bir şekilde deforme etmesi [10], *Drosophila melanogaster* bacağına rahat bir şekilde preparat haline getirilebilmesi ve bu preparatların laboratuvarımızda bulunan imkanlar dahilinde analiz edilebilecek şekilde fotoğraflanabilmesidir.

Tez kapsamında deneyler, Trudy Mackay ve ekibi tarafından oluşturulan “Drosophila Genetik Referans Paneli” (DGRP) [11, 12] soyları ile *lim1* genine ait *piggyBac* [13] transpozunuyla müdahale edilmiş mutant soy (PBac(WH)Lim1[f04087]) ve bu soyun meydana getirildiği kontrol soyu kullanılarak gerçekleştirilmiştir [14]. DGRP soyları ile mutant soy ve kontrol soyu bireyleri çaprazlanarak elde edilen F1 döllerinden dişi bireylere ait femur uzunlukları farkları fenotipik skor olarak kullanılıp Genom Boyu İlişkilendirme Analizi (Genom Wide Association Study -GWAS-) ile değerlendirilerek *lim1* geni ile etkileşen genlerin açığa çıkarılması hedeflenmiş ve bu hedef gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan GWAS modeli, mutant soy çaprazlarından ve kontrol soyu çaprazlarından elde edilen ve her bir soy hattında (yani her bir genomda) farklı olan dişi bireylere ait femur uzunluklarının ortalama farklarını istatistiksel olarak değerlendiren bir modeldir. Tasarlanan bu model, çalışılan özellikle ilgili bir geni farklı genetik altyapıya sahip soy hatlarıyla çaprazlayarak o soyun sahip olduğu genetik altyapıyı değiştirme prensibine dayanmasıyla genotip-genotip etkileşimini inceleyen epistatik bir model olarak değerlendirilmektedir.

Tez kapsamında 122 DGRP soy hattı mutant ve kontrol soylarla çaprazlanmış ve bu soylara ait verilerle GWAS gerçekleştirilmiştir. GWAS sonucunda gelişim mekanizmaları, hücresel düzenlenme aşamaları gibi gelişim açısından önemli genlerle olan etkileşim ortaya konmuştur. Tez kapsamında tespit edilen aday genler üzerinde yapılacak doğrulama çalışmalarının, bacak gelişiminin daha net anlaşılabilmesine olanak sağlayacak bilgiler vereceği düşünülmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

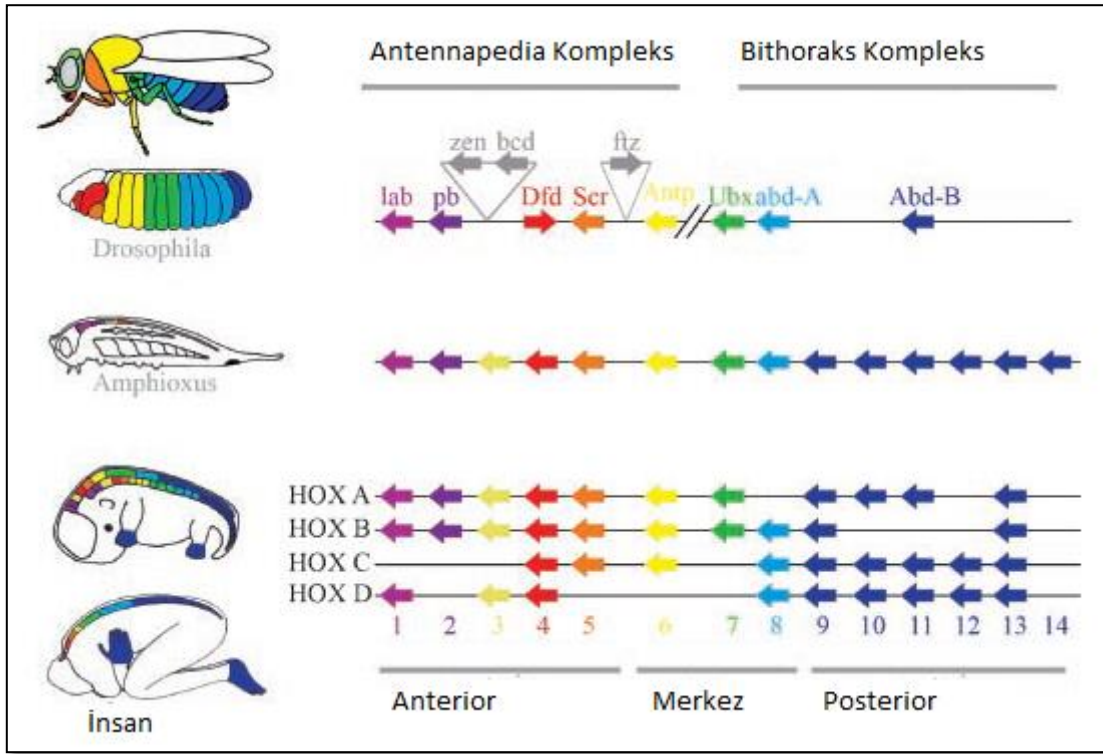
2.1. Gelişim Biyolojisi Kapsamında Homeobox Genleri

Transkripsiyon faktörleri içerisinde DNA-Bağlayıcı olarak görev alan ve türler arasında yüksek oranda korunmuş genlerden oluşan homeobox genleri, yüksek organizasyonlu canlılarda vücut şekillenmesini, organların oluşmasını ve vücut planı içerisinde olmaları gereken yerde bulunmalarını sağlayan düzenleyici genlerdir [15]. Vücutta bu düzenlenmeyi sağlayan bir mekanizmanın olduğu fikrini ortaya atan ilk kişi W. Bateson'dır [16]. Daha sonra ilerleyen yıllarda Thomas Hunt Morgan'ın laboratuvarında yapılan çalışmalarda *Drosophila melanogaster*'de vücut yapısında gerçekleşen ve o güne kadar tespit edilmemiş farklı bir durum gözlenmiştir. Bu farklı durum T1 - T2 ve T3 olmak üzere üç segmentten oluşan *Drosophila melanogaster* toraksının üçüncü segmentinin ikinci segment olarak oluşmasıdır [17]. Normalde baş - toraks (T1 - T2 - T3) - abdomen olarak sıralanması gereken vücut planı baş - toraks (T1 - T2 - T2) - abdomen olarak değişmiştir. Bu mutasyonun oluşmasına sebep olan genlere, "bithorax" kompleksi adı verilmiştir. 1980'li yıllara gelindiğinde Walter Jacob Gehring (Basel Üniversitesi) ve ondan bağımsız olarak Matthew Scott ile Amy Weiner (Indiana Üniversitesi) tarafından homeobox gen kümeleri tanımlanmaya başlanmıştır [15, 17, 18].

Homeobox genleri homeodomain aracılığıyla diziye özgü bir şekilde DNA'ya bağlanan transkripsiyon faktörlerini kodlar. "Homeobox" diye tanımlanan bölge yaklaşık 180 baz çifti uzunluğunda bir bölgeyi içerir. Homeodomain ise yaklaşık 60 baz çifti uzunluğunda ve çok iyi korunmuş bir bölgedir. Hayvanlarda gelişim sürecinde yer alan ve bir homeobox geninin dahil olmadığı bir gen etkileşim ağı bulmak neredeyse imkânsızdır. Bu genler evrimsel süreçte birçok taksonda korunmuşlardır; hayvanlarda, bitkilerde, mantar ve protistlerde bulunurlar [19-22]. Hayvanlarda bulunan homeobox genleri genellikle 11 farklı gen ailesi içinde tanımlanmaktadır. Bunlar ANTP, PRD, LIM, POU, HNF, SINE, TALE, CUT, PROS, ZF ve CERS'dir [23]. Tez kapsamında çalışılan gen, LIM gen ailesine dâhildir.

Homeobox genleri ifade edildikleri bölgeye gelişim aşamasına ve ifade oranına bağlı olarak işlev gösterirler. *Drosophila melanogaster*'de *forkhead* geni embriyo aşamasında ifade edildiğinde baş oluşumunu düzenlerken, ergin dönemde hücrel bağışıklıkta görev alır [1, 14]. *Antennapedia (Antp)* geni, baş gelişimi ve başta bulunan uzuvların şekillenmesinde görev almaktadır. Bu gende meydana gelecek bir mutasyon sonucunda, anten yapısı yerine ikinci bacağına oluştuğunu görmek mümkün olabilmektedir. Anten yapısının ikinci bacağına dönüşmesinin sebebi, anten ve bacağına homolog organlar olmaları, yani atasal olarak aynı uzuvdan köken almalarıdır [15, 24]. *Antp* geni ikinci toraks segmentinin yarısından itibaren yeterli miktarda ifade olursa üçüncü toraks segmenti oluşmakta, üçüncü toraks segmentinin yarısından itibaren ifade olmaya devam ederse abdominal segmentler oluşmaya başlamaktadır. İfadenin yanlış olması veya yetersiz kalması durumunda bu segmentlerin güdük bir form aldığı veya hiç oluşmadıkları gözlenmiştir [15].

Segmentler halinde gelişen *Drosophila* embriyosunda homeobox genleri segmentlere spesifik olarak ifade olmaktadır. Her bir gen ifade olduğu segmentte farklı bir görev üstlenebilmektedir. Embriyonun segmentleri gözle görünür kesin sınırlarla ayrılmaz. Homeobox genlerinin vücut planında meydana getirdiği bu düzenlemeler genel anlamda anterior - posterior ve proksimal - distal düzenlemeler olarak adlandırılmaktadır [17].



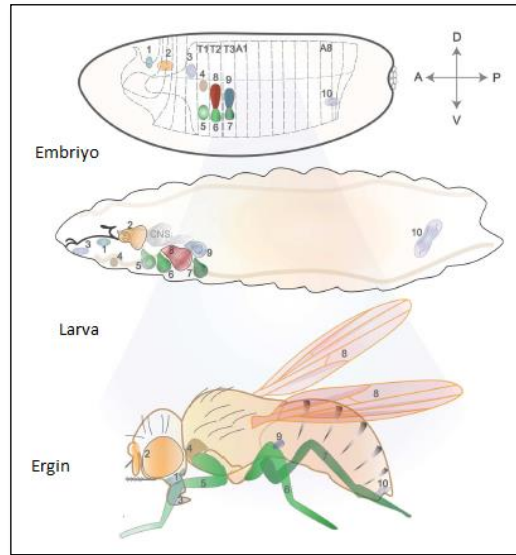
Şekil 2.1. Homeobox genlerinin evrimsel açıdan karşılaştırılması [25]

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda homeobox genlerinin, gelişimin her aşamasında rol aldıkları, bitkilerde ve bütün metazoa âleminde korunmuş bir şekilde temsil edildikleri bilinmektedir. Hatta homeobox genlerinin kökenlerinin prokaryot canlıların hücre içeriğinde bulunan benzer yapıdaki proteinlerden köken aldıkları tartışılmaktadır. *Drosophila melanogaster* ile gerçekleştirilen çalışmalar ise daha çok göz, kanat, bacak ve anten organlarının oluşumları ve şekillenmeleri üzerine yoğunlaşmıştır. Genom boyu çalışmalar yaygın bir şekilde gerçekleştirildiğinden beri ilgili konuda edinilen bilgiler daha da artmaktadır [21, 23, 25-27].

2.2. *Drosophila melanogaster*'de Bacak Gelişimi

Drosophila melanogaster Diptera takımı, Drosophilidae familyasına bağlı holometabol bir canlıdır. Yumurtadan ergin bireyi oluşturana kadar üç larva ve bir pupa aşamasından geçer. Pupa aşamasında başkalaşım geçirerek pupadan ergin birey halini alarak çıkar. *Drosophila melanogaster* bütün bu gelişimi döllenmiş yumurta olarak bırakıldıktan sonra, yaklaşık 9 - 11 gün arasında tamamlar. Gelişim

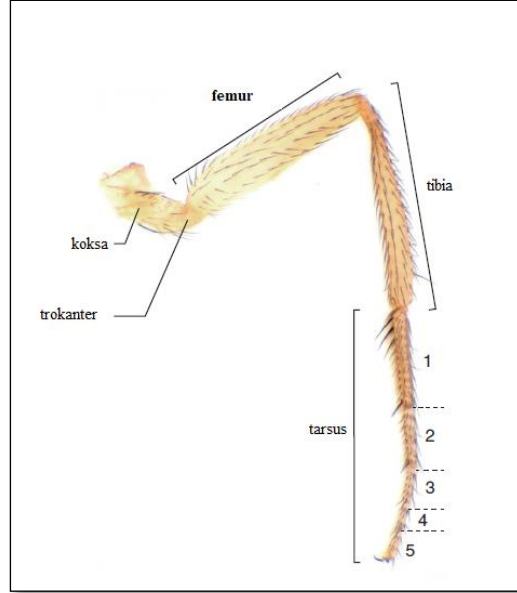
süreci, genetik altyapıya ve çevre koşullarına oldukça bağlıdır [1, 2]. Homeobox genleri, yumurta döllenir döllenmez işlev görmeye başlar ve yumurtada anterior - posterior değişimler gözlenir. Üçüncü larva safhasındaki larvada, 9 adet çift ve bir adet genital disk olmak üzere toplam 19 imajinal disk bulunur. Bunların bir çifti clypeolabral, bir çifti göz ve anten, bir çifti labial, bir çifti humeral, üç çifti bacaklar, bir çifti kanatlar, bir çifti halter organı ve tek olan disk genital bölgeyi meydana getirmek üzere özelleşmiştir. Fakat başkalaşım aşamasına geçmeden imajinal disklerde organ oluşumuna yönelik herhangi bir gen ifadesi görülmez. Anteriyordan posterioire doğru sıralandığında beşinci, altıncı ve yedinci imajinal disklerin sırasıyla birinci, ikinci ve üçüncü bacağı oluşturmak için özelleştiği görülmektedir [28-31]. *Drosophila melanogaster*'de bacak yapısı dört anatomik bölüme ayrılmaktadır. Bunlar koksa, femur, tibia ve tarsal segmentdir [32]. Her bacak çifti farklı bir imajinal diskten köken almaktadır. Bu imajinal disklerin birbirlerine göre farklılıkları ve benzerlikleri bulunmaktadır. Bu benzerlikler ve farklılıklar, disklerde ifade olan genlerle ve disklerin anterior - posterior ve proksimal - distal olarak buldukları konumlarla ilişkilidir [29]. Her bir imajinal disk, içinde bulunduğu segmentin hücrelerinden gelen sinyalleri tanır ve kendine özgü ifade etmesi gereken genler, komşu hücrelerden gelen bu sinyallere göre ifade eder.



Şekil 2.2. İmajinal diskler ve gelişim aşamaları arasındaki ilişki [32]

İmajinal diskin gelişimin bir aşamasında bir sebepten dolayı olması gereken yerde olmaması ve yanlış hücre gruplarıyla komşu olması nedeniyle yanlış sinyaller

alması ya da doğru konumda bulunmasına rağmen genlerini doğru şekilde ifade edebilmesi için gerekli olan sinyalin komşu hücrelerden kaynaklanan bir sorun nedeniyle yanlış veya olması gerekenden yüksek/düşük düzeyde gelmesi, larva/ergin aşamasında ciddi homeotik problemlere yol açacaktır [29, 30, 33].



Şekil 2.3. Normal gelişim sergileyen *Drosophila* bacağı [32]

Her üç bacak için yapılan genetik çalışmalar göstermiştir ki, üç bacak da aynı genlerin ifade oranlarına bağlı olarak eksensel yönelim göstermektedir. Bu eksensel yönelimler, anterior-posterior eksen için *engrailed* (*en*) / *invected* (*inv*), dorsal - ventral ve proksimal - distal eksenler için ise *wingless* (*wg*) ve *decapentaplegic* (*dpp*) genlerinin ifade oranlarına bağlıdır [29, 34, 35]. Bacak gelişimine birçok farklı gen ve gen ailesi katkıda bulunurken tez kapsamında, bir homeobox geni (*lim1*) ile çalışılmıştır ve homeobox genlerinin bu sürece olan katkısı tartışılmıştır. Fakat homeobox genleriyle birlikte morphogen olarak bilinen ve uzuv başkalaşımıyla birlikte birçok biyolojik süreçte yer alan genler de bacak gelişimine katkı sağlamaktadır [36].

Drosophila melanogaster'de bacak gelişim süreci temel olarak üç bacak için de aynıdır ve bu süreç hücreler arası etkileşime, hücrelerin şekil değişimine ve bu değişimin sonucunda ortaya çıkan hücresel boyut artışından kaynaklanan yapısal

hidrostatik basınca bağlıdır. Bacaklar üçüncü larva aşamasının sonlarına doğru hücresel düzeyde şekillenmeye başlarlar. Bu şekillenmenin başlayabilmesi için larva, yüksek miktarda 20 - *hidroksiekdizon*'a (pupa aşamasına geçmeyi uyaran hormon) maruz kalmalı ve pupasyon için tetiklenmiş olmalıdır. Bu tetiklenme ile bacakları oluşturacak olan hücreler, evajine olarak ilkin çıkıntıları belli etmeye başlarlar. Tam anlamıyla pupasyondan 6 saat önce ve pupasyon başladıktan 6 saat sonraki süreçte (yani 12 saatlik bu aralıkta) bacakları oluşturacak hücreler, her bir imajinal diskin “yassı” bölümünden uzayarak boru şeklinde uzuvlar meydana getirirler [36-38]. Uzama süreci hücre - hücre adhezyon etkileşimlerinde değişimler meydana gelmesine ve hücre iskeleti yapısında gerçekleşecek sinyalizasyona bağlıdır. Bu sinyalizasyon sonucu miyozin bazlı aktinden oluşan kortikal hücre iskeleti yapıları meydana gelir. Pupasyon başladıktan toplam 12 saat sonra bacak ve kanat yapıları ciddi anlamda belirginleşmeye başlamıştır [37].

Bu aşamadan sonra pupa aşaması boyunca, bacaklarda meydana gelecek değişiklikler her bir imajinal diskin kendine özgü ifade ettiği genlere bağlı olarak kılların dizilimi ve bacaklara özgü sensor organların (kıl yapıda) oluşumu olacaktır [29, 36, 38].

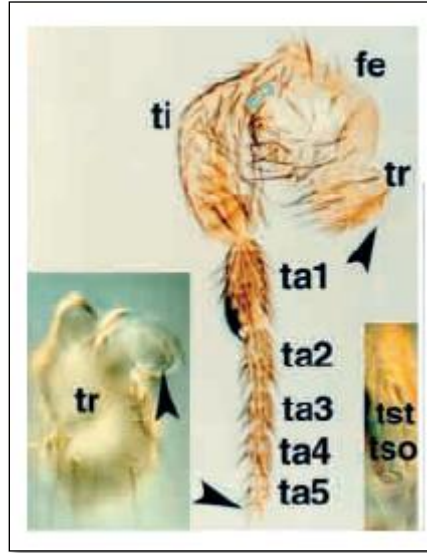
2.3. *lim homeobox 1* Geninin *Drosophila melanogaster* Gelişim Aşamalarında Üstlendiği Roller ve Bacak Gelişimine Olan Katkısı

2.3.1. *lim homeobox 1* Geninin Bacak Gelişimine Olan Katkısı

Homeodomain proteinler, gelişim sürecinde rol alan temel elemanlardır. Bu protein ailesini karakterize eden ortak özellik, esas olarak DNA etkileşimlerinde yer alan bir homeodomainin varlığıdır [22]. *lim1* geni LIM - HOM transkripsiyon faktörü ailesine dahildir [9]. Tarsal segmentin uç kısımlarda *aristaless (al)* geninin ifadesine bağlı olarak *lim1* aktivitesi görülmektedir. Bu kısımda *lim1*, pençe yapısının oluşumu ve ön - tarsal yapıların şekillenmesinde görev almaktadır. *lim1* ile *al* birlikte ifade olarak bacak gelişiminde tarsal segmentlerin özelleşmesinde (özellikle t4 - t5'te) *Bar* geninin ön - tarsal bölgede ifade olmasını engeller ve ancak bu sayede ön - tarsuslar şekillenebilir [9]. Nakavt mutantlardan elde edilen verilere dayanarak *lim1* ile *al*'nin, *al* ile *Bar*'ın, *al* ile *chip*'in, *apterous (ap)* ile *chip*'in

antagonistik bir etkileşim halinde oldukları belirlenmiştir. Bu genlerin tamamı, bacak gelişiminde aktif rol oynamaktadır. *lim1*'in ektopik ifadesi, *al*'nin yanlış ifadesine neden olmaktadır; *al*'nin yanlış ifade edilmesi ise *Bar*'ın ifadesinde hatalara sebep olacaktır.

Bu zincirleme yanlışlar sonucunda, bacak gelişiminde ciddi problemler gözlenmektedir. *lim1* ve *al*'nin uyumlu fonksiyonu, sınır hücrelerinde *Fasiklin 2* ekspresyonunu korumak ve ön -tarsus / tarsal segment sınırı oluşturmak için gereklidir. *lim1* ayrıca femur, tibia, koksa ve anten yapılarının gelişimi için gereklidir. *lim1* mutant soylara ait *Drosophila melanogaster* bireyleri incelendiğinde, koksa yapısı oldukça indirgenmiş ve femurun balon şekli almış olduğu gözlenmiştir (Şekil 2.4.) [6, 9, 10]. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, *lim1*'in femur yapısı üzerindeki etkisi yalnızca ek bir gözlem olarak ele alınmıştır. Fakat femur yapısında meydana gelecek herhangi bir malformasyon, canlının bütün lokomotor becerilerinde aksamaya sebep olabilir. Lokomotor aktivite canlının bütün yaşamsal faaliyetlerine etki eden önemli bir faktördür.



Şekil 2.4. *lim1* nakavt mutant bireyde femurun balon şekli alması [6]

2.3.2. *lim homeobox 1* Geninin *Drosophila melanogaster* Gelişimine Katkısı ve Diğer Canlılardaki Fonksiyonları

Drosophila embriyosunda *lim1* baş primordiasında, beyin loblarında ve ventral sinir kordonu içindeki motornöronların ve internöronların farklı gruplarında ifade edilir. *Drosophila*'da *lim1* ifadesi özellikle RP2, aCC ve U motornöronlarda gözlenir ve bunların hepsi embriyonun dorsal kaslarını yönlendirir [39]. Baş bölgesinde yer alan anten - göz imajinal diski içerisinde *chip* ile etkileşimli bir biçimde ifade olan *lim1*'in göz oluşumuna katkı sağladığı bilinmektedir. Fonksiyon kaybına uğratılan alellerin kullanıldığı soylarla yapılan çalışmalarda görülmüştür ki, *chip* ve/veya *lim1*'in mutant olduğu bireylerde göz gelişimi önemli derecede sekteye uğramaktadır. Gözün morfolojik yapısının bozulduğu, fotoresöpterlerin gerektiği gibi oluşmadığı rapor edilmiştir [40-42].

Drosophila lim1 geninin DNA dizisi ve ifadesi, omurgalılardaki homologlarıyla oldukça benzerdir. Omurgalılarda *lim1* geni, genç embriyonun baş kıvrımında ifade edilirken; *Drosophila*'da *lim1* aynı şekilde dokular oluşmaya başladıktan hemen sonra baş primordiası içerisinde bir hücre hattı boyunca ifade edilir. Embriyonun daha sonraki aşamalarında her iki canlı grubunda da motornöronların ve sinir şeridinin içindeki internöronların alt hücre gruplarında ifade edilir. Omurgalı ve *Drosophila* ortologları arasındaki gen dizisi ve ifadesindeki benzerlikler, işlevlerinin de korunduğunu kuvvetle göstermektedir [43]. Buna uygun olarak, *Drosophila lim1* proteininin moleküler işlevleri, omurgalıları ile karşılaştırılmıştır. Omurgalı proteinleri, Xlim1 ve Xldb1 (NLI, CLIM2) *in vitro* olarak etkileşime girdikleri gibi *Drosophila*'da *lim1* ve *chip* de benzer bir ilişki göstermektedir [39]. *Drosophila lim1* dizisinin en yakın olduğu proteinler, *Xenopus* ve fare *lim1* proteinleridir. Aminoasit seviyesinde omurgalı *lim1* proteinlerine, *Drosophila lim1* homeodomaini %88, LIM domainleri ise %78 özdeştir. LIM gen ailesi ve homeodomainlerindeki omurgalı *lim1* proteinlerinin çarpıcı benzerliği, omurgalı *lim1* proteinlerinin *Drosophila* ortologunu temsil ettiğini düşündürmektedir [44].

Omurgalılarda LIM homeodomain proteinleri [*lim1* (Lhx1) ile birlikte *lim3* (Lhx3), Gsh4 (Lhx4), Isl1 ve Isl2], spinal kolon boyunca gelişmekte olan motornöronlarda ifade edilir. Bu proteinlerin birlikte ifadesi, spesifik motornöron alt tiplerinin oluşturulmasında LIM proteinlerinin rolünü göstermektedir. LIM - HOM geni olan ve *lim1*'in ortoloğu *lin11* *Caenorhabditis elegans*'ta kafada bulunan dokuz bölgenin gelişiminde, ventral kordonun oluşumunda ve kuyruk bölgesindeki nöronların gelişiminde etkilidir [45]. *Xenopus laevis*'te bulunan *lim1* ortoloğu Xlim1, gelişim süreci boyunca değişen düzeylerde ifade edilir. Gastrulasyon aşaması, mezoderm olgunlaşması, kuyruktaki nöral dokunun ve merkezi sinir sisteminin oluşumunda önemli rol oynamaktadır [46-50]. Xlim1 geninin nöral dokunun anterior ve posterior gelişiminde ve pronefroz böbrek yapısının oluşumunda rol oynadığı da bilinmektedir [7, 47, 51, 52]. *Mus musculus* *lim1* ortoloğu Lhx1 (Mmus\Lhx1), kafa gelişimi ve böbrek gelişimi ile ilgili transkripsiyon faktörlerini kodlar; aynı zamanda dişi bireylerde üreme sisteminin gelişimi için önemli rol oynamaktadır [53, 54].

2.4. *lim homeobox 1* Geninin İnsan Ortoloğu LHX1'in Bilinen Fonksiyonları

LHX1 genine ait tam dizi, 1997 yılında Dong ve arkadaşları tarafından yayımlanmıştır [55]. LHX1 geni, insanda diğer canlılarda da olduğu gibi gelişim aşamasında çok önemli işlevleri yerine getirmektedir; böbrek gelişimi, eşeysel organların oluşumu gibi kritik süreçlerde rol almaktadır. LHX1'in mutasyona uğramış bir alelinin bulunduğu dişi bireylerde ürogenital sistemin oluşum sürecinde, vajina ve uterusun oluşmadığı rapor edilmiştir [56].

2.5. Drosophila Genetik Referans Paneli Soyları ve Genom Boyu İlişkilendirme Analizi Çalışmaları

Drosophila Genetik Referans Paneli soyları (DGRP), 2012 yılında yayımlanan bir makaleyle bilim dünyasına duyurulmuştur. DGRP soyları, her biri tek bir anneden gelen ve en az 20 kuşak boyunca kendi içlerinde çaprazlanan bireylerden oluşan tamamen kendileşmiş soylardır. DGRP soyları, önce her biri farklı genetik

altyapıya sahip 192 soy olarak tanımlanmış, daha sonra yapılan ek çalışmalarla 205'e tamamlanmıştır [11, 12].

DGRP olarak tanımlanan bu 205 *Drosophila melanogaster* soy hattının her biri kendine özgü genetik varyantlara sahiptir. Bu 205 soyun tüm genom dizisi, eksiksiz bir şekilde belirlenmiş ve içerdikleri rekombinasyonlar (insersiyonlar, inversiyonlar ve delesyonlar) haritalandırılmıştır. Bu soylara ait genomların taranması sonucunda yaklaşık beş milyon Tekli Nükleotid Polimorfizmi (TNP) ve bir milyonu aşkın genetik varyant tanımlanmıştır (mikrosatellitler, insersiyonlar, delesyonlar, kopya sayısı varyantları ve hareketli genetik elementler) [11].

Kantitatif genetik çalışmalar yapılırken homojen genomlara sahip olan soyların kullanılmasının sağlayacağı fayda, DGRP soylarının duyurulmasından çok önce belirtilmiştir [57]. Tamamen kendileşmiş genomlara sahip farklı soy hatları içeren bir popülasyon, herhangi bir kantitatif özellik açısından kıyasa tabii tutulursa bu kıyas sonucu elde edilecek sonuçlar arası farklılıklar, genomların farklılığına bağlanabilecektir. Bu bağlamda DGRP soylarının taşıdığı bu yeterlilik, yapılan çalışmaları çok daha anlamlı ve nitelikli kılmaktadır.

DGRP soyları, genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir haritalama popülasyonudur. Bu soylar kullanılarak yapılan çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. DGRP soyları kullanarak yapılan bazı genom boyu ilişkilendirme analizi çalışmaları, şu alt başlıklar halinde özetlenebilir: lokomotor aktivite çalışmaları, yaşam öyküsü karakterleri ve ilişkili çalışmalar, gelişim biyolojisi çalışmaları [58-60]. Gelişim biyolojisi çalışmalarına bir katkı olarak hazırlanan bu tez ile benzer bir yaklaşıma sahip olan ve yine bacak gelişimiyle ilişkili genlerin tespitine yönelik bir başka genom boyu ilişkilendirme çalışmasının sonuçları 2013 yılında yayımlanmıştır. Bu yayın içeriğinde 100 DGRP soyu kullanılmış, bacak gelişimine katkısı olduğu düşünülen genler için standart bir genom boyu ilişkilendirme çalışması gerçekleştirilmiştir [61]. Bu bakış açısıyla yapılan çalışmalardaki mantık, incelenen özellik bakımından soylar arasında ortaya çıkan varyasyonların skorlanması ve bu skorların [DGRP₂](#) sitesinde bulunan

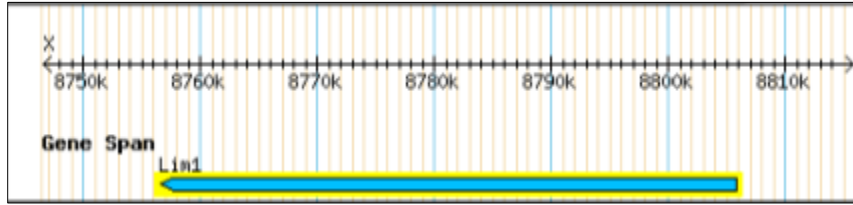
bioinformatik yazılım aracılığıyla genomların taranması ve ilişkilenen TNP'lerin saptanmasına dayanmaktadır. Standart genom boyu ilişkilendirme çalışması olarak tanımlanan bu yaklaşım yerine, tez çalışmasında epistatik genom boyu ilişkilendirme analizi gerçekleştirilmiştir. Epistatik GWAS ile standart GWAS arasında, çalışma prensibi açısından ciddi bir fark bulunmaktadır. Epistatik GWAS, genotip - genotip etkileşiminin sağlanması ile gerçekleştirilir. Tez çalışması sırasında genom -genom etkileşimi, DGRP soyları ile kontrol soyu ve mutant soyun çaprazlanması ile sağlanmıştır. DGRP soylarının her birinin kendi içinde homojen bir genetik yapıya sahip olmaları sebebiyle kontrol ve mutant soy ile çaprazlarından elde edilen F_1 döllerini, bu iki farklı genomun etkileşiminden kaynaklanan varyasyonlara sahip olmaktadır. Tez kapsamında çalışılan fenotipik özellik olan femur uzunluğu, her DGRP soyunun hem mutant hem de kontrol soy çaprazlarında, soylar arasında farklılık göstermiştir. Her DGRP soyu, mutant ve kontrol soyu çaprazlarından elde edilen bireylere ait femur uzunlukları açısından ise kendi içinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde tutarlıdır. Sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildiğinde soylar arasında gözlenen bu farkların anlamlı olduğu görülmüştür. Soylar arası farkların anlamlı olmasının temel nedeni, aynı genotipin farklı genetik arka plana sahip olan soylarda farklı düzeylerde ifade edilmesidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

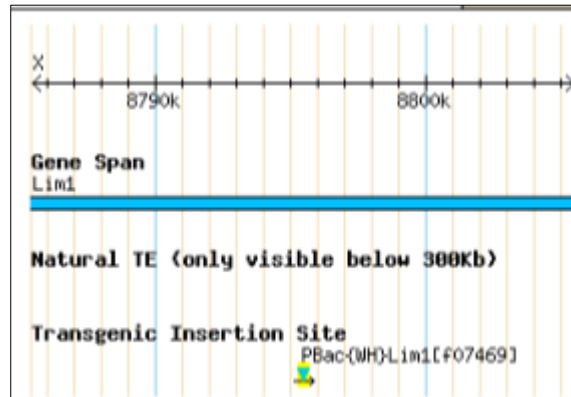
3.1 Drosophila Genetik Referans Paneli Soyları, *lim homeodomain 1* Mutant Soyu ve *w¹¹¹⁸* Kontrol Soyu

Tez kapsamında, DGRP genomlarındaki fenotipik yanıtları belirlenecek odak gen olarak seçilen *lim1*'in *piggyBac*[13] transpozunu ile meydana getirilen PBac(WH)Lim1[f04087] [14] soyu ve bu soyun türetildiği, *w¹¹¹⁸* (*white* geninin bir aleli) belirteci içeren kontrol soyu BL6326 kullanılmıştır.

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneylerde yukarıda anılan *lim1* mutantı ve kontrol soyunun sokulacağı genomlar olarak, 205 soydan oluşan DGRP setinin bir alt seti olarak seçilmiş 122 soy kullanılmıştır. Femur uzunluğunun soylar arasında nasıl değiştiğinin gözlemlenebilmesi ve bu değişimin genetik temelini ortaya konulması açısından seçilen bu soyların listesi ekler kısmında belirtilmiştir.



Şekil 3.1. *lim1* geninin Drosophila genomundaki konumu [14]



Şekil 3.2. *lim1* genini mutant hale getirmek için eklenen transpozunun konumu [14]

3.2 Soyların Devamlılığı ve Kültür Koşulları

DGRP soyları, *lim1* mutant soyu ve w¹¹¹⁸ kontrol soyu 25⁰C ve %60 nem sabit koşulları altında, 12 saat gündüz/gece (aydınlık/karanlık) döngüsünde ayarlanmış iklim odasında, 15 - 17 günde bir yeni çıkan ergin bireylerin taze besi ortamına alınması yoluyla devam ettirilmiştir.

Bütün soylar, standart *Drosophila* besi yeri [62] olarak tanımlanan ortak koşullara sahip mısır unu, maya, şeker, agar agar ve sudan oluşan bir karışımla *Drosophila* yetiştirme tüpleri ve cam ayran şişelerinde beslenmişlerdir. Bu karışıma ayrıca propiyonik asit ve metil paraben anti - fungal olarak eklenmiştir.

3.3 Çaprazların Yapılması, Örneklerin Saklanması ve Preparasyon Aşamaları

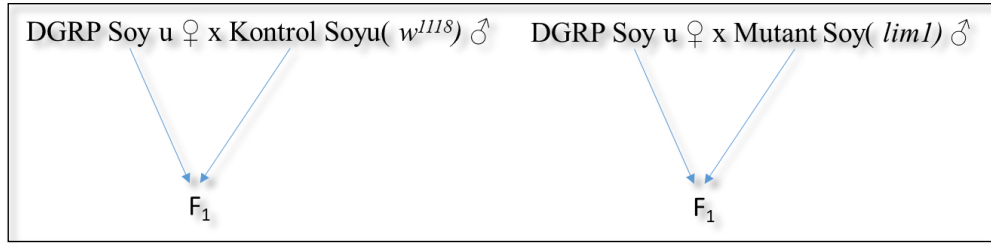
3.3.1 Çaprazların Yapılması ve Örneklerin Saklanması

İlk aşamada, mutant ve kontrol soyları arasındaki femur uzunluğu farkını ortaya koymak üzere, mutant ve kontrol soyları ayrı ayrı çoğaltılmışlardır. Her bir soya ait bireyler 5♀ ve 5♂ olarak yetiştirme tüplerine alınıp 3 gün boyunca eşleşmeleri ve yumurta bırakmaları için iklim odasına alınmıştır. 5♀ ve 5♂ olarak her bir soy için toplamda 15'er tüp çaprazı yapılmış ve bu çaprazlar sonucunda elde edilen bireyler femur uzunluğu ölçümü için kullanılmıştır.

İkinci aşamada, deneyde kullanılacak DGRP stoklarının çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için şu sıra izlenmiştir: DGRP soyları stok tüplerden alınarak CO₂ uygulanıp bayıltılmıştır. Ardından her bir soya ait bireyler 5♀ ve 5♂ olarak yetiştirme tüplerine alınıp 3 gün boyunca eşleşmeleri ve yumurta bırakmaları için iklim odasına alınmıştır. 3 günün ardından ergin atımı yapılmış ve 11. Gün itibarıyla henüz eşleşmemiş halde olan dişi bireyler bu tüplerden toplanıp üzerinde ait oldukları soyu belirten etiketler bulunan yetiştirme tüplerinde 3 gün bol mayayla beslenmişlerdir.

DGRP genomlarına sokulacak mutant soy ve kontrol soyu bireylerini elde etmek için, bu soylar DGRP soylarıyla aynı zamanda kendi içlerinde 5♀ ve 5♂ olarak

çaprazlanıp 3 gün boyunca eşleşmeleri ve yumurta bırakmaları için iklim odasına alınmışlardır. 3 günün ardından erginler atılmış ve çapraz sonucunda DGRP soylarından eşleşmemiş dişi bireyler toplanmış ve DGRP soylarına ait dişilerin beslendiği 3 günlük zaman diliminde kontrol ve mutant soylarından çıkan erkek bireyler toplanmıştır. DGRP soylarından toplanan eşleşmemiş dişi bireyler 5 gün yaşına ulaştıklarında, mutant ve kontrol soyundan toplanan erkek bireylerle, 5♀ ve 5♂ olacak şekilde 5 replika halinde yetiştirme tüplerine alınarak çiftleşmeleri sağlanmıştır. İlk çapraza alındıkları günden sonra iki defa daha yeni tüplere aktarılan çaprazlardan soy hattı başına 15 tüp içeren bir set oluşturulmuştur. Bir DGRP soy hattı için mutant çaprazından 15 tüp ve kontrol çaprazından 15 tüp olmak üzere toplamda 30 tüplük bir set elde edilmiştir.



Şekil 3.3. Çaprazların Şematik Gösterimi

15 tüp içeren bir - DGRP x Kontrol Soyu - çaprazı üzerinden ilerlersek; ikinci aktarımın yapıldığı gün başlangıç noktası olarak belirlenip 17 gün tamamlandığında bütün tüplerden çıkan F₁ soyuna ait dişi ve erkek bireyler sayılmış, birbirine yakın sayıda birey bulunduran tüpler bacak preparasyonları ve ölçümleri için içerisinde saf alkol bulunan 1,5 ml hacimli ependorf tüplerine alınmıştır. Ardından bu ependorf tüpleri içerdikleri soy hatlarını ve çaprazlarını tanımlayan etiketlerle (DGRP soy numarası x Mutant Soy – DGRP soy numarası x Kontrol Soyu) etiketlenerek preparasyon aşamasına kadar -20°C’de saklanmıştır. Bu işlem her soy hattı için kontrol ve mutant çaprazlarını oluşturan tüm setlerde tekrarlanmıştır.

Tez kapsamında çalışılan *lim homeobox 1* geni, X kromozomu üzerinde kalıtılmaktadır. Tasarlanan deneyde dişi birey DGRP soyundan, erkek birey mutant soydan elde edildiği için, gözlenmek istenen fenotipik durum F₁ dölünde bulunan bireyler arasında yalnızca dişilerde görüldüğünden, preparatlar ve preparatlar üzerinden gerçekleştirilen ölçümler ve bu ölçümlere ait analizler yalnızca dişi

bireylere ait veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fakat kontrol soyu ve mutant soyun kendi içerisinde yapılan çaprazlarından elde edilen yavru döller üzerinde gerçekleştirilen ölçümlere ait veriler, her iki eşey verilerini de içermektedir.

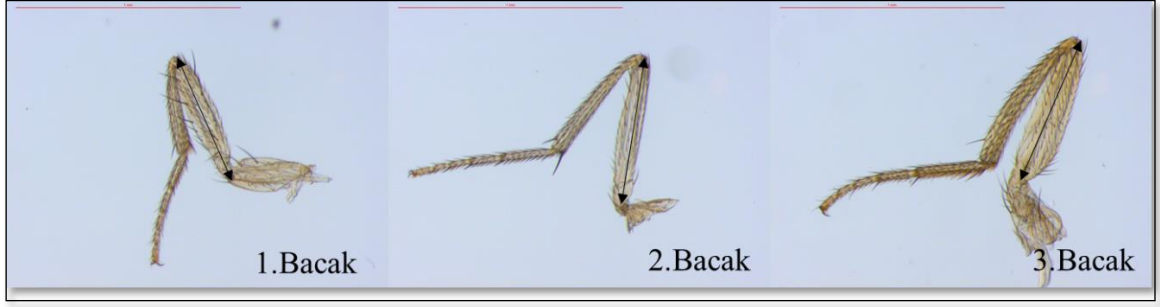
3.3.2 Preparasyon Aşaması

Her bir soy hattı çaprazı başına üç replika olacak şekilde tüplere alınıp, her bir replikadan beş adet dişi bireye ait sağ bacaklar koksa kısmından ayrılarak Entallan® aracılığıyla lam üzerine yapıştırılarak lamel ile hava baloncuğu kalmayacak şekilde kapatılmıştır. Bir soy hattının bir çaprazı için 15 adet (3 replika x 5 birey) preparat bulunmaktadır. Bu preparasyon işlemi, 122 soy hattına ait kontrol soyu ve mutant soy çaprazları için gerçekleştirilmiştir.

Tezin deney aşaması süresince 122 soy hattı, iki soyla (*lim1* mutantı ve kontrolü) çaprazlanmış, bu çaprazlar sonucunda her bir soy hattının bir çaprazı için 15 preparat olmak üzere toplamda 3.660 adet preparat hazırlanmıştır.

3.3.3 Femur Uzunluklarının Ölçümü

Femur uzunluğunun ölçümünün yapılması için hazırlanan preparatlar fotoğraflanmıştır. Fotoğraflama işlemi laboratuvarımız bünyesinde bulunan Leica M205C mikroskobuna bağlı, Leica DFC295 marka kodlu kamerayla gerçekleştirilmiştir. Fotoğraflar dijital ortama Leica Suite v4.7 ile aktarılmıştır; 10.980 fotoğraf harici bellek içerisine depolanmıştır. Femur uzunluğu her üç bacak için, en proksimalde bulunan kıl yuvası arasındaki orta hattın femurun distal ucuna olan uzaklığı olarak ölçülmüştür. Ölçümlerin hepsi ImageJ programında gerçekleştirilmiştir [63]. Her bir bacak için gerçekleştirilen ölçümler, ayrı ayrı .xls formatında kaydedilmiştir. Toplamda 10.980 ölçüm dijital ortama aktarılarak harici bellek içerisine depolanmıştır.



Şekil 3.4. Gerçekleştirilen ölçümlerin kapsadıkları aralıklar (her bacak için)

3.4 Verilerin Analizi

Deneylerden elde edilen F₁ döllerinden gelen dişilere ait femur uzunluklarının (en az 10 uzunluk) ortalamaları alındı, deney tasarımındaki temel değişkenlerin yavru döl femur uzunluklarının büyüklüğü ve varyansı üzerine olan etkileri hesaplandı, DGRP genomları boyunca değişen kontrol (*w1118/DGRP*) – mutant (*lim1/DGRP*) fenotipik farklarının ortalamaları genom boyu ilişkilendirme analizinde (GWAS) kullanıldı.

3.5 Varyans Analizi Üzerinden Epistatik Yaklaşım

İlk olarak çaprazların her birinden elde edilen yavru döllere ait femur uzunluklarının ortalamaları, bacakların her biri için hesaplandı. Ardından bu ortalamalar arası farkları belirleyen GENOTİP (mutant - kontrol) ve SOY (DGRP) faktörleri ile bu faktörlerin etkileşim seviyelerinin genel fenotipik değişime katkısını bölümlenmek amacıyla, her bir bacak için ayrı ayrı olmak üzere çoklu varyans analizi gerçekleştirildi [64]. Analizler ve grafikler, R istatistiksel hesaplama ve grafik programı kullanılarak yapıldı [65]. Elde edilen sonuçlar ışığında, kurulan varyans analizi modeli;

GENOTİP (Mutant Soy veya Kontrol Soy)

SOY (DGRP Soyları)

GENOTİP_xSOY

şeklindedir. Model kapsamında üzerinde en çok durulması gereken etkileşim GENOTİP \times SOY etkileşimidir. Bunun nedeni ise, DGRP soylarının her birinin kendi içinde homojen bir genotipe sahip olmaları nedeniyle, bu etkileşimin istatistiksel olarak anlamlı olmasının genotip - genotip etkileşimine (epistasi) işaret etmesidir.

3.6 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi (GWAS)

122 DGRP soyunun, kontrol soyu ve mutant soy ile çaprazlanması sonucu elde edilen F₁ dölünden gelen dişi bireylere ait femur uzunluğu ortalama farkları genom boyu ilişkilendirme analizinde kullanılmıştır. GWAS için kullanılan veriler, yukarıda açıklanan varyans analizi modeliyle incelendiğinde genotip - genotip etkileşiminin oldukça güçlü bir etkileşim gösterdiği görülmüştür ($p < 0,0001$). GWAS girdileri oluşturulurken her bir bacak için ayrı ayrı olmak üzere;

Kontrol ortalamaları (DGRP x Kontrol) – Mutant ortalamaları (DGRP x lim1)

şeklinde farklar hesaplanmış ve elde edilen bu veriler GWAS girdisi olarak kullanılmıştır. Elde edilen bu veriler, Trudy Mackay ve ekibi tarafından geliştirilen web tabanlı bir yazılım aracılığıyla analiz edilmiştir [12]. Yazılım, bu veriler üzerinden DGRP genomlarına dağılmış olan TNP'ler arasındaki ilişkiyi saptamaktadır. Güçlü ilişki içeren TNP'lerin saptanması için tüm veriler 100 000 (yüz bin) ve üzeri sayıda hipotez test edilir. Hipotezler fenotipi belirleyen genetik belirtecin alellerinde ne oranda fenotipik etkiye sahip olduğunu değerlendirir. Ayrıca rastgele oluşabilecek istatistiksel dağılım, çıkan sonuçlarla karşılaştırılarak rastlantısal ilişkilendirmeler ortadan kaldırılmış olur. Ortaya çıkan sonuçlar içinde en güçlü ($p < 10^{-5}$) TNP ilişkileri tanımlanır. İstatistiksel olarak güçlü olan bu TNP'ler aday genleri gösterir ve kalıtsal olarak etkili olan ortak varyantlar saptanmış olur. 205 farklı genom yaklaşık beş milyon TNP içermektedir. [11]. Yazılımın çalışma prensibi, kantitatif genetiğin standart eklemeli modeline dayanmaktadır. TNP'ler arasındaki bağlantı dengesizliği seviyesini analiz ederek, kromozom kollarına olan dağılımlarının bağlantı dengesizliği büyüklüklerini açıklayan grafikler, yazılımın

verdiği sonuçlar içerisinde bulunmaktadır. Yazılım ayrıca, bir TNP ile ilişkilene düzeyini veren p değeri ile, herhangi bir ilişkilene olmaması durumunda ortaya çıkacak olan p değerleri arasındaki ilişkiyi açıklayan grafikler de vermektedir.

İnversiyonların çok sayıda bulunduğu *Drosophila melanogaster* genomunda ve doğada bulunan bazı soylarında bu inversiyonlara ek olarak, endosimbiyont olan *wolbachia* da bulunmaktadır. DGRP soyları doğal popülasyondan elde edilmişlerdir. Laboratuvar ortamında kendileştirilmiş soylar olmalarına rağmen inversiyon çeşitliliği ve *wolbachia* durumu açısından doğal popülasyonu yeterli düzeyde temsil etmektedir. Kullanılan bütün soylar, içerdikleri inversiyonlar açısından homozigottur. Mackay ve ekibi tarafından geliştirilen yazılım, analiz sürecinde inversiyon ve *wolbachia* etkisinin olup olmadığını da göstermektedir. DGRP₂ web sitesi tarafından sağlanan yazılım, analiz sonucunda inversiyon etkisi ve *wolbachia* etkisinin GWAS sonuçlarını etkileyecek anlamlılıkta istatistiksel önem dereceleri içeren sonuçlar verirse, doğru analiz sonuçlarına ulaşmak için kullanılacak olan düzeltilmiş veri değerlerini hesaplamayı mümkün kılmaktadır. Analiz sonuçları incelendiğinde inversiyon ya da *wolbachia* açısından bu çalışma için istatistiksel olarak anlamlı bir etki olmadığı görülmektedir. Tez kapsamında gerçekleştirilen GWAS modeli aşağıdaki gibidir:

$$y = Xb + Zu + e$$

Eşitlikte y , (kontrol - *lim1*) ortalamasını; X , b biçimindeki sabit TNP etkisi için tasarlanan matrisi; Z , u biçiminde rastgele poligenik etkinin insidans matrisini ve e değeri de, modeldeki artığı ifade etmektedir. Model hakkındaki ileri bilgiler kaynaklarda bulunabilir [11].

Bu çalışmada gerçekleştirilen GWAS modelinde sonuçlar, yazılımın standart olarak analiz ettiği ilişkilenemeleri ayrıntıları ile belirten bir sonuç sayfası halinde sunulmaktadır. Sonuçlar isabet sayısı, ilişkilenen her bir genetik varyant, ilişkilenen TNP ve TNP'lerin kromozomal kimliklerini ve minör alel frekanslarını, ilgili varyantın fenotipe katkı derecesini belirten p değerlerini sabit ve karışık modelleri çerçevesinde vermekte ve istatistiksel olarak anlamlandırmaktadır. İsabet eden TNP'nin kimliği ve hangi noktada isabet aldığı açık bir şekilde sonuçlarda bulunmaktadır.

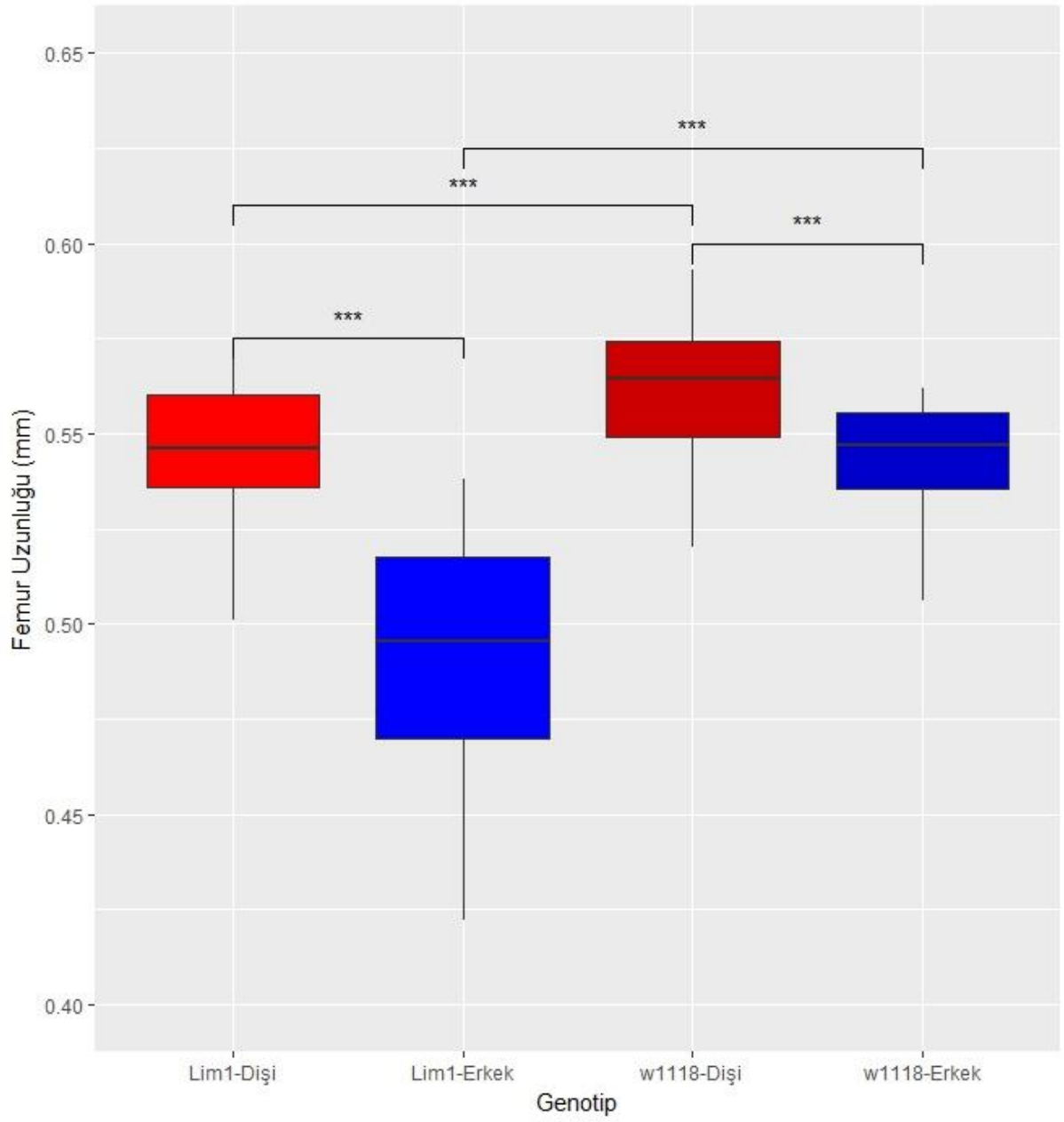
Tez kapsamında gerçekleştirilen genom boylu ilişkilendirme çalışması epistatik bir yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. Epistasi terimi, genler arasındaki etkileşimi ifade eder. Epistasi, karmaşık bir özelliği etkileyen bir varyantın etkisinin, özelliği etkileyen ikinci bir varyantın genotipine bağlı olması durumunda ortaya çıkar. Genomun tamamı birbiriyle etkileşim halindedir. Bu sebeple etkileşen genlerin ortaya koyulması bu bakış açısıyla çok daha net olmuştur. DGRP genomlarına sokulan mutant ve kontrol soyları DGRP genomuyla etkileşerek ilişkili genleri ortaya koymuştur. Bu alışma kapsamında GWAS neticesinde elde edilen bütün sonuçlar, açıklamalı olarak BULGULAR kısmında belirtilmiştir.

4.BULGULAR

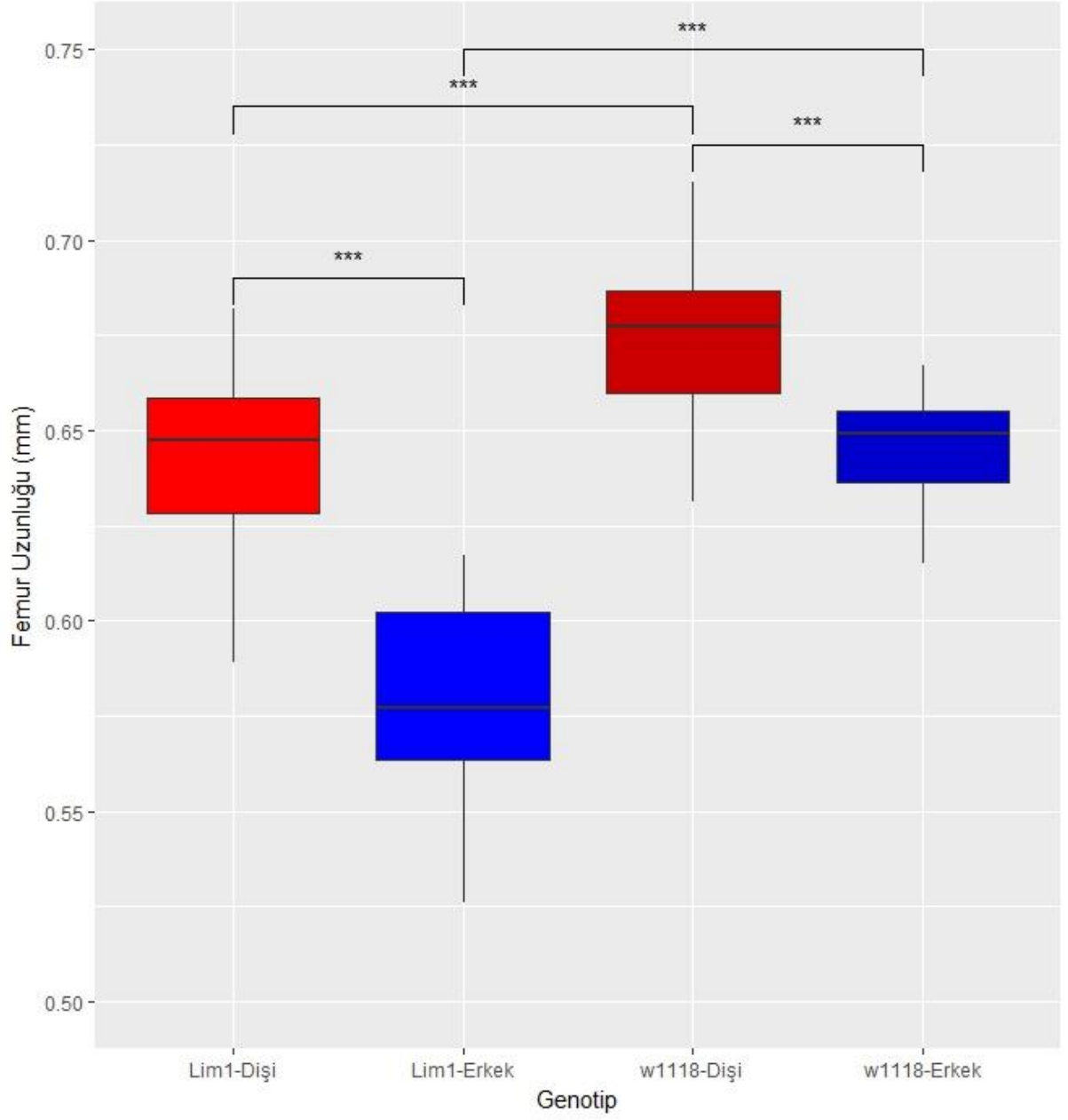
4.1 Femur Uzunlukları Ölçüm Sonuçları

4.1.1 w^{1118} Kontrol Soyu ve *lim1* Mutant Soyu için Femur Uzunlukları Ölçüm Sonuçları

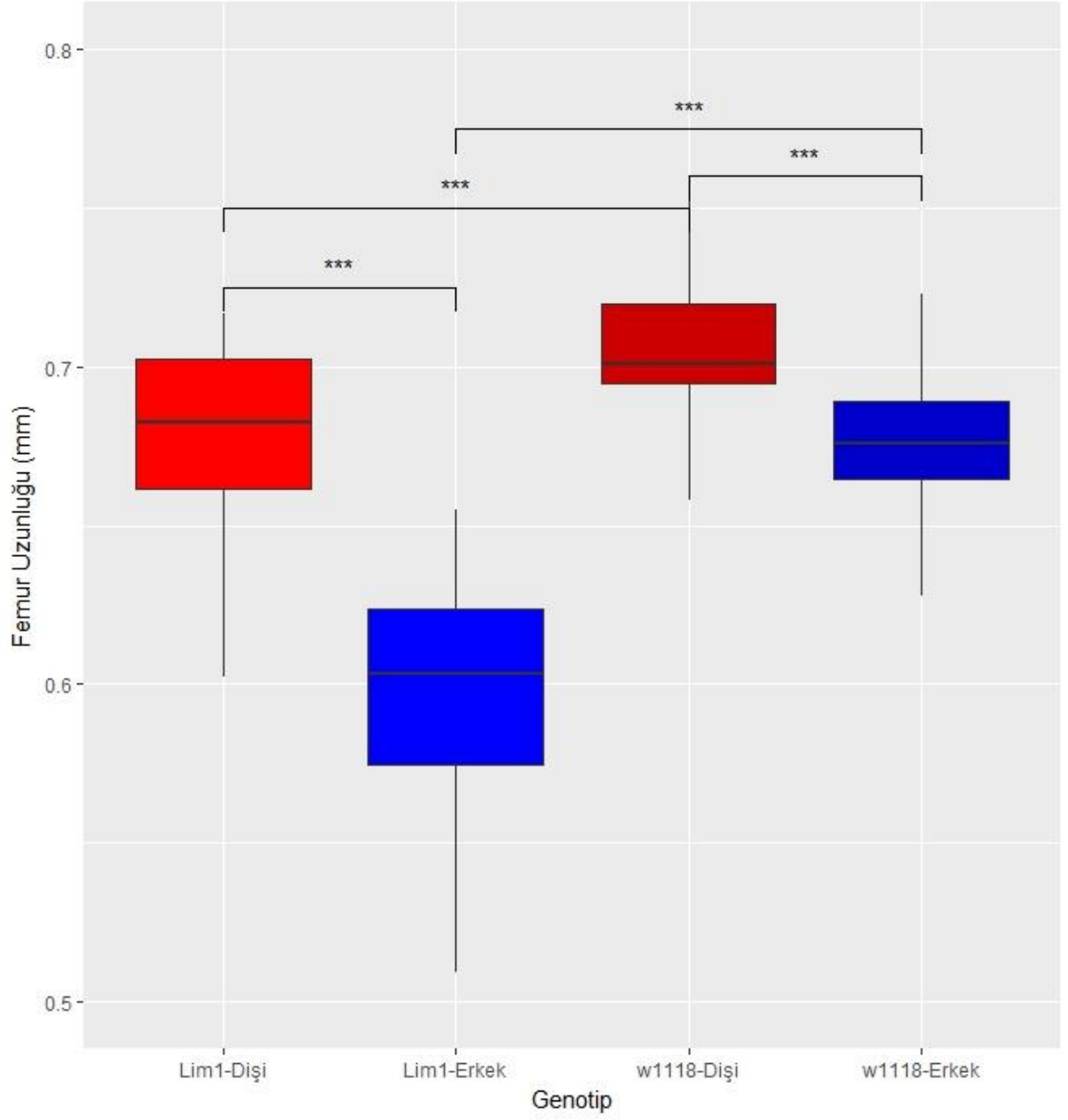
Tezin odağında yer alan GWAS çalışmalarına başlamadan önce, *Drosophila melanogaster* bacak gelişimi açısından önemi bilimsel çalışmalarla açık bir şekilde ortaya konmuş olan *lim1* gen mutant soyu ve bu soyun yaratıldığı kontrol (w^{1118}) soylarının kendi içlerinde her bir bacağına ait femur uzunlukları ölçümleri ve bu ölçümlere ilişkin istatistiksel analizleri gerçekleştirilmiştir. Kontrol soyu (w^{1118}) ile mutant soy (*lim1*) arasındaki farklar, her üç bacak için hem genotipe hem de eşeye bağlı olarak tanımlanmıştır. İncelediğimiz iki genotip (*lim1/lim1*; w^{1118}/w^{1118} ve *lim1⁺/lim1⁺*; w^{1118}/w^{1118}) arasında dişi bireylere ait birinci bacak femur uzunluğu ortalamalarında kontrol soyu değerine bağlı olarak kontrol soyunun femur uzunluğu %3,38 daha uzunken, erkek bireyler arasında kontrol soyu bireylerinin femur uzunluklarının %9,56 daha uzun olduğu gözlenmiştir. Bu durum, ikinci bacak femur uzunluğu ortalamaları arasında kontrol soyu dişi bireyler için %7,41 daha uzun olmaları ve erkek bireyler için ise %10,63 daha uzun olmaları ile ortaya konmuş; üçüncü bacak femur uzunluğu ortalamaları arasında ise kontrol soy dişi bireyleri için %3,41 daha uzun olarak ölçülürken erkek bireyler için %11,41 daha uzun olarak hesaplanmıştır. En düşük farklılık oranı birinci bacak femur uzunluğunda görülmektedir. Erkek bireylerde yaşanan ciddi küçülme ise her üç bacakta da gözlenebilmektedir (Şekil 4.1. - 4.3.). Her üç bacak için de yapılan varyans analizlerine bakıldığında gerek eşeyler arası farklar gerekse genotipler arasında gözlenen farklar istatistiksel olarak yüksek anlamlılık seviyesindedir ($p<0,001$) (Çizelge 4.1). Bu analiz sonuçlarından anlaşıldığı üzere, etkileşim eşeylere göre genotip ifadelerini anlamlı olarak değiştirmektedir. Değişim üç bacak için de istatistiksel olarak yüksek anlamlılık göstermektedir.



Şekil 4.1. Birinci bacak için femur uzunluklarının kontrol ve mutant soylar içerisinde eşeye bağlı değişimi



Şekil 4.2. İkinci bacak için femur uzunluklarının kontrol ve mutant soylar içerisinde eşeye bağlı değişimi



Şekil 4.3. Üçüncü bacak için Femur Uzunluklarının Kontrol ve Mutant Soylar İçerisinde Eşeye Bağlı Değişimi

Çizelge 4.1. Her Üç Bacak için Mutant ve Kontrol Soy ANOVA Sonuçları

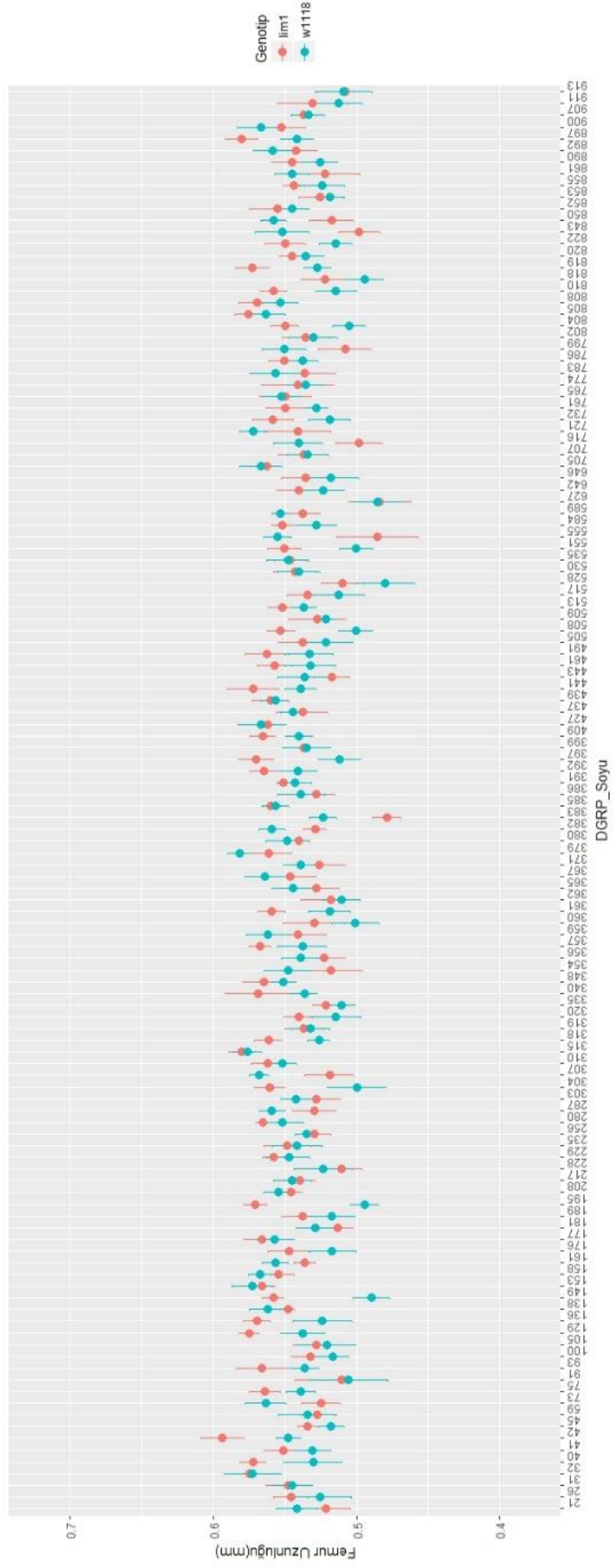
	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	F değeri
Birinci bacak			
Genotip	0,042521	1	86,291***
Eşey	0,043677	1	88,637***
Genotip:Eşey	0,010880	1	22,079***
İkinci bacak			
Genotip	0.085956	1	129,803***
Eşey	0.092218	1	139,260***
Genotip:Eşey	0.012949	1	19,555***
Üçüncü bacak			
Genotip	0,09042	1	109,627***
Eşey	0,10752	1	130,364***
Genotip:Eşey	0,02560	1	31,037***

* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

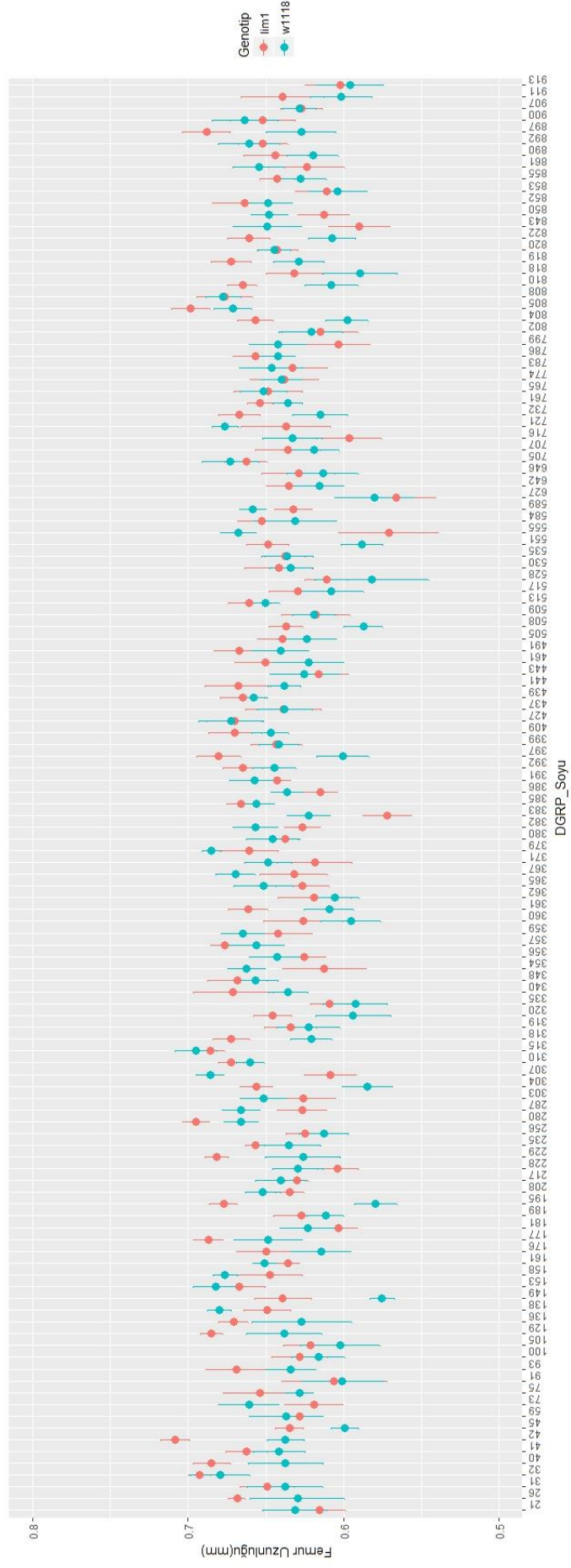
Yukarıda gösterilen ANOVA sonuçları ve grafiklerde görüldüğü üzere, eşeyler arasında ve genotipler (*lim1* ve *w¹¹¹⁸*) arasında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. Şekil 4.1. – 4.3.’te görülen femur uzunlukları arasındaki fark, genotip temelinde eşeyler arasında değerlendirildiğinde farklar anlamlı çıkmıştır (p<0,001).

4.1.2 Kontrol Soyu (*lim1⁺/lim1⁺*; *w¹¹¹⁸/w¹¹¹⁸*) ve *lim1* mutant soyu (*lim1/lim1*; *w¹¹¹⁸/w¹¹¹⁸*) ile DGRP Soylarının Çaprazlarına ait Femur Uzunluğu Verilerinin İstatistikleri

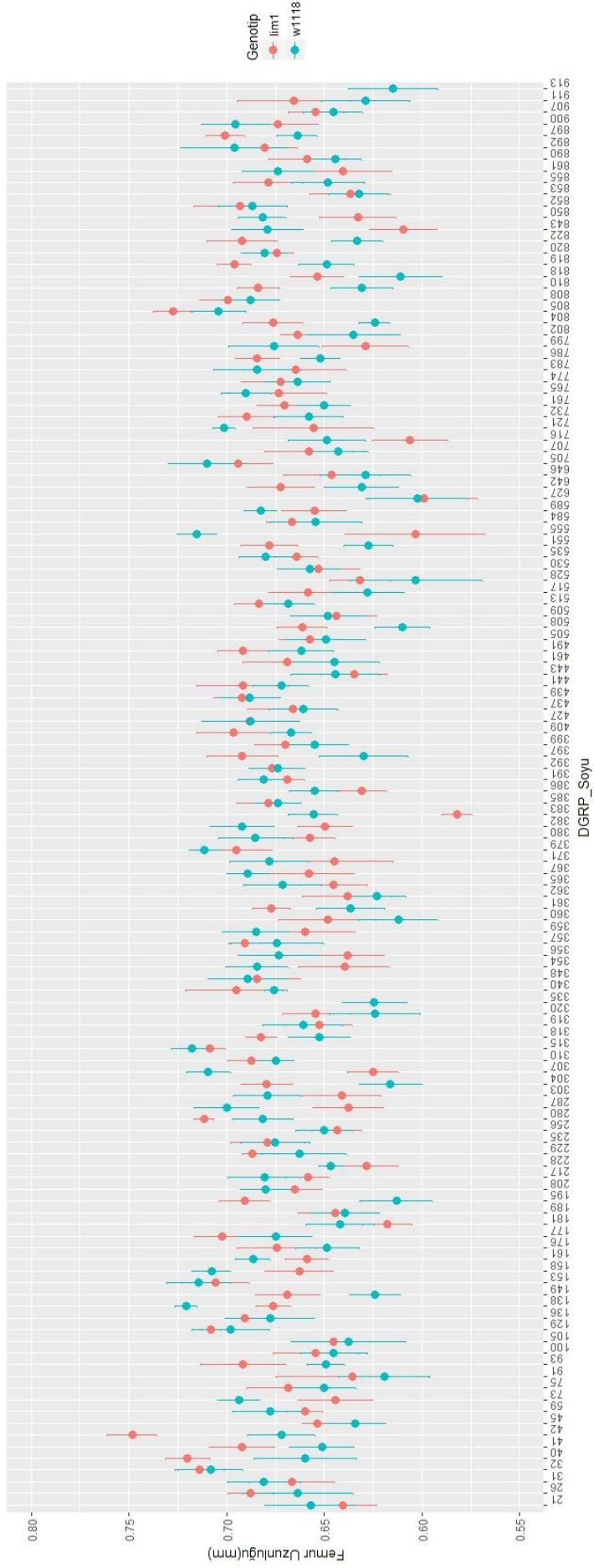
Kontrol soyu (*w¹¹¹⁸*) ve mutant soy (*lim1*) ile çaprazlanan soyların her bacak için femur uzunluklarına ait ANOVA sonuçlarından anlaşılmaktadır ki, femur uzunlukları arasında gözlenen değişkenlikler soyların sahip olduğu genetik altyapıya bağlıdır. Üç bacağı da ait ANOVA sonuçları ve femur uzunluğu ortalamalarını gösteren grafikler aşağıda bulunmaktadır.



Şekil4.4. Kontrol soyu ve mutant soyu çaprazlarına ait 1. bacak femur uzunluğu ortalamaları



Şekil 4.5. Kontrol soyu ve mutant soy çaprazlarına ait 2. bacak femur uzunluğu ortalamaları



Şekil 4.6. Kontrol soyu ve mutant soyu çaprazlarına ait 3. bacak femur uzunluğu ortalamaları

Yukarıdaki grafiklerde açıkça görüldüğü üzere yapılan çaprazlar sonucunda soylar arası değişim açıkça görülmektedir. Bu değişim örneklendirildiğinde, her üç bacağına ait femur uzunluğu ortalamalarının üzerinde ve ortalamaların altında femur uzunluğu ortalamasına sahip olmalarına dikkat edilerek seçilmiş olan iki DGRP soyu ile yapılmış kontrol soyu (w^{1118}) çaprazlarından gelen F_1 bireylerine ait femur uzunlukları açısından her üç bacağına ait karşılaştırmalar yapıldığında, DGRP - 42 - $x w^{1118}$ 'den gelen F_1 bireylerine ait femur uzunlukları ile DGRP - 383 - $x w^{1118}$ 'den gelen F_1 bireylerine ait femur uzunlukları, 1. bacağına ait femur uzunlukları açısından bu iki soydan gelen F_1 bireyleri arasında daha büyük ortalamayı veren soy olan DGRP - 42 - $x w^{1118}$ 'e bağlı olarak %4,4 oranında bir fark gözlenmiştir. Bu durum 2. bacağına ait femur uzunlukları arasında %0,17 iken, Üçüncü bacakta %2,41 olarak görülmüştür. Her üç bacağına ait femur uzunluklarında DGRP - 42 - $x w^{1118}$ çaprazından elde edilen bireyler daha uzun femura sahip olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde DGRP ile mutant soy ($lim1$) çaprazlarından elde edilen bireylere ait her üç bacağın femur uzunluğu ortalamalarında da çok ciddi farklılıklar vardır. DGRP - 42 - $x lim1$ 'den gelen F_1 bireylerine ait femur uzunlukları ile DGRP-383- $x lim1$ 'den gelen F_1 bireylerine ait femur uzunlukları karşılaştırıldığında, 1. bacağına ait femur uzunlukları açısından bu iki soydan gelen F_1 bireyleri arasında daha büyük ortalamayı veren DGRP - 42 - $x lim1$ 'e bağlı olarak %19,35 oranında bir fark gözlenmiştir. Bu durum 2. bacağına ait femur uzunlukları açısından %19,23 iken, Üçüncü bacak için %21,11 olarak hesaplanmıştır. Her üç bacağına ait femur uzunluklarında DGRP - 42 - $x lim1$ çaprazından elde edilen bireyler daha uzun femura sahip olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. DGRP x Kontrol Soyu (w^{1118}) ve DGRP x Mutant Soyu ($lim1$) F₁ Bireylerinde Üç Bacak için ANOVA Sonuçları

	Kareler Toplamı	Ortalamaların Kareleri	Serbestlik Derecesi	F Değeri
DGRP x w^{1118}				
1.Bacak				
DGRP Soyu	0,7561	0,006249	121	9,6850***
2.Bacak				
DGRP Soyu	1,222	0,010097	121	10,460***
3.Bacak				
DGRP Soyu	1,373	0,011349	121	11,270***
DGRP x $lim1$				
1.Bacak				
DGRP Soyu	0,8042	0,006646	121	9,5610***
2.Bacak				
DGRP Soyu	1,287	0,010635	121	11,110***
3.Bacak				
DGRP Soyu	1,347	0,011133	121	10,560***

* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

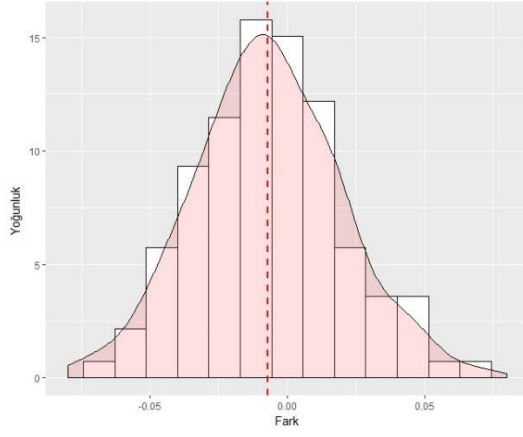
ANOVA sonuçları incelendiğinde görülmektedir ki, iki soy ile DGRP soylarının çaprazları için her üç bacak açısından bireyler arasındaki farklılık istatistiksel olarak yüksek oranda anlamlılık göstermektedir.

4.1.3 *lim1* Mutantı ve Kontrol Soyu *w¹¹¹⁸* Soylarının DGRP ile Gerçekleştirilen Çaprazlarından Elde Edilen Yavru Dölleri Arasında Ortaya Çıkan Femur Uzunluğu Farklarına Ait Analiz Sonuçları

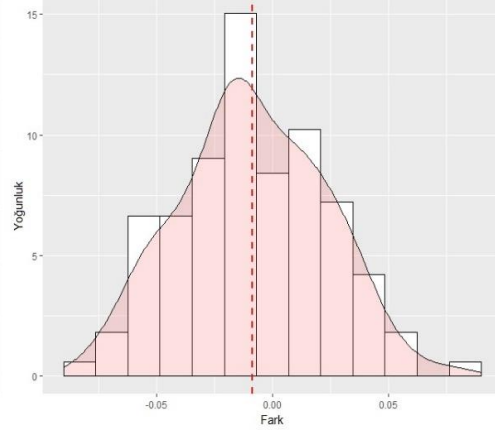
Çaprazı yapılan 122 soy GENOTİP, DGRP Soyu ve GENOTİP x DGRP soyu interaksyonları yönünden incelenmiştir. Ölçümlerden elde edilen verilerle R istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilen Mixed Model ANOVA'ların sonuçları, Normalite Testi sonuçları ile grafikleri ve çaprazlara ait femur uzunluğu ortalama farklarını (= Kontrol - Mutant) gösteren grafikler aşağıdadır.

Çizelge 4.3. Normalite Testi Sonuçları

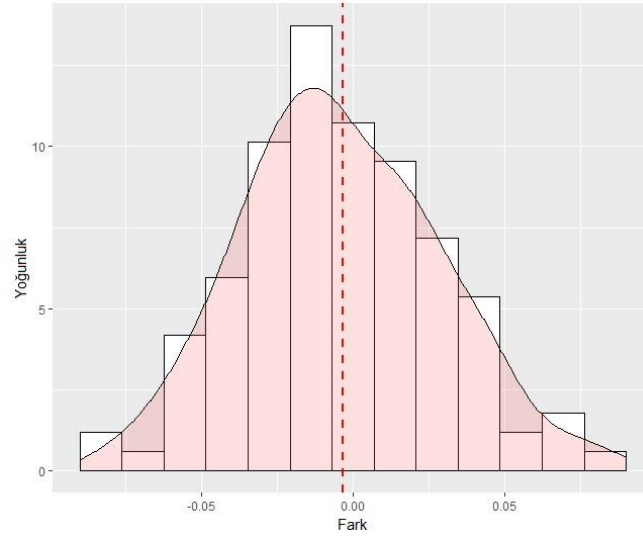
Üç bacağına ait Shapiro - Wilkinon Normalite Testi Sonuçları		
DGRP x <i>w1118</i> – DGRP x <i>lim1</i>		
	w	p değeri
1.Bacak	0,99636	0,9899
2.Bacak	0,99461	0,9254
3.Bacak	0,98694	0,2934



Birinci bacağı a ait Normal Dağılım grafiği

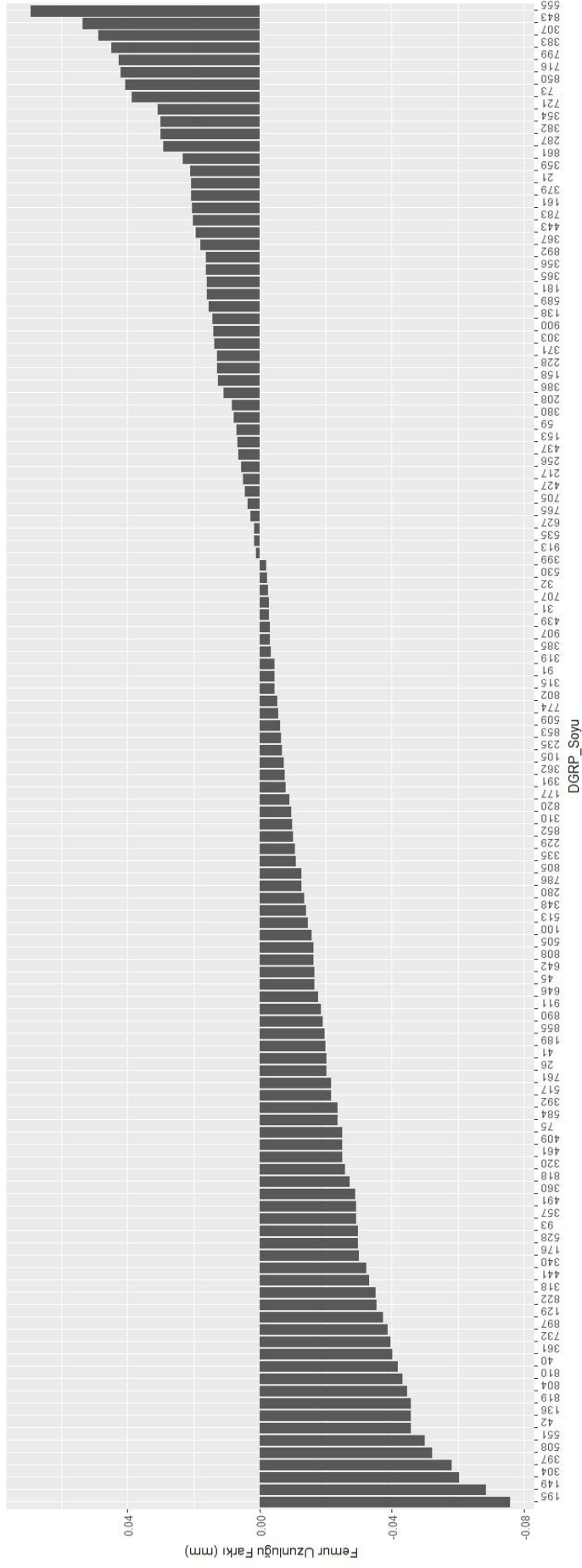


İkinci bacağı a ait Normal Dağılım grafiği

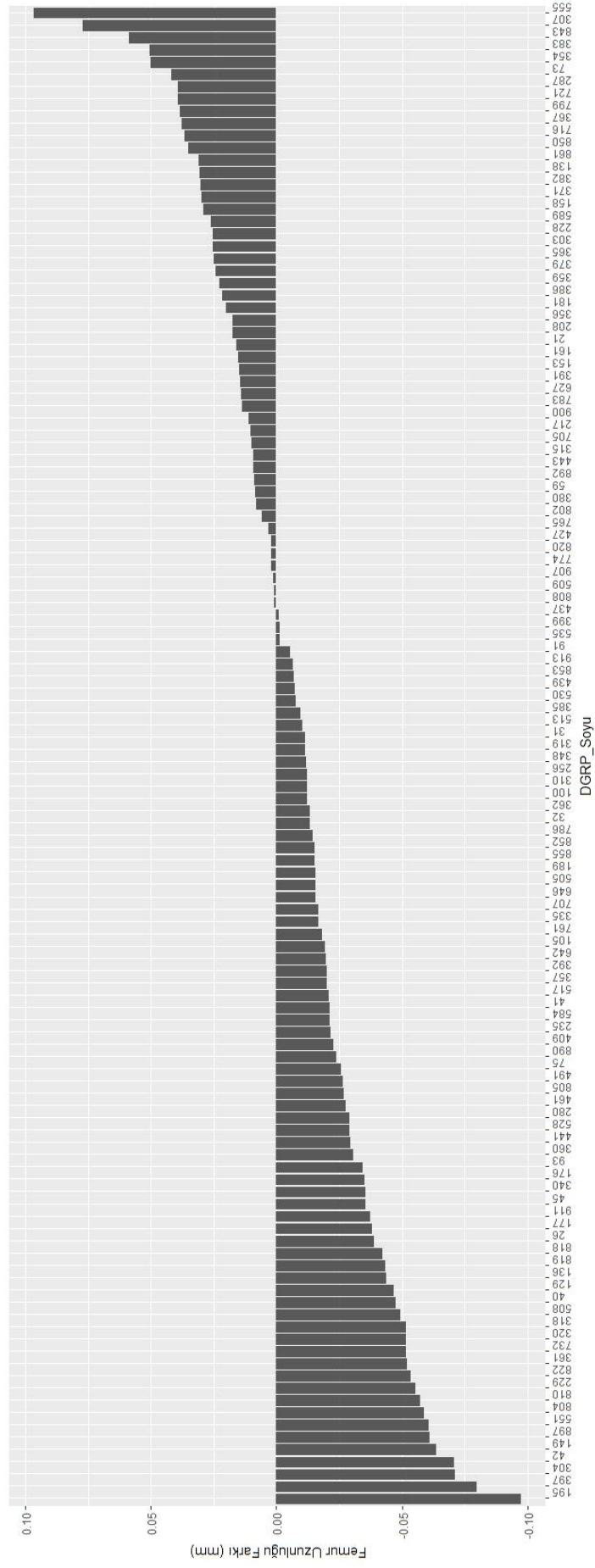


Üçüncü bacağı a ait Normal Dağılım

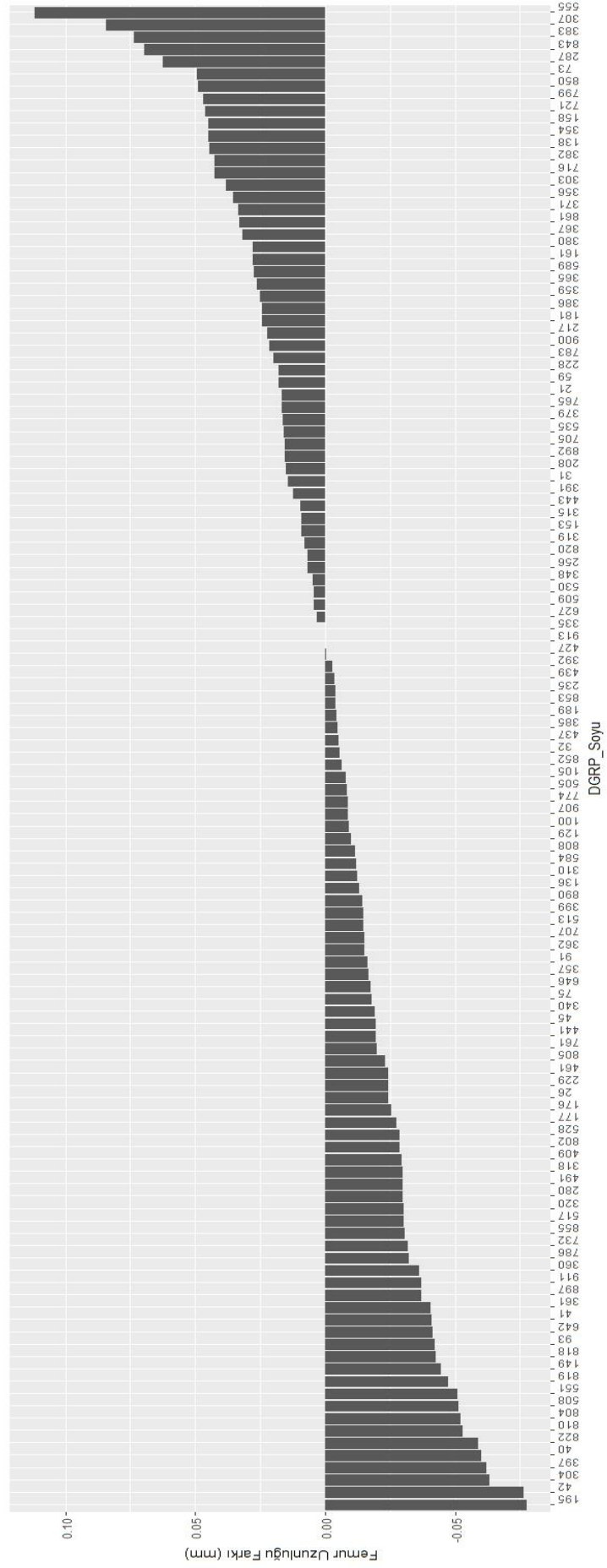
Şekil 4.7. Her üç bacağı a ait Normal Dağılım grafikleri



Şekil 4.8. Birinci bacak için femur uzunluklarının dgrp soylarından elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri



Şekil 4.9. İkinci bacak için femur uzunluklarının dgrp soyları'ndan elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri



Şekil 4.10. Üçüncü bacak için femur uzunluklarının dgrp soyları'ndan elde edilen kontrol-mutant farkı değerleri

Şekil 13 - 15'te görüldüğü üzere DGRP soylarıyla çaprazlanan kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soydan (*lim1*) elde edilen F₁ bireylerine ait femur uzunluğu ortalama farkları, negatif ve pozitif değerler almaktadır. Üç bacak için bu durum şu şekildedir: Birinci bacakta 70 soyda mutant çaprazlarından gelen bireyler daha büyük femur uzunluğu ortalamasına sahipken 52 soyda kontrol soyu çaprazlarından gelen bireylerin femur uzunluğu ortalaması daha büyüktür. Bu durum, ikinci bacak söz konusu olduğunda mutant soydan gelen bireylere ait femur uzunluğu ortalaması 72 soyda daha büyükken 50 soyda kontrol soyu ile yapılan çaprazlardan gelen bireylere ait femur uzunluğu ortalaması daha büyük olarak saptanmıştır. Üçüncü bacak için ise Birinci bacakla benzer şekilde bir durum gözlenmektedir, 70 soyda mutant soy ile gerçekleştirilen çaprazlardan gelen bireylere ait femur uzunluğu ortalamaları, kontrol soyu ile gerçekleştirilen çaprazlara göre daha büyükken 50 soyda kontrol soyu ile yapılan çaprazdan gelen bireylere ait femur uzunluğu ortalamaları mutant soydan gelen bireylere ait ortalamalardan daha büyüktür.

Çizelge 4.4. Üç Bacak için DGRP x w^{1118} – DGRP x *lim1* Soylarına ait ANOVA Sonuçları

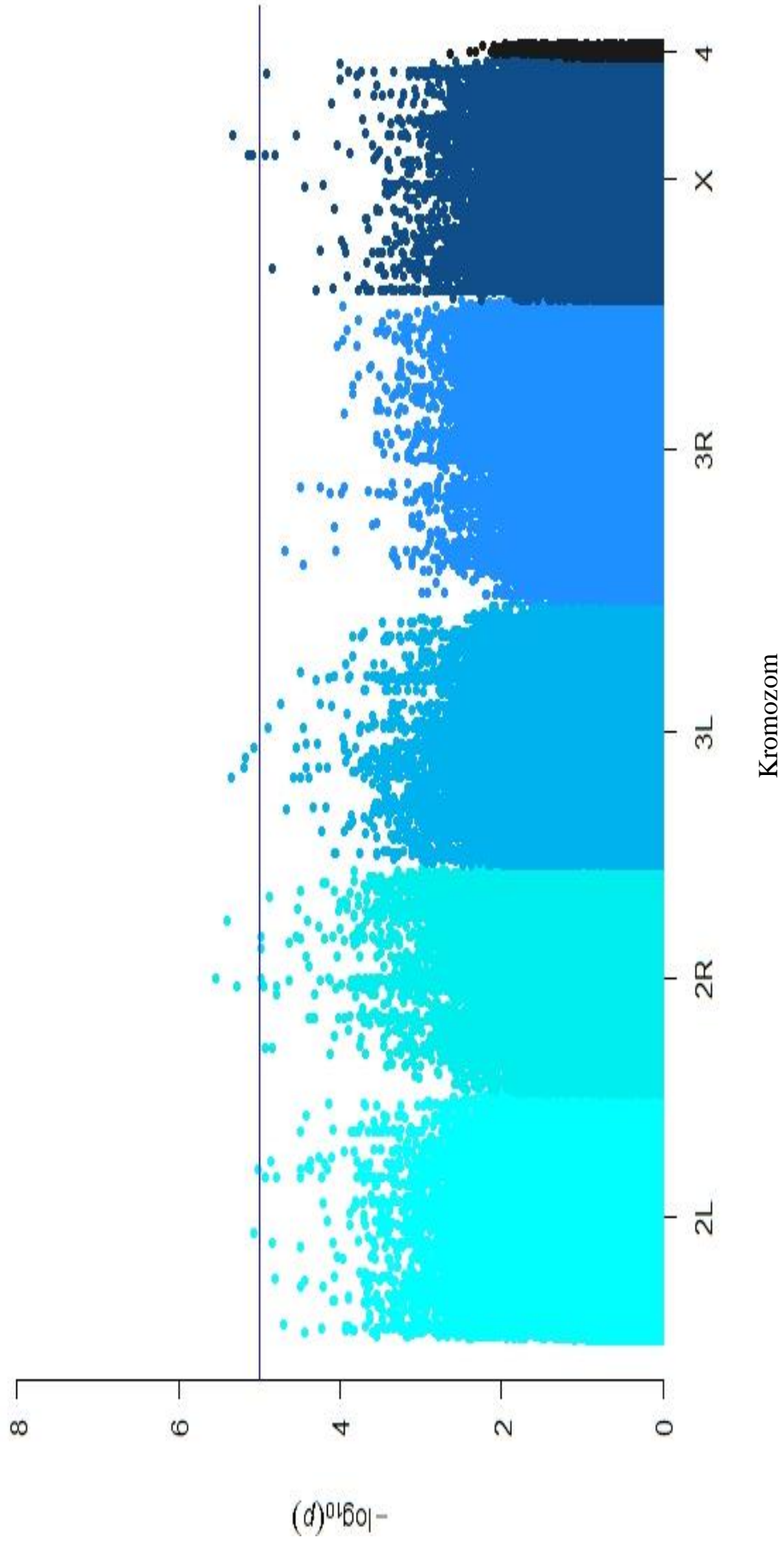
	Kareler Toplamı	Ortalamaların Kareleri	Serbestlik Derecesi	F Değeri
1.Bacak				
Genotip	0,04353	0,043531	1	71,0839***
DGRP Soyu	0,41780	0,003453	121	56,3840***
Genotip:DGRP Soyu	0,61028	0,005044	121	82,3610***
İkinci bacak				
Genotip	0,06458	0,064579	1	75,6849***
DGRP_Soyu	0,57654	0,004765	121	55,8430***
Genotip:DGRP_Soyu	0,96346	0,007963	121	93,3190***
Üçüncü bacak				
Genotip	0,00892	0,0089172	1	97,5820***
DGRP_Soyu	0,63767	0,0052700	121	57,6710***
Genotip:DGRP_Soyu	100,083	0,0082713	121	90,5150***

* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001

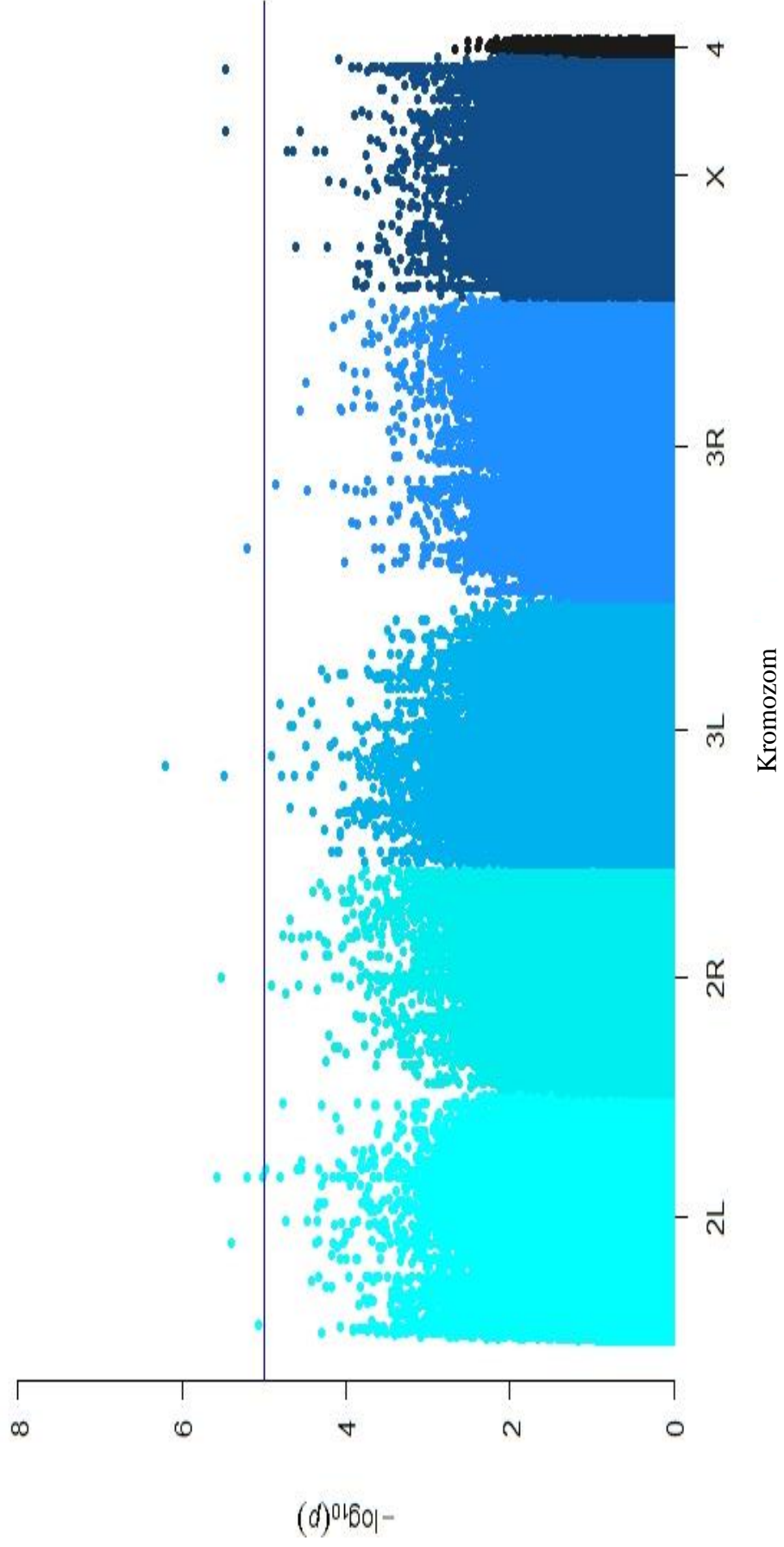
Gerçekleştirilen ANOVA sonucunda her üç bacak için de görülmüştür ki, her üç interaksiyon terimi (GENOTİP, DGRP Soyu, GENOTİP x DGRP Soyu) açısından istatistiki olarak ileri düzeyde anlamlılık mevcuttur. Çizelge 4.4'te de görülen anlamlı sonuçlar ışığında, kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soy ($lim1$) ile yapılan DGRP Soyu çaprazlardan elde edilen F_1 bireylerine ait femur uzunluklarındaki farklılığın DGRP Soy terimine bağlı olduğu grafiklerde görülen değişimlerden anlaşılmaktadır. Çizelge 4.4.'de belirtilen Genotip terimi, DGRP soylarıyla çaprazlanan kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soy ($lim1$) belirtmektedir. GENOTİP x DGRP teriminin anlamlı olarak tespit edilmiş olması, her bir DGRP soyunun kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soy ($lim1$) ile gerçekleştirilen çaprazlara farklı yanıtlar vermelerinden kaynaklanmaktadır. Farklılıklar, DGRP soylarının genetik altyapılarının birbirinden farklı olmalarından kaynaklanmaktadır ve soydan soya değişen farklı seviyelerde gerçekleşen gen etkileşimlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.

4.2 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi (GWAS) Sonuçları

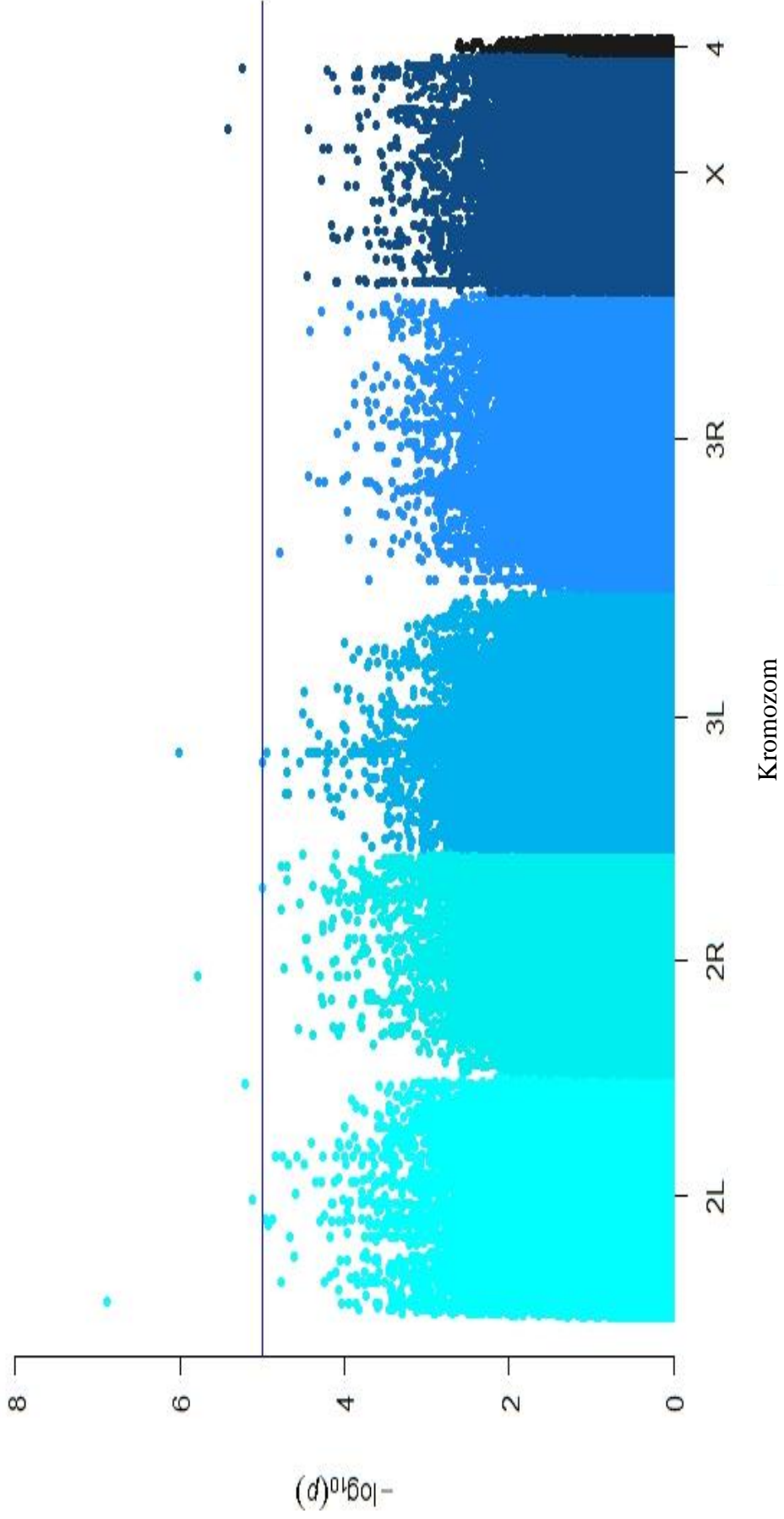
122 DGRP soyunun kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soy ($lim1$) ile çaprazlanmalarından elde edilen F_1 döllerine ait her üç bacağın femur uzunlukları ölçülmüş ve her bir soy için DGRP soyu x kontrol soyu (w^{1118}) ortalaması ve DGRP soyu x mutant soy ($lim1$) ortalaması hesaplanarak kontrol soyundan elde edilen ortalamalardan mutant soya ait ortalamaların farkı alınmış ve genom boyu ilişkilendirme analizinde kullanılacak veri seti oluşturulmuştur. Oluşturulan bu veri DGRP₂ sitesinde bulunan yazılım aracılığıyla analiz edilmiştir. Bu analiz, yaklaşık beş milyon TNP'nin, çalışılan DGRP soylarının genomuyla ilişkilendirilmesine dayanmaktadır. Saptanan varyantların kromozomlara dağılımını ve bu varyantlara ait TNP'lerin istatistiki olarak anlamlılığını gösteren grafikler her üç bacak içinde aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Birinci bacağı ait varyantların kromozomlara dağılımı

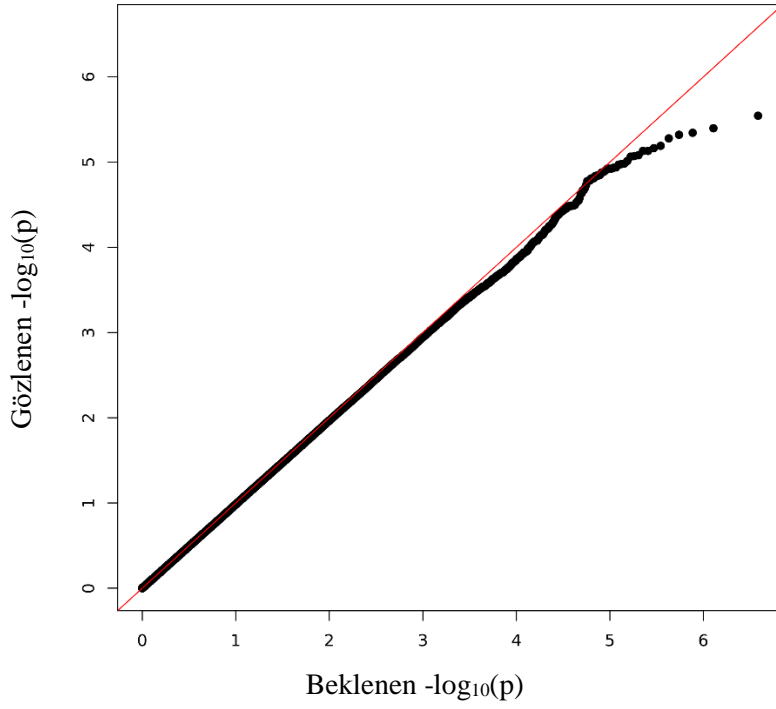


Şekil 4.12. İkinci bacağı ait varyantların kromozomlara dağılımı



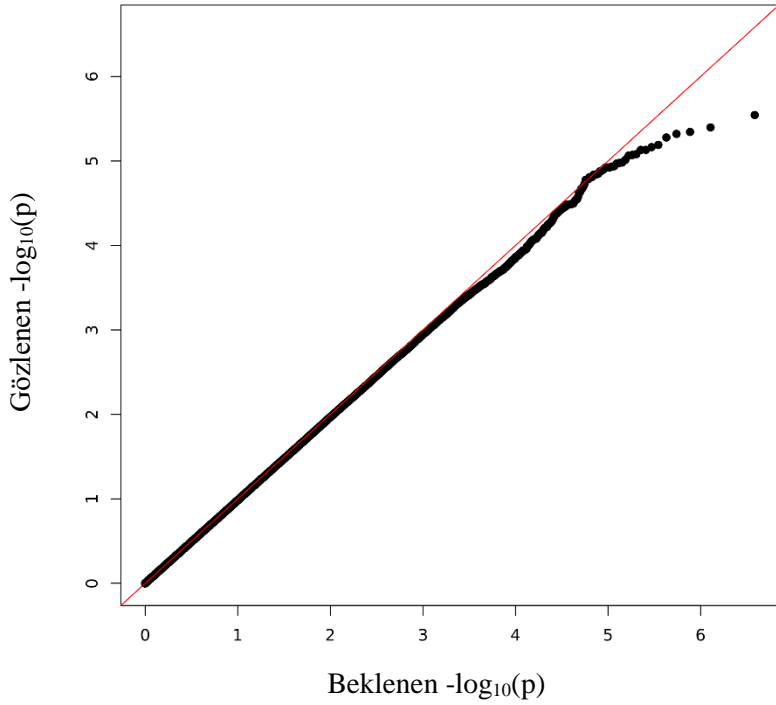
Şekil 4.13. Üçüncü bacağa ait varyantların kromozomlara dağılımı

Birinci Bacağa ait TNP İsabetlerinin Anlamlılığı



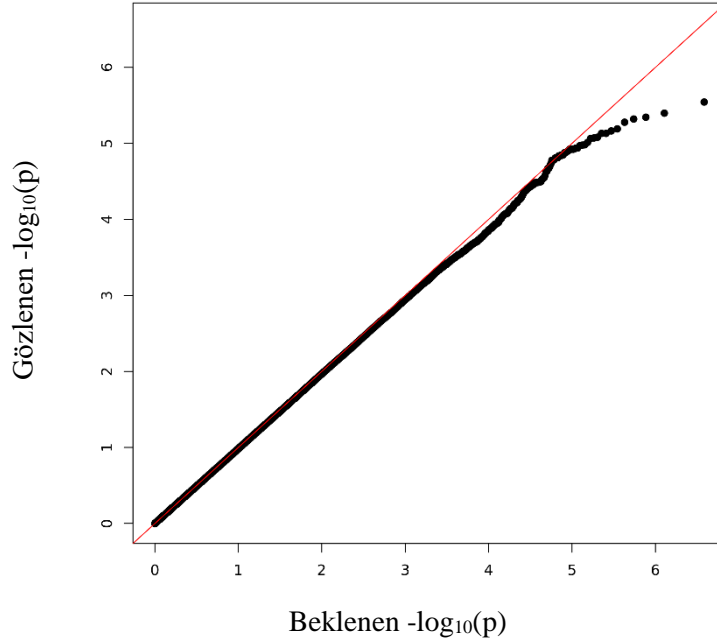
Şekil 4.14. Birinci bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik

İkinci Bacağa ait TNP İsabetlerinin Anlamlılığı



Şekil 4.15. İkinci bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik

Üçüncü Bacağa ait TNP İsbetlerinin Anlamlılığı



Şekil 4.16. Üçüncü bacak için saptanan TNP'lerin anlamlılığını gösteren grafik

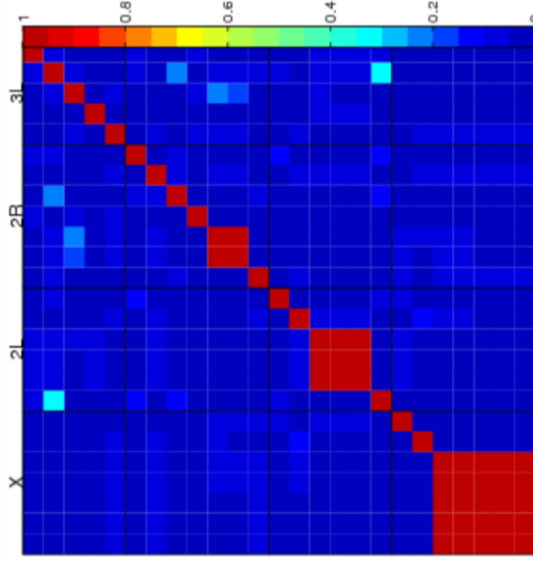
4.2.1 Genom Boyu İlişkilendirme Analizi Sonucunda Bulunan Genler

Yapılan GWAS sonucunda, toplamda 54 farklı TNP saptanmıştır. Saptanan bu TNP'lerin tamamı için p değeri, 10^{-5} 'in üzerindedir. Bulunan bu varyantlara ait geniş kapsamlı bilgiler aşağıda ayrıntılı olarak bulunmaktadır.

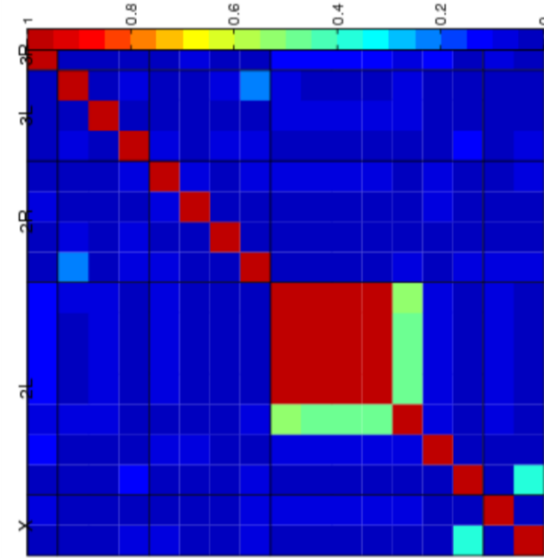
4.2.1.1 TNP Bağlantı Dengesizliğinin Kromozomlara Göre İncelenmesi

Genom boyu ilişkilendirme çalışmaları, genoma dağılmış halde bulunan TNP'lerin fenotipik varyasyonla ilişkisi temeline dayanmaktadır. Tez kapsamında her üç bacak için gerçekleştirilen analizler, kromozomlara dağılmış olarak bulunan TNP'lerin ilişki varyanta isabet düzeyinin anlamlılığı, TNP'ler arası bağlantı dengesizliği düşüklüğünün ifadesi olarak aşağıdaki grafiklerde belirtilmiştir. DGRP₂ sitesinde bulunan yazılım tarafından hazırlanan bu grafiklerde TNP'ler arası bağlantı dengesizliği düzeyi 0 ile 1 arasında değerler alacak şekilde, tüm

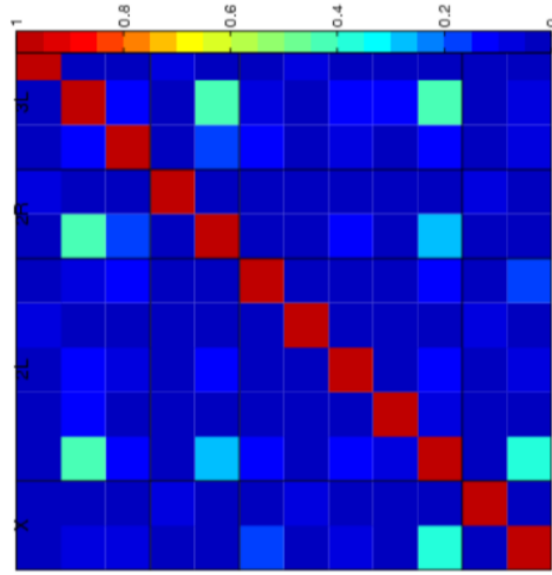
genom açısından ifade edilmiştir. “Heat map” olarak isimlendirilen bu ifade yöntemi ile hazırlanan grafikler, incelendiğinde her üç bacak içinde görülmüştür ki, TNP bağlantı dengesizliği oldukça düşüktür. Bu çıkarımdan, tez kapsamında gerçekleştirilen genom boyu ilişkilendirme analizi sonucunda *lim1* geni ile ilişkilendirilen genetik varyantların kromozomlara dağılmış TNP’ler arası yakınlığın sebep olduğu yapay bir durum olmadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.17. Birinci bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği



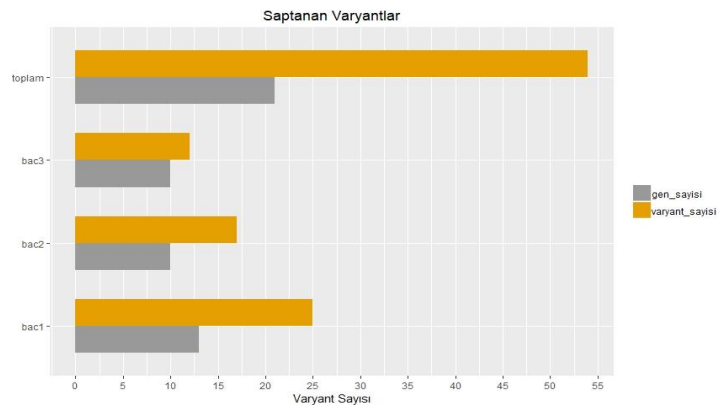
Şekil4.18. İkinci bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği



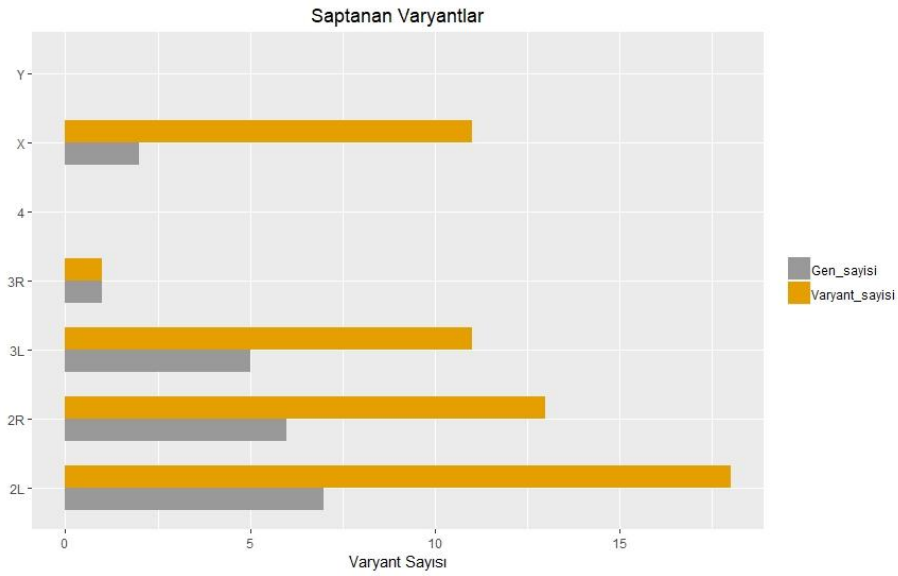
Şekil 4.19. Üçüncü bacak için TNP'ler arası bağlantı dengesizliği

4.2.1.2 GWAS Sonuçlarının Üç Bacak Açısından Genel Değerlendirmesi

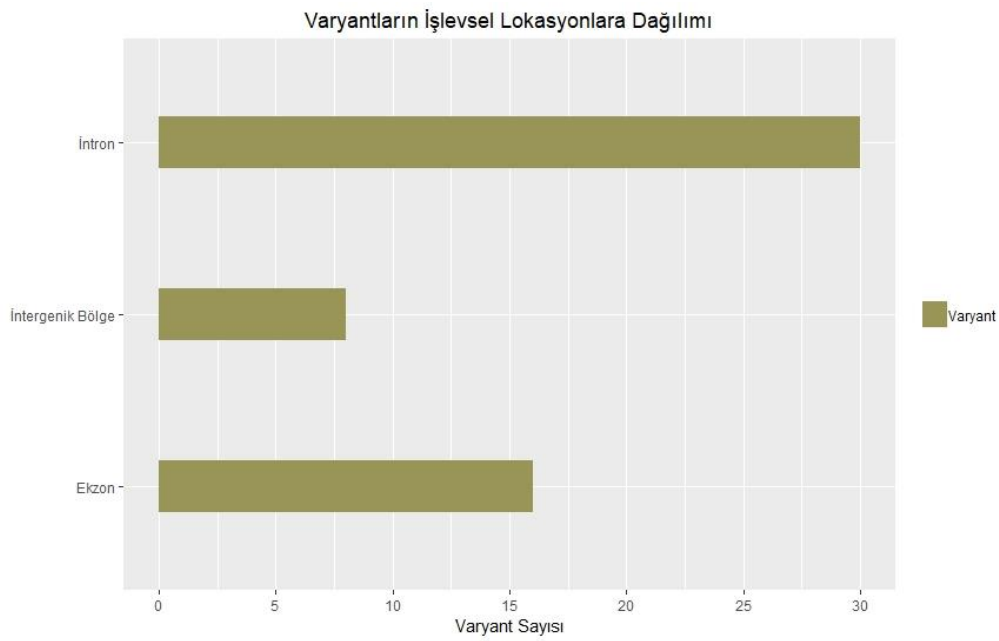
Gerçekleştirilen genom boyu ilişkilendirme analizi sonucunda saptanan 54 varyantın 8'i intergenik bölgede, 16'sı ekzonlarda ve 30'u intronlarda bulunmaktadır. İtron ve ekzon bölgelerinde bulunan 46 varyantın 13'ü, aynı genlere ait farklı TNP isabetlerinden oluşmaktadır. Toplamda 21 aday gen tespit edilmiştir. Birinci bacak için 13 adet, İkinci bacak için 10 adet, Üçüncü bacak için ise 10 adet aday gen tanımlanmıştır. Bu genlerin bazıları üç bacak arasında ortak olarak görülmüştür. 1. ve İkinci bacaklar için 7 ortak gen, 2. ve Üçüncü bacaklar için 4 ortak gen, 1. ve Üçüncü bacaklar için 4 ortak gen bulunurken, 3 bacak için 3 ortak gen belirlenmiştir.



Şekil 4.20. Üç bacak için gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda tespit edilen varyantlar



Şekil 4.21. Üç bacak için gerçekleştirilen GWAS'lar sonucunda tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı



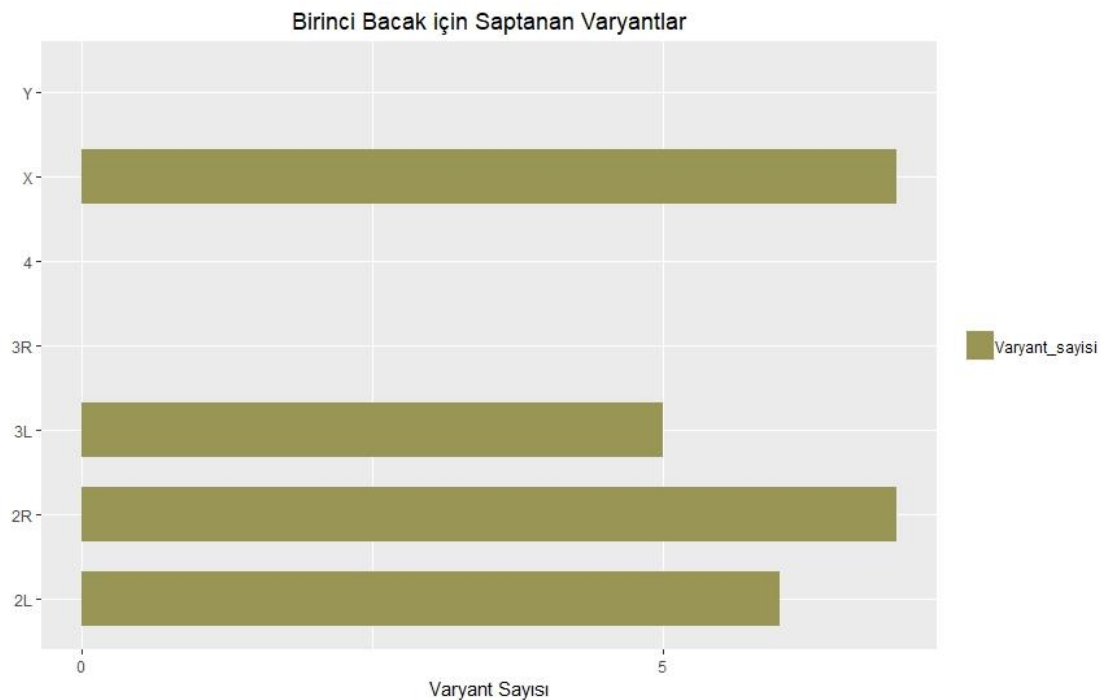
Şekil 4.22. Saptanan TNP'lerin ilişkilendikleri işlevsel lokasyonlar

4.2.1.3 Birinci bacak için Saptanan Varyantlar

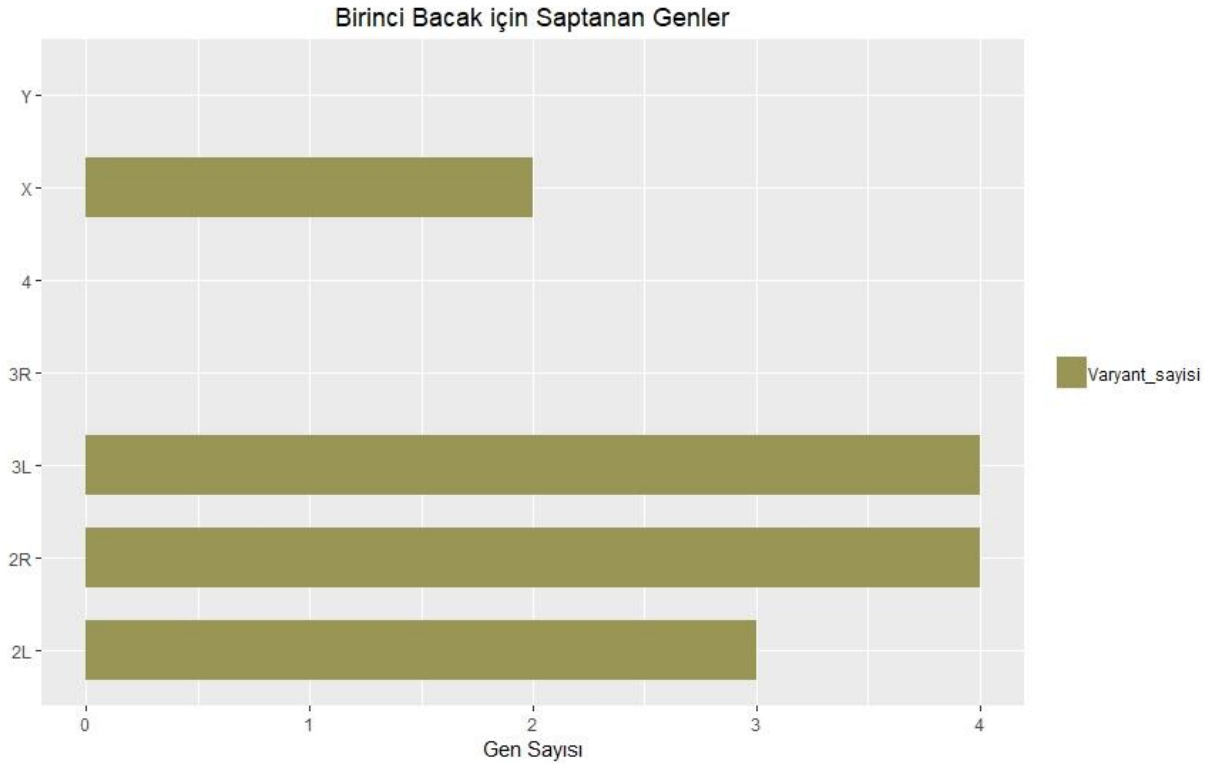
Birinci bacak için toplamda 25 farklı varyant tespit edilmiştir. Tespit edilmiş olan bu varyantlar farklı işlevsel konumlarda bulunmaktadır. İntergenik bölge, up stream bölge, down stream bölge ve intron bölgesi bu varyantların buldukları işlevsel konumlardır. Elde edilen bu varyantlar içerisinde bazı varyantlar birden fazla kez isabet almışlardır (Varyantlar hakkında ayrıntılı bilgi Çizelge 4.5.'te mevcuttur). Tekrarlayan isabetler temizlendikten sonra 1. bacağına ait GWAS sonucunda toplamda 13 adet aday gen tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Birinci bacak için Gerçekleştirilen GWAS Sonucu Saptanan Genler

Gen	Genin Lokasyonu	İsabet Sayısı	MAF	p Değeri	İnsan Ortoloğu
<i>CG11178</i>	X:13,605,681..13,609,529	5	0,1339	<10 ⁻⁵	AVL9
<i>CG4168</i>	2L:15,161,882..15,200,459	3	0,3983	<10 ⁻⁵	CPN2, GP5
<i>Cp1</i>	2R:13,960,675..13,967,981	2	0,4741	<10 ⁻⁵	CTSV, CTSL
<i>Mspo</i>	2R:14,671,396..14,713,622	2	0,1525	<10 ⁻⁵	SPON2
<i>Liprin - r</i>	2R:22,333,500..22,373,109	1	0,0583	<10 ⁻⁵	KAZN
<i>Dhpr</i>	3L:9,134,560..9,135,916	1	0,4474	<10 ⁻⁵	QDPR
<i>Bma</i>	3L:9,908,120..9,967,298	1	0,4348	<10 ⁻⁵	SCYL2
<i>CG42389</i>	2L:16,545,016..16,663,218	1	0,075	<10 ⁻⁵	FNDC3A
<i>CG42588</i>	3L:12,814,254..12,824,650	1	0,4828	<10 ⁻⁵	GTF3C2
<i>pdm3</i>	2R:8,327,490..8,396,280	1	0,3097	<10 ⁻⁵	POU6F1
<i>gce</i>	X:15,297,766..15,319,074	1	0,0684	<10 ⁻⁵	ARNTL
<i>CR43974</i>	3L:8,081,924..8,083,200	1	0,0811	<10 ⁻⁵	-
<i>CG44153</i>	2L:10,064,121..10,180,256	1	0,0667	<10 ⁻⁵	ADGRB3



Şekil 4.23. Birinci bacak için yapılan GWAS Sonucu Tespit edilen Varyantların Kromozomlara Dağılımı



Şekil 4.24. Birinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı

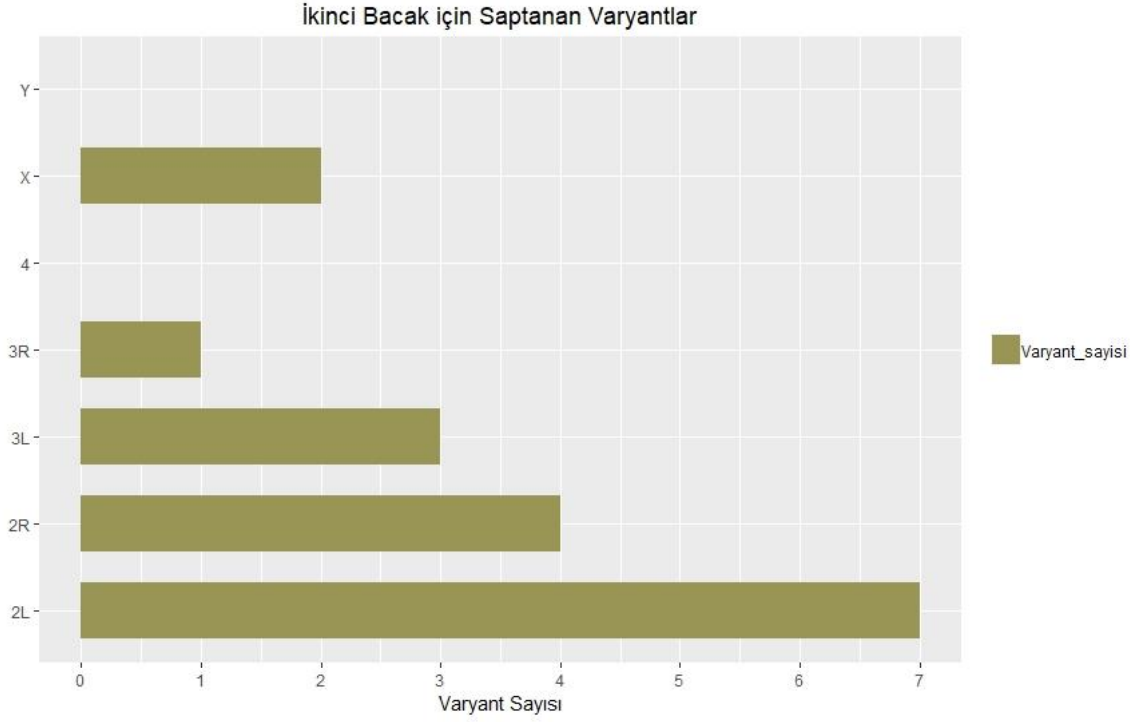
4.2.1.4 İkinci bacak için Saptanan Varyantlar

İkinci bacak için toplamda 18 farklı varyant tespit edilmiştir. Tespit edilmiş olan bu varyantlar farklı işlevsel konumlarda bulunmaktadır. Varyantların buldukları işlevsel bölgeler intergenik bölge ve intronik bölgelerdir. Elde edilen bu varyantlar içerisinde bazı varyantlar birden fazla kez isabet almışlardır (Varyantlar hakkında ayrıntılı bilgi Çizelge 4.6'da mevcuttur). Tekrarlayan isabetler temizlendikten sonra 2. bacağına ait GWAS sonucunda toplamda 10 adet aday gen tespit edilmiştir.

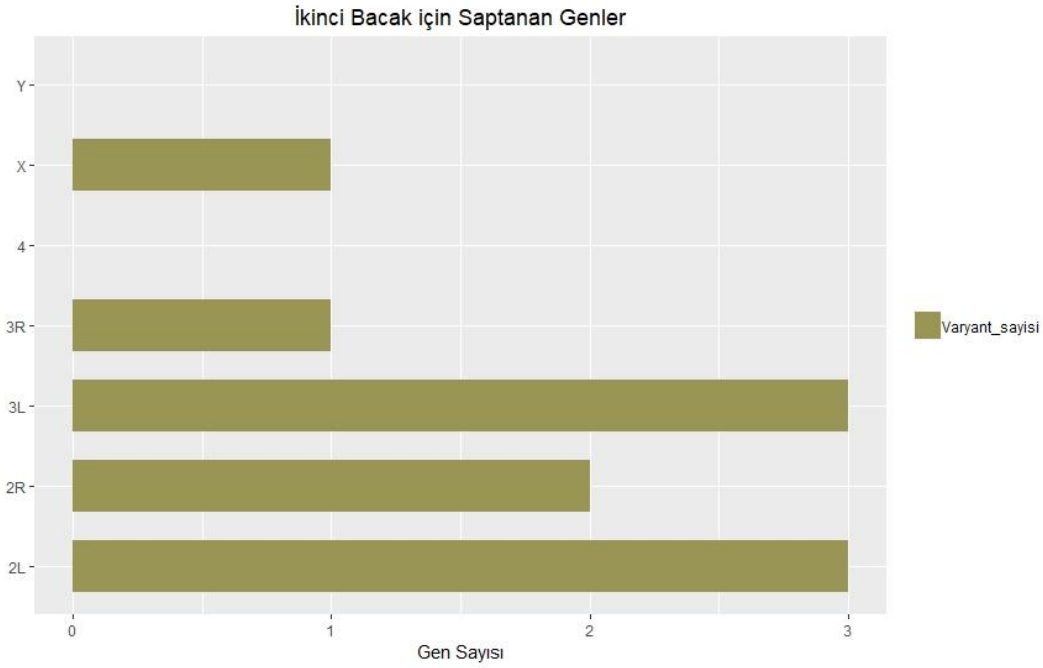
Çizelge 4.6. İkinci bacak için gerçekleştirilen GWAS sonucu saptanan genler

Gen	Genin Lokasyonu	İsabet Sayısı	MAF	p Değeri	İnsan Ortoloğu
<i>CG4168</i>	2L:15,161,882..15,200,459	5	0,3983	$<10^{-5}$	CPN2, GP5
<i>Mspo</i>	2R:14,671,396..14,713,622	2	0,1525	$<10^{-5}$	SPON2

<i>Dhpr</i>	3L:9,134,560..9,135,916	1	0,4474	$<10^{-5}$	QDPR
<i>gce</i>	X:15,297,766..15,319,074	1	0,0684	$<10^{-5}$	ARNTL
<i>Cpl</i>	2R:13,960,675..13,967,981	1	0,4741	$<10^{-5}$	CTSV, CTSL
<i>CR43974</i>	3L:8,081,924..8,083,200	1	0,0811	$<10^{-5}$	-
<i>Bma</i>	3L:9,908,120..9,967,298	1	0,4348	$<10^{-5}$	SCYL2
<i>CG9837</i>	3R:8,807,679..8,813,579	1	0,0862	$<10^{-5}$	-
<i>CG32982</i>	2L:9,125,737..9,163,721	1	0,1944	$<10^{-5}$	PLEK
<i>Haf</i>	2L:1,555,129..1,608,404	1	0,0509	$<10^{-5}$	TRIL, LRRN3



Şekil 4.25. İkinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı



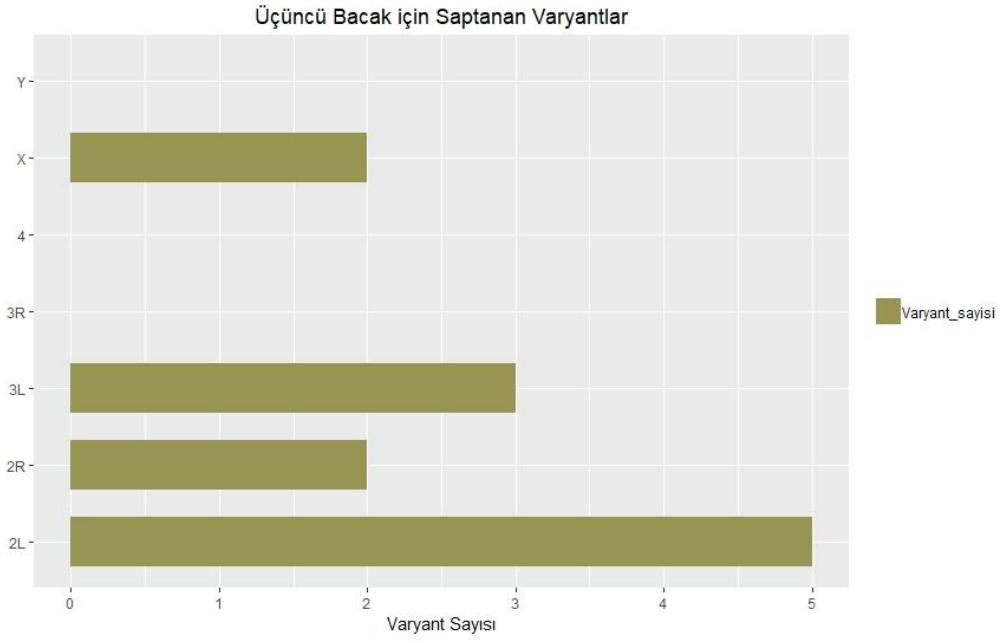
Şekil 4.26. İkinci bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı

4.2.1.5 Üçüncü bacak için Saptanan Varyantlar

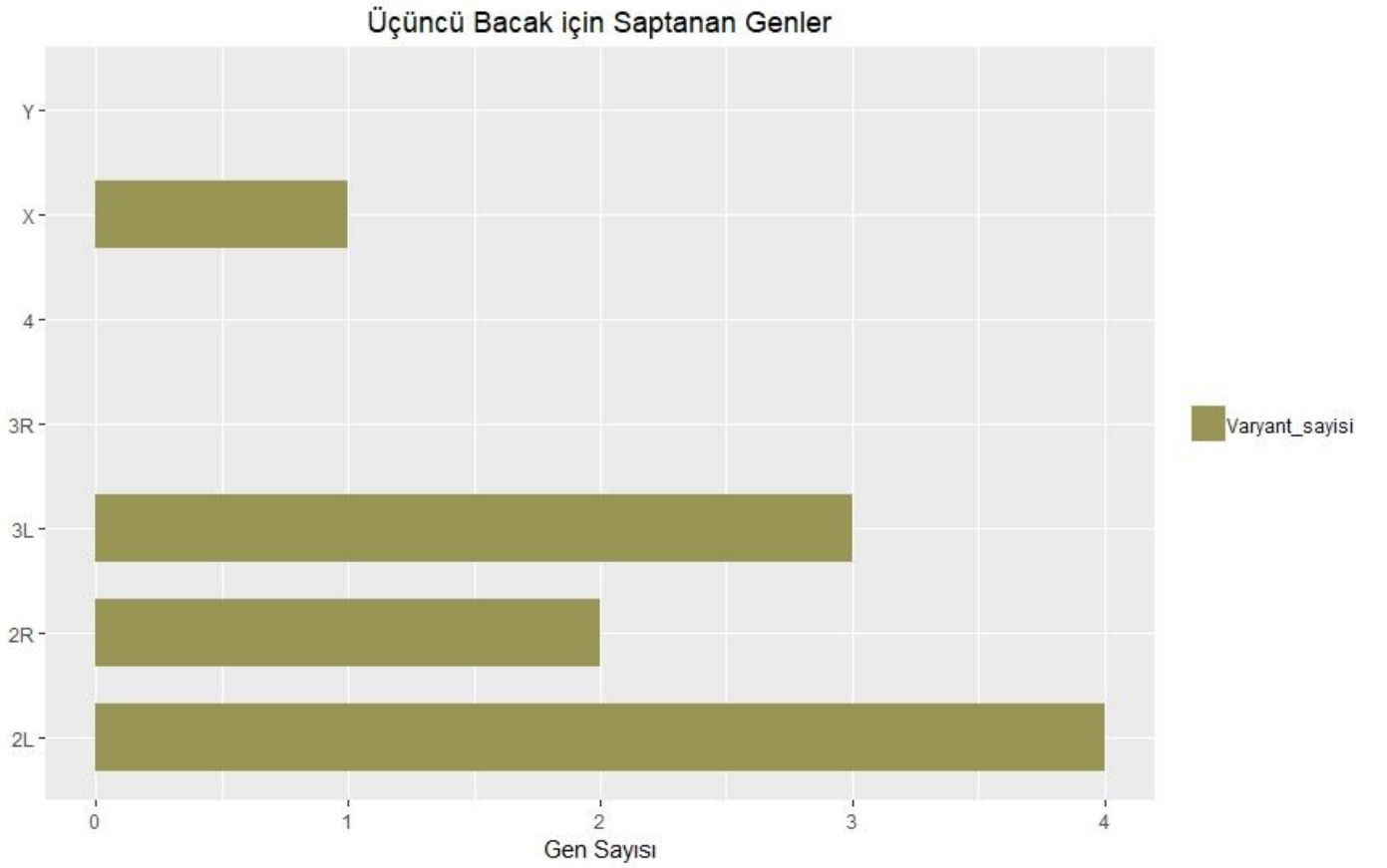
Üçüncü bacak için toplamda 12 farklı varyant tespit edilmiştir. Tespit edilen varyantlar iki farklı işlevsel konumda bulunmaktadır. Bunlar intergenik bölge ve intron'dur (Varyantlar hakkında ayrıntılı bilgi Çizelge 4.7.'de mevcuttur). Tespit edilen bu varyantlar içerisinde tekrarlayan herhangi bir isabet bulunmamaktadır. Üçüncü bacağına ait GWAS sonucunda toplamda 10 adet aday gen tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Üçüncü bacak için Gerçekleştirilen GWAS Sonucu Saptanan Genler

Gen	Genin Lokasyonu	İsabet Sayısı	MAF	p Değeri	İnsan Ortoloğu
<i>CG4168</i>	2L:15,161,882..15,200,459	1	0,3983	$<10^{-5}$	CPN2, GP5
<i>Dhpr</i>	3L:9,134,560..9,135,916	1	0,4474	$<10^{-5}$	QDPR
<i>gce</i>	X:15,297,766..15,319,074	1	0,0684	$<10^{-5}$	ARNTL
<i>CR43974</i>	3L:8,081,924..8,083,200	1	0,0811	$<10^{-5}$	-
<i>Haf</i>	2L:1,555,129..1,608,404	1	0,0509	$<10^{-5}$	TRIL, LRRN3
<i>LManIII</i>	2L:8,765,273..8,768,710	1	0,1709	$<10^{-5}$	MAN2B1
<i>CG4734</i>	2R:13,297,202..13,298,467	1	0,075	$<10^{-5}$	-
<i>Egfr</i>	2R:21,522,420..21,559,977	1	0,0957	$<10^{-5}$	EGFR,EGBB4
<i>Nup160</i>	2L:11,123,777..11,129,335	1	0,0917	$<10^{-5}$	NUP160
<i>Doc1</i>	3L:9,041,375..9,045,042	1	0,05	$<10^{-5}$	TBX6, TBX2



Şekil 4.27. Üçüncü bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen varyantların kromozomlara dağılımı



Şekil 4.28. Üçüncü bacak için yapılan GWAS sonucu tespit edilen genlerin kromozomlara dağılımı

4.2.2 GWAS Sonucu Belirlenen Bazı Genlerin *Drosophila melanogaster* Gelişimi ve Fizyolojisindeki Rollerini

Gerçekleştirilen GWAS sonucunda toplamda 21 farklı gen ile ilişki kurulmuştur. İlişkilendirilen bu genler 4 farklı gen ontolojisi bioinformatik veri tabanı ile incelendiğinde 12 gen için bir anotasyon tablosu elde edilmiştir ve bu tabloda genlerin ilişkili oldukları süreçler de belirtilmektedir. Gen ontolojisi analizinde kullanılan veri tabanları (ShinnyGO, KOBAS, DAVID ve DIOPT) üzerinden gelen bilgiler birleştirilerek elde edilen bilgilerin özetlenmesiyle Çizelge 4.8. oluşturulmuştur.

Çizelge 4.8. Tespit edilen aday genlerin işlevlerine göre sınıflandırılmaları

Etkileşen Gen Sayısı	Etki Edilen Süreç	Etkileşen Genler						
7	Anatomik Yapıların Gelişimi	Egfr	Cp1	Liprin-gamma	mspo	Doc1	haf	pdm3
7	Biyolojik Regülasyon	Egfr	Doc1	pdm3	gce	CG44153	Liprin-gamma	mspo
7	Gelişimsel Süreç	Egfr	Cp1	Liprin-gamma	mspo	Doc1	haf	pdm3
7	Doku oluşumu	Egfr	Cp1	Liprin-gamma	Doc1	CG34356	haf	pdm3
7	Hücre içi Süreçlerin Regülasyonu	Egfr	Doc1	pdm3	gce	CG44153	Liprin-gamma	mspo
7	Uyarıya Yanıt Oluşturma	Egfr	Nup160	CG44153	CG34356	haf	pdm3	gce
5	Anatomik Yapıların Morfolojik Farklılaşması	Egfr	Liprin-gamma	mspo	haf	pdm3		
5	Organellerin Regülasyonu ve Çoğaltılması	Liprin-gamma	Egfr	mspo	haf	pdm3		
4	Uyarıya hücresele Yanıt Oluşturma	Egfr	Nup160	CG44153	gce			
4	Lokomasyon	Egfr	haf	pdm3	CG11178			
4	Metabolik Süreçlerin Regülasyonu	Doc1	pdm3	gce	Egfr			
4	Kimyasal Uyarıya Yanıt	Egfr	haf	pdm3	gce			
3	Biyosentetik Süreç	Doc1	pdm3	gce				
3	Lokalizasyon	CG11178	Nup160	Egfr				
3	Biyolojik Süreçlerin Negatif Regülasyonu	Egfr	Liprin-gamma	gce				
3	Biyolojik Süreçlerin Pozitif Regülasyonu	Egfr	Doc1	gce				
3	Gelişimsel Süreçlerin Düzenlenmesi	Liprin-gamma	Egfr	mspo				
3	Fiziksel Uyarılara Yanıt Verme	CG34356	haf	pdm3				
3	Sinyalizasyon	Egfr	CG44153	gce				
3	Sistemsel Süreçlerin Regülasyonu	Egfr	CG34356	pdm3				
2	Morfogenezde anatomik yapı oluşumu	Egfr	mspo					
2	Hücresele Hareketlilik	Egfr	CG11178					
2	Hücresele Yapıların Oluşumu	Liprin-gamma	Egfr					
2	Strese Karşı Yanıt	Nup160	Egfr					
2	Taksis Davranışı	haf	pdm3					

4.2.3 GWAS Sonucu Saptanan Genlerin Tanımlanan İşlevleri, Görev Aldıkları Süreçler ve İlişkilendikleri Hastalıklar Açısından Değerlendirilmeleri

122 DGRP soyunun kontrol soyu (w^{1118}) ve mutant soy ile çaprazlarından elde edilen F₁ döllerinin femur uzunluklarının ortalamalarına ait farklar üzerinden gerçekleştirilen genom boyu ilişkilendirme analizi sonucunda, toplamda 21 adet *Drosophila* geni tespit edilmiştir. Bu 21 gene ait 53 adet insan ortoloğu tespit edilmiştir. Tespit edilen 53 genin %56,6'sı (30 gen) gelişimsel süreçlerle ilişkilidir. Bu süreçler hücre göçü, hücre farklılaşması, akson oluşumu, akson yönelimi, hücre bölünmesinin kontrolü gibi başlıklar altında toplanabilir. Kalan genler ise metabolik yollarda görev almaktadır. Yer aldıkları metabolik yollar insülin metabolizması, kan doku içeriğinde bulunan iz elementler, hidrokarbon metabolizması ve lipid metabolizması olarak özetlenebilir. Ayrıca bu genler arasında, çeşitli kanser türleri ile ilişkilendirilmiş genler de bulunmaktadır. Çalışma sonucunda ortaya konmuş olan 21 *Drosophila* genine ortolog olan 53 insan geninin veri tabanlarındaki kimlikleri, adları üstlendikleri işlevler yer aldıkları biyolojik süreçler ve insan genleri için tanımlanan (varsa) hastalık bilgileri Çizelge 4.9.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Tespit Edilen Aday Genler ve İnsan Ortologları

Sıra	<i>Drosophila melanogaster</i>		<i>Homo sapiens</i>			
	FlyBase Kimliği	Adı	İşlev, Biyolojik Süreç	Entrez Kimliği	Adı	İşlev, Biyolojik Süreç, Hastalık Bilgisi
1.	FBgn0030499	CG11178	Hücre hareketlilik ve hücre zarına yağ moleküllerinin taşınması	23080	AVL9	Hücre göçlerinde görev alır.
2.	FBgn0052982	CG32982	Hücrelerin organizasyonu ve hücre iskeletinin oluşumu	5341 26499	PLEK PLEK2	Çölyak hastalığına sebep olan yolakta görev aldığı rapor edilmiştir.
3.	FBgn0085385	bma	Enzim oluşumu, molekül tutumması ve protein fosforilasyonu	55681	SCYL2	Kodlanan protein, plazma membran adaptör kompleksi AP2'nin beta2 alt-üitesini fosforile eder ve trans-Golgi ağı ve endosomal sistem arasındaki klatrin-bağımlı yollarda tutulumu gösteren klatrin ile etkileşir. Ek olarak, bu protein Wnt sinyali yolağında etkin bir role sahiptir. Bu gen için aynı proteini kodlayan iki transkript varyantı bulunmuştur.
4.	FBgn0028888	CG4168	İşlevi ve biyolojik süreçlere katkısı hakkında bilgi bulunmamaktadır. Embriyogenezin ilk 12-24 saatleri arasında ifadesi en üst seviyeye çıkar. 9 farklı aleli rapor edilmiştir.	1370 2814 3483 57689 64101 94030 131578	CPN2 GP5 IGFALS LRRC4C LRRC4 LRRC4B LRRC15	İnstülin benzeri protein sentezinde, hücre-hücre adhezyon etkileşiminde, kan hücrelerinin oluşumunda ve kanın pıhtılaşmasında görev alır.
5.	FBgn0259735	CG42389	Mezotorasik bölgede ifade olmaktadır. Fibronektin tip III protein ailesiyle ilişkilidir. 37 farklı aleli rapor edilmiştir.	22862 64778	FNDC3A FNDC3B	Spermatogenez sırasında spermatid-Sertoli adhezyonuna aracılık eder.
6.	FBgn0260965	CG42588	RNAP III aracılığıyla DNA'dan RNA sentezlenmesinde görev almaktadır. Gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alır.	2976	GTF3C2	TFIIIC1 proteinini kodlar. RNA polimeraz III aracılığıyla gerçekleşen transkripsiyon için gereklidir. tRNA üzerinde transkripsiyonu başlatan ve 5S rRNA ve diğer karatlı nükleer ve sitoplazmik RNA'ların transkripsiyonu için gerekli olan TFIIIC bileşeni, TFIIIC2'nin TFIIIC1 ile etkileşimlerini stabilize etmede doğrudan rol oynamaktadır.
7.	FBgn0265002	CG44153	Hücre-hücre adhezyon etkileşimlerinin düzenlenmesinde görev alır. Reseptör oluşumu, hücrelerin organizasyonu, gelişim ve uyarıya karşı yanıt oluşumunda işlev görür.	577 23022 84665	ADGRB3 PALLD MYPN	Plazmada bulunan fosfolipid seviyesinde etkilidir. p53 aktivitesinde gösterdiği etkiyle beraber pankreatik kanser ve prostat kanserlerinde rolü olduğu rapor edilmiştir.
8.	FBgn0033826	CG4734	İşlevi ve biyolojik süreçlere katkısı hakkında bilgi bulunmamaktadır. Larval süreç boyunca ifade olduğu gözlenmiştir. 2 aleli rapor edilmiştir.	-	-	-

Drosophila melanogaster

Homo sapiens

FlyBase Kimliği	Adı	İşlev, Biyolojik Süreç	Entrez Kimliği	Adı	İşlev, Biyolojik Süreç, Hastalık Bilgisi
9. FBgn0032066	<i>LManIII</i>	Protein metabolizması ve hücre içi zar yapısının oluşumunda görev alır. Ayrıca mammoz metabolizmasında işlevi olduğu rapor edilmiştir.	4125 23324	MAN2B1 MAN2B2	Glikoprotein metabolizmasında yer alır. Eksikliğinde enzimatik problemlerden kaynaklanan rahatsızlıklar görülür.
10. FBgn0037635	<i>CG9837</i>	İşlevi ve biyolojik süreçlere katkısı hakkında bilgi bulunmamaktadır. Erken pupal aşamada ifadesi en üst düzeyde gözlenmektedir. 6 aleli rapor edilmiştir.	-	-	-
11. FBgn0013770	<i>Cpl</i>	Protein metabolizmasında görev aldığı bildirilmiştir. Torasik segmentlerin gelişimi için önemlidir. İfadesi özellikle 3. torasik segmentte görülmeyle birlikte kanat yapısının oluşumunda da görev alır.	1512 1513 1514 1515 1520 1522 8722	CTSH CTSK CTSL CTSV CTSS CTSZ CTSF	İşlevleri arasında antijen üretimi, apoptosis mekanizmasında görev alma, kemik hücrelerinin farklılaşması bulunmaktadır. Mutant halde bulunması durumunda romatoid artrit, retinal bozukluklar(yırtık retina) ve diyabete sebep olmaktadır.
12. FBgn0264705	<i>CR43974</i>	Protein kodlamayan bir gen dir. Hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.	-	-	-
13. FBgn0035964	<i>Dlpr</i>	Femilaların tirozine dönüştürülmesinde görev alır.	5860	QDPR	Eksik ifade olduğunda femiketonüri'ye sebep olmaktadır.
14. FBgn0028789	<i>Doc1</i>	Doku gelişimi ve farklılaşmasında önemli rol oynayan T-BOX gen ailesine mensuptur. Malpighi tübüllerinin oluşumunda, kardiyak hücrelerin farklılaşmasında ve kanat imajinal diski oluşumunda görev aldığı bilinmektedir. Embriyonik gelişimin sinsitiyal aşamasında ifadesi en üst düzeye çıkmaktadır. Fenotipik olarak kanat yapısında malformasyon bulunan mutantları gözlenmiştir.	6899 6909 6910 6911 6913 6926 8320 9096 9496 10716 23269 30009 50945 57057	TBX1 TBX2 TBX5 TBX6 TBX15 TBX3 EOMES TBX18 TBX4 TBR1 MGA TBX21 TBX22 TBX20	İmmün sistem yetersizlikleri, Doğuştan gelen kalp rahatsızlığı (Fallot Tetralojisi), krmoik böbrek rahatsızlıkları,kulak morfolojisi, bel-kalça oramı, Romatoid artrit, kolorektal kanser gibi rahatsızlıkların oluşumunda etkisi olduğu rapor edilmiştir.

<i>Drosophila melanogaster</i>		<i>Homo sapiens</i>		
FlyBase Kimliği	Adı	İşlev ve Biyolojik Süreç	Entrez Kimliği	
15. FBgn0003731	<i>Egfr</i>	Epidermal gelişim açısından büyük önem arz etmektedir. Epitel dokunun oluşumunda ve farklılaşmasında rol alıyor oluşu sebebiyle gelişimin her aşamasında önemli bir rol oynamaktadır. Görev aldığı süreçlerin başlıcaları, imajinal disk oluşumu, hücre göçlerinin organizasyonu, bacak imajinal disklerinin proksimal ve distal yönlendirmesi olarak sayılabilir.	EGFR ERBB2 ERBB3 ERBB4	1956 2064 2065 2066
16. FBgn0261703	<i>gce</i>	Juvenil hormonun aktivasyonunda rol oynamaktadır. Programlanmış hücre ölümlerinin düzenlenmesinden sorumludur.	ARN1L ARN1L2	406 56938
17. FBgn0261509	<i>hcf</i>	Nöron yapısının oluşumu, aksomun hedefine doğru büyümesinde rol almaktadır.	TRIL	9865
18. FBgn0034720	<i>Liprin-r</i>	Sinir bağlantılarının oluşumu ve aksomun hedefine doğru büyümesinde rol almaktadır.	KAZN	23254
19. FBgn0020269	<i>mipo</i>	Miyoblastların kaynaşmasının düzenlenmesinde görev almaktadır.	SPON2	10417
20. FBgn0262647	<i>Nup160</i>	Proteinlerin çekindeğe taşınmasında görev almaktadır. Yaklaşık 30 farklı protein taşınmasında sorumludur.	NUP160	23279
21. FBgn0261588	<i>pdm3</i>	Kokunun duyuşsal olarak algılanmasında ve aksom oluşumunda rol oynamaktadır.	POU6F1 POU6F2	5463 11281

5. TARTIŞMA

Drosophila melanogaster 100 yılı aşkın bir süredir biyoloji bilimi içerisinde çalışılan hemen her konuda bir model olarak kullanılmıştır. Sinirbilim çalışmalarından, yaşam öyküsü karakterlerine, farmakolojik çalışmalardan evrimsel genetik çalışmalarına kadar birçok farklı konu için model organizma olmayı sürdürmüştür. Gelişim genetiği çalışmalarında da sıklıkla kullanılan *Drosophila melanogaster* 1995 yılında erken embriyonik süreçlerle ilişkili mekanizmaların açıklığa kavuşturulduğu bir çalışma ile araştırmacılara Nobel Tıp Ödülünü kazandırmıştır [66].

Homeobox genleri ilk kez *Drosophila melanogaster*'in çalışıldığı Thomas Hunt Morgan'ın laboratuvarında gözlemlenen bir mutasyonun peşine düşülmesi sonucu fark edilmiş ve 1980'li yıllara gelindiğinde bu genler dizilenip tanımlanmaya başlanmıştır [19, 20]. *lim1* geni; homeobox genlerindedir ve birçok taksonda evrimsel olarak korunmuş halde bulunur ve homeobox gen sınıflarından LIM sınıfına dahildir [22]. *lim1*, *Drosophila melanogaster*'de birçok organ ve yapının oluşumunda görev almaktadır [6, 8, 9, 67]. *Drosophila melanogaster* üç gelişimsel safhadan geçerek ergin birey halini alır. Bu aşamalar; embriyo, larva, pupa safhalarıdır. Embriyo ve larva aşamalarında organ ve sistemleri oluşturacak dokuların farklılaşacağı imajinal disk adı verilen yapılar oluşur, bu yapılar vücut içerisinde işlev görecekları lokasyonlara ilerlerler. *Drosophila melanogaster* toplamda 9 adedi çift halde bir tanesi tek olarak bulunan 19 adet imajinal disk bulundurur. Anteriörden posteriöre doğru sıralandığında beşinci, altıncı ve yedinci çift imajinal disklerden sırasıyla birinci, ikinci ve üçüncü çift bacaklar oluşur. Her imajinal disk farklı bacakları meydana getirirken farklı genler ifade ederler. Farklı genlerin ifade olmasının sebebi imajinal disklerin farklı segment ve farklı proksimal - distal konumlarda bulunmalarıdır [28-31].

Bacaklar üçüncü larva aşamasının sonlarına doğru şekillenmeye başlarlar. Yüksek dozda 20 -hidroksiekdizon ile uyarılan larva pupasyon aşamasına geçmeye başlar.

Süreç bacakları oluşturacak hücrelerin evajine olarak belirginleşmeye başlamasıyla devam eder. Pupasyon aşaması başladıktan 12 saat sonra her bir imajinal diskin “yassı” bölümünden uzayan hücre grupları boru şeklinde uzuvları meydana getirir. Uzama süreci hücre - hücre adhezyon etkileşimlerinde meydana gelecek değişimlere ve hücre iskeleti yapısında gerçekleşecek sinyalizasyona bağlıdır. Boru şeklini almış olan uzuvlar pupasyonun ilerleyen aşamalarında her bacak için ifade edilen özgül genlerle birlikte karakterize olacaktır. *lim1* geni için bugüne kadar edinilen bilgiler bacak oluşumu sırasında tarsal segmentlerde ifade olduğu ve bu segmentlerin özelleşmesinde görev aldığı yönündedir [9]. Bacak gelişimi haricinde akson, ara ve motornöron, kanat ve anten, göz oluşumunda görev aldığı rapor edilmiştir [39-42].

lim1 geninin insan homoloğu olan LHX1 1997 yılında Dong ve arkadaşları tarafından dizilenmiş ve yayımlanmıştır. *Drosophila*'da olduğu gibi insanda da gelişim aşamasında önemli işlevler üstlenen bu gen ürogenital sistemin oluşumunda kritik bir rol üstlenmiş durumdadır [55, 56].

Tez kapsamında *lim1* geninin bacak gelişimi üzerindeki etkisi femur oluşumuna olan katkısı açısından değerlendirilmiştir. Şekil 2.4.'te de görüldüğü üzere nakavt halde bulunan *lim1* geni femur yapısında ciddi deformasyona sebep olmaktadır. *lim1* geninin etkileşim halinde olduğu diğer genleri de ortaya koymak amacıyla taşıyan bu çalışma DGRP soyları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 122 DGRP soyunun *lim1* mutantı (PBac (WH) *Lim1* [⁰⁷⁴⁶⁹]) ve bu mutantın meydana getirildiği kontrol soyu (BL6326 - *w¹¹¹⁸*) ile gerçekleştirilen çaprazlarından elde edilen F₁ bireyleri üzerinden femur uzunluğu ölçümleri gerçekleştirilmiştir. *lim1* geninin X kromozomu üzerinde taşınıyor olması ve DGRP soylarıyla gerçekleştirilen çaprazlara *lim1* mutantından erkek bireyin (XY) DGRP soyundan dişi bireyin (XX) alınması dolayısıyla F₁ dölünden elde edilen bireylerde mutant fenotip yalnızca dişi bireylerde gözlenebilmektedir. Bu sebeple tez kapsamında yalnızca dişi bireylere ait femur uzunlukları üzerinden çalışılmıştır.

Femur uzunluğu ölçümlerinden elde edilen veriler GEREÇ ve YÖNTEMLER kısmında ayrıntılı olarak anlatılan varyans analizi modeliyle analiz edilmiştir. Kontrol soyu (w^{1118}) ve *lim1* mutanı arasında hem genotipe hem de eşeye bağlı farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Her üç bacak için 122 DGRP soyu arasında gerçekleştirilen analizlerde de femur uzunluğu farklarının DGRP soyu terimine bağlı olarak değişmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 122 DGRP soyuna ait kontrol soyu (w^{1118}) çaprazlarından elde edilen F₁ döllerine ait dişi bireylerin femur uzunluklarına ait ortalamalar her bir soy için hesaplanmıştır. Aynı şekilde 122 DGRP soyunun mutant soy (*lim1*) çaprazlarından elde edilen F₁ döllerine ait dişi bireylerin femur uzunluklarına ait ortalamalar her bir soy için hesaplanmıştır. DGRP Soy x Kontrol Soy ortalamalarından DGRP Soy x Mutant Soy ortalamaları çıkarılarak elde edilen veriler genom boyu ilişkilendirme analizi çalışması'nda (GWAS) veri olarak kullanılmıştır. GWAS, DGRP₂ internet sitesinin içerdiği yazılım aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Yazılım toplamda yaklaşık beş buçuk milyon TNP'yi tarayarak ilişkili olan varyantları sonuç olarak vermektedir. Her üç bacak içinde gerçekleştirilen üç ayrı GWAS sonucunda ilgili 54 varyant elde edilmiştir. Bu varyantlar üç bacakta toplam 21 Drosophila geni ile ilişkilidir. 21 Drosophila geni gen ontolojisi bioinformatik veri tabanları ile incelendiğinde 53 farklı insan ortoloğuyla ilişkilendirilmiştir.

Bacak gelişimi embriyonal aşamadan itibaren başlayan bir farklılaşma ile gerçekleşmektedir. Her dokunun oluşumunda gerçekleştiği gibi hücre farklılaşmaları, hücre hareketleri ve programlanmış hücre ölümleriyle gerçekleşen bu süreç hakkında yapılan çalışmalar, belli başlı nakavt genlerle çalışılarak yapılmış ifade düzeyi değişimleri ve bu değişimlere bağlı olarak gözlenen morfolojik farklılıklara dayanmaktadır. Bacak gelişimiyle ilgili olduğu bilinen *antennapedia*, *apterous*, *decapentaplegic*, *wingless*, *Distal-less*, *aristaless* ve *Bar* gibi genlerle ilgili yapılmış olan çalışmalar bu şekilde gerçekleştirilmiştir [6, 9, 10]. Bacak gelişimi ile ilgili elde ettiğimiz bilgilerin büyük bir çoğunluğu bu genlere ilişkin çalışmalar üzerinden sağlanmıştır. Bacağın, anten ve kanat gibi bir uzuv olması sebebiyle bacak gelişimiyle alakalı olan genlerin büyük bir çoğunluğu temelde uzuv gelişimiyle doğrudan alakalı olan genleri de içermektedir. Örneğin *Drosophila melanogaster*'de *antennapedia* geninin yanlış ifadesi sonucunda baş bölgesinde

anten yapısının oluşması gereken yerde bacak oluşumu gözlenmektedir [68]. Bu yaklaşımla gerçekleştirilen çalışmalarda etkileşen genlerin ortaya konması, bacak ve uzuv gelişiminin kompleks genetiği göz önüne alındığında çok uzun zaman alacaktır.

2013 yılında Grubbs ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise farklı bir yöntem izlenerek Genom Boyu İlişkilendirme Analizi Çalışması gerçekleştirilmiştir [61]. Bu çalışmada 100 DGRP soyu kullanılmış ve femur uzunlukları ölçülmüştür. Her bir DGRP soyu için iki eşey ve eşey başına üç bireyden gelen femur uzunlukları ölçülerek gerçekleştirilen analiz sonucunda 20 adet varyant tespit etmişlerdir. Tek bir çalışmada çoğunun bacak ve uzuv gelişimiyle ilişkili olduğu doğrulanabilen çok sayıda varyant tespit edilmesine olanak sağlayan GWAS çalışmaları; çalışılan özellik veya fenotipin doğal varyasyonundan kaynaklanan çeşitlilik dolayısıyla avantajlı çalışmalardır. Genom içerisine dağılmış halde bulunan TNP'ler ilgili özellik veya fenotip üzerinde gerçekleşen küçük değişimlerle ilişkilendirilerek aday genlerin tespit edilmesine olanak sağlar. Bu şekilde gerçekleştirilen çalışmalarda standart bakış açısıyla gerçekleştirilen çalışmalara göre zamandan ve masraftan tasarruf edilmiş olur. Bununla birlikte elde edilen varyantların konumları ve dolayısıyla gen etkileşimlerinde ne gibi etkileri olacağı daha net bir şekilde tartışılabilmektedir. Bu bağlamda DGRP soylarının sunduğu imkanlar göz ardı edilemez.

Grubbs ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği genom boyu ilişkilendirme çalışması belirlenen bir fenotip üzerinden elde edilen skorların genomlara dağılmış TNP'ler ile ilişkilendirilmesine dayanan bir çalışmadır. Bu çalışma Standart GWAS yaklaşımı olarak bilinmektedir. Tez kapsamında gerçekleştirilen GWAS ise epistatik bir yaklaşıma dayanmaktadır. Bu yaklaşım, haritalama popülasyonu olan DGRP genomlarında bulunan yaklaşık beş buçuk milyon TNP'nin *lim1* mutant soyunun taşıdığı *lim1* aleli ve bu mutant soyun meydana getirildiği kontrol soyunun taşıdığı *lim1*⁺ aleli ile etkileşime girerek, bu TNP'nin genetik bağlantıda olduğu genlerin femur uzunluğunda yarattıkları değişimlerin skorlanması sonucu elde edilen veriler aracılığıyla, *lim1* ile etkileşen muhtemel genlerin tespit edilmesine

dayanmaktadır. Epistatik GWAS yaklaşımının Standart GWAS'a göre farkı, ilgilenilen fenotip ile doğrudan ilişkisi bilinen bir genin mutasyona uğratılmış alelinin, DGRP soylarının genomu ile "etkileşime" girmesi ve kendisiyle ilişkili olan TNP'leri işaret etmesidir. Epistatik yaklaşımın, - Standart yaklaşıma göre - ilgilenilen fenotiple ilişki düzeyi daha yüksek genler vereceği düşünülmüş ve gerçekleştirilen analizler sonucu elde edilen varyantlar bu durumu doğrulamıştır.

Bacak gelişimi üç önemli morfojenetik aşamada gerçekleşmektedir: bacak diskinin uzaması, bacak diskinin dışa doğru şekillenmesi ve bacak diskinin eklemlenmesi. Bu üç aşamanın gerçekleşmesinde hücre hareketleri, hücre göçleri, hücre farklılaşmaları ve programlı hücre ölümlerinde kilit bir rol oynamaktadır [29-31, 34, 68, 69]. Gerçekleştirilen analizler sonucunda tespit ettiğimiz 21 aday genin 12 tanesi bu işlevlerle doğrudan ilgili olarak tanımlanmışlardır (Çizelge 4.8.). Tespit ettiğimiz bu 12 gen literatürde bacak gelişimi üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda ilişkilendirilmemiştir. Tespit edilen bu genler görev aldıkları süreçler ve işlevlerine göre sınıflandırılacak olursa hücre hareketlilik ve hücre organizasyonu ile ilişkili olanlar *bma*, *CG11178*, *CG32982*, *CG44153*, *Egfr* iken hücre ölümlerinden sorumlu olanlar *Egfr* ve *gce*, hücre farklılaşmasından sorumlu olanlar *CG42389*, *CG44153*, *Cp1*, *Doc1*, *Egfr*, *haf*, *mspo*, *LManIII* ve *Liprin- α* şeklinde ortaya çıkmaktadır. Gelişimle ilişkili bu üç süreç ve tespit edilen (muhtemel) aday genler incelendiğinde, aday genler arasında, her üç süreçte de yer alan *Egfr* geni ön plana çıkmaktadır ve bu gen gerek tespit ettiğimiz aday genler gerekse gelişimle ilişkili bugüne kadar tespit edilmiş genler açısından literatürde en iyi çalışılmış ve hakkında en çok bilgi sahibi olunan gendir. "Epidermal Growth Factor Receptor" olarak bilinen bu gen *Drosophila melanogaster*'in embriyonal aşamadan gelişimini tam olarak tamamlayıp ergin halini aldığı aşamaya kadar her safhada önemli görevler üstlenmektedir. *Egfr* yumurtadan çıkıp larva olma sürecinden göz gelişimine, farklı imajinal disklerin oluşumundan gen ifadelerinin regülasyonuna kadar farklı safhalarda rol almaktadır. Bu süreçlerin tamamı "Epidermal Growth Factor" sinyal yolağı (EGF sinyal yolağı) ile kontrol edilmektedir[70, 71].

Bacak gelişimi açısından *Egfr* ve EGF sinyal yolağı sadece tarsal segment gelişimi ve imajinal disk içerisinde aldıkları görevler açısından ele alınmışlardır. EGF sinyal yolağı imajinal diskin (bu yolak açısından her üç bacağı oluşturan üç imajinal diskte de aynı süreçler gerçekleşmektedir) merkezinde bulunan halkadan en dış halkaya kadar imajinal diskin tamamında görev almaktadır. Tarsal segmentlerin meydana geldiği en iç halkada *wg* ve *dpp* genlerine ait ifade düzeyinin kontrolü ile aktif olan EGF sinyal yolağı ve *Egfr*; *al*, *lim1*, *chip* ve *bar*'ın ifadesini kontrol eder. *wg* ve *dpp* üçüncü larva safhasının sonuna doğru imajinal disk içerisinde hücrelerin proksimal-distal yönelmesini belirli bir seviyeye getirdikten sonra imajinal disk şekillenmesinin gerçekleşeceği pupa safhasında bu görevi *Egfr* genine bırakırlar. EGF sinyal yolağı bu aşamadan sonra *vein* (*vn*) ve *rhomboid* (*rho*) genleri aracılığıyla faaliyet gösterir [72]. *vn* ve *rho* mutant olan (iki genin aynı anda mutant olduğu (double mutant)) *Drosophila melanogaster* soyları ile gerçekleştirilen çalışmalarda tarsal segmentlerin oluşmadığı veya güdük bir form aldığı rapor edilmiştir [72]. Bu gelişim bozukluğunun sebebi, gen ifadeleri EGF sinyal yolağı ile kontrol edilen *al*, *C15* ve *lim1* genlerinin tarsal bölgede ifade olamamasıdır. Bahsi geçen genlerin üçü de homeobox genleridir ve bu genler birbirleri ile etkileşim halinde ifade olarak tarsal segmentlerde farklılaşma ile beraber proksimal-distal yönelmenin de sağlanmasında rol oynamaktadır [6, 9, 73-75].

Egfr geni gelişim sürecinde önemli bir yeri olan apoptozis (hücre ölümü) mekanizmasının düzenlenmesi ve gerçekleşmesinde de *wg* ve *dpp* genleri ile regüle edilen EGF sinyal yolağı aracılığıyla yer alır. Apoptozis, gelişim aşamasında "bozuk" hücrelerin temizlenmesi ve işlevini tamamlayan hücrelerin ortadan kaldırılmasında önemlidir. *Drosophila melanogaster* gelişiminde embriyonik aşamada segmentleşme aşamasında rol alan genlerden, *fushi-tarazu* (*ftz*), *krüppel* (*kr*) ve *tailles* (*tll*) mutantlarıyla gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda elde edilen veriler, embriyonik aşamada segment oluşumu sırasında EGF sinyal yolağının, *Egfr* geni ifadesine bağlı olarak segment sınırlarının ayrılmasında ve hücrelerin farklılaşmasında görev aldığını göstermektedir [70, 71, 76].

EGF sinyal yolağının etkin bir şekilde görev aldığı vücut kısımlardan biri de baş bölgesidir. Amr Amin ve arkadaşları [77] tarafından gerçekleştirilen çalışmada görüldüğü üzere baş bölgesinde *hedgehog* (*hh*) geni ifadesine bağlı olarak *vn* ifadesi etkilenmekte ve frons yapısının oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Aynı çalışmada elde edilen bulgular göstermektedir ki EGF sinyal yolağı *vn*'nin *hh*'ye bağlı ifadesi sonucunda regüle olmasıyla göz diskinin oluşumunda ve hücre sayısının artmasında önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte göz gelişimi sırasında *chip* geni ifadesine bağlı olarak fotoresöptörlerin oluşumu ve göz diskinin ventral sınırlarının belirlenmesinde *lim1* geni ve *arrowhead* geni önemli bir rol üstlenmektedirler [40]. Bu bağlamda tez çalışmasının preparasyon aşamasında dikkat çeken göz yapılarındaki farklılığı belirtmek gerekmektedir. Çalışma süresince gerçekleştirilen mutant soy (PBac(WH)Lim1[f04087]) ile DGRP soyu çaprazları sonucunda elde edilen dişi bireylerde göz yapısında ciddi farklılıklar gözlenmiştir. Soydan soya değişiklik gösteren bu farklılıklar *lim1* geninin ve etkileşimde bulunduğu ortaya çıkan *Egfr* geninin ve bu genin merkezinde yer aldığı EGF sinyal yolağının göz gelişiminde üstlendiği rolü ve *lim1* geninin sadece bacak gelişiminde değil aynı zamanda birçok organ gelişiminde de çok önemli görevleri olduğunu göstermektedir. Bu verileri destekleyici nitelikte olan bir başka çalışmada da gösterilmiştir ki, embriyonik aşamada EGF sinyal yolağının regülasyonunda etkili olan *dpp* ve *wg* genleri göz diskleri ve bu disklerin etrafında oluşan hücrelerin apoptozisinde görev almaktadır [78].

Tespit edilen genler arasında yer alan *CG42588* RNA sentezinde ve gen ifadelerinin düzenlenmesinde görev almaktadır ve *Nup160* geni de RNA taşınması mekanizmasında görev almaktadır. *lim1* geninin bir transkripsiyon faktörü olması sebebiyle gen ifadesinde etkili olan mekanizmalarda görev alan genlerle ilişkili olması doğal bir sonuçtur.

İlişkilenen aday genler arasında yer alan *gce* geni bacakların karakterize olup farklılaşmaya başlayacakları pupasyon aşamasına geçilmesi için gereken juvenil hormonun aktivasyonunda rol oynamaktadır [14]. Ayrıca yine ilişkili olduğu ortaya çıkan *Doc1* geni gelişim ve farklılaşma açısından çok önemli görevler üstlenen T-

BOX gen ailesine dahildir. *Doc1* geni yumurtadan çıkışın ilk dokuz ve onuncu saatleri arasında ifade olmaya başlayarak uzuvları (kanat, halter organı, bacaklar) oluşturacak imajinal disklerin birbirlerinden ayrılmasını regüle etmektedir. Bu aşamada her bir imajinal disk 20 - 50 hücre ile temsil edilmektedir. *Doc1* ifadesi ile birlikte dorso - ventral olarak birbirlerinden uzaklaşan imajinal disk öncülü hücre grupları ilerleyen aşamalarda farklılaşarak, uzuvları meydana getirecek şekilde özelleşmiş birer disk halini almaktadır. İlerleyen aşamalarda, *Doc1* dorsal bölgede epitel hücrelerde, ventralde ise miyoblast hücrelerinde ifade olmaktadır [31].

liprin-r geni bugüne kadar *Drosophila melanogaster* çalışmalarında sinir hücrelerinin bağlantı oluşumu ve birbirleriyle olan etkileşim ve iletişimi ile ilişkilendirilmiştir [14]. GWAS analizi sonucunda femur uzunluğuna etki eden bir aday gen olarak belirlenmiştir. Bu genin insan ortoloğu olan KAZN geninin ise epidermal farklılaşma ve hücre - hücre etkileşimlerinde görev aldığı rapor edilmiştir. Buna ek olarak yapılan son çalışmalarda KAZN geninin otozomal resesif olarak kalıtılan primer konjenital glokom oluşumunda rol oynadığı anlaşılmıştır. Bu hastalık gözde sklera ile korneayı birbirinden ayıran trabeküler ağda meydana gelen gelişimsel anomali ile karakterizedir [79].

Gerçekleştirilen GWAS analizi sonucunda ortaya çıkan genlerden *CG44153*, *Cpl*, *Doc1* ve *Egfr* genlerinin insan ortologlarının ilişkilendikleri hastalıklar incelendiğinde tamamının kanser türleriyle ilişkili olduğu görülmektedir. Bu türler arasında yutak, ağız ve yemek borusu kanseri, mesane kanseri, prostat kanseri, pankreas kanseri, ovaryum kanseri sayılabilir. EGF sinyal yolağı hayvanlarda onkogenik yolak olarak bilinmektedir. İnsan *EGFR* geni ile *Drosophila melanogaster* *Egfr* geni %40,5 oranında bir özdeşlik gösterir [80]. *lim1* geni bir homeobox genidir ve bugüne kadar yapılan çalışmalar homeobox genleriyle kanser ilişkisini ortaya koymuştur [81]. Bu bağlamda *lim1*'in mutant bir alelinin etkisinin bulunduğu *Drosophila melanogaster* bireyleri ile gerçekleştirilen bu çalışma sonucunda elde edilen bu genlerin kanserle ilişkilendirilmiş olmaları beklenmedik bir sonuç değildir.

Her üç bacak için tespit edilen 21 aday gen, birinci bacakta 13 aday gen, ikinci bacakta 10 aday gen ve üçüncü bacakta 10 aday gen olarak belirlenmiştir. Tespit edilen genler içinde bacaklar arasında ortak olarak bulunan genler vardır. 1. ve İkinci bacakta 7 gen, 2. ve Üçüncü bacakta 4 gen 1. ve Üçüncü bacakta 4 gen ortak olarak tespit edilmiştir. Her üç bacak için ortak olarak bulunan 3 gen bulunmaktadır. Ortak olarak bulunan bu üç gen *CR43974*, *dhpr* ve *gce*'dir. Her bacak için ortak olarak saptanan genlerle beraber farklı genlerinde saptanmış olması GENEL BİLGİLER kısmında da ayrıntılı olarak bahsedildiği üzere her üç bacağına farklı imajinal disklerden geliyor olmasından kaynaklanmaktadır. Schubiger ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yayımlanan çalışmada üç bacak imajinal diski çiftlerinin bacakların farklılaşması sırasında üstlendikleri roller incelenmiştir. Her bacak çifti imajinal diskten “uzayarak” organ haline dönüştüğünde, morfolojik olarak ikinci bacakla özdeş olarak yola çıkar. İlerleyen aşamalarda ifade edilen farklı genler aracılığıyla kendi morfolojilerine doğru değişen bacaklar ayrıca üzerlerinde bulunan sensör yapıda olan kılları da kendilerine özgü bir düzen ve sayıda bulundurlar [29]. Tez kapsamında gerçekleştirilen analiz sonuçları bu açıdan değerlendirildiğinde her üç bacakta farklı aday genlerin görülmesi, her ne kadar bacaklar işlevsel ve yapısal olarak aynı olsalar dahi, her birinin gerek köken aldıkları imajinal diskler açısından farklı olmaları gerekse bacak gelişiminin sonraki safhaları açısından farklı gen etkileşimleri çerçevesinde gelişimini tamamlamakta olduklarını düşündürmektedir. Bugüne kadar her bir bacak imajinal diskine özgü olan farklı gen etkileşimlerinin gerçekleştiğine dair literatürde bilimsel bir kanıt bulunmamaktadır ve bu tez çalışmasında her bir bacağına özgü olarak tespit edilen aday genler yüksek olasılıkla bilinmeyen bu biyolojik fenomene dair ilk kanıtlara işaret etmektedir.

Aday genler arasında her üç bacak için ortak olarak belirlenen *gce* geni bacakların imajinal disklerden “uzayıp” organ halini alacakları safha olan pupasyon safhasının başlamasına sebep olacak juvenil hormonu aktif hale getirmede önemli bir gen olarak ortaya konmuştur [14, 36-38]. Her üç bacakta da aday gen olarak ortaya çıkan *gce* geni gelişime ait kritik bir safhada kritik bir rol üstlenmektedir, dolayısıyla her üç bacak gelişimi açısından da bu gene rastlanması gayet doğaldır ve bacak gelişimi açısından ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bunun yanı

sıra, *gce* geni bacağın imajinal diskten evajine olduğu aşamadan “uzayarak” bir organ haline gelmesi için gereken juvenil hormonun aktivasyonu ile pupasyonu tetiklemektedir ve bacak gelişimi üzerine yapılan çalışmalar içerisinde bu tez çalışması doğrudan bir kanıtın bulunduğu ilk çalışma olma niteliğini taşımaktadır.

Gerçekleştirilen çalışma sonucunda elde edilmiş olan aday genler işlevleri ve görev aldıkları mekanizmalar bakımından ilgilenilen fenotipik özellikle doğrudan ilişkilidirler. Genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında önem taşıyan doğal varyasyonunun yarattığı küçük farklılıklar tez süresince çalışılmış olan DGRP soyları ile gerçekleştirilen çaprazlardan elde edilen bireylere ait femur uzunluğu ortalamalarına ait farklar incelendiğinde açıkça görülmektedir (Şekil 4.8. – 4.10.). Kontrol ve mutant ile çaprazlanmaları sonucunda femur uzunlukları açısından her soy çaprazlar açısından farklı ortalamalar göstermiştir. Soyların bazılarında mutant çaprazından elde edilen femur uzunluğu ortalamaları daha büyük bir değere sahip iken bazısında kontrol soyuna ait femur uzunluğu ortalamaları daha büyük değere sahiptir. Birkaç soyda ise neredeyse kontrol soyu ve mutant soy çaprazlarına ait femur uzunluğu ortalamalarında bir fark yok gibidir. Bu farklılığın temel nedeni her bir DGRP soyunun kendine özgü genetik altyapıya sahip olmasıdır. Bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmaları sonucunda GWAS için girdi olarak kullanılmış ve yukarıda belirtilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tez çalışması sonucunda saptanan 21 adet *Drosophila melanogaster* geni femur uzunluğu ile ilişkili aday genler olarak sunulmaktadır ve *Egfr* geni dışında kalan 20 aday gen bacak gelişimi açısından bugüne kadar ilk defa bu tez kapsamında ortaya konmuştur. Bununla birlikte, farklı imajinal disklerden oluşan bacakların organ haline gelme sürecinde etkileşim gösteren ortak genler ve bacaklara özgü genler ilk defa bu tez kapsamında ortaya konmuştur. Her üç bacak için ortak aday gen olarak paylaşılan *gce* geninin bacak gelişimi ile olan ilişkisine değinilen ilk çalışma yine bu tez olarak literatüre kazandırılmıştır. Bu aşamadan sonra yapılacak olan ilk iş, bu aday genlerin mutant soylarının (*piggyBac* transpozonuyla müdahale edilmiş veya RNAi aracılığıyla susturulmuş) temin edilerek validasyonlarının

gerçekleştirilmesi ile gelişim biyolojisi literatürüne yeni genler ve gen etkileşimleri kazandırılması olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] A. Wanninger, *Evolutionary Developmental Biology of Invertebrates 5: Ecdysozoa III: Hexapoda*. Springer Vienna, **2015**.
- [2] J. R. Powell, *Progress and prospects in evolutionary biology: the Drosophila model*. Oxford University Press, **1997**.
- [3] S. Dessain ve W. McGinnis, "Drosophila homeobox genes," *Advances in developmental biochemistry*, vol. 2, 1-55, **1993**.
- [4] W. J. Gehring, *Master control genes in development and evolution: The homeobox story*. **1998**, p. xv + 236.
- [5] P. A. Lawrence ve G. Morata, "Homeobox genes: their function in Drosophila segmentation and pattern formation," *Cell*, vol. 78, no. 2, 181-190, **1994**.
- [6] T. Tsuji, A. Sato, I. Hiratani, M. Taira, K. Saigo, ve T. Kojima, "Requirements of Lim1, a Drosophila LIM-homeobox gene, for normal leg and antennal development," *Development*, vol. 127, no. 20, 4315-4323, **2000**.
- [7] A. Karavanov, J. Saint-Jeannet, I. Karavanova, M. Taira, ve I. Dawid, "The LIM homeodomain protein Lim-1 is widely expressed in neural, neural crest and mesoderm derivatives in vertebrate development," *The International journal of developmental biology*, vol. 40, no. 2, p. 453, **1996**.
- [8] W. Shawlot ve R. R. Behringer, "Requirement for Lim1 in head-organizer function," *Nature*, vol. 374, no. 6521, . 425, **1995**.
- [9] J. I. Pueyo ve J. P. Couso, "Chip-mediated partnerships of the homeodomain proteins Bar and Aristaless with the LIM-HOM proteins Apterous and Lim1 regulate distal leg development," *Development*, vol. 131, no. 13, 3107-3120, **2004**.
- [10] J. I. Pueyo, M. I. Galindo, S. A. Bishop, ve J. P. Couso, "Proximal-distal leg development in Drosophila requires the apterous gene and the Lim1 homologue dlim1," *Development*, vol. 127, no. 24, 5391-5402, **2000**.
- [11] W. Huang ve arkl., "Natural variation in genome architecture among 205 Drosophila melanogaster Genetic Reference Panel lines," *Genome Res*, vol. 24, no. 7, 1193-1208, **2014** <http://dgrp2.gnets.ncsu.edu>.
- [12] T. F. Mackay ve arkl., "The Drosophila melanogaster Genetic Reference Panel " *Nature*, vol. 482, no. 7384, 173-178, **2012** <http://dgrp2.gnets.ncsu.edu>.
- [13] S. T. Thibault ve arkl., "A complementary transposon tool kit for Drosophila melanogaster using P and piggyBac," *Nature genetics*, vol. 36, no. 3, 283-287, **2004**.
- [14] L. S. Gramates ve arkl., "FlyBase at 25: looking to the future," *Nucleic acids research*, vol. 45, no. D1, D663-D671, **2017**.

- [15] W. McGinnis, M. S. Levine, E. Hafen, A. Kuroiwa, ve W. J. Gehring, "A conserved DNA sequence in homoeotic genes of the *Drosophila* Antennapedia and bithorax complexes," *Nature*, vol. 308, p. 428, 03/29/online **1984**.
- [16] W. Gehring ve Y. J. A. r. o. g. Hiromi, "Homeotic genes and the homeobox," *Annual Review of Genetics*, vol. 20, no. 1, 147-173, **1986**.
- [17] R. K. Maeda ve F. J. C. t. i. d. b. Karch, "The bithorax complex of *Drosophila*: an exceptional Hox cluster," *Current Topics in Developmental Biology*, vol. 88, 1-33, **2009**.
- [18] M. P. Scott ve A. J. Weiner, "Structural relationships among genes that control development: sequence homology between the Antennapedia, Ultrabithorax, and fushi tarazu loci of *Drosophila*," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 81, no. 13, 4115-4119, **1984**.
- [19] A. de Mendoza ve arkl., "Transcription factor evolution in eukaryotes and the assembly of the regulatory toolkit in multicellular lineages," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 110, no. 50, E4858-E4866, **2013**.
- [20] R. Derelle, P. Lopez, H. L. Guyader, ve M. Manuel, "Homeodomain proteins belong to the ancestral molecular toolkit of eukaryotes," *Evolution & development*, vol. 9, no. 3, 212-219, **2007**.
- [21] K. Mukherjee, L. Brocchieri, ve T. R. Bürglin, "A comprehensive classification and evolutionary analysis of plant homeobox genes," *Molecular biology and evolution*, vol. 26, no. 12, 2775-2794, **2009**.
- [22] D. Sassoon, "Hox genes: a role for tissue development," *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology and Evolution*, vol. 7, 1-2, **1992**.
- [23] P. W. Holland, H. A. F. Booth, ve E. A. Bruford, "Classification and nomenclature of all human homeobox genes," *BMC biology*, vol. 5, no. 1, 47, **2007**.
- [24] M. Cummins, J. I. Pueyo, S. A. Greig, ve J. P. Couso, "Comparative analysis of leg and antenna development in wild-type and homeotic *Drosophila melanogaster*," *Dev Genes Evol*, vol. 213, no. 7, 319-327, **2003**.
- [25] P. Holland, "Evolution of homeobox genes," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, vol. 2, no. 1, 31-45, **2013**.
- [26] J.-C. Izpisua-Belmonte ve D. Duboule, "Homeobox genes and pattern formation in the vertebrate limb," *Developmental Biology*, vol. 152, no. 1, 26-36, **1992**.
- [27] M. Richardson, "The Hox Complex-an interview with Denis Duboule," *International Journal of Developmental Biology*, vol. 53, no. 5-6, 717-723, **2009**.
- [28] V. H. Resh ve R. T. Cardé, *Encyclopedia of insects*. Academic Press, **2009**.
- [29] G. Schubiger, M. Schubiger, ve A. Sustar, "The three leg imaginal discs of *Drosophila*: "Vive la différence"," *Developmental biology*, vol. 369, no. 1, 76-90, **2012**.

- [30] L. Wolpert, "Positional information and pattern formation," in *Current topics in developmental biology*, vol. 117: Elsevier, **2016**, 597-608.
- [31] G. Pflugfelder, F. Eichinger, ve J. Shen, "Chapter Eleven-T-Box Genes in *Drosophila* Limb Development," *Current Topics in Developmental Biology*, vol. 122, 313-354, **2017**.
- [32] S. Chyb ve N. Gompel, *Atlas of Drosophila Morphology: Wild-type and classical mutants*. Academic Press, **2013**.
- [33] K. D. McClure ve G. Schubiger, "A screen for genes that function in leg disc regeneration in *Drosophila melanogaster*," *Mechanisms of development*, vol. 125, no. 1, 67-80, **2008**.
- [34] N. E. Baker, "Proximodistal patterning in the *Drosophila* leg: Models and mutations," *Genetics*, vol. 187, no. 4, 1003-1010, **2011**.
- [35] C. Estella ve R. S. Mann, "Logic of Wg and Dpp induction of distal and medial fates in the *Drosophila* leg," *Development*, vol. 135, no. 4, 627-636, **2008**.
- [36] G. Morata, "How *drosophila* appendages develop," *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Review Article vol. 2, p. 89, 02/01/online **2001**.
- [37] T. M. Fortier, R. Chatterjee, S. Klinedinst, E.H. Baehrecke, ve C. T. Woodard, "how functions in leg development during *Drosophila* metamorphosis," *Developmental Dynamics*, vol. 235, no. 8, 2248-2259, **2006**.
- [38] T. Kojima, "The mechanism of *Drosophila* leg development along the proximodistal axis," *Development Growth and Differentiation*, vol. 46, no. 2, 115-129, **2004**.
- [39] B. Lilly, D. D. O'Keefe, J. B. Thomas, ve J. Botas, "The LIM homeodomain protein dLim1 defines a subclass of neurons within the embryonic ventral nerve cord of *Drosophila*," *Mech Dev*, vol. 88, no. 2, 195-205, **1999**.
- [40] J.-Y. Roignant, K. Legent, F. Janody, ve J. E. Treisman, "The transcriptional co-factor Chip acts with LIM-homeodomain proteins to set the boundary of the eye field in *Drosophila*," *Development*, vol. 137, no. 2, 273-281, **2010**.
- [41] R. Sinn ve J. Wittbrodt, "An eye on eye development," *Mechanisms of development*, vol. 130, no. 6-8, 347-358, **2013**.
- [42] B. M. Weasner ve J. P. Kumar, "Competition among gene regulatory networks imposes order within the eye-antennal disc of *Drosophila*," *Development*, vol. 140, no. 1, 205-215, **2013**.
- [43] T. J. T. i. g. Brody. (**1999**). *The Interactive Fly: gene networks, development and the Internet* <http://www.sdbonline.org/sites/fly/hjmuller/lim1-1.htm>.
- [44] J. J. Breen, A. D. Agulnick, H. Westphal, ve I. B. Dawid, "Interactions between LIM domains and the LIM domain-binding protein Ldb1," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 8, 4712-4717, **1998**.
- [45] T. R. Sarafi-Reinach, T. Melkman, O. Hobert, ve P. Sengupta, "The *lin-11* LIM homeobox gene specifies olfactory and chemosensory neuron fates in *C. elegans*," *Development*, vol. 128, no. 17, 3269-3281, **2001**.

- [46] C. Beck ve J. Slack, "Analysis of the developing *Xenopus* tail bud reveals separate phases of gene expression during determination and outgrowth," *Mechanisms of development*, vol. 72, no. 1, 41-52, **1998**.
- [47] T. Fujii, J. G. Pichel, M. Taira, R. Toyama, I. B. Dawid, ve H. Westphal, "Expression patterns of the murine LIM class homeobox gene *lim1* in the developing brain and excretory system," *Developmental dynamics*, vol. 199, no. 1, 73-83, **1994**.
- [48] M. L. Rebbert ve I. B. Dawid, "Transcriptional regulation of the *Xlim-1* gene by activin is mediated by an element in intron I," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, no. 18, 9717-9722, **1997**.
- [49] M. Taira, M. Jamrich, P. J. Good, ve I. B. Dawid, "The LIM domain-containing homeo box gene *Xlim-1* is expressed specifically in the organizer region of *Xenopus gastrula* embryos," *Genes & Development*, vol. 6, no. 3, 356-366, **1992**.
- [50] M. Taira, H. Otani, J.-P. Saint-Jeannet, ve I. B. Dawid, "Role of the LIM class homeodomain protein *Xlim-1* in neural and muscle induction by the Spemann organizer in *Xenopus*," *Nature*, vol. 372, no. 6507, 677, **1994**.
- [51] T.-c. Chan, S. Takahashi, ve M. Asashima, "A role for *Xlim-1* in pronephros development in *Xenopus laevis*," *Developmental biology*, vol. 228, no. 2, 256-269, **2000**.
- [52] M. Taira, J.-P. Saint-Jeannet, ve I. B. Dawid, "Role of the *Xlim-1* and *Xbra* genes in anteroposterior patterning of neural tissue by the head and trunk organizer," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 94, no. 3, 895-900, **1997**.
- [53] A. Kobayashi, K.-M. Kwan, T. J. Carroll, A. P. McMahon, C. L. Mendelsohn, ve R. R. Behringer, "Distinct and sequential tissue-specific activities of the LIM-class homeobox gene *Lim1* for tubular morphogenesis during kidney development," *Development*, vol. 132, no. 12, 2809-2823, **2005**.
- [54] A. Kobayashi, W. Shawlot, A. Kania, ve R. R. Behringer, "Requirement of *Lim1* for female reproductive tract development," *Development*, vol. 131, no. 3, 539-549, Feb **2004**.
- [55] W.-F. DONG ve arkl., "Cloning, expression, and chromosomal localization to 11p12-13 of a human LIM/HOMEBOX gene, *hLim-1*," *Cell Biology*, vol. 16, no. 6, 671-678, **1997**.
- [56] W. Zhang ve arkl., "Identification and functional analysis of a novel *LHX1* mutation associated with congenital absence of the uterus and vagina," *Oncotarget*, vol. 8, no. 5, 85-87, **2017**.
- [57] G. Gibson ve I. Dworkin, "Uncovering cryptic genetic variation," *Nature Reviews Genetics*, vol. 5, no. 9, 681-690, **2004**.
- [58] B. Horváth ve A. T. Kalinka, "The genetics of egg retention and fertilization success in *Drosophila*: One step closer to understanding the transition from facultative to obligate viviparity," *International Journal of Organic Evolution*, vol. 72, no. 2, 318-336, **2018**.

- [59] B. Horváth, A. J. Betancourt, ve A. T. Kalinka, "A novel method for quantifying the rate of embryogenesis uncovers considerable genetic variation for the duration of embryonic development in *Drosophila melanogaster*," *BMC Evolutionary Biology*, vol. 16, no. 1, 200, **2016**.
- [60] S. Harbison, S. Kumar, W. Huang, L. McCoy, K. Smith, ve T. Mackay, "Genome-Wide Association Study of Circadian Behavior in *Drosophila melanogaster*," *Behavior Genetics*, **2018**.
- [61] N. Grubbs, M. Leach, X. Su, T. Petrisko, J. B. Rosario, ve J. W. Mahaffey, "New components of *drosophila* leg development identified through genome wide association studies," *PloS one*, vol. 8, no. 4, **2013**.
- [62] T. A. Markow ve P. O'Grady, *Drosophila: a guide to species identification and use*. Academic Press, **2005**.
- [63] C. T. Rueden, J. Schindelin, M. C. Hiner, B. E. DeZonia, A. E. Walter, ve K. W. Eliceiri, "ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data," *arXiv preprint arXiv:1701.05940*, **2017**.
- [64] R. R. a. F. J. R. Sokal, *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, 4 th ed. New York: W. H. Freeman and Co., **2012**.
- [65] R. Team, "RStudio: Integrated Development Environment for R," 1.1.463 ed. Boston, MA: RStudio, Inc., **2016**.
- [66] 1995 Nobel Tıp Ödülü. Available: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1995/press-release/>
- [67] I. Tzchori ve arkl., "LIM homeobox transcription factors integrate signaling events that control three-dimensional limb patterning and growth," *Development*, vol. 136, no. 8, 1375-1385, **2009**.
- [68] F. Casares ve R. S. Mann, "Control of antennal versus leg development in *Drosophila*," *Nature*, vol. 392, no. 6677, 723-726, **1998**.
- [69] L. Wolpert, "Positional information and pattern formation in development," *Developmental Genetics*, vol. 15, no. 6, 485-490, **1994**.
- [70] C. Estella, R. Voutev, ve R. S. Mann, "A dynamic network of morphogens and transcription factors patterns the fly leg," in *Current topics in developmental biology*, vol. 98: Elsevier, **2012**, 173-198.
- [71] S. Newcomb, R. Voutev, A. Jory, R. K. Delker, M. Slattery, ve R. S. Mann, "cis-regulatory architecture of a short-range EGFR organizing center in the *Drosophila melanogaster* leg," *PLoS Genetic*, vol. 14, no. 8, p. 68, **2018**.
- [72] G. Campbell, "Distalization of the *Drosophila* leg by graded EGF-receptor activity," *Nature*, vol. 418, no. 6899, 781-785, **2002**.
- [73] A. Wehn ve G. Campbell, "Genetic interactions among scribbler, Atrophin and groucho in *Drosophila* uncover links in transcriptional repression," *Genetics*, vol. 173, no. 2, 849-861, **2006**.
- [74] G. Campbell, "Regulation of gene expression in the distal region of the *Drosophila* leg by the Hox11 homolog, C15," *Dev Biol*, vol. 278, no. 2, 607-618, **2005**.

- [75] G. Campbell ve A. Tomlinson, "The roles of the homeobox genes *aristaless* and *Distal-less* in patterning the legs and wings of *Drosophila*," *Development*, vol. 125, no. 22, 4483-4493, **1998**.
- [76] S. H. Crossman, S. J. Streichan, ve J.-P. Vincent, "EGFR signaling coordinates patterning with cell survival during *Drosophila* epidermal development," *PLoS Biology*, vol. 16, no. 10, p. 27, **2018**.
- [77] A. Amin, Y. Li, ve R. Finkelstein, "Hedgehog activates the EGF receptor pathway during *Drosophila* head development," *Development*, vol. 126, no. 12, 2623-2630, **1999**.
- [78] Y. Fan ve A. Bergmann, "Distinct mechanisms of apoptosis-induced compensatory proliferation in proliferating and differentiating tissues in the *Drosophila* eye," *Developmental cell*, vol. 14, no. 3, 399-410, **2008**.
- [79] S. El Akil, R. Melki, ve A. Belmouden, "Genetic Heterogeneity in Moroccan Primary Congenital Glaucoma Patients," *Life Science Journal*, vol. 11, no. 11, **2014**.
- [80] J. B. Lusk, V. Y. Lam, ve N. S. Tolwinski, "Epidermal growth factor pathway signaling in *Drosophila* embryogenesis: tools for understanding cancer," *cancers*, vol. 9, no. 2, p. 16, **2017**.
- [81] F. D. Nunes, F. C. S. d. Almeida, R. Tucci, ve S. C. O. M. d. Sousa, "Homeobox genes: a molecular link between development and cancer," *Pesquisa Odontologica Brasileira*, vol. 17, no. 1, 94-98, **2003**.

EKLER

Ek-1 Kontrol Soyu x DGRP Soyu yavru döllere ait femur uzunluğu özet istatistikleri

Ek-1.1 Birinci bacağı ait özet istatistikler

DGRP Soyu	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	15	0,516533	0,020248	0,005228	0,011213
105	15	0,520867	0,037405	0,009658	0,020714
129	15	0,537733	0,028184	0,007277	0,015608
136	15	0,523867	0,037307	0,009633	0,02066
138	14	0,562	0,022257	0,005948	0,012851
149	14	0,4895	0,021933	0,005862	0,012663
153	15	0,5726	0,025469	0,006576	0,014104
158	14	0,567214	0,014208	0,003797	0,008204
161	14	0,556786	0,015666	0,004187	0,009045
176	15	0,517	0,030256	0,007812	0,016755
177	13	0,556923	0,022205	0,006159	0,013419
181	15	0,529	0,023483	0,006063	0,013004
189	15	0,517333	0,029176	0,007533	0,016157
195	14	0,494571	0,017368	0,004642	0,010028
208	15	0,5542	0,019053	0,00492	0,010551
21	14	0,541714	0,024659	0,00659	0,014238
217	15	0,544667	0,024162	0,006239	0,013381
228	15	0,5234	0,036146	0,009333	0,020017
229	14	0,547214	0,026068	0,006967	0,015051
235	15	0,5414	0,030972	0,007997	0,017152
256	14	0,535071	0,013292	0,003553	0,007675
26	14	0,525643	0,037918	0,010134	0,021893
280	15	0,551667	0,026632	0,006876	0,014748
287	14	0,558929	0,015672	0,004189	0,009049
303	15	0,542067	0,019692	0,005084	0,010905
304	15	0,5	0,03752	0,009687	0,020778
307	11	0,567818	0,010088	0,003042	0,006777
31	15	0,544667	0,024982	0,00645	0,013835
310	13	0,551769	0,017234	0,00478	0,010415
315	14	0,575786	0,01741	0,004653	0,010052
318	13	0,526231	0,012676	0,003516	0,00766
319	15	0,532133	0,024515	0,00633	0,013576
32	15	0,572467	0,035731	0,009226	0,019787
320	15	0,514533	0,031291	0,008079	0,017328
335	15	0,5104	0,016604	0,004287	0,009195
340	14	0,536357	0,015829	0,00423	0,009139

348	13	0,550923	0,014192	0,003936	0,008576
354	15	0,548	0,029343	0,007576	0,01625
356	15	0,538867	0,024023	0,006203	0,013304
357	14	0,537786	0,030062	0,008034	0,017357
359	15	0,561867	0,026848	0,006932	0,014868
360	15	0,5008	0,030112	0,007775	0,016676
361	15	0,518933	0,025982	0,006709	0,014388
362	14	0,510357	0,022204	0,005934	0,01282
365	15	0,544333	0,026191	0,006762	0,014504
367	15	0,564133	0,025136	0,00649	0,01392
371	15	0,539133	0,021827	0,005636	0,012087
379	15	0,581667	0,015272	0,003943	0,008457
380	15	0,548267	0,026475	0,006836	0,014661
382	14	0,558929	0,016031	0,004284	0,009256
383	13	0,523308	0,01551	0,004302	0,009373
385	15	0,556267	0,017331	0,004475	0,009597
386	15	0,5386	0,029813	0,007698	0,01651
391	14	0,542857	0,019926	0,005326	0,011505
392	15	0,540933	0,024218	0,006253	0,013411
397	15	0,511867	0,027378	0,007069	0,015161
399	13	0,534692	0,027663	0,007672	0,016716
40	15	0,530333	0,036984	0,009549	0,020481
409	15	0,540333	0,0175	0,004518	0,009691
41	15	0,530533	0,022344	0,005769	0,012374
42	15	0,5474	0,015445	0,003988	0,008553
427	15	0,566267	0,029853	0,007708	0,016532
437	14	0,544357	0,01538	0,004111	0,00888
439	14	0,556714	0,016877	0,004511	0,009745
441	14	0,538714	0,018718	0,005003	0,010808
443	15	0,536467	0,033338	0,008608	0,018462
45	15	0,5176	0,016269	0,004201	0,00901
461	15	0,5322	0,032116	0,008292	0,017785
491	15	0,533067	0,029752	0,007682	0,016476
505	14	0,5215	0,03345	0,00894	0,019313
508	15	0,500467	0,02134	0,00551	0,011818
509	11	0,521455	0,010848	0,003271	0,007288
513	14	0,536714	0,014871	0,003974	0,008586
517	15	0,5122	0,032437	0,008375	0,017963
528	14	0,479786	0,036007	0,009623	0,02079
530	15	0,540333	0,026917	0,00695	0,014906
535	14	0,547643	0,02602	0,006954	0,015023
551	15	0,5004	0,02066	0,005334	0,011441
555	15	0,555133	0,016583	0,004282	0,009183
584	15	0,5278	0,025596	0,006609	0,014175
589	14	0,553071	0,010535	0,002816	0,006083

59	15	0,534067	0,036171	0,009339	0,020031
627	14	0,4855	0,029979	0,008012	0,017309
642	15	0,523533	0,027121	0,007003	0,015019
646	15	0,517667	0,035251	0,009102	0,019522
705	15	0,5666	0,026343	0,006802	0,014588
707	15	0,534333	0,025728	0,006643	0,014248
716	15	0,540467	0,030801	0,007953	0,017057
721	14	0,571857	0,0161	0,004303	0,009296
73	15	0,563133	0,025204	0,006508	0,013958
732	15	0,518867	0,026134	0,006748	0,014472
75	15	0,538667	0,018263	0,004715	0,010114
761	15	0,528133	0,014297	0,003692	0,007918
765	15	0,552533	0,024457	0,006315	0,013544
774	15	0,5356	0,023222	0,005996	0,01286
783	15	0,556133	0,033368	0,008616	0,018478
786	15	0,537333	0,019345	0,004995	0,010713
799	15	0,5506	0,028243	0,007292	0,015641
802	14	0,53	0,029292	0,007829	0,016912
804	14	0,505357	0,01991	0,005321	0,011496
805	15	0,563	0,024071	0,006215	0,01333
808	15	0,5532	0,02213	0,005714	0,012255
810	14	0,514286	0,025381	0,006783	0,014655
818	13	0,494462	0,021881	0,006069	0,013222
819	12	0,52725	0,015064	0,004349	0,009571
820	15	0,535467	0,023449	0,006054	0,012985
822	15	0,5144	0,020472	0,005286	0,011337
843	15	0,551533	0,034401	0,008882	0,01905
850	14	0,557857	0,015063	0,004026	0,008697
852	15	0,544867	0,022165	0,005723	0,012274
853	13	0,518692	0,016504	0,004578	0,009974
855	15	0,524	0,02834	0,007317	0,015694
861	15	0,545267	0,021976	0,005674	0,01217
890	15	0,5256	0,022475	0,005803	0,012446
892	15	0,5588	0,024255	0,006263	0,013432
897	15	0,541333	0,02089	0,005394	0,011568
900	15	0,566533	0,030289	0,007821	0,016773
907	15	0,533667	0,020873	0,005389	0,011559
91	15	0,505867	0,048656	0,012563	0,026945
911	15	0,5124	0,030671	0,007919	0,016985
913	15	0,509067	0,035389	0,009137	0,019598
93	15	0,5364	0,018665	0,004819	0,010337

Ek-1.2 İkinci bacağı ait özet istatistikler

DGRP Soyü	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	14	0,616286	0,029432	0,007866	0,016993
105	15	0,602067	0,04585	0,011838	0,025391
129	15	0,638133	0,044239	0,011423	0,024499
136	15	0,627	0,058089	0,014998	0,032168
138	13	0,679846	0,012456	0,003455	0,007527
149	10	0,5753	0,010573	0,003343	0,007563
153	15	0,6822	0,025868	0,006679	0,014325
158	14	0,676214	0,013768	0,00368	0,00795
161	15	0,650867	0,014065	0,003632	0,007789
176	15	0,614533	0,035256	0,009103	0,019524
177	15	0,6488	0,03982	0,010281	0,022051
181	15	0,623133	0,032571	0,00841	0,018037
189	14	0,611643	0,020772	0,005552	0,011993
195	15	0,579533	0,024576	0,006346	0,01361
208	15	0,6518	0,020723	0,005351	0,011476
21	15	0,631467	0,037217	0,009609	0,02061
217	15	0,640333	0,029222	0,007545	0,016183
228	15	0,6294	0,028995	0,007486	0,016057
229	15	0,626267	0,043409	0,011208	0,024039
235	15	0,635467	0,037119	0,009584	0,020556
256	15	0,612733	0,028141	0,007266	0,015584
26	14	0,629643	0,05274	0,014095	0,030451
280	14	0,665929	0,01906	0,005094	0,011005
287	15	0,666133	0,021967	0,005672	0,012165
303	15	0,651467	0,027435	0,007084	0,015193
304	14	0,584929	0,027866	0,007448	0,01609
307	12	0,685833	0,014333	0,004137	0,009107
31	15	0,637733	0,043892	0,011333	0,024307
310	14	0,659929	0,015969	0,004268	0,00922
315	15	0,695067	0,023879	0,006166	0,013224
318	14	0,620571	0,023071	0,006166	0,013321
319	15	0,622533	0,036651	0,009463	0,020296
32	15	0,679467	0,034426	0,008889	0,019064
320	15	0,593933	0,043396	0,011205	0,024032
335	15	0,5926	0,03705	0,009566	0,020517
340	14	0,635571	0,021263	0,005683	0,012277
348	14	0,6565	0,024735	0,006611	0,014281
354	14	0,662714	0,021117	0,005644	0,012192
356	15	0,6426	0,032919	0,0085	0,01823
357	14	0,656286	0,031634	0,008454	0,018265
359	14	0,664929	0,024291	0,006492	0,014025
360	15	0,595467	0,035118	0,009067	0,019448

361	15	0,6094	0,02856	0,007374	0,015816
362	15	0,6056	0,028104	0,007256	0,015563
365	15	0,6514	0,034575	0,008927	0,019147
367	15	0,669533	0,022884	0,005909	0,012673
371	15	0,648467	0,027255	0,007037	0,015093
379	15	0,684933	0,010498	0,002711	0,005814
380	15	0,645533	0,030594	0,007899	0,016942
382	15	0,656667	0,02647	0,006835	0,014659
383	15	0,622467	0,025114	0,006484	0,013907
385	15	0,656267	0,021302	0,0055	0,011797
386	14	0,636643	0,017947	0,004797	0,010362
391	15	0,657133	0,029159	0,007529	0,016148
392	14	0,644571	0,023809	0,006363	0,013747
397	15	0,600467	0,030035	0,007755	0,016633
399	13	0,641769	0,021198	0,005879	0,01281
40	14	0,637429	0,041742	0,011156	0,024101
409	15	0,646933	0,021309	0,005502	0,0118
41	15	0,6414	0,030045	0,007758	0,016638
42	14	0,637357	0,020945	0,005598	0,012094
427	15	0,6724	0,037368	0,009648	0,020694
437	15	0,638	0,031666	0,008176	0,017536
439	14	0,657714	0,015005	0,00401	0,008663
441	15	0,638133	0,019078	0,004926	0,010565
443	15	0,625133	0,039887	0,010299	0,022089
45	14	0,599143	0,015073	0,004029	0,008703
461	15	0,622533	0,040414	0,010435	0,02238
491	15	0,640733	0,033139	0,008557	0,018352
505	14	0,623571	0,033017	0,008824	0,019063
508	14	0,587357	0,021735	0,005809	0,012549
509	14	0,619071	0,024034	0,006423	0,013877
513	14	0,650357	0,015911	0,004252	0,009187
517	13	0,608308	0,035241	0,009774	0,021296
528	15	0,581933	0,06554	0,016922	0,036295
530	15	0,634067	0,024552	0,006339	0,013596
535	15	0,6362	0,029479	0,007612	0,016325
551	15	0,588267	0,023906	0,006172	0,013239
555	14	0,667857	0,020034	0,005354	0,011567
584	13	0,631308	0,04412	0,012237	0,026661
589	15	0,658467	0,015287	0,003947	0,008466
59	15	0,637	0,042775	0,011044	0,023688
627	15	0,5804	0,045989	0,011874	0,025468
642	14	0,615786	0,027912	0,00746	0,016116
646	15	0,6134	0,041448	0,010702	0,022953
705	15	0,6728	0,03316	0,008562	0,018364
707	15	0,619133	0,029123	0,007519	0,016128

716	15	0,633067	0,034302	0,008857	0,018996
721	13	0,676308	0,013913	0,003859	0,008407
73	15	0,661	0,03501	0,00904	0,019388
732	15	0,615267	0,032032	0,008271	0,017739
75	15	0,628467	0,016004	0,004132	0,008863
761	15	0,635667	0,01674	0,004322	0,00927
765	15	0,651467	0,027482	0,007096	0,015219
774	15	0,64	0,023797	0,006144	0,013178
783	15	0,646467	0,037561	0,009698	0,020801
786	14	0,642286	0,019566	0,005229	0,011297
799	14	0,642286	0,031504	0,00842	0,01819
802	14	0,620929	0,035521	0,009493	0,020509
804	14	0,597857	0,02352	0,006286	0,01358
805	14	0,671357	0,020971	0,005605	0,012108
808	13	0,677385	0,018945	0,005254	0,011449
810	15	0,607867	0,030703	0,007928	0,017003
818	14	0,589643	0,041217	0,011016	0,023798
819	15	0,628933	0,029632	0,007651	0,01641
820	15	0,644467	0,018692	0,004826	0,010352
822	15	0,607467	0,026787	0,006916	0,014834
843	15	0,649067	0,039727	0,010257	0,022
850	15	0,6478	0,021455	0,00554	0,011881
852	15	0,648667	0,028682	0,007406	0,015884
853	15	0,603867	0,03409	0,008802	0,018878
855	15	0,6276	0,03047	0,007867	0,016874
861	13	0,654538	0,027525	0,007634	0,016633
890	15	0,619867	0,029491	0,007614	0,016331
892	15	0,660733	0,035658	0,009207	0,019747
897	15	0,627333	0,040606	0,010484	0,022487
900	13	0,663462	0,035142	0,009747	0,021236
907	15	0,628533	0,019052	0,004919	0,010551
91	15	0,6008	0,047991	0,012391	0,026577
911	15	0,601867	0,035561	0,009182	0,019693
913	15	0,5958	0,039117	0,0101	0,021662
93	15	0,634067	0,029668	0,00766	0,01643

Ek-1.3 Üçüncü Bacağa ait özet istatistikler

DGRP Soyü	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	15	0,645267	0,030874	0,007972	0,017098
105	15	0,637667	0,053174	0,01373	0,029447
129	15	0,698133	0,035679	0,009212	0,019758
136	13	0,677923	0,037708	0,010458	0,022787
138	11	0,720636	0,008857	0,002671	0,005951
149	12	0,624083	0,020246	0,005845	0,012864
153	15	0,714467	0,029374	0,007584	0,016267
158	14	0,707786	0,017219	0,004602	0,009942
161	15	0,6866	0,016221	0,004188	0,008983
176	15	0,648667	0,02924	0,00755	0,016192
177	15	0,674867	0,0337	0,008701	0,018662
181	15	0,6418	0,031447	0,008119	0,017415
189	15	0,639533	0,032047	0,008274	0,017747
195	15	0,6132	0,03346	0,008639	0,01853
208	15	0,680067	0,023918	0,006176	0,013245
21	15	0,657133	0,04192	0,010824	0,023214
217	15	0,6808	0,033923	0,008759	0,018786
228	11	0,646545	0,010034	0,003025	0,006741
229	15	0,662733	0,043406	0,011207	0,024037
235	14	0,675143	0,030422	0,008131	0,017565
256	15	0,650267	0,026302	0,006791	0,014565
26	14	0,663571	0,048764	0,013033	0,028156
280	15	0,681467	0,0277	0,007152	0,01534
287	15	0,700067	0,030198	0,007797	0,016723
303	15	0,679333	0,03122	0,008061	0,017289
304	14	0,616143	0,027983	0,007479	0,016157
307	12	0,709333	0,018002	0,005197	0,011438
31	14	0,680857	0,032043	0,008564	0,018501
310	13	0,675	0,015335	0,004253	0,009267
315	15	0,717933	0,019267	0,004975	0,01067
318	15	0,652533	0,028573	0,007377	0,015823
319	15	0,660867	0,03694	0,009538	0,020457
32	15	0,708333	0,0297	0,007669	0,016447
320	15	0,624133	0,041521	0,010721	0,022993
335	15	0,624467	0,030194	0,007796	0,016721
340	12	0,67575	0,007399	0,002136	0,004701
348	14	0,689357	0,035389	0,009458	0,020433
354	15	0,684467	0,028982	0,007483	0,01605
356	15	0,673333	0,03782	0,009765	0,020944
357	15	0,674133	0,043118	0,011133	0,023878
359	14	0,685071	0,030052	0,008032	0,017352
360	14	0,612	0,035131	0,009389	0,020284

361	15	0,6366	0,031482	0,008129	0,017434
362	15	0,623	0,027092	0,006995	0,015003
365	15	0,671533	0,035645	0,009203	0,019739
367	14	0,689429	0,018475	0,004938	0,010667
371	15	0,678133	0,036804	0,009503	0,020382
379	15	0,711333	0,013963	0,003605	0,007732
380	15	0,6852	0,034089	0,008802	0,018878
382	15	0,692067	0,0294	0,007591	0,016281
383	13	0,655615	0,021073	0,005845	0,012735
385	14	0,673857	0,021129	0,005647	0,0122
386	14	0,655214	0,02231	0,005963	0,012881
391	15	0,681133	0,023006	0,00594	0,01274
392	15	0,673733	0,025166	0,006498	0,013937
397	15	0,629933	0,041291	0,010661	0,022866
399	13	0,655077	0,028733	0,007969	0,017363
40	15	0,659867	0,04741	0,012241	0,026255
409	15	0,6672	0,019072	0,004924	0,010562
41	15	0,6512	0,030003	0,007747	0,016615
42	15	0,6718	0,031537	0,008143	0,017465
427	15	0,687933	0,045167	0,011662	0,025013
437	15	0,660733	0,03107	0,008022	0,017206
439	15	0,6884	0,029004	0,007489	0,016062
441	15	0,672067	0,025681	0,006631	0,014221
443	15	0,6442	0,040855	0,010549	0,022625
45	15	0,634	0,02779	0,007175	0,01539
461	15	0,644733	0,041268	0,010655	0,022854
491	14	0,661929	0,028693	0,007669	0,016567
505	13	0,649308	0,033895	0,009401	0,020483
508	13	0,610154	0,02293	0,00636	0,013857
509	15	0,648067	0,034741	0,00897	0,019239
513	15	0,668733	0,024708	0,00638	0,013683
517	15	0,628067	0,034032	0,008787	0,018847
528	15	0,603267	0,061433	0,015862	0,034021
530	15	0,6574	0,028797	0,007435	0,015947
535	15	0,679933	0,024417	0,006305	0,013522
551	15	0,627467	0,022956	0,005927	0,012713
555	14	0,715429	0,017684	0,004726	0,01021
584	15	0,654267	0,042069	0,010862	0,023297
589	15	0,682667	0,015527	0,004009	0,008599
59	14	0,677714	0,033463	0,008943	0,019321
627	15	0,6024	0,046584	0,012028	0,025798
642	15	0,631	0,034368	0,008874	0,019032
646	15	0,628933	0,041861	0,010808	0,023182
705	15	0,709867	0,036144	0,009332	0,020016
707	15	0,642933	0,027613	0,00713	0,015292

716	15	0,6486	0,035554	0,00918	0,019689
721	12	0,701417	0,008918	0,002575	0,005666
73	13	0,693846	0,018027	0,005	0,010894
732	12	0,658083	0,027622	0,007974	0,01755
75	15	0,6502	0,029385	0,007587	0,016273
761	15	0,650267	0,024306	0,006276	0,01346
765	14	0,690071	0,022071	0,005899	0,012744
774	15	0,663667	0,030796	0,007951	0,017054
783	15	0,6844	0,040564	0,010473	0,022463
786	15	0,652067	0,01812	0,004679	0,010035
799	15	0,675733	0,041788	0,01079	0,023141
802	14	0,635071	0,041396	0,011063	0,023901
804	13	0,624154	0,013215	0,003665	0,007986
805	15	0,7042	0,025512	0,006587	0,014128
808	13	0,687923	0,024646	0,006835	0,014893
810	15	0,6308	0,028929	0,007469	0,01602
818	15	0,611	0,038111	0,00984	0,021105
819	15	0,648867	0,025931	0,006695	0,01436
820	14	0,680786	0,0209	0,005586	0,012067
822	15	0,633067	0,023822	0,006151	0,013192
843	15	0,679267	0,032947	0,008507	0,018245
850	15	0,681733	0,02204	0,005691	0,012206
852	15	0,686667	0,031724	0,008191	0,017568
853	14	0,632429	0,026416	0,00706	0,015252
855	15	0,648	0,033618	0,00868	0,018617
861	15	0,6736	0,033939	0,008763	0,018795
890	15	0,6444	0,024611	0,006354	0,013629
892	15	0,6962	0,049256	0,012718	0,027277
897	14	0,663786	0,018141	0,004848	0,010474
900	14	0,695429	0,030381	0,00812	0,017542
907	15	0,645533	0,027454	0,007088	0,015203
91	15	0,619467	0,042366	0,010939	0,023461
911	15	0,628867	0,040822	0,01054	0,022606
913	15	0,614733	0,041505	0,010716	0,022985
93	14	0,649214	0,016577	0,00443	0,009571

Ek-2 Mutant Soyu x DGRP Soyu yavru dölllerine ait femur uzunluğu özet istatistikleri

Ek-2.1 Birinci bacağı ait özet istatistikler

DGRP Soyu	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	15	0,5322	0,024777	0,006397	0,013721
105	14	0,528286	0,027438	0,007333	0,015842
129	14	0,575	0,012348	0,0033	0,007129
136	15	0,5696	0,017166	0,004432	0,009506
138	12	0,54775	0,008081	0,002333	0,005134
149	12	0,558	0,012045	0,003477	0,007653
153	14	0,565786	0,015851	0,004236	0,009152
158	12	0,5545	0,01737	0,005014	0,011037
161	14	0,536214	0,013273	0,003547	0,007664
176	15	0,547	0,026989	0,006969	0,014946
177	15	0,566	0,02251	0,005812	0,012466
181	15	0,513	0,019365	0,005	0,010724
189	14	0,537286	0,026531	0,007091	0,015319
195	15	0,570533	0,014885	0,003843	0,008243
208	14	0,545857	0,01419	0,003792	0,008193
21	15	0,521	0,029878	0,007715	0,016546
217	15	0,539533	0,019668	0,005078	0,010892
228	15	0,5104	0,026688	0,006891	0,014779
229	15	0,558	0,013175	0,003402	0,007296
235	15	0,548067	0,029958	0,007735	0,01659
256	14	0,529571	0,020459	0,005468	0,011813
26	15	0,545933	0,021688	0,0056	0,01201
280	13	0,565077	0,008921	0,002474	0,005391
287	15	0,529733	0,02694	0,006956	0,014919
303	15	0,528333	0,030512	0,007878	0,016897
304	15	0,560267	0,019532	0,005043	0,010816
307	15	0,518933	0,03063	0,007909	0,016962
31	15	0,5476	0,027941	0,007214	0,015473
310	15	0,561533	0,021223	0,00548	0,011753
315	15	0,5804	0,015315	0,003954	0,008481
318	14	0,5615	0,017395	0,004649	0,010043
319	15	0,536667	0,023787	0,006142	0,013173
32	14	0,575	0,012896	0,003447	0,007446
320	15	0,540533	0,0179	0,004622	0,009913
335	14	0,521286	0,016936	0,004526	0,009779
340	15	0,568733	0,041308	0,010666	0,022876
348	15	0,564867	0,026194	0,006763	0,014506
354	15	0,517933	0,040565	0,010474	0,022464
356	15	0,522733	0,026767	0,006911	0,014823
357	15	0,567133	0,013794	0,003562	0,007639

359	15	0,540733	0,036045	0,009307	0,019961
360	15	0,529733	0,038561	0,009956	0,021354
361	15	0,5592	0,016653	0,0043	0,009222
362	15	0,518	0,037285	0,009627	0,020648
365	15	0,528333	0,029949	0,007733	0,016585
367	15	0,546333	0,032717	0,008447	0,018118
371	15	0,526133	0,033532	0,008658	0,01857
379	15	0,561	0,028822	0,007442	0,015961
380	15	0,540467	0,014832	0,00383	0,008214
382	14	0,529	0,013237	0,003538	0,007643
383	13	0,478538	0,016771	0,004651	0,010135
385	12	0,559667	0,010003	0,002888	0,006356
386	15	0,5278	0,022619	0,00584	0,012526
391	14	0,550857	0,009122	0,002438	0,005267
392	14	0,564429	0,017814	0,004761	0,010286
397	15	0,57	0,022003	0,005681	0,012185
399	14	0,536786	0,020234	0,005408	0,011683
40	14	0,572143	0,015913	0,004253	0,009188
409	15	0,565267	0,016499	0,00426	0,009137
41	15	0,550733	0,02478	0,006398	0,013723
42	13	0,593308	0,025141	0,006973	0,015192
427	14	0,561786	0,022682	0,006062	0,013096
437	15	0,537867	0,032144	0,0083	0,017801
439	15	0,559933	0,022727	0,005868	0,012586
441	14	0,572	0,031705	0,008474	0,018306
443	14	0,517	0,021722	0,005805	0,012542
45	15	0,534333	0,012402	0,003202	0,006868
461	13	0,557154	0,019891	0,005517	0,01202
491	15	0,562333	0,027521	0,007106	0,01524
505	10	0,5377	0,023716	0,0075	0,016966
508	14	0,552786	0,017463	0,004667	0,010083
509	15	0,527533	0,036922	0,009533	0,020447
513	13	0,551462	0,01728	0,004793	0,010442
517	15	0,533867	0,025964	0,006704	0,014378
528	15	0,5096	0,026854	0,006934	0,014871
530	15	0,542667	0,027336	0,007058	0,015138
535	15	0,546133	0,020371	0,00526	0,011281
551	15	0,5504	0,020416	0,005271	0,011306
555	15	0,485733	0,051348	0,013258	0,028436
584	15	0,5514	0,014247	0,003679	0,00789
589	13	0,537769	0,020697	0,00574	0,012507
59	15	0,527133	0,021387	0,005522	0,011844
627	15	0,483867	0,039867	0,010294	0,022078
642	15	0,540267	0,027499	0,0071	0,015229
646	15	0,535267	0,030551	0,007888	0,016918

705	14	0,562857	0,019693	0,005263	0,011371
707	15	0,537067	0,031662	0,008175	0,017534
716	14	0,498429	0,028408	0,007592	0,016402
721	15	0,541	0,04221	0,010899	0,023375
73	15	0,5244	0,024477	0,00632	0,013555
732	15	0,558533	0,025258	0,006522	0,013988
75	12	0,563583	0,017053	0,004923	0,010835
761	14	0,549714	0,023863	0,006378	0,013778
765	15	0,5498	0,032729	0,008451	0,018125
774	15	0,541133	0,046094	0,011902	0,025526
783	15	0,535933	0,038983	0,010065	0,021588
786	15	0,550133	0,020357	0,005256	0,011273
799	15	0,507867	0,033588	0,008672	0,0186
802	12	0,535417	0,025532	0,007371	0,016222
804	14	0,549929	0,016675	0,004457	0,009628
805	15	0,575533	0,016953	0,004377	0,009388
808	15	0,5696	0,023049	0,005951	0,012764
810	15	0,557667	0,016902	0,004364	0,00936
818	14	0,521714	0,029697	0,007937	0,017147
819	15	0,572933	0,02194	0,005665	0,01215
820	15	0,545133	0,015747	0,004066	0,008721
822	15	0,549933	0,025603	0,006611	0,014178
843	15	0,498	0,025876	0,006681	0,01433
850	15	0,517267	0,028318	0,007312	0,015682
852	15	0,555	0,0362	0,009347	0,020047
853	15	0,525067	0,027374	0,007068	0,015159
855	13	0,543769	0,012451	0,003453	0,007524
861	15	0,522	0,044152	0,0114	0,024451
890	15	0,5448	0,026358	0,006806	0,014597
892	15	0,542533	0,027529	0,007108	0,015245
897	15	0,580067	0,021056	0,005437	0,01166
900	15	0,5524	0,030274	0,007817	0,016765
907	14	0,536929	0,015112	0,004039	0,008726
91	15	0,510467	0,058243	0,015038	0,032254
911	14	0,530857	0,042511	0,011362	0,024545
913	15	0,508	0,034639	0,008944	0,019182
93	15	0,5662	0,032241	0,008324	0,017854

Ek 2.2 İkinci bacağı ait özet istatistikler

DGRP Soyü	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	15	0,628467	0,032549	0,008404	0,018025
105	14	0,621429	0,030043	0,008029	0,017346
129	14	0,684857	0,012409	0,003316	0,007165
136	15	0,670867	0,017275	0,00446	0,009566
138	15	0,6492	0,027454	0,007089	0,015204
149	15	0,639067	0,03332	0,008603	0,018452
153	15	0,667333	0,030404	0,00785	0,016837
158	15	0,647267	0,037558	0,009698	0,020799
161	14	0,635643	0,013159	0,003517	0,007598
176	15	0,6496	0,034425	0,008889	0,019064
177	13	0,687	0,016078	0,004459	0,009716
181	15	0,603133	0,02154	0,005562	0,011929
189	15	0,627067	0,032239	0,008324	0,017853
195	14	0,677143	0,015835	0,004232	0,009143
208	15	0,634533	0,016703	0,004313	0,00925
21	15	0,615467	0,030624	0,007907	0,016959
217	15	0,629867	0,01369	0,003535	0,007581
228	15	0,603933	0,02349	0,006065	0,013008
229	14	0,681643	0,013018	0,003479	0,007517
235	10	0,6569	0,008736	0,002763	0,00625
256	14	0,624857	0,02139	0,005717	0,01235
26	11	0,668545	0,008067	0,002432	0,005419
280	15	0,695	0,015348	0,003963	0,0085
287	15	0,6268	0,028443	0,007344	0,015751
303	15	0,626267	0,038466	0,009932	0,021302
304	15	0,656133	0,018719	0,004833	0,010366
307	14	0,608714	0,029048	0,007763	0,016772
31	15	0,649267	0,031201	0,008056	0,017278
310	14	0,672071	0,014079	0,003763	0,008129
315	15	0,6858	0,017498	0,004518	0,00969
318	14	0,672143	0,020316	0,00543	0,01173
319	15	0,634133	0,030745	0,007938	0,017026
32	13	0,692692	0,011636	0,003227	0,007032
320	14	0,645571	0,021205	0,005667	0,012243
335	14	0,609357	0,02059	0,005503	0,011888
340	15	0,670933	0,046201	0,011929	0,025585
348	15	0,6682	0,034306	0,008858	0,018998
354	15	0,612533	0,048847	0,012612	0,02705
356	13	0,625308	0,022388	0,006209	0,013529
357	15	0,676533	0,016017	0,004136	0,00887
359	15	0,6422	0,040036	0,010337	0,022171
360	15	0,626067	0,045769	0,011817	0,025346

361	15	0,6616	0,023058	0,005954	0,012769
362	15	0,6188	0,04243	0,010955	0,023497
365	15	0,626333	0,030912	0,007981	0,017118
367	15	0,631867	0,03937	0,010165	0,021802
371	15	0,618667	0,043434	0,011215	0,024053
379	15	0,6606	0,0328	0,008469	0,018164
380	15	0,6374	0,014545	0,003755	0,008054
382	15	0,626467	0,020832	0,005379	0,011536
383	13	0,571846	0,025842	0,007167	0,015616
385	13	0,665846	0,015593	0,004325	0,009423
386	15	0,615	0,019982	0,005159	0,011066
391	15	0,642867	0,015811	0,004082	0,008756
392	14	0,664571	0,022114	0,00591	0,012768
397	14	0,680214	0,024407	0,006523	0,014092
399	15	0,643133	0,02952	0,007622	0,016347
40	14	0,684929	0,020623	0,005512	0,011907
409	15	0,6698	0,030625	0,007907	0,01696
41	15	0,662467	0,023727	0,006126	0,01314
42	12	0,708083	0,014438	0,004168	0,009173
427	14	0,670214	0,030682	0,0082	0,017716
437	15	0,6388	0,044235	0,011421	0,024497
439	15	0,665	0,025295	0,006531	0,014008
441	14	0,667786	0,036579	0,009776	0,02112
443	15	0,615933	0,034423	0,008888	0,019063
45	15	0,6348	0,016271	0,004201	0,009011
461	15	0,650067	0,035812	0,009247	0,019832
491	15	0,6672	0,029248	0,007552	0,016197
505	13	0,639231	0,027368	0,007591	0,016539
508	14	0,636929	0,019289	0,005155	0,011137
509	15	0,618	0,039785	0,010272	0,022032
513	13	0,660615	0,022355	0,0062	0,013509
517	15	0,629267	0,034263	0,008847	0,018974
528	15	0,611133	0,02477	0,006396	0,013717
530	15	0,641867	0,039858	0,010291	0,022073
535	15	0,637667	0,023005	0,00594	0,01274
551	15	0,648867	0,024833	0,006412	0,013752
555	15	0,571067	0,058061	0,014991	0,032153
584	15	0,6524	0,028745	0,007422	0,015918
589	12	0,632333	0,019009	0,005487	0,012078
59	15	0,628533	0,02554	0,006594	0,014143
627	15	0,5662	0,046137	0,011912	0,02555
642	15	0,635533	0,025576	0,006604	0,014163
646	15	0,629133	0,042823	0,011057	0,023715
705	14	0,662714	0,023782	0,006356	0,013732
707	15	0,635733	0,037557	0,009697	0,020798

716	14	0,596429	0,036407	0,00973	0,021021
721	15	0,6372	0,051757	0,013363	0,028662
73	15	0,619267	0,034219	0,008835	0,01895
732	15	0,667	0,024281	0,006269	0,013446
75	15	0,654067	0,042143	0,010881	0,023338
761	13	0,653769	0,013103	0,003634	0,007918
765	15	0,648467	0,040028	0,010335	0,022167
774	14	0,638071	0,037991	0,010153	0,021935
783	15	0,632867	0,04024	0,01039	0,022284
786	15	0,656733	0,025902	0,006688	0,014344
799	15	0,603667	0,036796	0,009501	0,020377
802	15	0,615	0,044507	0,011492	0,024647
804	14	0,656643	0,019743	0,005277	0,011399
805	14	0,698357	0,021678	0,005794	0,012517
808	15	0,676467	0,032366	0,008357	0,017924
810	15	0,665067	0,017194	0,00444	0,009522
818	13	0,631923	0,02994	0,008304	0,018093
819	15	0,672467	0,022866	0,005904	0,012663
820	15	0,642533	0,023597	0,006093	0,013068
822	14	0,660929	0,023404	0,006255	0,013513
843	15	0,5902	0,035722	0,009223	0,019782
850	15	0,612733	0,02986	0,00771	0,016536
852	15	0,663733	0,037082	0,009575	0,020535
853	15	0,610733	0,036621	0,009455	0,02028
855	13	0,642769	0,017987	0,004989	0,010869
861	15	0,623667	0,04446	0,011479	0,024621
890	15	0,643667	0,0375	0,009682	0,020767
892	15	0,6518	0,029005	0,007489	0,016063
897	15	0,688267	0,027624	0,007132	0,015297
900	15	0,652267	0,037604	0,009709	0,020824
907	15	0,627133	0,023955	0,006185	0,013266
91	15	0,6062	0,061267	0,015819	0,033928
911	14	0,639286	0,046448	0,012414	0,026818
913	15	0,6024	0,040755	0,010523	0,022569
93	15	0,6686	0,036394	0,009397	0,020154

Ek-2.3 Üçüncü bacak için özet istatistikler

DGRP Soyusu	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart hata	+,- Güven Aralığı(%95)
100	15	0,6546	0,03912	0,010101	0,021664
105	14	0,645571	0,035084	0,009377	0,020257
129	12	0,708167	0,007506	0,002167	0,004769
136	15	0,690933	0,016499	0,00426	0,009137
138	12	0,676083	0,014286	0,004124	0,009077
149	14	0,668786	0,028566	0,007635	0,016494
153	14	0,7055	0,029966	0,008009	0,017302
158	15	0,662867	0,031997	0,008262	0,01772
161	15	0,658933	0,020084	0,005186	0,011122
176	15	0,674267	0,03666	0,009465	0,020301
177	14	0,702214	0,024981	0,006676	0,014423
181	15	0,617733	0,022717	0,005866	0,01258
189	15	0,644133	0,034889	0,009008	0,019321
195	14	0,690643	0,022524	0,00602	0,013005
208	15	0,6652	0,025395	0,006557	0,014063
21	14	0,640286	0,029335	0,00784	0,016937
217	15	0,658467	0,020598	0,005318	0,011407
228	15	0,628533	0,029481	0,007612	0,016326
229	12	0,687	0,008045	0,002322	0,005112
235	15	0,679133	0,034353	0,00887	0,019024
256	14	0,643571	0,022363	0,005977	0,012912
26	14	0,687929	0,020193	0,005397	0,011659
280	15	0,711533	0,009078	0,002344	0,005027
287	15	0,637667	0,032697	0,008442	0,018107
303	15	0,641133	0,036451	0,009412	0,020186
304	15	0,6794	0,02431	0,006277	0,013462
307	14	0,625143	0,022491	0,006011	0,012986
31	15	0,666667	0,039262	0,010137	0,021743
310	15	0,6872	0,02286	0,005903	0,01266
315	15	0,708733	0,015021	0,003878	0,008318
318	13	0,682385	0,013351	0,003703	0,008068
319	15	0,6528	0,030672	0,007919	0,016985
32	15	0,7138	0,02286	0,005903	0,01266
320	15	0,654267	0,030897	0,007978	0,01711
335	14	0,624429	0,023313	0,006231	0,013461
340	15	0,695	0,047292	0,012211	0,02619
348	15	0,684667	0,040718	0,010513	0,022549
354	15	0,639733	0,042353	0,010936	0,023454
356	14	0,638	0,032232	0,008614	0,01861
357	14	0,690786	0,014482	0,00387	0,008361
359	15	0,659933	0,046044	0,011889	0,025498

360	15	0,6484	0,044622	0,011521	0,024711
361	15	0,677267	0,017742	0,004581	0,009825
362	15	0,638267	0,041294	0,010662	0,022868
365	15	0,645267	0,031217	0,00806	0,017287
367	15	0,657733	0,041608	0,010743	0,023042
371	15	0,644733	0,053759	0,013881	0,029771
379	15	0,695267	0,033255	0,008587	0,018416
380	15	0,657533	0,023991	0,006194	0,013286
382	15	0,6496	0,025182	0,006502	0,013945
383	12	0,582	0,012158	0,00351	0,007725
385	15	0,6786	0,029959	0,007735	0,016591
386	15	0,631	0,023498	0,006067	0,013013
391	15	0,668933	0,015276	0,003944	0,008459
392	15	0,6766	0,021964	0,005671	0,012163
397	15	0,691933	0,032378	0,00836	0,01793
399	15	0,669733	0,029023	0,007494	0,016073
40	14	0,72	0,019635	0,005248	0,011337
409	15	0,696667	0,033574	0,008669	0,018593
41	15	0,692067	0,030278	0,007818	0,016768
42	12	0,748417	0,019824	0,005723	0,012596
427	14	0,688214	0,033352	0,008914	0,019257
437	15	0,666067	0,041546	0,010727	0,023007
439	15	0,692067	0,026097	0,006738	0,014452
441	14	0,691786	0,040499	0,010824	0,023384
443	15	0,634667	0,030206	0,007799	0,016727
45	15	0,653467	0,01405	0,003628	0,007781
461	15	0,668867	0,041003	0,010587	0,022707
491	15	0,691867	0,023579	0,006088	0,013058
505	14	0,657643	0,027559	0,007365	0,015912
508	15	0,661333	0,023175	0,005984	0,012834
509	15	0,643733	0,037132	0,009587	0,020563
513	13	0,683692	0,020295	0,005629	0,012264
517	15	0,658267	0,036962	0,009544	0,020469
528	15	0,6318	0,027798	0,007177	0,015394
530	15	0,653067	0,038336	0,009898	0,02123
535	15	0,664067	0,01998	0,005159	0,011065
551	15	0,678267	0,025921	0,006693	0,014355
555	15	0,603533	0,06482	0,016737	0,035896
584	15	0,6664	0,024192	0,006246	0,013397
589	13	0,655154	0,027718	0,007688	0,01675
59	13	0,659923	0,015676	0,004348	0,009473
627	15	0,5992	0,04979	0,012856	0,027573
642	15	0,672267	0,031522	0,008139	0,017456
646	15	0,6464	0,044226	0,011419	0,024492
705	14	0,694286	0,031301	0,008366	0,018073

707	15	0,657933	0,040903	0,010561	0,022651
716	15	0,606267	0,035103	0,009064	0,019439
721	15	0,655467	0,055424	0,01431	0,030693
73	15	0,644533	0,034973	0,00903	0,019368
732	14	0,689786	0,025277	0,006756	0,014595
75	14	0,668357	0,036936	0,009871	0,021326
761	15	0,6704	0,02517	0,006499	0,013939
765	15	0,673467	0,044686	0,011538	0,024746
774	13	0,672308	0,033723	0,009353	0,020379
783	15	0,664733	0,047072	0,012154	0,026068
786	14	0,684214	0,019997	0,005344	0,011546
799	15	0,628933	0,03991	0,010305	0,022101
802	12	0,663917	0,013426	0,003876	0,008531
804	15	0,6762	0,028051	0,007243	0,015534
805	14	0,7275	0,017395	0,004649	0,010043
808	15	0,6996	0,025887	0,006684	0,014336
810	15	0,6838	0,019749	0,005099	0,010937
818	12	0,65375	0,021448	0,006192	0,013627
819	13	0,696231	0,014388	0,003991	0,008695
820	13	0,674077	0,013769	0,003819	0,00832
822	15	0,692067	0,0326	0,008417	0,018053
843	15	0,609667	0,0313	0,008082	0,017333
850	15	0,632667	0,03565	0,009205	0,019743
852	15	0,692933	0,043257	0,011169	0,023955
853	15	0,6366	0,03725	0,009618	0,020628
855	15	0,678733	0,031804	0,008212	0,017612
861	15	0,6406	0,045596	0,011773	0,02525
890	15	0,658933	0,035784	0,009239	0,019817
892	14	0,680786	0,029237	0,007814	0,016881
897	14	0,700714	0,017233	0,004606	0,00995
900	15	0,673933	0,037826	0,009767	0,020947
907	15	0,6544	0,025837	0,006671	0,014308
91	15	0,635733	0,070812	0,018284	0,039214
911	14	0,665786	0,04947	0,013221	0,028563
913	15	0,614867	0,041045	0,010598	0,02273
93	15	0,691467	0,039544	0,01021	0,021899

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Memet GÖZÜBÖYÜK

Doğum Yeri : Kulp, DİYARBAKIR

Medeni Hali : Bekar

E-posta : memetgozuboyuk@gmail.com

Adres : Osman Temiz mahallesi, 1029. sokak Dört Mevsim Apt. 14/1
Dikmen-Çankaya/ANKARA

Eğitim

Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
(2011-2015)

Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Genel Biyoloji Anabilim Dalı (2016-2019)

Doktora : -

Yabancı Dil Düzeyi

76,25 Yükseköğretim Kurumları Yabancı Dil (YÖKDİL) Sınavı (05.11.2017)

Deneyim Alanı

Hastalık Genetiği, Kantitatif Genetik, Gelişim Genetiği, *Drosophila melanogaster*
Genetiği, Populasyon Genetiği

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Gelişim genetiği ve biyolojisi açısından önemli olan *aristaless* ve *lim homeobox 1*
genlerine ait gen etkileşim ağlarının *Drosophila melanogaster* Genom Referans
Paneli soyları üzerinden epistatik genomik haritalama yöntemi ile saptanması (103945,19 TL)

Tezden Üretilmiş Yayınlar: -

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar:-



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 15/01/2019

Tez Başlığı / Konusu: Drosophila melanogaster'DE lim homeobox 1 GENİNİN FENOTİPİK İFADESİNİ ETKİLEYEN GENOMİK VARYANTLARIN SAPTANMASI

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 88 sayfalık kısmına ilişkin, 14/01/2019 tarihinde ~~şahsım~~/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 2 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

15/01/2019

Adı Soyadı: Memet GÖZÜBÖYÜK
Öğrenci No: N16122021
Anabilim Dalı: BİYOLOJİ
Programı: Tezli Yüksek Lisans
Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY