

***Drosophila melanogaster'* DE *PGRP-LF* GENİNİN
OTOİNFLAMASYON BAKIMINDAN ETKİLEŞTİĞİ DİĞER
GENLERİN GENOM ÇAPLI İLİŞKİLENDİRME MODELİYLE
SAPTANMASI**

**DETERMINING THE OTHER GENES INTERACTING WITH
THE AUTOINFLAMMATION RELATED *PGRP-LF* GENE OF
Drosophila melanogaster VIA GENOME WIDE
ASSOCIATION STUDY**

HAZAL ÇALIŞKAN

PROF. DR. ERGİ DENİZ ÖZSOY

Tez Danışmanı

**Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**

2019

Hazal alışkan'ın hazırladığı “*Drosophila melanogaster*'de PGRP-LF Geninin Otoinflamasyon Bakımından Etkileştiği Diğer Genlerin Genom aplı İlişkilendirme Modeliyle Saptanması” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Seza ÖZEN

Başkan



Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

Danışman



Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

Üye



Doç. Dr. Efe SEZGİN

Üye



Dr. Öğrt. Üyesi Çağatay TARHAN

Üye



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

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŐDERELİOĐLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Güzel dedem Osman İrdem'e,
Tıraş losyonunun kokusunu hiç unutmayacağım.

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.

...../...../.....

HAZAL ÇALIŞKAN

ETİK

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

- 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.

.../.../...



HAZAL ÇALIŞKAN

ÖZET

***DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE PGRP-LF GENİNİN OTOİNFLAMASYON BAKIMINDAN ETKİLEŞTİĞİ DİĞER GENLERİN GENOM ÇAPLI İLİŞKİLİNDİRME MODELİYLE SAPTANMASI**

Hazal ÇALIŞKAN

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez danışmanı: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

Ocak 2019, 108 sayfa

Otoinflamatuvar hastalıklar tekrarlayan inflamatuvar ataklarla karakterize edilen klinik durumların bir grubunu ifade etmektedir. Patogenetik bir bakış açısıyla spesifik bağışıklığın dahil olmadığı ve sadece doğal bağışıklığa ait düzenleyici mekanizmalardaki bozukluklarla tanımlanabilirler. Bağışıklık sisteminin kronik kontrolsüz aktivasyonu sebebiyle ortaya çıkarlar. Yaşlanma ve bağışıklık sistemi arasında, şimdiye kadar kesin bir şekilde aydınlatılmamış bir biyolojik ilişki vardır. Bağışıklık sistemindeki bozukluklarla ortaya çıkan belirtilerle, yaşlanma süreciyle birlikte gözlenen belirtiler oldukça benzerdir. Yaşlanma, bağışıklık fonksiyonunun bozulmasına katkıda bulunur ve organizmayı enfeksiyonlara yatkın hale getirir. Özellikle *Drosophila* bağışıklık sistemi, yaşlanmaya eşlik eden dejeneratif süreçlerden büyük ölçüde etkilenmektedir. Bağışıklık sistemi regülasyonunda meydana gelen bozuklukların yaşlanma sürecini hızlandırdığı düşünülmekle birlikte, mekanizmalar tam olarak bilinmediği için artan mortaliteyle ilişkili genler de bilinmemektedir. Bu mekanizmayı anlamak için, *PGRP-LF* geninin başka hangi genlerle etkileştiğini saptamak gerekir. Tez kapsamında *Drosophila*

melanogaster'de bağımsızlık sistemiyle ilgili yollarda görev alan *PGRP-LF* geni mutantının genom çaplı ilişkilendirme analizleri (GWAS) için kullanılmasıyla, bağımsızlık sisteminin genetik altyapısını ve yaşlanma ile olan ilişkisini aydınlatmak hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda deneylerde *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) soyları kullanılmıştır. CRISPR/CAS9 yöntemiyle oluşturulmuş *PGRP-LF* mutant soyu ve aynı genetik arka plana sahip kontrol soyu, DGRP soyları ile çaprazlanmıştır. Elde edilen F1 döller, tüm bireyler ölene kadar yaşlandırılmıştır. Yaşlanma deneyleri sonucunda elde edilen ömür uzunlukları verileriyle çok-yönlü varyans analizi (ANOVA) gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda *PGRP-LF* geninin susturulmuş mutant formunun, DGRP soyu boyunca istatistiksel açıdan ömür uzunluğunun önemli değişim gösterdiği saptanmıştır. ANOVA sonucunda anlamlı çıkan GENOTİPXSOY ve GENOTİPXSOYXEŞEY etkileşimleri çerçevesinde GWA analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen GWAS sonuçlarında her iki eşey bazında da (dişi,erkek) p değeri 10^{-5} ve daha küçük ($p < 10^{-5}$) olan genetik varyantlara odaklanılmıştır. Analiz sonucunda 52 SNP ile etkileşen genetik varyant elde edilmiştir. Bu genlerin gen ontoloji analizleri, biyolojik süreçlerdeki görevleri, moleküler fonksiyonları, insan ortologlarının ilişkilendirildiği hastalıklar ve özellikler çerçevesinde incelemesi yapılmıştır. Literatür taraması sonucunda elde edilen genlerin bağımsızlık sistemi ve yaşlanma ile ilgili olduğu görülmüştür. Bağımsızlık sistemi ve yaşlanma ile ilişkilendirilen genlerin yanı sıra birçok yeni aday gen elde edilmiştir. Sonuç olarak tezin amacı olan bağımsızlık sistemi ve yaşlanma ilişkisinin genetik altyapısına dair önemli bulgular elde edildiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bağımsızlık sistemi, *Drosophila*, Epistasi, Genom çaplı ilişkilendirme analizi (GWAS), Yaşlanma

ABSTRACT

DETERMINING THE OTHER GENES INTERACTING WITH THE AUTOINFLAMMATION RELATED PGRP-LF GENE OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* VIA GENOME WIDE ASSOCIATION STUDY

Hazal ÇALIŞKAN

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY

January 2019, 108 pages

Autoinflammatory diseases are a group of clinical conditions characterized by recurrent inflammatory attacks. From a pathogenetic point of view, specific immunity is not involved and can only be identified by disorders in the innate immune regulatory mechanisms. They occur due to chronic uncontrolled activation of the immune system. There is a biological relationship between aging and the immune system that has not yet been fully elucidated. However, as noted above, the symptoms observed with disorders in the immune system are quite similar to those observed with the aging process. Aging contributes to the deterioration of immune function and makes the organism susceptible to infections. In particular, the *Drosophila* immune system is greatly influenced by degenerative processes associated with aging. Although disorders occurring in the regulation of the immune system are thought to accelerate the aging process, the mechanisms associated with increased mortality are not known since the mechanisms are not fully understood. To understand this mechanism, it is necessary to determine which genes the gene interacts with. The aim of this thesis is to elucidate the genetic

infrastructure of the immune system and its relationship with aging by using the *PGRP-LF* gene mutant in the *Drosophila melanogaster* for pathways related to the genome-wide association (GWAS). For this purpose, *Drosophila* Genetic Reference Panel (DGRP) lines were used in the experiments. The control line with the *PGRP-LF* mutant line and the same genetic background was crossed with DGRP lines. The obtained F1 offspring was aged until all individuals died. Multivariate analysis of variance (ANOVA) was performed with the data obtained from the aging experiments. As a result of the analysis, it was determined that the silenced mutant form of the *PGRP-LF* gene showed a statistically significant change throughout the DGRP lines. GWA analyzes were performed within the framework of the Genotype X Line and Genotype X Line X Sex interactions that were significant after ANOVA. In the GWAS results, both sexes (female, male) were focused on genetic variants with p values of 10^{-5} and less ($p < 10^{-5}$). As a result of the analysis, a genetic variant was obtained which interacted with 52 SNPs. Gene ontology analysis of these genes, their functions in biological processes, molecular functions, diseases related to human orthologs and properties were examined. As a result of the literature search, the genes were found to be related to the immune system and aging. In addition to genes associated with the immune system and aging, many new candidate genes have been obtained. As a result, it is thought that important findings about the genetic infrastructure of the immune system and aging relationship, which is the aim of the thesis, are obtained.

Keywords: Immune system, *Drosophila*, Epistasis, Genome-wide association analysis (GWAS), Aging

TEŞEKKÜR

Lisans öğrenimimden bu yana bilimsel etik anlayışına hayran olduğum, gerek akademik bilgisi gerekse entelektüel birikimi ve deneyimleri ile büyük katkıda bulunan, desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY'a çok teşekkür ederim. Akademik kimliğine ve çalışma disiplinine hayran olduğum, hep merak ettiğim 'abim olsa nasıl olurdu' sorusuna cevap olan, hayatım boyunca kişiliğini örnek alacağım Dr. Murat YILMAZ'a tez çalışmamın her aşamasında verdiği değerli emekleri için çok teşekkür ederim.

Çalışmamıza olan desteklerinden ötürü Prof. Dr. Trudy MACKAY ve ekibine çok teşekkür ederim.

Güler yüzü ve nevi şahsına münhasır kişiliğini çok sevdiğim Serhat ERTUĞRUL'a çok teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan, yüzümü güldüren ve hayatı çekilir kılan canım arkadaşlarım Damla AYGÜN ve Müjgan Armağan KASAR'a verdikleri moral ve destekten ötürü çok teşekkür ederim. Üniversite hayatımın ilk gününden beri ruh ikizim dediğim, güzel arkadaşlığı ve bilimselliğin ötesinde bilim kurguya varan hayallerimiz için Duygu KARAÇAY'a çok teşekkür ederim. Bana, benden ve herkesten daha çok inanan ve bir gün Nobel Ödülü kazanacağına inandığım Özbeyen ATALAY'a çok teşekkür ederim.

Sayesinde sorumluluk sahibi ve abla olmayı öğrendiğim huysuz ve tatlı kedim Helga'ya çok teşekkür ederim. Son olarak; ne yaparsam yapayım arkamda duran, beni destekleyen, her seferinde kendi ayaklarımın üstünde hür bir birey olmamı öğütleyen, bana en büyük gücü veren annem ve babama, Nejla ÇALIŞKAN ve Sabri ÇALIŞKAN'a yetersiz kalacağını bilsem de milyonlarca kez teşekkür ederim. Minnettarım.

Hazal ÇALIŞKAN

Ocak 2019, Ankara

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Yaşlanmanın Tanımı ve Yaşlanmayla İlgili Teoriler.....	2
2.1.1. Yaşlanmanın Tanımı.....	2
2.1.2. Yaşlanmayla İlgili Teoriler.....	3
2.2. Bağışıklık Sisteminin Canlılar İçin Önemi.....	5
2.3. Otoinflamatuvar Hastalıklar.....	6
2.3.1. İnflamazomopatiler.....	6
2.3.2. Hücre İçi Stresin Neden Olduğu İnflamasyonla Seyreden Hastalıklar ...	7
2.3.3. Düzenleyici Mekanizmalardaki Bozukluk.....	7
2.3.4. NFκB Sinyal Yolağındaki Bozukluklar.....	8
2.3.5. İnterferonopatiler.....	8
2.4. Bir Model Organizma Olan <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Bağışıklık Sistemi .	9
2.4.1. <i>Drosophila</i> Bağışıklık Sistemi Mekanizmaları.....	10
2.4.2. <i>Drosophila</i> 'da <i>PGRP-LF</i> Geni.....	11
2.5. Bağışıklık Sistemi ve Yaşlanma İlişkisi.....	12
2.6. Genom Çaplı İlişkilendirme Çalışmaları ve Kayıp Kalıtsallık.....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Kullanılan Soylar.....	16
3.1.1. <i>PGRP-LF</i> Null Mutantı ve <i>w1118</i> Kontrol Soyu.....	16
3.1.2. <i>Drosophila</i> Genetik Referans Paneli (DGRP) Soyları.....	21
3.2. Deney Koşulları.....	21
3.2.1. Stokların Saklanma Koşulları.....	21
3.3. Deneyin Yapılışı.....	22
3.3.1. Deneysel Çaprazlar.....	22
3.3.2. Yaşlandırma Deneyleri.....	23
3.4. Verilerin Analizi.....	24
3.4.1. Çok Yönlü Varyans Analizi ve Gen-Gen Etkileşimi.....	24
3.4.2. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS).....	24

3.4.3. GWAS'tan Elde Edilen Sonuçlardan Oluşturulan Grafikler ve Çizelgeler	25
4. SONUÇLAR	26
4.1. Mutant (<i>PGRP-LF</i>) ve Kontrol (<i>w1118</i>) Stoklarının Ömür Uzunluğu Ölçümleri	26
4.2. Ömür Uzunluğu İçin Gerçekleştirilen GWAS Öncesi Varyans Analizi Sonuçları	27
4.3. Mutant <i>PGRP-LF</i> ve Kontrol <i>w1118</i> Soylarının DGRP Soyları ile Çaprazlarının Sonuçları	28
4.4. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizlerinin (GWAS) Sonuçları	44
4.4.1. Kromozomlara Göre SNP Bağlantı Dengesizliği, Q-Q Grafikleri ve Manhattan Grafikleri	44
4.4.2. GWAS Sonucunda Elde Edilen Aday Genler	48
4.4.3. Elde Edilen Genetik Varyantların Kromozomlardaki Dağılımı	50
4.4.4. Aday Genlerin Görev Aldığı Biyolojik Süreçler ve Moleküler Fonksiyonları	54
4.5. GWAS Sonucunda Elde Edilen Aday Genlerine Ait Gen Ontoloji Analizleri	59
4.6. Aday Genlerin <i>Homo sapiens</i> Ortologlarıyla İlgili Hastalıklar ve Özellikler	73
5. TARTIŞMA	83
KAYNAKLAR	90
ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİLLER

Şekil 3.1.1.1.	PGRP-LF geni için tasarlanmış gRNA opsiyonları.....	16
Şekil 3.1.1.2.	2 numaralı gRNA'lara ait CRISPR hedef dizisi (PAM), kesme bölgesi, primerler	17
Şekil 3.1.1.3.	3 numaralı gRNA'lara ait CRISPR hedef dizisi (PAM), kesme bölgesi, primerler	17
Şekil 3.1.1.4.	Plazmid donör PUC57-Kan vektör haritası	18
Şekil 3.1.1.5.	<i>PGRP-LF</i> null mutasyonu yaratılmasının ve RFP sokulmasının özet gösterimi.....	19
Şekil 3.1.1.6.	Validasyon aşamasında kullanılan primerler.	19
Şekil 3.1.1.7.	Validasyon aşamasında RFP'yi hedef alan PCR primerlerinin kullanım yönleri.	20
Şekil 3.1.1.8.	Validasyon aşamasında gerçekleştirilen PCR sonuçları.....	20
Şekil 3.3.1.1.	Kontrol ve <i>PGRP-LF</i> null mutant soylarının DGRP soylarıyla çaprazlanarak yavru döllerin elde edilmesini gösteren şema.	23
Şekil 4.1.1.	DGRP soylarıyla çaprazlanmamış mutant ve kontrol soylarının ömür uzunluklarına ait box plot.	26
Şekil 4.3.1.	Mutant ve kontrol soylarının DGRP'ye sokulmasıyla elde edilen erkek bireylerin ömür uzunluğu sonuçlarının error bar grafiği.....	40
Şekil 4.3.2.	Mutant ve kontrol soylarının DGRP'ye sokulmasıyla elde edilen dişi bireylerin ömür uzunluğu sonuçlarının error bar grafiği.....	41
Şekil 4.3.3.	Erkeklerde DGRP'ye sokulan mutant ve kontrol soylarına ait ömür uzunluğu farklarını gösteren grafik.....	42
Şekil 4.3.4.	Dişilerde DGRP'ye sokulan mutant ve kontrol soylarına ait ömür uzunluğu farklarını gösteren grafik.....	43
Şekil 4.4.1.1.	Kromozomlara göre SNP bağlantı dengesizliğini gösteren grafik.....	45
Şekil 4.4.1.2.	Dişi bireyler açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği	45
Şekil 4.4.1.3.	Erkek bireyler açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği.	46

Şekil 4.4.1.4.	Farklar açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği.....	46
Şekil 4.4.1.5.	Erkeklerde GWAS sonuçlarından elde edilen SNP'lerin kromozomlara dağılımı.....	47
Şekil 4.4.1.6.	Dişilerde GWAS sonuçlarından elde edilen SNP'lerin kromozomlara dağılımı.....	47
Şekil 4.4.3.1.	Drosophila'da bulunan genetik varyantların kromozom, gen tipi, ekzon sayısı dağılımı.....	52
Şekil 4.4.3.2.	İnsanda bulunan genetik varyantların kromozom, gen tipi, ekzon sayısı dağılımı.....	53
Şekil 4.4.4.1.	GWAS sonucunda elde edilen genetik varyantların moleküler fonksiyonlarını gösteren grafik.....	58
Şekil 4.4.4.2.	GWAS sonucunda elde edilen genetik varyantların görev aldığı biyolojik süreçler.....	59

ÇİZELGELER

Çizelge 4.2.1.	82 DGRP soyunun PGRP-LF ve w1118 mutantiyla gerçekleştirilen çaprazlarından elde edilen verilerin ANOVA sonuçları.....	27
Çizelge 4.3.1.	82 soyun erkek bireylerinin ömür uzunluğuna ait tanımsal istatistik veriler ve genotipler arasındaki ömür uzunluğu farkı	29
Çizelge 4.3.2.	82 soyun dişi bireylerinin ömür uzunluğuna ait tanımsal istatistik veriler ve genotipler arasındaki ömür uzunluğu farkı.	35
Çizelge 4.4.2.1	Yapılan GWA analizi sonucunda elde edilen genetik varyantların isimleri, FlyBase kimlikleri, SNP isabet noktaları ve eşey bazında p değerleri	48
Çizelge 4.4.4.1.	GWAS sonucunda elde edilen aday genlerin görev aldığı biyolojik süreçleri ve moleküler fonksiyonlarını gösteren çizelge.....	54
Çizelge 4.5.1.	GWAS sonucunda elde edilen <i>D. melanogaster</i> aday genlerinin gen kuvvetlendirme analizi sonucunda ortaya çıkan gen ontoloji yüksek seviye gruplandırılmalarına ilişkin çizelge.	60
Çizelge 4.5.2.	GWAS sonucunda elde edilen <i>H. sapiens</i> aday genlerinin gen kuvvetlendirme analizi sonucunda ortaya çıkan gen ontoloji yüksek seviye gruplandırılmalarına ilişkin çizelge	63
Çizelge 4.6.1.	Aday genlerin insan ortologları ve ilgili hastalıklar/özellikleri gösteren çizelge.....	73

1. GİRİŞ

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, bağışıklık sisteminin tüm yönlerini düzenlemektedir. Bu durum göz önüne alındığında, doğuştan gelen bağışıklık bileşenlerinin işlev bozukluğunun hastalıklara katkıda bulunabileceği düşünülebilir [1]. Bu hastalıkların başında otoinflatuar hastalıklar gelmektedir. Bağışıklık sisteminin işlev bozuklukları genetik olabileceği gibi organizma yaşlandıkça da ortaya çıkabilir. Yapılan birçok çalışmada yaş ilerledikçe bağışıklık sisteminin bozulduğu görülmüştür. Burada bir soruyu aydınlatmak gerekir. İlerleyen yaşın bağışıklık sistemi mekanizmalarını etkilediği gibi bozulan bağışıklık sistemi mekanizmaları da yaşlanma sürecini etkiler mi?

Tez kapsamında, otoinflatuar hastalıkların genetik alt yapısını, birbirleriyle etkileşim içinde olan genleri ve yaşlanma ile olan ilişkisini, yaygın bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* için geliştirilen bir genomik ilişkilendirme analizi yoluyla aydınlatmak hedeflenmiştir. *Drosophila melanogaster* genetik çalışmalarda en yaygın ve etkin kullanılan model organizmaların başında gelmektedir. Yapılan çalışmalar, böcek bağışıklık sisteminin omurgalı doğal bağışıklık sisteminin birçok özelliğini paylaştığını göstermektedir. Bu yüzden bağışıklık sisteminin doğasını ve yaşlanmayla olan ilişkisini anlayabilmek için *Drosophila* modelini kullanmak oldukça uygundur. Çünkü ömür uzunluğu fenotipini ölçmek için de kullanışlı bir modeldir. Bu amaç doğrultusunda kullanılacak olan genom çaplı ilişkilendirme (GWA) modelinin uygulanmasıyla, otoinflatasyonla ilişkili olduğu düşünülen çok sayıdaki ve çoğu yeni önerilecek aday genlerin, gen gen etkileşimi bağlamında saptanabilmesi beklenmektedir. Genlerin, kullanılan model organizma genomlarındaki çoklu-genli genetik katkıyı yansıtacak bir şekilde ortaya çıkarılmasıyla, otoinflatasyona ilişkin karmaşık genetik alt yapının ve yaşlanmayla ilişkisinin aydınlatılmasına büyük katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Tez kapsamında çalışılan *PGRP-LF* geninin ve saptanacak diğer aday genlerin insan ortologlarının yüksek ihtimal dahilinde olduğu düşünüldüğünde, elde edilecek sonuçların otoinflatuar hastalıkların temelini oluşturan genetik bileşenlerin ve bunların yaşlanma süreciyle bir arada oluşturdukları mekanizmalara ışık tutması beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yaşlanmanın Tanımı ve Yaşlanmayla İlgili Teoriler

2.1.1. Yaşlanmanın Tanımı

Yaşlanma organizma işlevlerinin tedrici kaybı ve çevreye uyumun azalması ile karakterize olan karmaşık ve evrensel bir süreçtir. Bu biyolojik süreç genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucunda gelişen dinamik bir süreçtir [2]. Uzun yıllardır üzerinde çalışılmasına rağmen yaşlanma ile ilişkili etkenleri ve bu etkenler arasında gerçekleşen etkileşimleri ortaya çıkarmak ne kadar zorsa, yaşlanmayı tanımlamak da bir o kadar zordur. Yaşlanmanın tüm organizmalar için evrensel olarak gözlenen bir fenomen olmasının yanı sıra özellikle insan yaşlanmasının ekonomik, toplumsal ve sağlık açısından önemli sonuçlarının olması, yaşlanma fenomeninin çok farklı bilim dalları ve bu bilim dallarının alt disiplinleri tarafından çalışılmasını teşvik etmiştir. Dolayısıyla yaşlanmaya ilişkin ortaya çıkan bu farklı yaklaşımlar aynı zamanda yaşlanma sürecinin de farklı şekillerde tanımlanmasına neden olmuştur.

Yaşlanmayla ilgili kullanılan en yaygın tanımlamalar genel hatlarıyla şöyle özetlenebilir;

Fizyolojik tanım: Yaşlanma, yaşla birlikte onarımdaki azalma ve düşüştür.

Aktüeryal tanım: Yaşlanma, yaşla birlikte mortalite oranının artmasıdır.

Evrimsel tanım: Yaşlanma, ilerleyen yaşla birlikte uyum becerilerinin azalmasıdır [3].

Tüm bu tanımlamalara rağmen yaşlanma en genel haliyle, ilerleyici fonksiyon bozukluğu olarak tanımlanır ve bu da çevresel etkilere karşı hassasiyet, artan hastalık ve ölüm riski ile sonuçlanır. Ayrıca genellikle doğurganlıkta bir düşüş eşlik eder [4]. Çok hücreli organizmalarda, genetik, çevresel ve stokastik (hayati moleküllerdeki rastgele hasarlar) etkiler arasındaki etkileşimlerin incelenmesi, yaşlanma sürecinin kapsamlı ve gerçekçi bir şekilde anlaşılmasını sağlayan bir yaklaşımdır . Yaşlanma ve ölüm arasındaki ilişki ayrıca incelenmesi gereken bir konudur. Yaşlanma süreci, organizmanın yaşamına devam ettiği sürece var olan ve ilerleyen bir süreçtir fakat ölüm, her yaşta ve her şekilde ortaya çıkabilecek bir durumdur. Yani ölüm, yaşlanmadan bağımsız şekilde tesadüfen de meydana

gelebilen bir olgudur. Bununla birlikte, yaşlanma, strese cevap verme kapasitesinin azalması, homeostatik dengesizlik ve hastalık insidansının artırması ile karakterize olduğundan, ölüm yaşlanmanın nihai sonucu olarak ortaya çıkmaktadır [5]. Ömür uzunluğu türden türe değiştiği gibi, birbirine çok yakın türler arasında da değişiklik gösterir. Bu durum laboratuvar koşullarında ve doğal ortamda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir ve ömür uzunluğu ortalamaları açısından türler arasında ve aynı türün popülasyonları arasında gözlenen farklılıklar ömür uzunluğunun genetik olarak düzenlendiğine ilişkin en önemli kanıtlardandır . Yaşlanma, tüm organizmalarda bir çok sistemin ve bu sistemler arası ilişkilerin dahil olduğu karmaşık olan bir süreçtir. Yaşlanma sürecinin tam olarak aydınlatılabilmesi bu karmaşık ilişkiler açısından dolayı sınırlıdır. Yaşlanma süreci hücreden hücreye, dokudan dokuya ve organizmadan organizmaya farklı şekilde işlediği için bu süreci açıklayacak birleştirici teoriler sunmak oldukça zordur [6]. Esasen yaşlanmanın canlılarda temel olarak 5 ortak özelliği vardır: Olgunlaşma sonrası yaşla birlikte artan mortalite, yaşlanan dokularda biyokimyasal kompozisyondaki değişiklikler, fizyolojik kapasitede ilerleyici azalma, çevresel uyaranlara karşı verilen tepkideki azalma, hastalığa karşı artan duyarlılık ve savunmasızlık [7].

2.1.2. Yaşlanmayla İlgili Teoriler

Bugüne kadar yaşlanma sürecini açıklamak üzere çok sayıda teori geliştirilmiştir. Bu teorilerden iki tanesi yaşlanma sürecine dair evrimsel açıklamalar getiren teorileridir. Yaşlanma sürecini açıklamak için ortaya sürülen evrimsel teoriler açısından önemli nokta doğal seçilimin gücünün artan yaşla birlikte azalmasıdır. Bu teorilerden birincisi mutasyon birikimi teorisidir. Mutasyon birikimi teorisi, yaşla birlikte doğal seçilimin etkisinin azalması sebebiyle, zararlı etkileri ileri yaşlarda ortaya çıkan mutasyonların popülasyonda birikeceği düşüncesidir. Organizma yaşlandıkça doğal seçilim azalacağından dolayı geç yaşlarda zararlı etkileri ortaya çıkan mutasyonların popülasyonda alel frekansı artar. Populasyonda bulunan bu gibi mutasyonlar da artan yaşla birlikte fizyolojik gerilemelere ve artan mortalite riskine yol açar [8]. Organizmada erken yaşta zararlı etkileri olan bir mutasyon aynı zamanda tüm üreme periyodunu etkileyeceğinden dolayı bu mutasyon üzerine

işleyen seçilim baskısı daha güçlü olacaktır ve bu gibi zararlı etkileri olan mutasyonların alel frekansları popülasyonda düşük seviyede kalacaktır.

Yaşlanmanın antagonistik pleiotropi teorisi ise, erken yaşta faydalı etkileri olan genlerin ilerleyen yaşlarda zararlı etkilerinin olduğunu savunmaktadır. Evrim, öncelikle bir bireyde üreme gücünü en üst düzeye çıkarmak için hareket ettiğinden, erken yaşta (etkin üreme döneminde) faydalı olan genler pozitif seçilime maruz kalacaklardır [9]. Yaşlanmanın doğal seçilim gücünün azalmasından kaynaklanabileceği düşüncesi, güçlü deneysel desteklere sahiptir [10]. Uzun ömürlü *Drosophila* yavru döllерinin seçilmesiyle, sonraki kuşaklardaki bireylerin de uzun ömürlü olması sağlanabilir. Bu da ömür uzunluğunun seçilim baskısıyla değişebileceğini gösterir ve yaşlanmanın genetik olarak düzenlendiğine dair kuvvetli bir kanıttır [11].

Mitokondriyal teori, moleküler stres ile yaşlanma arasındaki önemli bağlantılara işaret eder. Yaşla birlikte mitokondriyal DNA (mtDNA) mutasyonlarının birikmesi ile ortaya çıktığını savunur. mtDNA mutasyonunun yüksek seviyeye ulaştığı hücrelerin, bozulmuş ATP üretimine sahip olması muhtemeldir, bu da doku yaşlanmasına sebep olur [12].

Yaşlanma mekanizmasıyla ilgili ortaya atılan bir diğer teori de serbest radikal teorisidir. En iyi bilinen teorilerden biridir ancak hala tartışmalı bir konudur. Yaşlanmanın Serbest Radikal Teorisi ilk olarak 1956'da önerilmiştir [13]. Denham Harman aerobik solunum sırasında oluşan serbest radikallerin kümülatif oksidatif hasara neden olduğunu ve yaşlanmaya sonrasında da ölüme neden olduğunu ileri sürmüştür [14]. Bu teoriye göre, metabolizma hızı arttıkça serbest radikal miktarı da artar. Böylece organizmanın yaşlanması hızlanır.

Yaşlanmayla ilgili bunların yanı sıra daha birçok teori vardır. Fakat yaşlanma ırasının doğası gereği barındırdığı karmaşıklık ve çok sayıda sistem arası ilişkiler dolayısıyla hiçbir teori tek başına yaşlanmanın karmaşık doğasını tam olarak açıklayamamaktadır.

2.2. Bağışıklık Sisteminin Canlılar İçin Önemi

Patojen mikroorganizmalar, tüm canlılara karşı sürekli bir tehdit oluşturur. Bu yüzden canlılar yaşamları boyunca kendilerini patojenlere karşı korumak zorunda kalmışlardır [15]. Patojen mikroorganizmalara karşı koymak için güçlü mekanizmaların geliştirilmesi, çeşitli hayvan filumlarının milyarlarca yıl boyunca evrimi için ön koşul olmuştur. Bu mekanizmaların başında bağışıklık sistemi yer alır. Bağışıklık sistemi, patojenlerin uyguladığı güçlü bir seçim baskısı altında evrimleşmiştir. Sonuç olarak, tüm çok hücreli organizmalar, patojenleri tanıyabilme ve onları kendilerine zarar vermeden etkin bir şekilde ortadan kaldırma yeteneğini geliştirmiştir [16]. Omurgalılarda patojenlere karşı yapılan savunma iki sistemle sağlanır: Doğuştan gelen bağışıklık sistemi ve edinilmiş bağışıklık sistemi. Edinilmiş bağışıklık tepkisi maksimum etkiyi geliştirmek için günler veya haftalar alırken, doğuştan gelen bağışıklık tepkisi anlıktır [17]. Edinilmiş bağışıklık, konakçının karşılaşılabileceği herhangi bir patojeni tanıyabilen bir dizi rekombinant reseptör - immünoglobulinler ve T-hücresi reseptörleri - eksprese etmek üzere evrimleşen lenfositler tarafından yönlendirilir [18]. “Doğuştan”, “doğal” veya “nonspesifik” bağışıklık terimleri, enfeksiyona veya yaralanmaya karşı ilk savunma hatları sağlayan fiziksel, hücresel veya moleküler özelliklerin çeşitliliğine işaret eder. Doğuştan gelen bağışıklık tüm yaşam formlarında mevcuttur [19]. Bu durum, evrimsel süreçte doğuştan gelen bağışıklık sistemini oldukça güçlü kılmıştır. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin, bağışıklık sisteminin tüm yönlerini düzenlemedeki temel rolü göz önüne alındığında, doğuştan gelen bağışıklık bileşenlerinin işlev bozukluğunun hastalıklara katkıda bulunabileceği düşünülebilir [1]. Bağışıklık sistemiyle ilişkili genlerde meydana gelen başlıca iki tip mutasyon, bağışıklıkla ilgili anormalliklere yol açabilir, bunlar; bağışıklık sistemi moleküllerini inaktive eden mutasyonlar ve sürekli aktif kalmalarına sebep olan mutasyonlar. İlk mutasyon tipinin çeşitli şekillerde bağışıklık sistemi yetmezliğine neden olması beklenirken, ikinci tip mutasyon, inflamatuvar reaksiyonları tetikleyecektir [20]. İkinci tip mutasyonların sebep olduğu inflamatuvar problemlerin başında otoinflamatuvar hastalıklar gelmektedir.

2.3. Otoinflamatuvar Hastalıklar

Otoinflamatuvar hastalıklar tekrarlayan inflamatuvar ataklarla karakterize edilen klinik durumların bir grubunu ifade etmektedir. Patogenetik bir bakış açısıyla spesifik bağışıklığın (oto reaktif T hücreleri ve oto antikorlar) dahil olmadığı ve sadece doğal bağışıklığa ait düzenleyici mekanizmalardaki bozukluklarla tanımlanabilirler. Sistemik otoinflamatuvar hastalıklar (OİH) doğal bağışıklık sisteminin anormal aktivasyonu ile seyreden, genellikle periyodik veya kronik inflamasyonla giden bir grup hastalıktır [21]. OİH otoimmün hastalıklar gibi otoantikorlar veya antijen-spesifik T hücreleri ile ilişkili değildir. Bu hastalıklar genellikle nedensiz ateş ve inflamasyon atakları ile seyrederler de patogeneplerinde farklı mekanizmalar rol oynayabilmektedir. Aşağıda, sık görülen otoinflamatuvar hastalıklardan bazıları açıklanmıştır.

2.3.1. İnflamazomopatiler

OİH içinde en sık görüleni ailevi Akdeniz ateşidir (AAA). AAA kendini sınırlayan, tekrarlayan ateş ve serozit atakları ile karakterize otozomal resesif geçişli otoinflamatuvar bir sendromdur [22, 23]. AAA, 16. kromozomun kısa kolunda yer alan *MEFV* (*MEditerranean FeVer*) genindeki mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır [24]. *MEFV* geni "pyrin" isimli molekülü kodlamaktadır. Pyrin, hücre içinde aktif interlökin 1 β (IL1 β) üretimini sağlayan inflamazom kompleksinin bir parçasıdır [25]. Pyrinin mutant formları, kontrolsüz IL1 β üretilmesine ve artmış inflamatuvar cevaba neden olur [26]. Tıpkı AAA gibi inflamazomu aktive ederek IL1 β üretilmesine neden olan başka otoinflamatuvar hastalıklar da vardır. inflamazomopatiler olarak adlandırılan bu grupta kriyopyrin-ilişkili periyodik sendrom (*cryopyrin-associated periodic syndrome* [CAPS]), piyojenik artrit, piyoderma gangrenozum ve akne (PAPA) sendromu ve *NLRP4*-ilişkili inflamatuvar hastalık yer almaktadır [27, 28]. CAPS, kriyopyrini kodlayan *NLRP3* genindeki mutasyonların neden olduğu bir hastalıklar grubudur [29]. CAPS, kromozom 1q44'te lokalize *NLRP3* genindeki dominant kayıp mutasyonlar ile ilişkilidir [30]. *NLRP3* geni kriyopyrini kodlar. Kriyopyrin, *NLRP3* inflamazomunun anahtar molekülüdür [31]. İnflamazom, IL 1 β ve IL 18 aktivasyonunu sağlayan bir komplekstir. Kriyopyrin kaspaz 1'i aktive eder ve aktif kaspaz 1 de pro-IL 1'i aktif form olan IL 1 β 'ya dönüştürür [32]. CAPS'ın üç klinik

varyantı mevcuttur: ailesel soğuk ilişkili otoinflamatuvar sendrom (FCAS, *familial cold associated autoinflammatory syndrome*), Muckle Wells sendromu (MWS) ve neonatal başlangıçlı multisistem otoinflamatuvar hastalık (*neonatal onset multisystem inflammatory disease* [NOMID]) veya diğer adıyla kronik infantil nörokütanöz sendrom (*chronic infantile neurologic cutaneous syndrome* [CINCA]) [33]. PAPA sendromu ve *NLRP4*-ilişkili inflamatuvar hastalık ise oldukça nadir görülen hastalıklardır.

2.3.2. Hücre İçi Stresin Neden Olduğu İnflamasyonla Seyreden Hastalıklar

Bu grup hastalıklar içinde en iyi bilineni TNF (*tumor necrosis factor*) reseptör ilişkiliperiyodik sendromudur (TRAPS). TRAPS, uzamış ateş, karın ağrısı, miyalji, artralji, serozit, periorbital ödem ve döküntü ile karakterize otozomal dominant bir OİH'dir [34]. Hastalığa, kromozom 12p13'te yer alan ve tip 1 TNF reseptörünü kodlayan *TNFRSF1A* genindeki heterozigot mutasyonlar neden olur [34, 35]. TNF reseptör aktivasyonundan sonra, normalde reseptörün hücre dışında kalan kısmı metalloproteazlar tarafından kesilerek hücre dışı kompartmana atılır [36]. Mutant TNFR1'in hücre yüzeyine ulaşamadığı ve TNF-ilişki sinyal yolağında rol alamadığı gösterilmiştir. Yüzeğe ulaşamayan TNFR1, endoplazmik retikulumda (ER) birikir ve ER stresine yol açarak hücre içi inflamasyon cevabını tetikler [35, 37]. Mevalonat kinaz eksikliği ise (*mevalonate kinase deficiency* [MKD]), *MVK* genindeki mutasyonların yol açtığı otozomal resesif, otoinflamatuvar bir hastalıktır [38]. MKD, kromozom 12q24'te lokalize olan *MVK* genindeki genellikle yanlış anlamlı (*missense*) tipte mutasyonların neden olduğu otozomal resesif bir hastalıktır [39]. *MVK* kolesterol biyosentezinde yer alan izoprenoid yolakta görevli bir enzimdir [40]. Azalmış nonsterol izoprenoid son ürünlerinin ER stresine yol açtığı ve kaspaz aracılı aktif IL 1 β üretimini artırdığı savunulmaktadır [27].

2.3.3. Düzenleyici Mekanizmalardaki Bozukluk

Bu grupta Majeed sendromu, IL 36 reseptör antagonisti eksikliği (*deficiency of IL 36 receptor antagonist* [DITRA]), IL 1 reseptör antagonisti eksikliği (*deficiency of IL 1 receptor antagonist* [DIRA]) ve erken başlangıçlı kolit yer almaktadır [27]. Majeed

sendromu, kronik tekrarlayan multifokal osteomyelitin (*chronic recurrent multifocal osteomyelitis* [CRMO]) otozomal resesif geçişli olan formudur. Fosfatidat fosfataz enzimini kodlayan *LPIN2* geninde olan homozigot mutasyonlar sonucu oluşur [41]. DITRA IL 36 sinyal yolağını inhibe eden IL 36 reseptör antagonistini kodlayan *IL36RN* genindeki mutasyon sonucu oluşmaktadır. DIRA ise, artmış IL 1 aktivitesiyle ilişkili otozomal resesif bir hastalıktır [42]. *IL1RN* genindeki mutasyonlar, normalden kısa bir protein sentezlenmesine neden olurlar ve bu protein salgılanamadığından IL 1 reseptör antagonistliği yapamaz. Bu durum da IL 1 β cevabının artmasına neden olur [42]. Erken başlangıçlı kolitte ise antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10'da fonksiyon kaybı oluşturan bir mutasyon oluşur.

2.3.4. NF κ B Sinyal Yolağındaki Bozukluklar

Bu grupta ise erken başlangıçlı sarkoidoz kliniği ile giden ve NLR (*nod like receptor*) protein ailesinden NOD2'yi kodlayan gende oluşan mutasyonlar sonucunda oluşan Blau sendromu ile *CARD14* genindeki fonksiyon kazanım mutasyonları sonucu oluşan *CARD14* aracılı psöriyazis (CAMPS) vardır [27]. Bu mutasyon sonucu NF- κ B sinyal üretiminde artış meydana gelmektedir.

2.3.5. İnterferonopatiler

CANDLE sendromu (*Chronic Atypical Neutrophilic Dermatositis with Lipodystrophy and Elevated Temperature*), SAVİ sendromu (*STING-associated vasculopathy with onset in infancy*), Aicardi-Goutieres Sendromu bu grubun en iyi bilinen hastalıkları olup bu grup hastada artmış interferon ekspresyonu mevcuttur [27].

Otoinflamatuvar hastalıkların patogenezinin anlaşılması, geçtiğimiz on yılda genom araştırma ve teknolojisindeki gelişmeler nedeniyle hızla artmıştır. Bulgular, bu hastalıkların başlangıçta düşünülenden daha heterojen olduğunu göstermekte ve bu da, bugüne kadar bildirilenlerden çok daha fazla hastalık bağlantılı genle ilişkili olduklarını düşündürür niteliktedir. Genom çaplı ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), otoinflamatuvar hastalıkların moleküler temelini aydınlatmaya başlamıştır. Yeni nesil dizileme, GWAS ve biyoinformatik gibi araçlar, genomik çalışmalarında hastalık riskiyle ilişkilendirilebilecek birçok genetik varyantın belirlenmesine olanak sağlar.

Fakat burada ortaya çıkan en büyük zorluk, bu çalışmaların klinik uygulamalarıdır. Doğru yorumlamalar yapabilmek için büyük ölçekli ve yüksek kaliteli fenotipik veri gerekmektedir. Tüm bu sebepler doğrultusunda, çalışmalar hayvan modelleri üzerinde yoğunlaşmıştır [47]. Bu aşamada *Drosophila melanogaster*, genom çaplı ilişkilendirme analizlerinde kullanılabilir en uygun model organizmalardan bir tanesidir.

2.4. Bir Model Organizma Olan *Drosophila melanogaster*'in Bağışıklık Sistemi

45.000'den fazla omurgalı türü, hem doğuştan hem de edinilmiş bağışıklık sistemiyle kendisini korurken yaklaşık beş ila on milyon metazoan türü, patojenlerle sadece doğuştan gelen bağışıklık sistemi sayesinde baş eder [18]. Bunlardan biri de bir model organizma olan *Drosophila melanogaster*'dir. *Drosophila*, immun sistem üzerine yapılan çok sayıda çalışmanın odağında yer almaktadır ve metazoanlar arasında en iyi şekilde karakterize edilmiş olanlarından biridir. *Drosophila*'nın adaptif immun reaksiyonlardan yoksun olduğu bilinmekle birlikte, *Drosophila* konak savunması doğal immun sistem çalışmaları için önemli bir model olarak ortaya çıkmaktadır. Bu türün verdiği antimikrobiyal cevap diğer metazonlarda olduğu gibi hem hücresel hem de humoral cevapları içermektedir [48]. Hücresel savunma güçlü fagositik aktivite gösteren plazmatositler tarafından gerçekleştirilirken, humoral cevap ise *Drosophila* yağ cisimciğindeki (insan karaciğer benzeri görev yapar) antimikrobiyal peptid genlerinin mikrobiyal etkiye karşı uyarılmaları ve bunu takiben bu peptidlerin hemolimfe (kan) salgılanmalarıyla sağlanır. *Drosophila*'nın savunma mekanizmalarından biri de epitelyumdur. Epitelyum patojenleri caydırır ve ilk savunma hattı olarak hareket eder. Primer epitelyal bariyer zarar gördüğünde, enfekte olmuş *Drosophila* patojenleri yakalayan ve aynı zamanda hemolimf kaybını sınırlayan bir pıhtı şeklinde ikinci bir bariyer oluşturur [49].

2.4.1. *Drosophila* Bağışıklık Sistemi Mekanizmaları

Drosophila'da konak savunması temel olarak iki yolak üzerinden sağlanmaktadır: Toll yolağı ve Imd yolağı. Toll yolağı daha çok gram-pozitif bakteri ve mantarlara karşı oluşturulan cevapta rol oynarken, Imd yolağı gram-negatif bakterilere verilen cevapta rol oynar [50]. Bununla birlikte, Toll yolağı sınırlı sayıda immun cevap geninin ifadesini kontrol etmektedir. Imd yolağı ise antimikrobiyal peptidlerin büyük kısmının ifadesini kontrolden sorumludur ve normal bağışıklığın devamı için vazgeçilmez öneme sahiptir [51]. Genel olarak, NF-κB (Toll ve Imd) yolaklarının spesifik bileşenlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlara sahip sinekler, bakteriyel veya fungal enfeksiyonlara karşı savunmasız kalırlar [19]. Mikrobiyal tanıma Imd sinyal yolağı aracılığıyla immun cevabı başlatmanın ilk basamağıdır. Patojenlerin tanınması için doğal bağışıklık sistemi, patojenlerde bulunan ve konakta bulunmayan korunmuş yapıları tanıyan spesifik molekülleri kullanır. Peptidoglikan, bakteriler arasında çeşitlilik göstermekle birlikte çoğu bakteride bulunan evrimsel olarak korunmuş yapılara ait en iyi bilinen örnektir. Peptidoglikanlar, peptidoglikan tanıma proteini (PGRP) olarak adlandırılan evrimsel olarak korunmuş konak proteinleri aracılığıyla tanınır ve bağlanırlar. Memelilerde dört PGRP gen ailesi bulunurken *Drosophila*'da 19 proteini kodlayan 13 gen bulunmaktadır [52]. Memeli PGRP'lerinin daha az sayıda olmasının sebeplerinden biri de evrimsel süreç içerisinde daha farklı örüntü tanıma reseptörlerine (pattern recognition receptors- PRR) dönüşmüş olmalarıdır; bunların içinde Toll-benzeri reseptörler, NOD-benzeri reseptörler, C-tipi lektin reseptörleri, RIG-I-benzeri reseptörler bulunmaktadır [53]. Memeli PGRP'leri hücre dışı ortama salgılanan ve bakteriyel muramil peptidlerini tanıyan proteinlerdir. Bazı memeli PGRP'lerinin muhtemelen proinflamatuvar peptidoglikanı elimine etmek için kullandıkları amidaz aktivitesi varken diğer memeli PGRP'ler evrimsel olarak böcek genlerinden oldukça uzaklaşarak daha çok bakterisidal protein işlevi görmektedir [54, 55]. Buradan öyle anlaşılıyor ki memeli PGRP'leri sinyal aktivitesi göstermemektedir. Böcek PGRP'leri ise hem peptidoglikanı degrade eden amidaz olarak hem de sinyal-iletim yolaklarıyla birlikte proteolitik kaskadların aktivasyonunda görev almaktadır. Böcek PGRP'leri transkript büyüklüklerine göre kısa(short-S) ve uzun(long-L) olarak sınıflandırılırlar; kısa PGRP'lerde sinyal peptidi bulunur ve hücre dışı proteinler olarak rol alırken uzun PGRP'ler hücre içi, hücre dışı ve transmembran proteini olarak rol alırlar [56,

57]. Kısa PGRP'lerden *PGRP-SA* Gram-pozitif bakterilere cevap olarak yağ cisimciğinde (fat body) Toll yolağını aktive etmek için gerekli olan bir protein olarak tanımlanmıştır [58]. *PGRP-SA* hemolenf dolaşımında bulunur ve bir başka kısa PGRP olan *PGRP-SD* ile bağlanma proteiniyle (GNBP) koopere bir şekilde Toll yolağını aktive eder [56, 59, 60]. *PGRP-SA* ve *PGRP-SD* gram-negatif bakterilerin tanınmasında ve imd yolağının aktive edilmesinde rol oynamazlar. Gram-negatif bakterileri tanımada ve imd yolağını aktive etmede görev alanlar diğer PGRP ailesi üyeleridir; *PGRP-LC* ve *PGRP-LE*. *PGRP-LC* hücre dışı PGRP domaini ile peptidoglikana bağlanan bir transmembran proteindir ve gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı imd yolağının uyarılması için gerekli olan hücre içi bir domain aracılığıyla Imd yolağıyla etkileşir [61, 62]. *PGRP-LE* sinyal peptidinden yoksun bir PGRP'dir ve hem hemolenfde hem de immun-ilişkili hücrelerin sitoplazmasında tespit edilmiştir. *PGRP-LE* diaminopimelik asit tipi peptidoglikana bağlanır ve Imd yolağını iki farklı yolla aktive eder; hücre dışı *PGRP-LE* *PGRP-LC* ile transmembran reseptörüyle bir kompleks oluşturmak suretiyle, en azından yağ cisimciğinde, Imd yolağını aktive eder ya da hücre içi *PGRP-LE* *PGRP-LC*'nin N-terminal bölgesi aracılığıyla IMD yolağıyla etkileşime girerek bu yolağı aktive eder [63-65].

2.4.2. *Drosophila*'da *PGRP-LF* Geni

Yukarıda da bahsedildiği gibi PGRP'ler çok büyük bir protein grubudur ve amidaz aktivitesi, peptidoglikan tanıma, molekül tutucu (scavenger), fagositozun gerçekleşmesi için opsonizasyon ve bakterisidal etki gibi bağışıklık sisteminin düzgün bir şekilde işlemesi için gerekli olan bir çok görevleri vardır [66-68]. Bu görevlerinin yanı sıra PGRP ailesi üyeleri için yeni bir işlev daha önerilmiştir: bağışıklık sisteminin regülasyonu. Bağışıklık sisteminin normal işleyişini devam ettirmesinde önemli rol alan proteinlerden bir tanesi de tez kapsamında kullanılmak üzere seçilen *PGRP-LF* genidir. 3. kromozomun sol kolunda bulunur [<http://flybase.org/reports/FBgn0035977>]. *PGRP-LF*, enfeksiyon yokluğunda hem JNK hem de IMD yolağının sürekli aktif kalmasını engellemektedir. *PGRP-LF* membrana bağlıdır ve iki adet PGRP domaini içermektedir: z ve w domainleri. z domaini birkaç peptidoglikana birden afiniteye sahiptir fakat w domaini sadece *E. coli*'ye ait peptidoglikanı tanır [69]. *PGRP-LF* IMD yolağının negatif düzenleyicisi

olarak rol almaktadır. *PGRP-LF* eksikliği, aşırı antimikrobiyal peptit sentezine ve gelişimsel bozukluklara neden olan, kontrolsüz bağışıklık cevabıyla sonuçlanır [70]. *PGRP-LF* seviyelerinin in vivo azaltılmasının IMD yolağının enfeksiyondan bağımsız bir şekilde aktive olmasına neden olduğu gösterilmiştir [66]. IMD yolağının aşırı aktivasyonu hücre ölümünü hızlandırmakta ve bağışıklık cevabının kendisi organizma için zararlı olmaktadır [66, 71]. Memelilerde kronik bağışıklık sistemi aktivasyonu ömür uzunluğunu azaltmaktadır. Bu bilgiler ışığında *PGRP-LF*'in *Drosophila*'da bağışıklık sistemini düzenliği açıkça görülmektedir. *PGRP-LF*'in 4 insan ortoloğu bulunmaktadır. Bunlar, *PGLYRP-1*, *PGLYRP-2*, *PGLYRP-3* ve *PGLYRP-4*'tür. *Drosophila*'daki *PGRP-LF*'te olduğu gibi insanda eksprese edilen *PGLYRP-3* ve *PGLYRP-4*'te de peptidoglikanı bağlamada yüksek kapasiteye sahip 2 domain bulunmaktadır. Bu sebeple bu proteinlerin işlev kaybının, insanda da benzer şekilde bağışıklık sistemiyle ilgili patolojik sorunlara sebep olabileceği düşünülmektedir [70]. Tez kapsamında yapılan bu çalışma, tüm bu açıklığa kavuşmamış problemleri aydınlatmak için bir basamak oluşturmaktadır.

2.5. Bağışıklık Sistemi ve Yaşlanma İlişkisi

Yaşlanma ve bağışıklık sistemi arasında, şimdiye kadar kesin bir şekilde aydınlatılmamış bir biyolojik ilişki vardır. Fakat yukarıda belirtildiği üzere bağışıklık sistemindeki bozukluklarla ortaya çıkan belirtilerle, yaşlanma süreciyle birlikte gözlenen belirtiler oldukça benzerdir. Yaşlanma, bağışıklık fonksiyonunun bozulmasına katkıda bulunur ve organizmayı enfeksiyonlara yatkın hale getirir. Özellikle *Drosophila* bağışıklık sistemi, yaşlanmaya eşlik eden dejeneratif süreçlerden büyük ölçüde etkilenmektedir [72]. Diğer yandan, bağışıklık sisteminin aşırı aktivasyonu, dejeneratif süreçleri hızlandırabilir, inflamasyon ve immünopatolojiye neden olabilir ve böylece yaşlanma sürecini hızlandırabilir [73]. Bağışıklık sisteminin kendisi, kollateral doku hasarına neden olarak ve metabolizmayı olumsuz yönde etkileyerek yaşlanma sürecini hızlandırabilir [74]. Özellikle ileri yaşta, bağışıklık sisteminin aşırı indüksiyonu, organizma açısından maliyeti yüksek bir onarım gerektiren ve böylece yaşlanmayı teşvik eden doku hasarına ve iltihaplanmaya neden olabilir.

Bağıışıklık hiperaktivasyonu genellikle yaşlanmayla birlikte ortaya çıkan bir problemdir. Örneğin *Drosophila*'da yaşla birlikte AMP (Drosocin, AttacinC ve CecropinA1) ekspresyonu artar ve bu durum ilerleyen zamanda nörodejenerasyona sebep olarak ömür uzunluğunda azalmaya yol açar. Glia hücrelerinde IMD sinyalinin bastırılması ise, gelişmiş lokomasyona, değiştirilmiş bir metabolik profile ve bireyin ömür uzunluğunun artmasına yol açar [75]. Öte yandan, son yıllarda yapılan çalışmalarda bağıışıklık sisteminin hiperaktivasyonunun ya da düzensizliğinin yaşlanma sürecinin hızlanmasına büyük ölçüde katkıda bulunduğuna dair artan kanıtlar sunulmuştur [76]. Yapılan bir çalışmada *Drosophila*'daki Toll reseptörünün aşırı ekspresyonu yaşam süresini azaltmaktadır [77]. En açık bulgular IMD sinyal yolağının kronik aktivasyonu ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilmiştir: *Drosophila* yağ cisimciğindeki *PGRP-LC* ve *PGRP-LE*'nin transgenik aşırı ekspresyonu bireyin ömrünü kısaltmaktadır. Benzer şekilde, *PGRP-LE* geninin aşırı ifadesi de ömür uzunluğunu kısaltmıştır [78, 79]. Bahsedilen tüm bu çalışmalarda bozulan bağıışıklık sistemi regülasyonunun ömür uzunluğuna etki ettiği görülmüştür fakat ilişkili mekanizmalar ve yolaklarda görev alan genler tam olarak aydınlatılamamıştır.

Bağıışıklık sistemi regülasyonunda meydana gelen bozuklukların yaşlanma sürecini hızlandırdığı düşünölmekle birlikte, mekanizmalar tam olarak bilinmediği için artan mortaliteyle ilişkili genler de bilinmemektedir. Şimdiye kadar yeterince çalışılmamış olan *PGRP-LF* geni, bağıışıklık sisteminde oluşan problemlerin yaşlanma sürecini hangi mekanizmalarla hızlandırdığını anlamak için uygun bir seçenektir. Bu mekanizmayı anlamak için, genin başka hangi genlerle etkileştiğini saptamak gerekir. Gen gen etkileşimini saptamak için en uygun yöntem genom çaplı ilişkilendirme çalışmalarıdır (GWAS). Tez kapsamında GWA analizi yapmak için kullanılan *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP), Gereç ve Yöntem kısmında açıklanmıştır (**3.1.2. *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) Soyları**).

2.6. Genom Çaplı İlişkilendirme Çalışmaları ve Kayıp Kalıtsallık

Hastalıkların genetik temellerini açıklayabilmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Fakat bu hastalıklarla ilişkili genleri tanımlayabilmek birçok açıdan zordur. Bu

sebeple çeşitli genetik temelli çalışmalar yürütülmektedir. Temel olarak bağlantı (linkage) çalışmaları ve genom çaplı ilişkilendirme çalışmaları tercih edilmektedir. Her bir çalışmanın kendi içinde avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bağlantı (linkage) çalışmaları çoklu genli hastalıkların genetik altyapısını belirlemekten ziyade, monogenik (Mendelian) hastalıkları çalışmada daha başarılıdır. Bunun aksine GWA çalışmaları karmaşık hastalıkların genetik altyapısını ve gen ilişkilendirmelerini daha iyi açıklayabilmektedir [80-82]. GWAS, bir hastalığın altında yatan genlerin, tüm genomda taranmasını sağlayan bir araçtır. Özellikle son yıllarda, gelişen teknolojiyle birlikte birçok karmaşık hastalığın genetik altyapısını araştırmada en çok tercih edilen yöntemlerden biri haline gelmiştir.

Bağışıklık sistemiyle ilgili bir problem sonucu ortaya çıkan otoinflamatuar hastalıkların genetik altyapısıyla ilgili aday genler önerilmiştir. Fakat bu genler hastalıkların küçük bir bölümünü açıklayabilmektedir. Bu durum otoinflamatuar hastalıkların poligenik kalıtıldığını göstermektedir. Bu sebeple tez kapsamında genom çaplı ilişkilendirme analizleri yapılmıştır.

GWA çalışmalarının altında yatan temel fikir, birbirleriyle ilişkili olmayan bireyler ve büyük çaplı örneklemeler kullanılarak, hastalıkla ilgili fenotipik değişkenlerin tüm genomda hangi bölgelere dağıldığını saptamaktır [83]. Analizin temelinde tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) arasındaki ilişkiler değerlendirilerek, istatistiksel olarak en güçlü aday genler belirlenir. Güçlü ilişki içeren SNP'lerin belirlenmesi için örneklemi oluşturan tüm veriler arasında 100 000 ve üzeri sayıda hipotez test edilir. Bu hipotezler hastalığa ait genetik belirtecin alellerinde hangi miktarda fenotipik etkiye sahip olduğunu değerlendirir. Bunun yanı sıra rastgele oluşabilecek istatistiksel dağılım, çıkan sonuçlarla karşılaştırılarak rastlantısal ilişkilenecek olanlar elenmiş olur. Elde edilen sonuçlar ile en güçlü ($p < 10^{-5}$) SNP ilişkileri tanımlanır. İstatistiksel olarak güçlü olan bu SNP'ler aday genlere işaret eder ve kalıtsal olarak etkili olan ortak varyantlar belirlenir [82, 84].

GWA çalışmaları, karmaşık hastalıklar ve özellikleri ile ilişkili yüzlerce genetik varyantı ortaya çıkarmıştır. Fakat şimdiye kadar tanımlanan çoğu genetik varyant, hastalıkların risk faktörlerinin çok küçük bir kısmına işaret etmektedir. Bu durumda karşımıza kayıp kalıtsallık terimi ortaya çıkmaktadır [81, 85]. Kayıp kalıtsallık, bir hastalığın, kendisini etkilediği bilinen genetik varyasyonlarla tam olarak

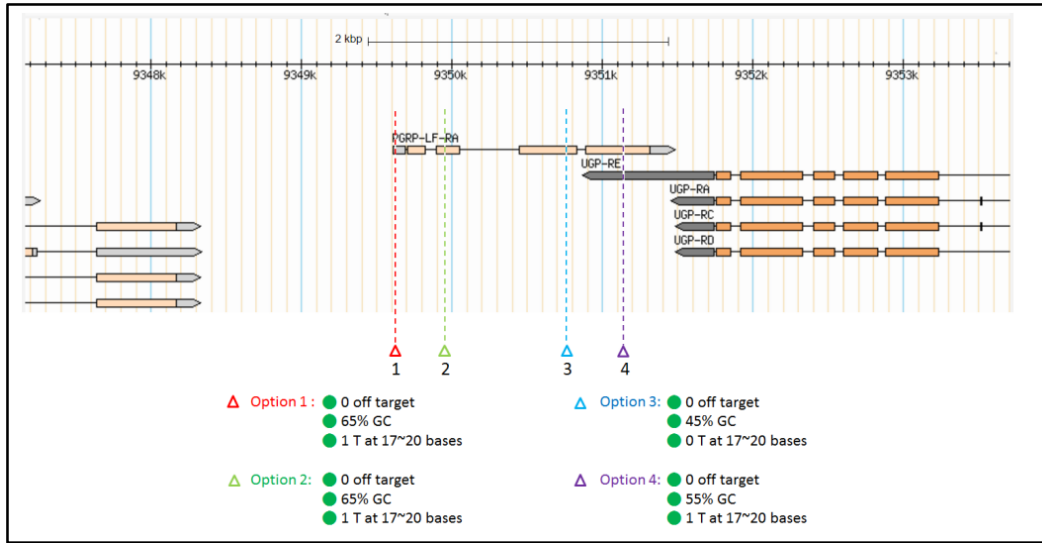
açıklanamaması problemidir. Burada kayıp kalıtsallıkla bağlantılı olan bir terim daha mevcuttur: Epistasi. Epistasi terimi, genler arasındaki etkileşimi ifade eder. Epistasi, karmaşık bir özelliği etkileyen bir varyantın etkisinin, özelliği etkileyen ikinci bir varyantın genotipine bağlı olması durumunda ortaya çıkar [86]. Genler, genelde birbirleriyle etkileşirler, bu yüzden karmaşık hastalıklar epistatik etkiler altında işlerler [87]. Kayıp kalıtsallık probleminin altında yatan epistatik etkileşimler, GWA çalışmalarıyla ortaya çıkarılmaya başlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Soylar

3.1.1. *PGRP-LF* Null Mutantı ve *w1118* Kontrol Soyu

Deneyde kullanılmak için seçilen gen, null mutasyon durumunda otoinflamatuar hastalıklara katkıda bulunduğu düşünülen *PGRP-LF* genidir. Bu sebeple WellGenetics firması aracılığıyla CRISPR/Cas9 yöntemi kullanılarak yapılan çalışmanın temelini oluşturan *PGRP-LF* geninin büyük delesyonlu işlevsiz (null) mutantının elde edilmesi gerçekleştirilmiştir. Yapılan *PGRP-LF* mutasyonları *w1118* soyunda gerçekleştirilmiştir, dolayısıyla elde edilen tüm soylar aynı genetik arkaplana sahiptir. *PGRP-LF* null mutantının gerçekleştirilebilmesi için biyoinformatik yöntemler kullanılarak en uygun dört guideRNA opsiyonu oluşturuldu. Tarafımıza gönderilen bu guideRNA seçeneklerinden 2. Ve 3. Ekzonu kapsayan bölgenin delesyonunu sağlayacak şekilde 2 ve 3 numaralı gRNA'lar seçilmiştir. Şekil 3.1.1.1'de *PGRP-LF* geni için oluşturulmuş dört gRNA opsiyonu gösterilmektedir.



Şekil 3.1.1.1. *PGRP-LF* geni için tasarlanmış gRNA opsiyonları.

Seçilen 2 ve 3 numaralı gRNA'lara ait CRISPR hedef dizisini (PAM), kesme bölgesini, primerlerini ve diğer başka bilgileri içeren veriler aşağıda verilmiştir.

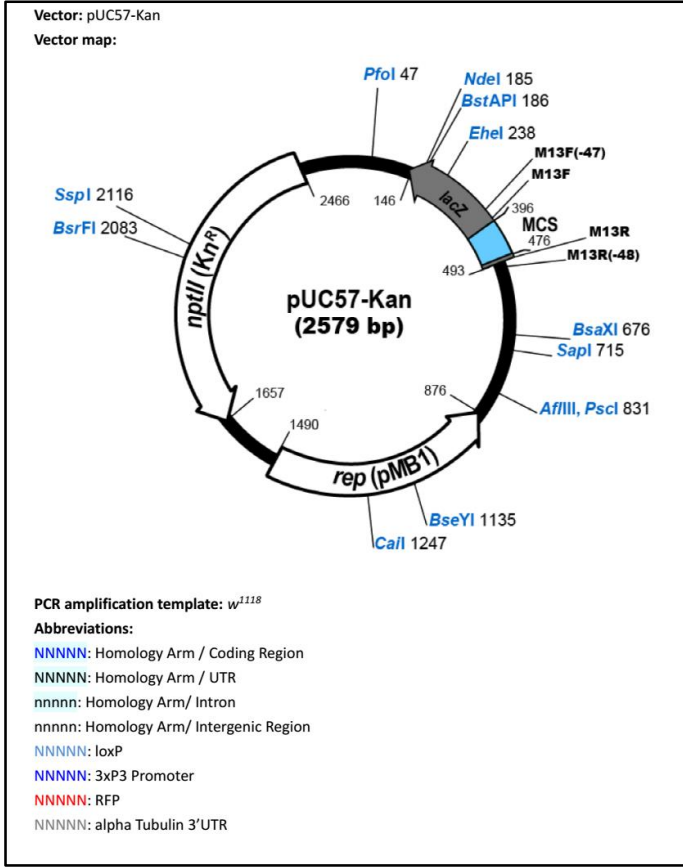
Option 2
CRISPR Target Site [PAM]: CGATCGCAGCGAATGGCTGG[GGG]
CRISPR Target Strand Relative to Gene: plus
Cutting Site: the 267th nt from ATG of *PGRP-LF*
Off target: 0 ●
GC%: 65% ●
T number at 17th~20th base: 1 ●
Primers: Sense oligo: 5'- CTTCGCGATCGCAGCGAATGGCTGG
Antisense oligo: 5'- AAACCCAGCCATTCGCTGCGATCGC
Upstream Homology Arm: 1040bp, -779 to +261 nt relative to ATG of *PGRP-LF*
Forward oligo 5'-AAGTTTGCCTGGGGGTTTTTG
Reverse oligo 5'-CGCTGCGATCGAGTATGTGTA

Şekil 3.1.1.2. 2 numaralı gRNA'lara ait CRISPR hedef dizisi (PAM), kesme bölgesi, primerler

Option 3
CRISPR Target Site [PAM]: ACGTCTCCATAGATTGCAAC[CGG]
CRISPR Target Strand Relative to Gene: plus
Cutting Site: the -604th nt relative to the 1st nt of Stop of *PGRP-LF*
Off target: 0 ●
GC%: 45% ●
T number at 17th~20th base: 0 ●
Primers: Sense oligo: 5'- CTTCGACGTCTCCATAGATTGCAAC
Antisense oligo: 5'- AAACGTTGCAATCTATGGAGACGTC
Downstream Homology Arm: 1058bp, -572 to +486 nt relative to the 1st nt of Stop *PGRP-LF*
Forward oligo 5'-TTAAGCCCCACCGAAAGTCC
Reverse oligo 5'-CAGCTGGAGCCATTCTGGAG

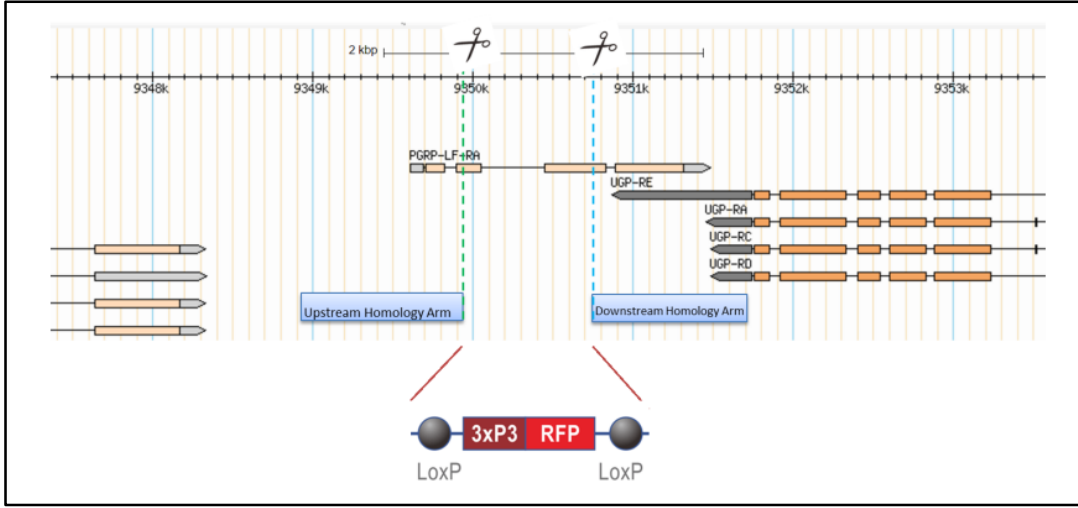
Şekil 3.1.1.3. 3 numaralı gRNA'lara ait CRISPR hedef dizisi (PAM), kesme bölgesi, primerler

Mutasyonun oluşturulmasında; gRNA'ların seçilmesi ve sentezlerinden sonra *PGRP-LF* geninin büyük kısmının kesilip çıkarılması ve yerine kırmızı floresan ışığı yaparak mutasyon taramasını yapmaya olanak veren 3XP3-RFP sokulması aşamaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşama 2 gRNA ve bir donör dsDNA kullanılarak Homoloji Bağımlı Tamir(HDR-Homology Dependent Repair) metoduyla gerçekleştirilmiştir. Kullanılan plazmid klonu Kanamisin dirençli PUC57-Kan-17001'dir. İlgili plazmid donörünün şematik gösterimi Şekil 3.1.1.4'de verilmiştir.



Şekil 3.1.1.4. Plazmid donör PUC57-Kan vektör haritası

Donör plazmidde hem upstream hem de downstream homoloji kolları spesifik oldukları ve komşu gende aminoasit değişikliğine yol açan bir SNP olmadığını görmek için plazmid klonları kısmen dizilenmiş ve mikroenjeksiyon için 17001d1 klonunun kullanılmasına karar verilmiştir. Tüm bu aşamalar gerçekleştirildikten sonra enjeksiyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen yaşayabilir bireylerin bulunduğu 6 *PGRP-LF* mutant soyu için validasyon aşamasına geçilmiştir. *PGRP-LF* geninin büyük bir bölümündeki delesyon ve ilgili bölgeye RFP sokulması aşağıda şekil 3.1.1.5'te özetlenmektedir.

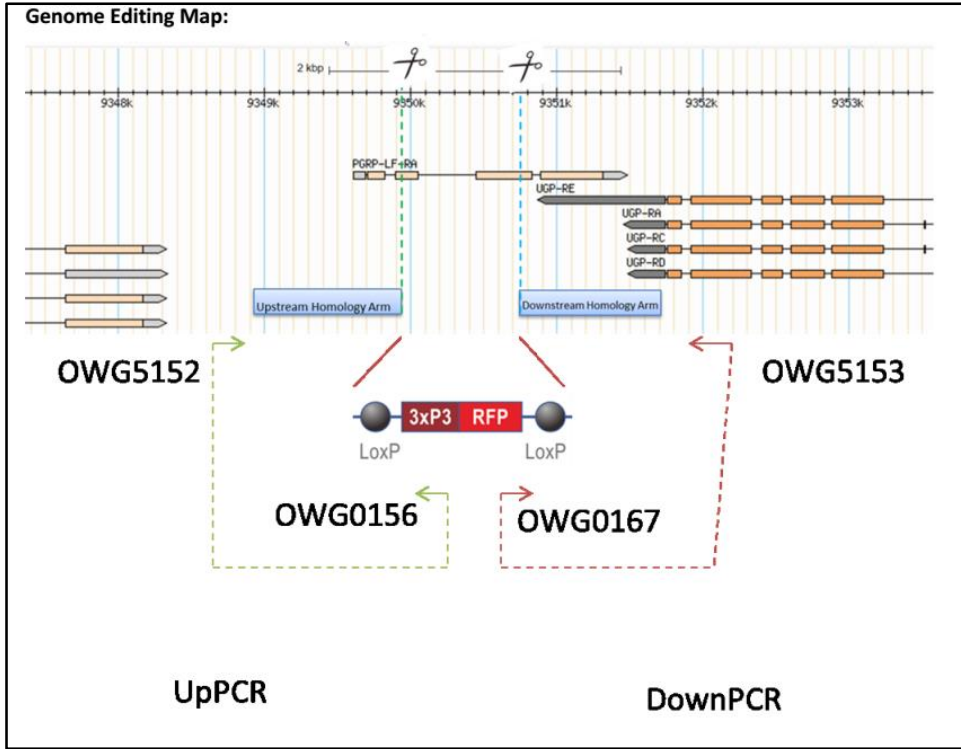


Şekil 3.1.1.5. *PGRP-LF* null mutasyonu yaratılmasının ve RFP sokulmasının özet gösterimi.

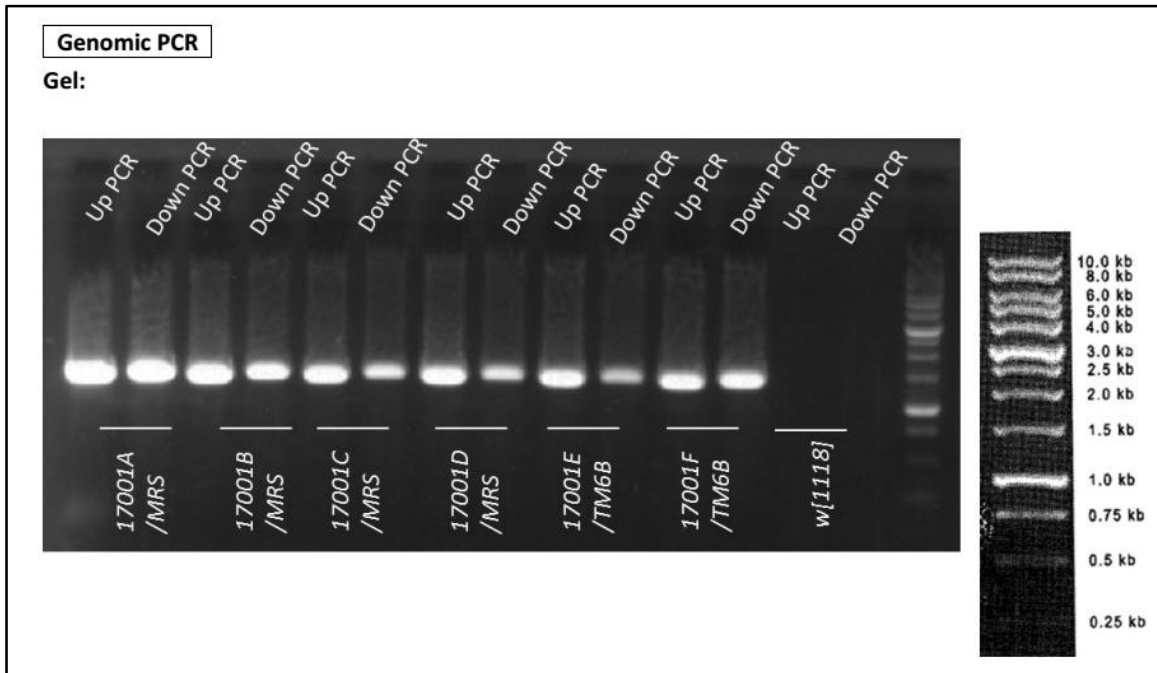
Elde edilen 6 soyun hepsi RFP için dizayn edilmiş primerler ile PCR'la valide edilmiş aynı zamanda 17001C soyu hem PCR hem de dizileme ile doğrulanmıştır. *PGRP-LF*in CRISPR alellerini doğrulamak için genomik PCR ve dizileme metodları kullanılarak knock-in cassette (RFP)'nin homoloji yönlendirilmiş tamir için doğru bir kalıp olduğu ve gRNA kesme bölgelerine girdiği valide edilmiştir. Kullanılan primer dizileri ve gen üzerindeki şematik gösterimi Şekil 3.1.1.6. ve Şekil 3.1.1.7.'de verilmiştir. PCR sonuçlarının fotoğrafı Şekil 3.1.1.8.'de yer almaktadır, RFP sokulmayan *w1118* soyu negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Primers:		
OWG0156	3XP3-seq-R	5'-CGAGGGTTCGAAATCGATAA
OWG0167	Tubalpha1_F	5'-AACGCAAGCAAATGTGTCAG
OWG5152	17001-sfPCR-up-F	5'-CGGGAATCATTTTATCCGTTT
OWG5153	17001-sfPCR-dn-R	5'-CCACTTCTCGAAGGTCAAGG

Şekil 3.1.1.6. Validasyon aşamasında kullanılan primerler.



Şekil 3.1.1.7. Validasyon aşamasında RFP'yi hedef alan PCR primerlerinin kullanım yönleri.



Şekil 3.1.1.8. Validasyon aşamasında gerçekleştirilen PCR sonuçları.

3.1.2. *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) Soyları

Otoinflamatuvar hastalıkların altında yatan ve birbirleriyle etkileşen genetik varyantları belirlemek için seçilen genomik soylar Prof. Dr. Trudy Mackay ve çalışma arkadaşları tarafından tasarlanan *Drosophila* Genetik Referans Panelinden (DGRP) seçilmiştir. DGRP, toplamda 205 adet kendileştirilmiş soydan oluşmaktadır [88]. Bu 205 tane soyun tüm genom dizisi çıkarılmıştır. Yaklaşık 5 000 000 SNP üzerinden hastalıklar açısından önemi bulunan özellikleri genom çaplı ilişkilendirme analizi ile saptamayı sağlar [88, 89]. Deneyleerde kullanılan soylar, bu 205 DGRP soyu arasından seçilmiş 82 adet soydur. DGRP soylarının tamamı North Carolina Eyalet Üniversitesi Genetik Bölümü'nden Prof. Dr. Trudy Mackay tarafından temin edilmiştir. Deneyleerde kullanılan bu 82 soy, tüm DGRP setinin istatistiksel olarak tam karşılığı olan 128 soy arasından rastgele seçilmiştir.

3.2. Deney Koşulları

3.2.1. Stokların Saklanma Koşulları

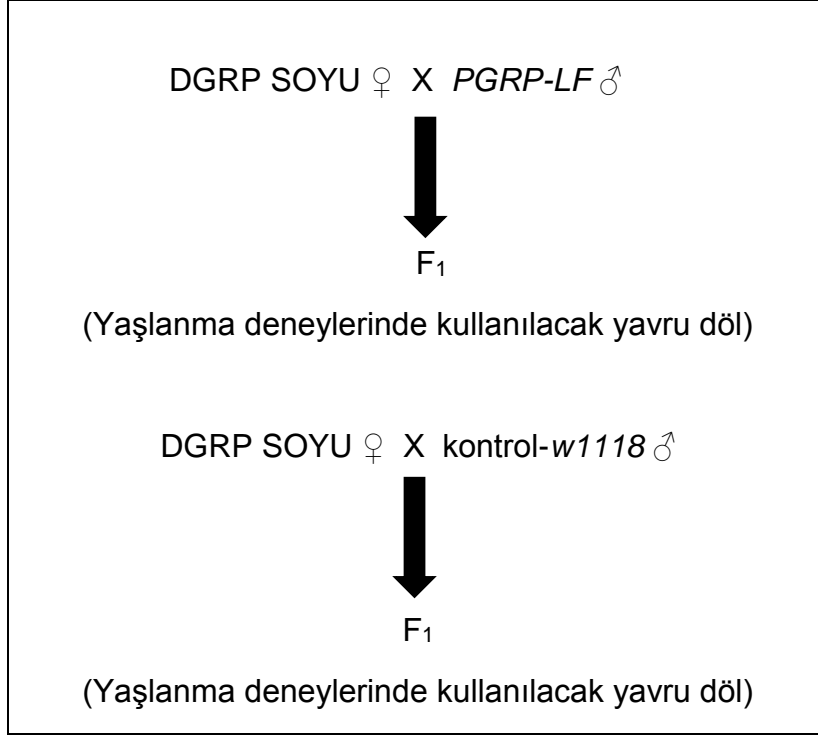
Deneyleerde kullanılan tüm soyların stokları ve deney seti; 12 saat karanlık-12 saat aydınlık periyodunda %65 bağıl neme ve $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' ye sahip kültür odasında tutulmuştur. Bu odadan sadece yaşlandırma için yapılan aktarım günlerinde kısa süreler için çıkarılmışlardır.

Kullanılan tüm soylar, laboratuvarında kullanılan standart besiyerinde tutulmuştur [90]. Soyların genel stokları 15 günde bir yeni besiyerine transfer edilerek devamlılık sağlanmıştır. Genel stoklarda kullanılan her bir deney tüpünde 7 ml besiyeri kullanılırken, yaşlandırma deney setleri için kullanılan tüplerde 3 ml besiyeri kullanılmıştır.

3.3. Deneyin Yapılışı

3.3.1. Deneysel Çaprazlar

Deney için kontrol grubu ve deney grubu olmak üzere iki ayrı grup elde edilmiştir. Bunun için 82 DGRP soyu *w1118* soyuyla ayrı ayrı çaprazlanarak kontrol grubu oluşturulmuştur. Aynı 82 DGRP soyu *PGRP-LF* null mutantı ile çaprazlanarak ise deney grubu oluşturulmuştur. Bu aşamada DGRP soylarından virjin dişiler toplamak için önce 82 DGRP soyunun her biri kendi içinde çaprazlanmıştır. Bu çaprazdan elde edilen virjin dişiler, her tüpte 10 birey olacak şekilde 3 gün boyunca daha verimli üremeleri amacıyla bol mayalı besiyerinde bekletilmişlerdir. Mayayla beslenen DGRP virjin dişileri, 4. günde *w1118* kontrol soyunun ve *PGRP-LF* null mutant soyunun erkekleriyle çaprazlanmıştır. Dişilerin DGRP soyundan, erkeklerin ise *PGRP-LF* null mutantlarından ya da *w1118* kontrol soyundan alınmasının sebebi, hem otozomlardan gelen hem de X kromozomundan gelen genetik katkının da görülebilmesidir. Yapılan tüm çaprazlarda sinekleri bayıltmak için az miktarda karbondioksit kullanılmıştır. Her bir soyun çaprazı, tüplere 5♀ x 5♂ konularak yapılmıştır. Eşeyssel olgunluğa ulaşmış bu bireylerin çapraz dizaynı Şekil 3.3.1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3.1.1. Kontrol ve *PGRP-LF* null mutant soylarının DGRP soylarıyla çaprazlanarak yavru döllerin elde edilmesini gösteren şema.

Bu çaprazlardan çıkan yavru döller 3 gün boyunca virgin haldeyken toplanmıştır. Tüm yaşlanma deneyi boyunca dişi ve erkek bireyler, çiftleşme faktörünün ömür uzunluğuna etki etmemesi için ayrı tüplerde tutulmuştur. Tüplerdeki birey yoğunluğunun aynı olması için her tüpe 12 ± 1 birey konulmuştur. 1 soy için 5 dişi tüpü, 5 erkek tüpü oluşturulmuştur.

3.3.2. Yaşlandırma Deneyleri

Yaşlandırma aktarımı için tüm tüplerdeki sinekler iki günde bir taze besiyerine alınmıştır. Deneydeki tüm sinekler ölene kadar yaşlandırma aktarımları devam etmiştir. Her aktarım gününde ölen sinekler, Genotip-Soy-Eşey kategorisine göre kaydedilmiş ve hayat tabloları çıkarılmıştır.

3.4. Verilerin Analizi

3.4.1. Çok Yönlü Varyans Analizi ve Gen-Gen Etkileşimi

Yaşlanma deneyleri sonucunda elde edilen veriler düzenlenerek, önce çok yönlü varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.2.1.). Yapılan çok yönlü varyans analizi modeli aşağıda belirtildiği gibidir.

GENOTİP (*w1118*, *PGRP-LF*)

EŞEY (dişi,erkek)

SOY (82 DGRP Soy)

GENOTİP X EŞEY

SOY X EŞEY

GENOTİP X SOY

GENOTİP X SOY X EŞEY

Genom çaplı ilişkilendirme analizleri için GENOTİP X SOY ve GENOTİP X SOY X EŞEY bileşenleri oldukça önemlidir. GENOTİP X SOY bileşeninin istatistiksel açıdan önemli çıkması epistasi varlığını gösterir. Çünkü tez kapsamında kullanılan DGRP soyları kendileştirilmiş-homojen soylardır. GENOTİP X SOY X EŞEY bileşeninin istatistiksel açıdan önemli çıkması ise eşeye özgü epistasi varlığını gösterir. Yapılan çok yönlü varyans analizinde beklendiği gibi istatistiksel açıdan önemli çıkan bu bileşenler sonucunda tez çalışmasının temelini oluşturan genom çaplı ilişkilendirme analizleri yapılmıştır.

3.4.2. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizi (GWAS)

Yukarda bahsedilen GENOTİP X SOY ve GENOTİP X SOY X EŞEY bileşenleri çok yönlü varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak yüksek seviyede anlamlı ($p < 0.001$) çıkmıştır. Bu sonuç doğrultusunda 82 DGRP soyuna ait girdiler, “*w1118* ömür uzunluğu ortalaması – *PGRP-LF* ömür uzunluğu ortalaması” şeklinde farklarla oluşturulmuştur. Bu farklar hem erkek hem dişi eşey açısından oluşturulmuştur. Elde edilen bu girdi <http://dgrp2.gnets.ncsu.edu/> web sitesindeki veritabanına girilmiştir. Bu program, genomik yapısı belirlenmiş yaklaşık 5 milyon SNP karşılaştırması sağlayan 205 kendileşmiş DGRP soyunun tüm genom dizisine dayalı olarak yüksek

standardizasyona sahip bir ilişkilendirme sunmaktadır [91]. Bu programdan bağlantı dengesizliğini (LD) gösteren grafikler ve belirli bir genetik varyant ile ilişkilendirme düzeyini ifade eden p değeri ile herhangi bir ilişkilendirme olmadığında ortaya çıkması gereken p değeri arasındaki örtüşmeyi ifade eden Q-Q plot grafikleri de elde edilmektedir [84]. *Drosophila melanogaster* ve dolayısıyla da DGRP genomlarında yaygın olarak inversiyonlar ve bir endosimbiont olan wolbachia bulunmaktadır. DGRP soylarının çok azında wolbachia genomik insersiyon vardır ve inversiyon içeren soylar da genellikle inversiyon homozigotlarıdır [91]. Yukarıda bahsedilen program, wolbachia ve inversiyonların etki büyüklüğünü de hesaplar. Tez kapsamında kullanılan Epistatik GWAS doğrusal – karışık ilişkilendirme modeline dayanmaktadır:

$$y = Xb + Zu + e$$

Modelde gösterilen y, (*w1118 – PGRP-LF*) ortalamasını; X, b şeklindeki sabit SNP etkisi için dizayn edilen matrisi; Z, u şeklindeki rastgele poligenik etkinin insidans matrisini ve e değeri ise modeldeki artığı ifade etmektedir [91]. Analiz sonrası elde edilen sonuç sayfasında, ilgili gen ile ilişkilenen tüm genetik varyantlar, bu varyantların isabet sayısı, eşey bazlı p değerleri, elde edilen SNP'lerin kimliği, minör alel frekansı (MAF), genetik varyantın kimliği ve tüm SNP'lerin isabet noktası bulunmaktadır. Sonuç sayfasından elde edilen tüm verilere dair çizelgeler ve şekiller, SONUÇLAR kısmında gösterilmiştir.

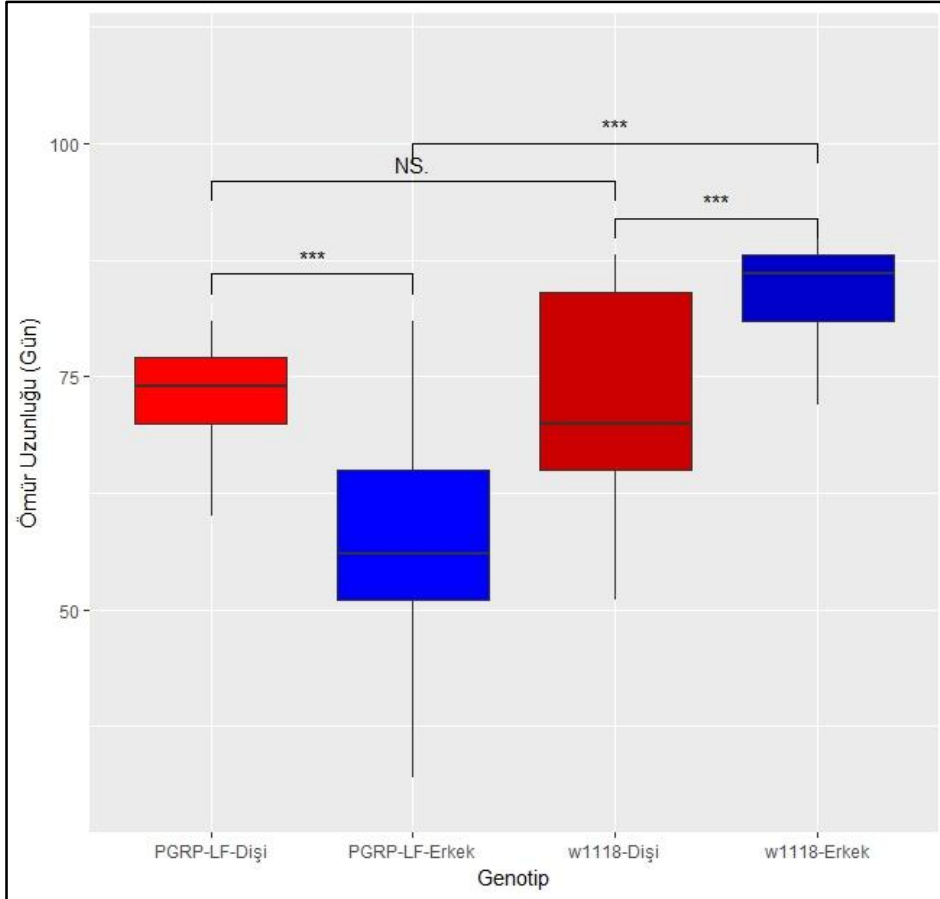
3.4.3. GWAS'tan Elde Edilen Sonuçlardan Oluşturulan Grafikler ve Çizelgeler

GWA çalışmalarından elde edilen *Drosophila melanogaster* aday genlerinin gen kuvvetlendirme analizleri (Çizelge 4.5.1 ve Çizelge 4.5.2) ve bu genlerin gen tipine göre dağılım grafikleri (Şekil 4.4.3.1 ve Şekil 4.4.3.2) "ShinyGO v0.50" veritabanı ile oluşturulmuştur. Genlerin görev aldığı biyolojik süreçleri ve moleküler fonksiyonlarını gösteren çizelge (Çizelge 4.4.2.1) "PANTHER" veri tabanı kullanılarak oluşturulmuştur. Genlerin insan ortologları ve ilgili hastalıklar/özellikleri gösteren çizelge (Çizelge 4.6.1) Harvard Medical School'a ait olan "DRCS Disease Gene Query Tool" sistemi aracılığıyla oluşturulmuştur.

4. SONUÇLAR

4.1. Mutant (*PGRP-LF*) ve Kontrol (*w1118*) Stoklarının Ömür Uzunluğu Ölçümleri

Tez kapsamında yapılması hedeflenen çalışma öncesinde, *PGRP-LF* ve *w1118* stok soylarının ömür uzunluğu ölçümü yapılmıştır. Bu öncül çalışmada mutant ve kontrol soyları DGRP soylarıyla çaprazlanmamıştır. Şekil 4.1.1.'de ilgili genotiplere ve bu genotiplerin eşeylerine ait farklar gösterilmektedir.



Şekil 4.1.1. DGRP soylarıyla çaprazlanmamış mutant ve kontrol soylarının ömür uzunluklarına ait box plot.

Şekil 4.1.1.'de görüldüğü üzere, *PGRP-LF* soyunun erkek bireylerinin ömür uzunluğu, *w1118* soyunun bireyelerine göre önemli bir azalma göstermiştir. Fakat dişi

bireylerin ömür uzunluğunda net bir değişim olmamıştır. *w1118* grubu kendi içinde incelendiğinde dişi ve erkek bireylerde bir farklılık gözükmezken, *PGRP-LF* grubu kendi içinde incelendiğinde dişi bireyler erkek bireylerden oldukça yüksek bir skora sahiptir.

4.2. Ömür Uzunluğu İçin Gerçekleştirilen GWAS Öncesi Varyans Analizi Sonuçları

Tez kapsamında gerçekleştirilen 82 DGRP soyunun mutant ve kontrol soyuyla yapılan çaprazlarından elde edilen ömür uzunluğu verileri soy (DGRP soyu), genotip (*PGRP-LF* ve *w1118*), eşey (dişi-erkek) faktörleri ve bu faktörlerin kendi aralarında meydana gelen etkileşimlerin yarattığı etkileri açısından değerlendirilmek üzere çok yönlü varyans analizi ile incelenmiştir (Çizelge 4.2.1.).

Çizelge 4.2.1. 82 DGRP soyunun *PGRP-LF* ve *w1118* mutanıyla gerçekleştirilen çaprazlarından elde edilen verilerin ANOVA sonuçları.

	Kareler Toplamı	Ortalama Kare	Df	F Değeri
genotip	37591,55	37591,55	1	311,34***
line	262130,6	3236,18	81	26,80***
eşey	145132,4	145132,4	1	1202,0***
genotip:line	88477,17	1092,31	81	9,047***
genotip:eşey	22936,35	22936,35	1	189,96***
line:eşey	195275,1	2410,80	81	19,97***
genotip:line:eşey	91867,34	1134,17	81	9,39***

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

*** $p < 2e-16$

ANOVA tablosundan da çok açık bir şekilde görüldüğü üzere ömür uzunluğu soylar, genotipler ve eşeyler açısından önemli derecede değişkenliğin meydana geldiğine işaret etmektedir. Her üç faktör de istatistiksel açıdan önemli derecede farklılıklara işaret eden yüksek F değerine sahiptir ($p < 0.001$). Bu üç faktörün yüksek anlamlılık derecesinin yanı sıra tüm etkileşimler de istatistiksel açıdan yüksek önem

derecesine işaret etmektedir. Soy*Genotip etkileşimi ömür uzunluğunun genotipik etki üzerinden soylar arasında önemli farklara ve etkinin yönünün değiştiğine işaret etmekte, dolayısıyla elde edilen verilerin GWAS analizine uygunluğunu da göstermektedir. Tüm etkileşimlerin önem derecesine sahip olması tüm verinin GWAS analizine sokulmasına olanak sağlamaktadır.

4.3. Mutant *PGRP-LF* ve Kontrol *w1118* Soylarının DGRP Soyları ile Çaprazlarının Sonuçları

Ömür uzunluğu ortalamaları üzerinden gerçekleştirilen analizler özellikle mutant genotipin sokulduğu soylara ait erkek bireylerin ömür uzunluklarının kontrol soylarıyla karşılaştırıldığında önemli derecede kısaldığına işaret etmektedir. 82 DGRP soyu ile yapılan bu çalışmada mutant gende oluşturulan delesyon, 62 soyda erkek bireylerin ömür uzunluğunu kontrol soyuna göre kısaltmıştır. Çizelge 4.3.1.'de aynı soyun genotiplerine ait ömür uzunluğu farkları verilmiştir (negatif değerler *PGRP-LF* mutant soyunun daha kısa ömürlü olduğuna işaret etmektedir. Değerler yüzde farkları göstermektedir). Mutant *PGRP-LF* geni erkek bireyler açısından girdiği soyların %76'sında ömür uzunluğunu kısaltmış, bu kısalmanın görüldüğü soyların ise %82,2'sinde en az %5 düzeyinde ömür uzunluğu azalmıştır, %48,4'ünde ise en az %10 oranında bir kısaltmaya yol açmıştır. Ömür uzunluğundaki kısalma %31.92'ye kadar çıkabilmektedir ki ömür uzunluğu ortalamaları açısından çok önemli bir farktır. Bunun yanı sıra 20 DGRP soyunda ise *PGRP-LF* genotipi *w1118* soyuna göre %0,3 ile %19 arasında değişen değerlerde daha uzun yaşamıştır ki bu durum ömür uzunluğu açısından *PGRP-LF* geninin erkek bireylerde ömür uzunluğunu kısalttığını ancak bu durumun gen etkileşimsel bir çerçevede gerçekleştiğini ve farklı genetik altyapıya sahip bireylerde *PGRP-LF* gen mutantının göstermesi beklenen fenotipik değişikliğin tam olarak ortaya çıkmadığını, hatta etkisinin düşük oranda da olsa tersine dönebildiğini göstermektedir. Çizelge 4.3.1. incelendiğinde de açık bir şekilde görüleceği üzere mutant genotipin etkisi girdiği soyun genotipine bağlı olarak farklı seviyede etki ortaya çıkarmaktadır. Tüm bu Şekil 4.3.1.'de da açık bir şekilde görülmektedir.

Çizelge 4.3.1.
farkı

82 soyun erkek bireylerinin ömür uzunluğuna ait tanımsal istatistik veriler ve genotipler arasındaki ömür uzunluğu

Soy (Mutant)					Soy (Kontrol)					
X	N	Ortalama Yaş (Gün)	St. Sapma	St. Hata	X	N	Ortalama Yaş (Gün)	St. Sapma	St. Hata	Fark (%)
105	49	82,00	7,44	1,06	105	55	77,09	12,67	1,71	6,08
129	50	76,56	11,27	1,59	129	57	82,84	8,93	1,18	-8,20
138	56	79,82	9,60	1,28	138	53	88,43	12,63	1,73	-10,79
149	52	65,11	8,99	1,25	149	47	83,23	11,37	1,66	-27,83
158	61	74,38	12,21	1,56	158	55	79,91	10,30	1,39	-7,44
161	49	78,18	9,36	1,34	161	51	87	9,68	1,36	-11,28
176	55	61,82	5,67	0,76	176	52	60,29	10,10	1,40	2,47
177	60	67,95	12,43	1,60	177	59	69,20	16,10	2,10	-1,84
181	56	82,77	12,59	1,68	181	57	80,30	10,68	1,41	2,98
189	54	68,43	13,25	1,80	189	50	81,82	17,81	2,52	-19,57
208	62	79,47	6,91	0,88	208	57	77,70	9,85	1,30	2,22
21	54	73,83	10,05	1,37	21	53	81,96	13,19	1,81	-11,01
217	51	70,99	5,61	0,79	217	52	74,75	12,37	1,72	-5,31

228	55	71,11	12,02	1,62	228	53	76,83	11,87	1,63	-8,05
239	60	66,55	9,97	1,29	239	56	74,80	15,10	2,017	-12,40
256	51	76,71	12,45	1,74	256	56	84,05	16,44	2,19	-9,58
26	54	71,79	11,92	1,62	26	53	76,51	8,94	1,23	-6,56
280	53	84,57	7,94	1,09	280	53	78,74	16,49	2,26	6,89
287	51	78,00	6,55	0,92	287	52	86,81	10,10	1,40	-11,29
304	55	84,71	14,42	1,94	304	54	93,5	13,49	1,84	-10,38
313	56	85,70	8,74	1,17	313	50	93,86	7,96	1,13	-9,53
315	60	76,73	9,95	1,28	315	54	83,65	16,07	2,19	-9,01
318	51	68,22	6,70	0,94	318	51	74,92	14,35	2,01	-9,83
32	54	53,48	8,70	1,18	32	59	69,22	15,67	2,04	-29,43
320	49	90,06	9,76	1,39	320	50	79,64	11,31	1,60	11,57
340	60	68,13	9,09	1,17	340	60	67,57	19,47	2,51	0,83
348	50	72,74	11,26	1,59	348	48	89,42	7,79	1,12	-22,93
354	56	74,79	8,19	1,09	354	56	77,86	12,99	1,74	-4,11
356	54	60,61	8,52	1,16	356	52	72,56	11,67	1,62	-19,71
357	45	57,00	6,23	0,93	357	51	75,19	12,08	1,69	-31,92
359	59	71,49	11,86	1,54	359	61	78,28	12,79	1,64	-9,49
360	52	70,02	18,72	2,60	360	50	90,96	12,76	1,80	-29,91
362	57	79,35	10,30	1,36	362	50	88,32	12,44	1,76	-11,30
365	62	75,63	11,07	1,40	365	53	77,21	18,99	2,61	-2,09

370	49	68,69	10,54	1,51	370	50	81,78	14,55	2,06	-19,05
371	49	72,43	9,07	1,30	371	48	78,85	16,58	2,39	-8,87
375	58	80,38	13,37	1,76	375	53	92,23	7,64	1,05	-14,74
383	61	74,49	11,38	1,46	383	57	74,84	9,40	1,25	-0,47
386	56	67,48	8,93	1,19	386	53	71,47	13,17	1,81	-5,91
391	59	71,37	10,92	1,42	391	52	73,02	20,31	2,82	-2,31
399	50	77,92	13,06	1,85	399	51	84,29	6,40	0,90	-8,18
40	55	72,45	6,17	0,83	40	57	74,86	13,53	1,79	-3,32
406	54	81,09	14,55	1,98	406	50	75,62	13,71	1,94	6,75
439	51	61,84	4,90	0,69	439	58	72,12	8,32	1,09	-16,62
441	58	78,12	13,34	1,75	441	59	85,76	14,61	1,90	-9,78
45	58	72,72	10,79	1,42	45	51	76,27	12,02	1,68	-4,88
461	57	80,11	9,59	1,27	461	54	76,44	9,15	1,25	4,57
491	53	67,13	12,72	1,75	491	56	65,73	19,28	2,58	2,09
509	56	72,98	10,15	1,36	509	53	83,55	10,18	1,39	-14,48
517	56	67,64	7,32	0,98	517	54	73,52	12,15	1,65	-8,69
530	57	70,47	9,38	1,24	530	53	70,66	12,66	1,74	-0,26
555	60	72,53	10,76	1,39	555	56	78,91	12,94	1,72	-8,79
59	55	64,56	10,69	1,44	59	50	77,32	14,61	2,07	-19,76
627	52	73,42	11,32	1,57	627	52	79,60	17,97	2,49	-8,41
639	58	70,57	12,15	1,60	639	57	69,84	19,62	2,59	1,03

642	56	79,75	16,76	2,24	642	53	80,64	11,11	1,53	-1,12
646	54	70,61	10,20	1,39	646	52	67,13	13,56	1,88	4,92
703	56	71,64	8,278	1,11	703	59	58,02	10,85	1,41	19,02
705	59	86,22	9,76	1,27	705	55	98,58	8,26	1,11	-14,34
707	53	78,60	9,53	1,31	707	55	86,56	13,12	1,77	-10,13
712	59	72,20	10,31	1,34	712	59	81,97	12,51	1,63	-13,52
716	53	85,17	7,23	0,99	716	54	84,74	15,61	2,12	0,50
727	54	52,00	7,25	0,99	727	52	63,31	14,54	2,02	-21,75
73	59	64,80	8,48	1,10	73	56	74,13	11,87	1,59	-14,39
761	61	75,25	11,37	1,46	761	55	81,96	15,26	2,058	-8,93
774	55	68,07	11,66	1,57	774	55	84,93	8,57	1,15	-24,76
783	55	63,69	9,77	1,32	783	51	69,71	10,59	1,48	-9,44
786	54	71,02	12,24	1,67	786	52	79	13,43	1,86	-11,24
808	54	65,39	6,75	0,92	808	55	61,53	7,99	1,08	5,91
818	58	65,78	8,44	1,11	818	56	74,38	11,30	1,51	-13,07
820	56	59,98	9,81	1,31	820	57	67,84	10,53	1,39	-13,10
822	53	69,62	6,58	0,90	822	56	69,41	10,12	1,35	0,30
83	55	83,58	10,75	1,45	83	46	86,80	7,57	1,12	-3,86
843	52	79,08	8,27	1,15	843	46	82,54	10,53	1,55	-4,38
850	58	73,89	13,11	1,72	850	58	70,47	11,77	1,55	4,64
890	57	61,26	11,33	1,50	890	55	56,6	10,27	1,38	7,61

892	57	78,26	8,46	1,12	892	53	77,53	11,53	1,58	0,94
897	59	64,51	6,52	0,85	897	58	63,52	12,95	1,70	1,54
900	56	71,36	9,98	1,33	900	58	85,36	11,65	1,53	-19,63
91	52	78,69	9,33	1,29	91	54	81,59	13,88	1,89	-3,69
911	59	70,56	13,72	1,79	911	48	79,54	10,20	1,47	-12,73
93	57	68,37	8,16	1,08	93	55	72,07	13,55	1,83	-5,42

PGRP-LF null mutantı erkek bireylerde 3mür uzunluğunu azaltırken, dişi bireyler açısından fenotipik etki tam olarak aynı şekilde ortaya çıkmamaktadır. DGRP soylarıyla yapılan çaprazlardan elde edilen sonuçlarda bu durum açıkça g3r3lmektedir. *PGRP-LF* null mutantı 82 soydan 41 soyda 3mür uzunluğunu kısaltmış (%50), erkek bireylerde g3r3len yaygın etki ortaya çıkmamıştır. Bununla birlikte kullanılan soyların %50'sinde g3r3len 3mür uzunluğundaki kısalma, soyun sahip olduğu genetik arka plana bağlı olarak etkisini dişi bireylerde de g3sterebileceğine işaret etmektedir ki bu etki bazı soylarda %25'lik bir 3mür uzunluğu farkına neden olabilmektedir. T3m bu bulgular izelge 4.3.2.'de ve şekil 4.3.2.'de açık bir şekilde g3r3lmektedir.

Çizelge 4.3.2. 82 soyun dişi bireylerinin ömür uzunluğuna ait tanımsal istatistik veriler ve genotipler arasındaki ömür uzunluğu farkı

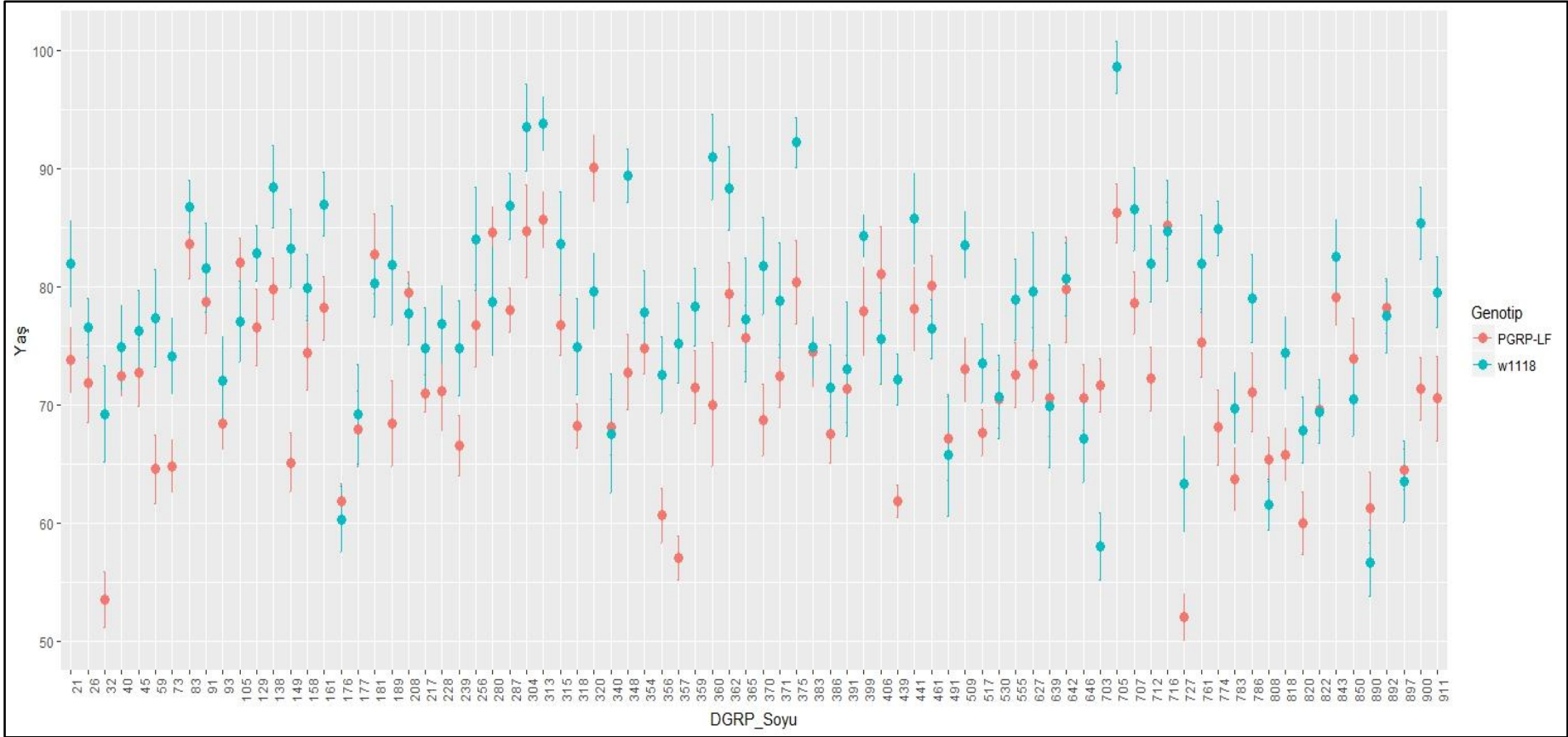
Soy (Mutant)					Soy (Kontrol)					
X	Ortalama	St.			X	Ortalama	St.			
PGRP-LF	N	Yaş (Gün)	Sapma	St. Hata	w1118)	N	Yaş (Gün)	Sapma	St. Hata	Fark (%)
105	53	88,69	13,18	1,81	105	56	89,68	10,69	1,43	-1,11
129	57	78,79	7,68	1,02	129	52	80,73	11,11	1,54	-2,46
138	56	86,86	6,16	0,82	138	50	86,54	12,13	1,72	0,37
149	52	85,02	10,08	1,39	149	47	81,49	7,02	1,02	4,15
158	52	78,85	12,06	1,67	158	58	84	13,21	1,74	-6,54
161	53	80,47	9,33	1,28	161	48	87,73	12,88	1,86	-9,02
176	53	89,91	7,83	1,07	176	55	86,22	12,21	1,65	4,10
177	60	82,72	10,07	1,30	177	55	80,45	14,99	2,02	2,73
181	47	84,19	9,09	1,33	181	56	83,95	10,77	1,44	0,29
189	50	91,20	10,55	1,49	189	49	83,76	12,76	1,82	8,16
208	57	94,75	4,29	0,57	208	55	94,69	7,269	0,98	0,07
21	60	86,13	10,16	1,31	21	53	85,51	16,03	2,20	0,72
217	53	84,17	9,34	1,28	217	44	86,95	13,63	2,06	-3,31
228	57	85,79	8,38	1,11	228	54	81,78	12,78	1,74	4,68

239	58	69,72	10,22	1,34	239	55	79,25	13,25	1,79	-13,67
256	52	84,65	9,32	1,29	256	53	87,85	16,08	2,21	-3,77
26	51	85,41	5,76	0,81	26	55	81,31	13,15	1,77	4,80
280	53	90,13	6,53	0,89	280	47	101,43	7,57	1,10	-12,53
287	46	79,04	6,99	1,03	287	51	85,80	13,00	1,82	-8,55
304	55	89,24	6,13	0,83	304	55	88,40	19,74	2,67	0,94
313	53	88,43	10,38	1,43	313	53	96,57	10,84	1,49	-9,19
315	55	85,29	7,43	1,00	315	59	83,59	8,09	1,05	1,99
318	51	87,78	9,10	1,27	318	53	81,34	8,60	1,18	7,34
32	54	81,72	7,31	0,99	32	56	66,16	17,56	2,35	19,04
320	53	90,32	10,79	1,48	320	51	81,25	7,62	1,07	10,04
340	57	77,95	6,73	0,89	340	54	77,43	9,02	1,23	0,66
348	53	80,85	7,24	0,99	348	54	85,80	9,13	1,24	-6,12
354	57	70,07	10,97	1,45	354	56	76,96	10,78	1,44	-9,84
356	59	74,19	8,73	1,14	356	53	73,68	16,20	2,23	0,68
357	50	76,06	6,10	0,86	357	54	60,57	16,67	2,27	20,36
359	53	87,66	8,02	1,10	359	56	86,18	9,51	1,27	1,69
360	52	91,79	6,04	0,84	360	53	94,30	11,91	1,64	-2,74
362	56	85,69	8,82	1,18	362	55	86,71	10,25	1,38	-1,18
365	57	79,81	8,01	1,06	365	58	82,97	11,30	1,48	-3,96
370	50	83,70	9,37	1,33	370	53	83,28	8,73	1,19	0,49

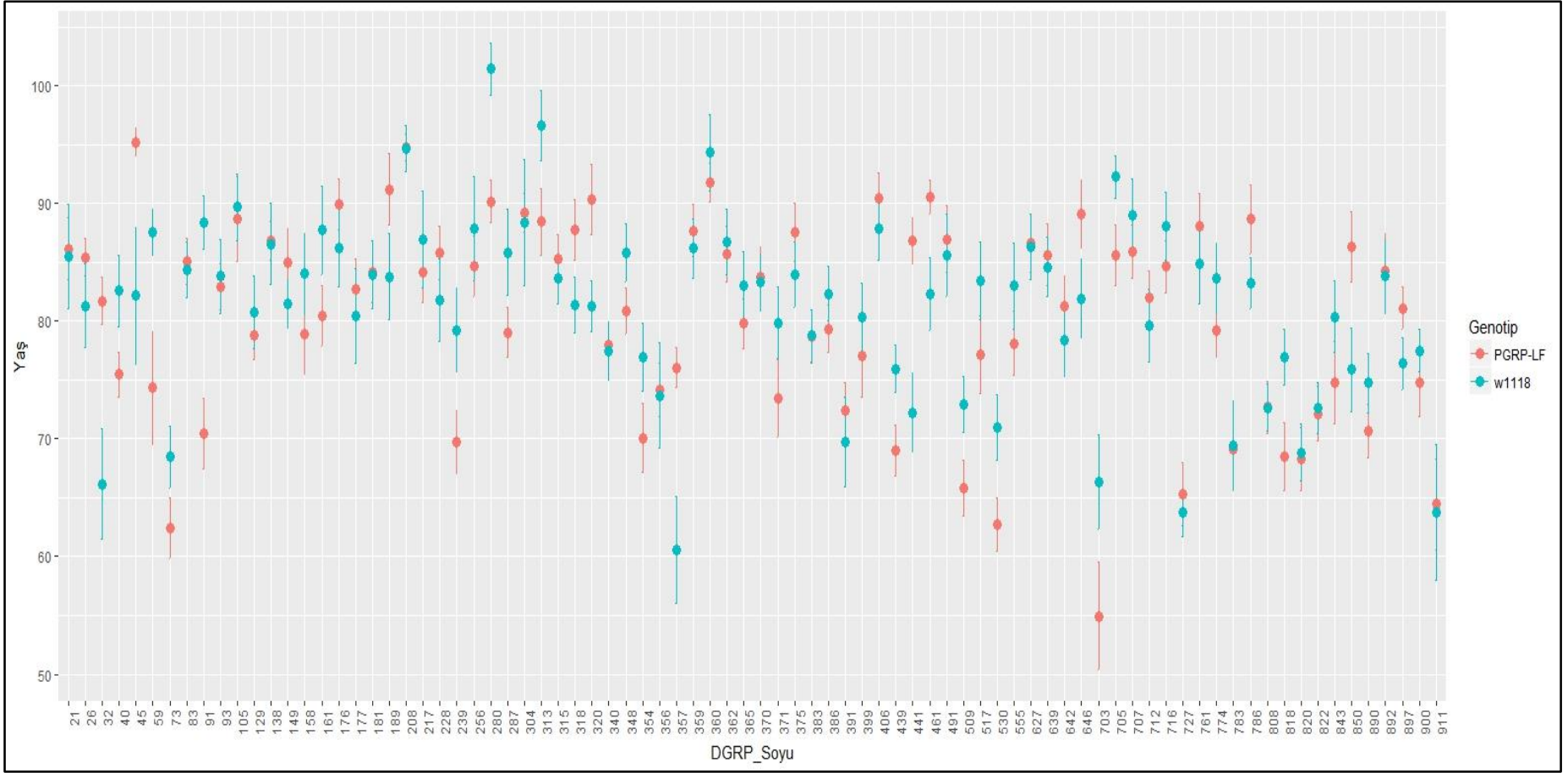
371	47	73,47	11,44	1,67	371	46	79,83	10,38	1,53	-8,65
375	51	87,55	8,70	1,21	375	54	83,98	10,16	1,38	4,07
383	54	78,72	8,23	1,12	383	55	78,76	8,25	1,11	-0,05
386	54	79,33	7,41	1,01	386	55	82,35	8,74	1,18	-3,79
391	47	72,38	8,25	1,20	391	50	69,72	13,32	1,88	3,68
399	52	77,06	12,51	1,73	399	52	80,29	10,39	1,44	-4,19
40	57	75,46	7,08	0,94	40	59	82,56	11,81	1,54	-9,41
406	49	90,41	7,70	1,10	406	41	87,85	8,50	1,33	2,83
439	59	69,03	8,33	1,08	439	58	75,95	7,69	1,01	-10,02
441	57	86,86	7,34	0,97	441	56	72,23	12,57	1,68	16,84
45	55	95,22	4,53	0,61	45	53	82,15	21,20	2,91	13,72
461	52	90,56	5,10	0,71	461	56	82,30	11,60	1,55	9,11
491	58	86,97	10,66	1,39	491	55	85,56	12,97	1,75	1,61
509	59	65,81	9,23	1,20	509	58	72,93	9,15	1,20	-10,81
517	57	77,18	12,44	1,65	517	55	83,45	12,29	1,66	-8,14
530	53	62,69	8,29	1,14	530	54	70,98	10,08	1,37	-13,21
555	59	78,08	10,45	1,36	555	54	82,98	13,42	1,83	-6,27
59	53	74,36	17,39	2,39	59	48	87,54	6,60	0,95	-17,73
627	52	86,62	8,86	1,23	627	48	86,31	9,42	1,36	0,35
639	56	85,64	9,96	1,33	639	56	84,61	9,29	1,24	1,21
642	56	81,21	9,71	1,29	642	51	78,35	10,88	1,52	3,52

646	54	89,07	10,48	1,43	646	51	81,90	11,89	1,67	8,05
703	59	54,95	17,75	2,31	703	58	66,38	15,2785	2,01	-20,80
705	61	85,59	9,86	1,26	705	52	92,27	6,48	0,89	-7,80
707	57	85,89	8,46	1,12	707	55	88,98	11,57	1,56	-3,59
712	59	81,97	8,83	1,15	712	56	79,59	11,54	1,54	2,89
716	59	84,63	8,62	1,12	716	50	88,06	10,29	1,45	-4,06
727	55	65,29	9,82	1,32	727	56	63,73	7,58	1,01	2,39
73	58	62,41	9,61	1,26	73	56	68,48	9,82	1,31	-9,72
761	55	88,05	10,27	1,38	761	56	84,91	12,93	1,73	3,57
774	56	79,25	8,77	1,17	774	52	83,63	10,62	1,47	-5,53
783	60	69,13	10,74	1,39	783	59	69,39	14,56	1,89	-0,37
786	54	88,65	10,83	1,47	786	54	83,19	7,97	1,08	6,16
808	59	72,68	8,61	1,12	808	58	72,66	7,79	1,02	0,03
818	58	68,48	11,07	1,45	818	53	76,94	8,44	1,16	-12,35
820	58	68,26	10,20	1,34	820	54	68,85	8,714	1,19	-0,87
822	56	72,13	8,57	1,15	822	56	72,59	8,04	1,07	-0,64
83	54	85,07	7,34	0,99	83	45	84,36	8,02	1,19	0,84
843	53	74,77	12,60	1,73	843	54	80,37	11,13	1,51	-7,48
850	58	86,31	11,36	1,49	850	52	75,87	12,67	1,76	12,10
890	58	70,62	8,66	1,14	890	59	74,73	9,83	1,27	-5,82
892	55	84,22	11,89	1,60	892	47	83,81	10,72	1,56	0,49

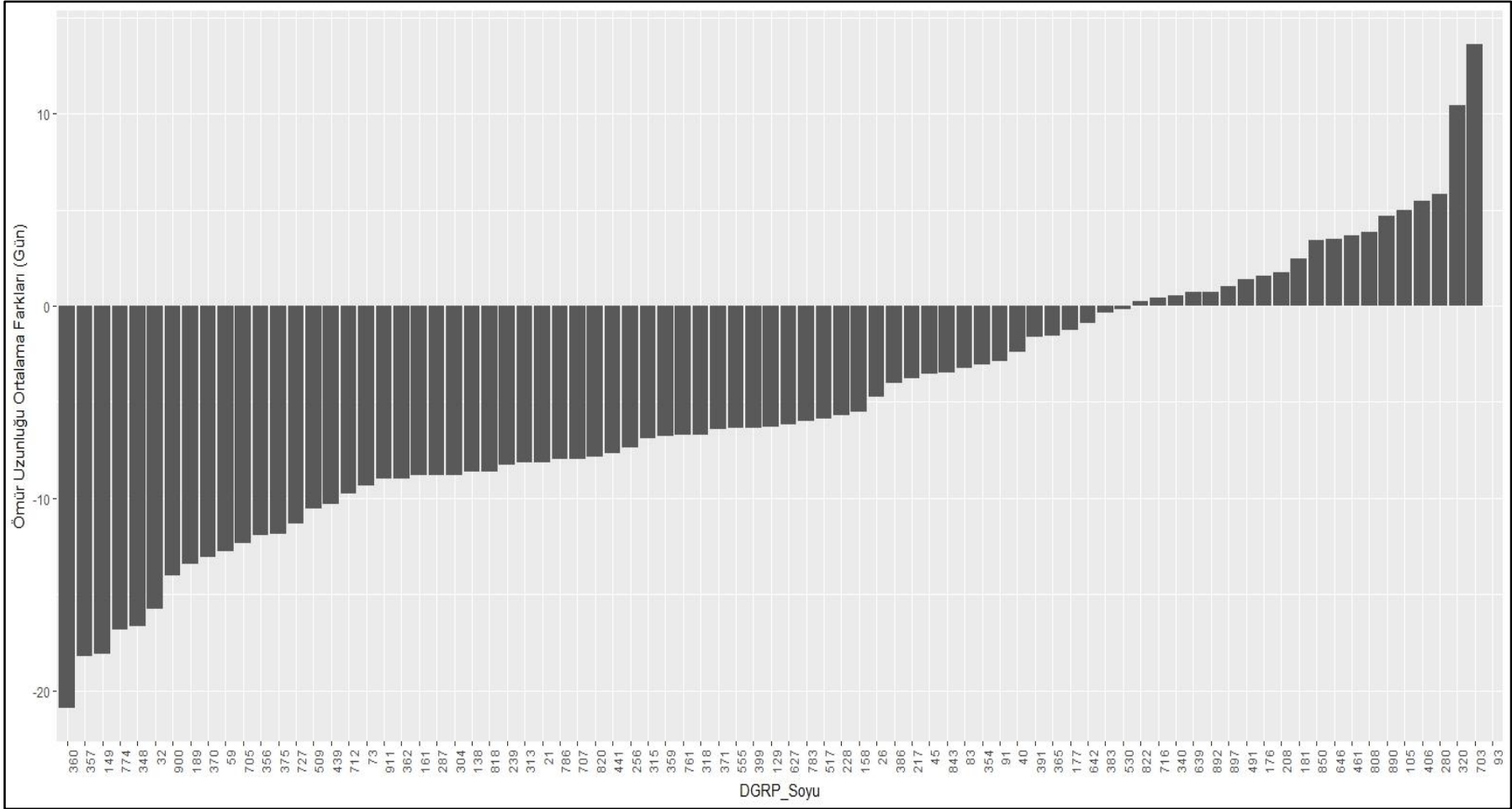
897	54	81,11	6,51	0,89	897	52	76,38	7,94	1,10	5,83
900	54	74,78	10,47	1,43	900	56	77,5	6,86	0,92	-3,64
91	55	70,45	10,89	1,47	91	54	88,37	8,45	1,15	-25,43
911	56	64,43	14,28	1,91	911	51	63,75	20,64	2,89	1,06
93	52	82,90	7,094	0,98	93	52	83,81	11,31	1,57	-1,09



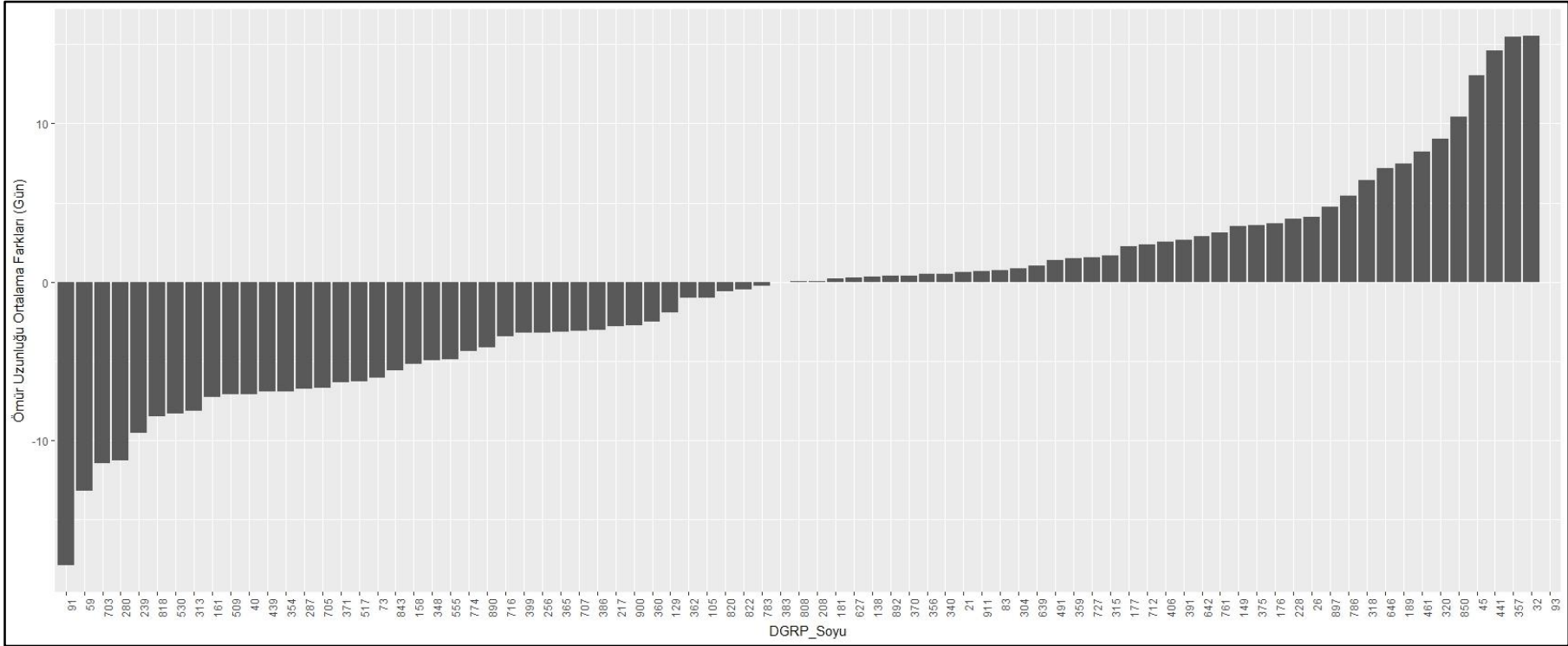
Şekil 4.3.1. Mutant ve kontrol soylarının DGRP'ye sokulmasıyla elde edilen erkek bireylerin ömür uzunluğu sonuçlarının error bar grafiği.



Şekil 4.3.2. Mutant ve kontrol soylarının DGRP'ye sokulmasıyla elde edilen dişi bireylerin ömür uzunluğu sonuçlarının error bar grafiği.



Şekil 4.3.3. Erkeklerde DGRP'ye sokulan mutant ve kontrol soylarına ait ömür uzunluğu farklarını gösteren grafik (Mutant ortalamalarından kontrol ortalamaları çıkarılmıştır).



Şekil 4.3.4. Dişilerde DGRP'ye sokulan mutant ve kontrol soylarına ait ömür uzunluğu farklarını gösteren grafik (Mutant ortalamalarından kontrol ortalamaları çıkarılmıştır).

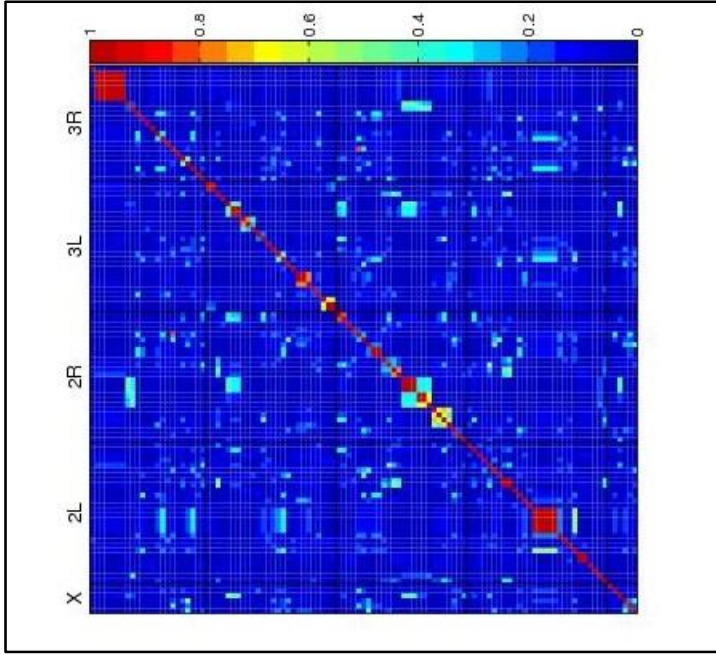
4.4. Genom Çaplı İlişkilendirme Analizlerinin (GWAS) Sonuçları

Yaşlandırma deneyleri sonucunda elde edilen veriler, dgrp2 veritabanına (<http://dgrp2.gnets.ncsu.edu/>) uygun formatta girilerek genom çaplı ilişkilendirme analizi yapılmıştır. Analizlerle ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

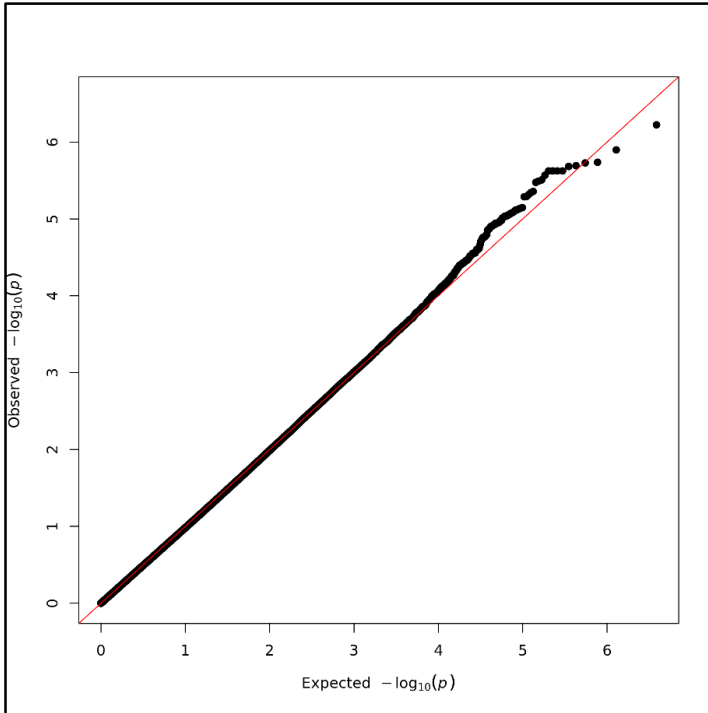
4.4.1. Kromozomlara Göre SNP Bağlantı Dengesizliği, Q-Q Grafikleri ve Manhattan Grafikleri

Genom çaplı ilişkilendirme analizlerinin prensibi SNP ilişkileneceklerine dayanmaktadır. Şekil 4.4.1.1.'de SNP'lerin bağlantı dengesizliği gösterilmektedir. r^2 bağlantı dengesizliği oranını temsil eder ve 0 ile 1 arasında değişir. r^2 1 iken kırmızı, 0 iken mavi gözükmektedir. Görüldüğü üzere yapılan analiz sonucunda oluşan bağlantı dengesizliği oldukça düşüktür. Bu durum elde edilen aday genlerin *PGRP-LF*le etkileşim içinde olduğunu doğrulamaktadır. Aynı şekilde "dgrp2" veritabanından elde edilen ve SNP ilişkileneceklerinin anlamlılığını gösteren Q-Q grafikleri de Şekil 4.4.1.2., Şekil 4.4.1.3. ve Şekil 4.4.1.4.'te verilmiştir. Grafiklerde, SNP'ler arasında herhangi bir ilişkilene olmaması durumu kırmızı çizgiyle gösterilmiştir. Gözlenen ve beklenen p değerleri ise eksenlerde belirtilmiştir. Şekillerde görüldüğü üzere SNP'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı etkileşimler vardır. Özellikle dişi ve erkek arasındaki fenotipik fark kendini belli etmektedir.

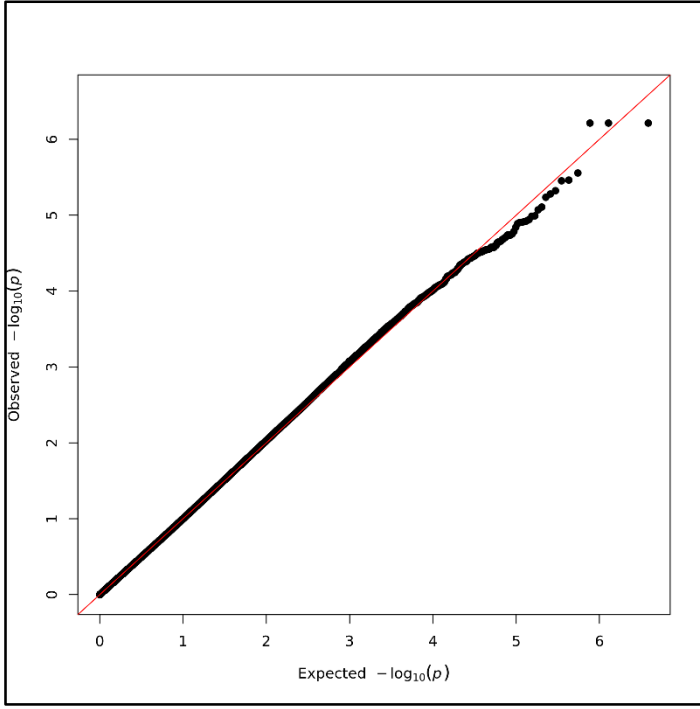
GWAS sonuçlarından elde edilen ilişkilenen SNP'lerin genomik lokasyonlarını ve ilişkilene düzeylerini göstermek amacıyla Manhattan grafikleri çizilmiştir. Her iki eşey için SNP isabet seviyelerini $p=10^{-5}$ eşğine göre tüm genoma dağılmış olarak gösteren Manhattan grafikleri, SNP isabetlerinin tamamı kullanılarak çizilmiştir (Şekil 4.4.1.5 ve Şekil 4.4.1.6). İstatistiksel anlam düzeyleri p değerlerinin negatif logaritması, $-\log(p)$ olarak verilmektedir. Eşik değeri olan $p=10^{-5}$ değeri her iki grafiğin üzerinde de yatay çizgiyle gösterilmektedir. Bu çizgiyi aşan SNP ilişkilenecekleri GWAS sonucunda saptanan aday genleri göstermektedir.



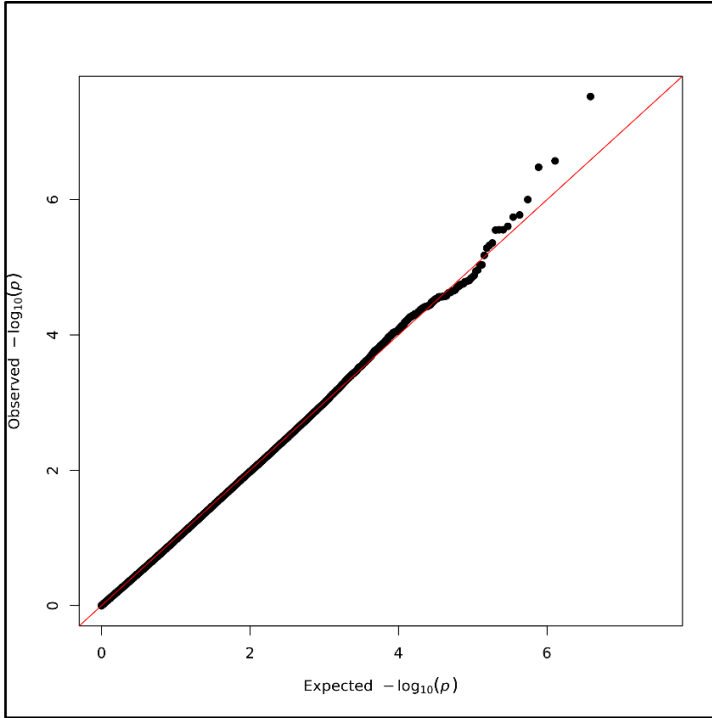
Şekil 4.4.1.1. Kromozomlara göre SNP bağlantı dengesizliğini gösteren grafik. (Mavi kısımlar: düşük bağlantı dengesizliği, kırmızı kısımlar: yüksek bağlantı dengesizliği.)



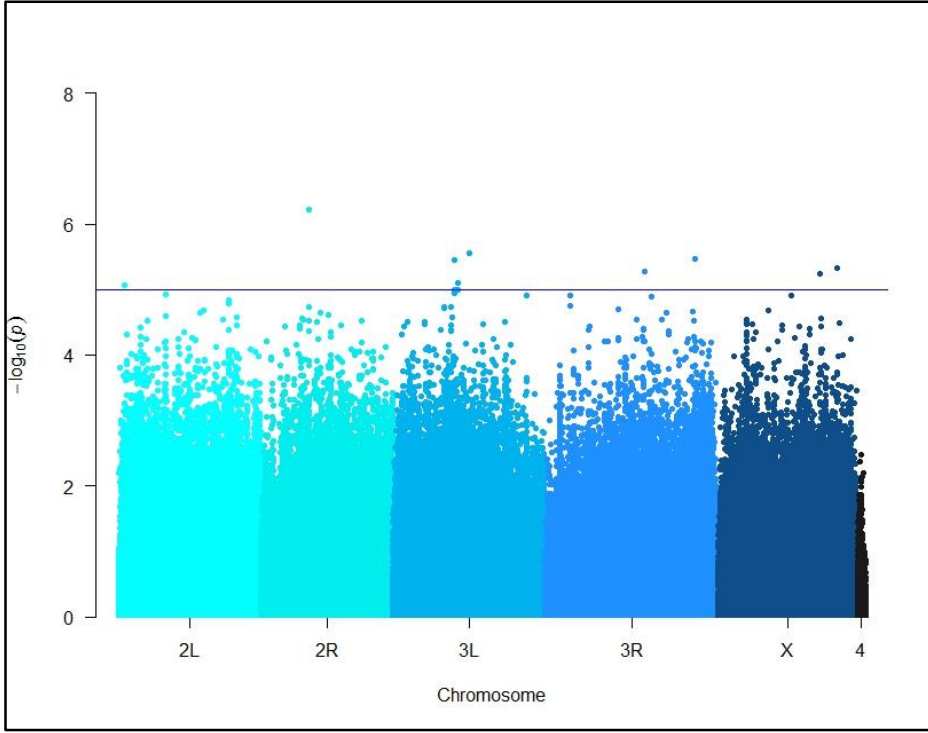
Şekil 4.4.1.2. Dişi bireyler açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği.



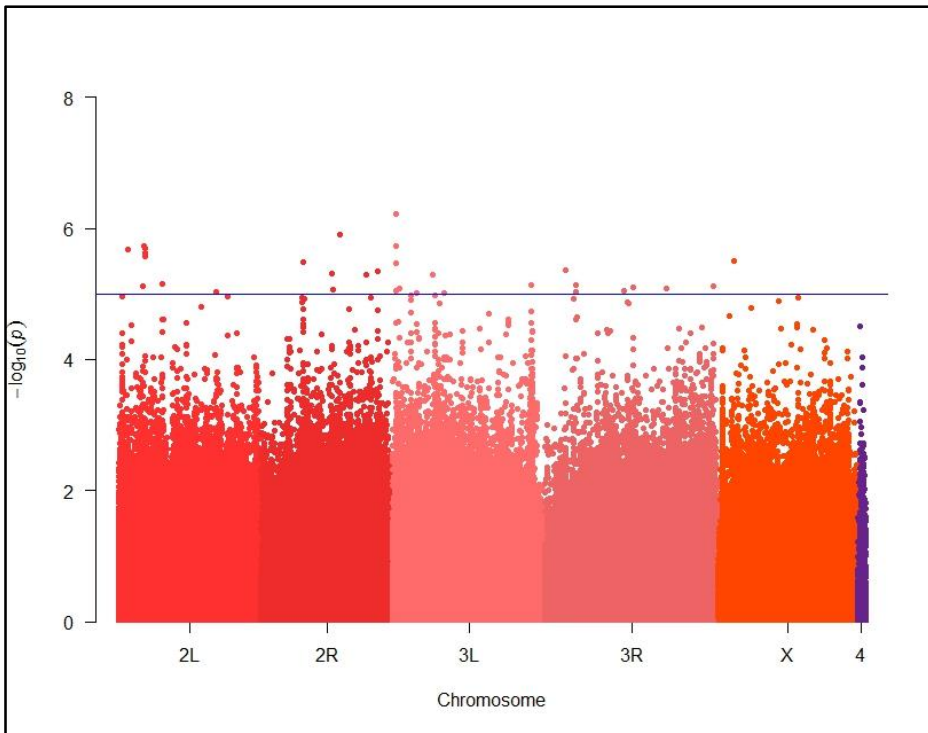
Şekil 4.4.1.3. Erkek bireyler açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği.



Şekil 4.4.1.4. Farklar açısından SNP ilişkilendirmelerinin anlamlılığını gösteren q-q plot grafiği.



Şekil 4.4.1.5. Erkeklerde GWAS sonuçlarından elde edilen SNP'lerin kromozomlara dağılımı.



Şekil 4.4.1.6. Dişilerde GWAS sonuçlarından elde edilen SNP'lerin kromozomlara dağılımı.

4.4.2. GWAS Sonucunda Elde Edilen Aday Genler

82 soy üzerinden gerçekleştirilen GWAS sonucunda elde edilen 52 genetik varyantın isimleri, Flybase kimlikleri, SNP isabet noktaları ve eşey bazında p değerleri Çizelge 4.4.2.1.'de verilmiştir. Görüldüğü üzere elde edilen tüm genetik varyantların anlamlılık dereceleri eşey bazında değişmektedir.

Çizelge 4.4.2.1 Yapılan GWA analizi sonucunda elde edilen genetik varyantların isimleri, FlyBase kimlikleri, SNP isabet noktaları ve eşey bazında p değerleri

Gen İsimleri	FlyBase Kimliği	SNP İsbet Noktaları	Dişi p Değeri	Erkek p Değeri
<i>Klar</i>	FBgn0001316	3L_496234_SNP	5,97E-07	0,7163
<i>Ths</i>	FBgn0033652	2R_7659462_SNP	0,3802	6,11E-07
<i>CG30463</i>	FBgn0050463	2R_12600289_INS	1,26E-06	0,1107
<i>Fs</i>	FBgn0259878	2R_11112152_SNP	0,004895	4,44E-05
<i>Atet</i>	FBgn0020762	2L_4340958_SNP	2,03E-06	0,439
<i>CG43729</i>	FBgn0263980	2R_11326703_SNP	4,85E-06	0,039
<i>CR43420</i>	FBgn0263339	2L_17894691_INS	2,14E-06	0,002547
<i>Alpha-Est10</i>	FBgn0015569	3R_3319094_SNP	4,39E-06	0,04705
<i>CG12325</i>	FBgn0033557	2R_6711721_SNP	3,22E-06	0,1703
<i>CG43401</i>	FBgn0263320	2L_1429276_SNP	2,08E-06	0,1431
<i>Hth</i>	FBgn0001235	3R_6343492_SNP	8,10E-05	0,0163
<i>CR16735</i>	FBgn0037666	3R_5079222_SNP	7,27E-06	0,2444
<i>Sgg</i>	FBgn0003371	X_2552741_SNP	3,11E-06	0,2156
<i>Blw</i>	FBgn0011211	2R_18688996_SNP	4,55E-06	0,9933
<i>Raw</i>	FBgn0003209	2L_8736174_SNP	2,69E-06	0,01046

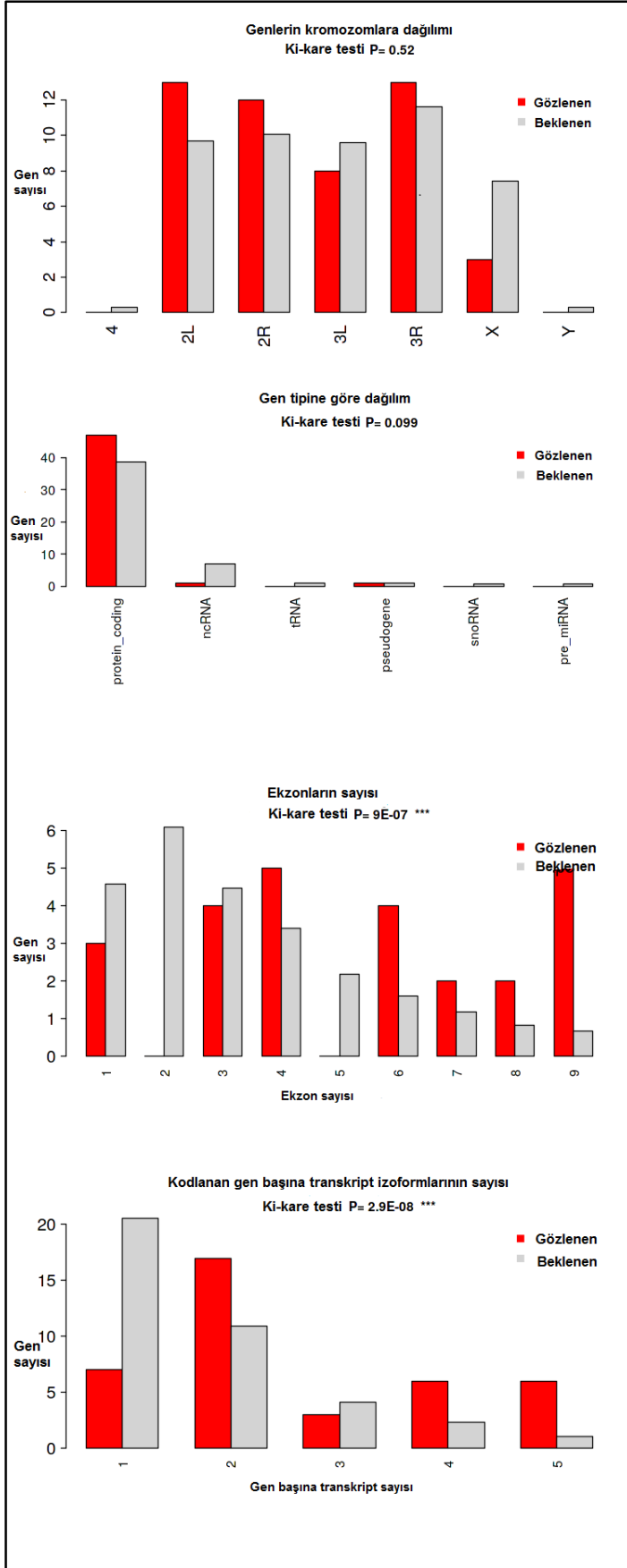
<i>CG32103</i>	FBgn0052103	3L_12395943_SNP	0,6467	2,78E-06
<i>CG12325</i>	FBgn0033557	2R_6712566_SNP	3,03E-05	0,02939
<i>DopR</i>	FBgn0011582	3R_10018724_SNP	3,57E-05	0,02761
<i>CG15651</i>	FBgn0034567	2R_16871562_SNP	5,15E-06	0,1177
<i>CG15803</i>	FBgn0038606	3R_14162234_SNP	8,02E-06	0,998
<i>Ush</i>	FBgn0003963	2L_506774_SNP	1,10E-05	0,03459
<i>CG13579</i>	FBgn0035010	2R_20363658_SNP	8,86E-06	0,00387
<i>CG34382</i>	FBgn0085411	3L_9877602_SNP	0,9904	1,02E-05
<i>Pvf3</i>	FBgn0085407	2L_7112723_SNP	7,12E-06	0,8889
<i>CG30089</i>	FBgn0050089	2R_11629620_SNP	8,68E-06	0,3017
<i>Anxb11</i>	FBgn0030749	X_16315216_SNP	0,581	5,81E-06
<i>Dp</i>	FBgn0053196	2L_4577154_SNP	0,1481	3,02E-05
<i>CG12325</i>	FBgn0033557	2R_6712170_SNP	0,0001214	8,71E-06
<i>Mbc</i>	FBgn0015513	3R_19622042_SNP	8,29E-06	0,5876
<i>CG8420</i>	FBgn0037664	3R_5077037_DEL	9,23E-06	0,2316
<i>Ed</i>	FBgn0000547	2L_4052529_SNP	1,83E-06	0,9934
<i>CG33057</i>	FBgn0053057	3L_8398291_SNP	9,54E-06	0,12
<i>CG15145</i>	FBgn0032649	2L_17532096_SNP	1,11E-05	0,2488
<i>l(2)35Di</i>	FBgn0001989	2L_15750556_SNP	9,14E-06	0,3863
<i>CG43760</i>	FBgn0264260	2L_15777799_SNP	0,0002038	1,49E-06
<i>Taf2</i>	FBgn0011836	3L_9880972_SNP	0,6233	3,52E-06
<i>CG3328</i>	FBgn0034985	2R_20060937_SNP	6,39E-06	0,0002618
<i>CG13579</i>	FBgn0035010	2R_20364422_SNP	1,53E-05	0,005504

<i>CG14330</i>	FBgn0038512	3R_13281664_SNP	1,32E-05	0,6271
<i>Pyd</i>	FBgn0262614	3R_4698532_SNP	1,19E-05	0,9503
<i>Ahcy89E</i>	FBgn0015011	3R_12808445_SNP	9,08E-06	0,7342
<i>5-HT7</i>	FBgn0004573	3R_26804910_SNP	3,82E-06	0,01344
<i>Aly</i>	FBgn0004372	3L_3025834_SNP	1,05E-05	0,5625
<i>Bun</i>	FBgn0259176	2L_12478281_SNP	0,08298	5,87E-05
<i>CG42732</i>	FBgn0261698	2R_6214523_SNP	0,05233	3,59E-05
<i>CG12325</i>	FBgn0033557	2R_6712107_SNP	1,21E-05	0,1839
<i>Frac</i>	FBgn0035798	3L_7558303_INS	1,41E-05	0,205
<i>CG34347</i>	FBgn0085376	3R_27186313_DEL	7,64E-06	0,4752
<i>CG1942</i>	FBgn0033215	2R_3601641_DEL	0,008606	9,51E-06
<i>CG14982</i>	FBgn0035477	3L_3944904_SNP	9,69E-06	0,9524
<i>GfA</i>	FBgn0086778	X_19238119_SNP	0,5217	4,75E-06
<i>CG34139</i>	FBgn0083975	3R_16048539_SNP	0,433	5,25E-06

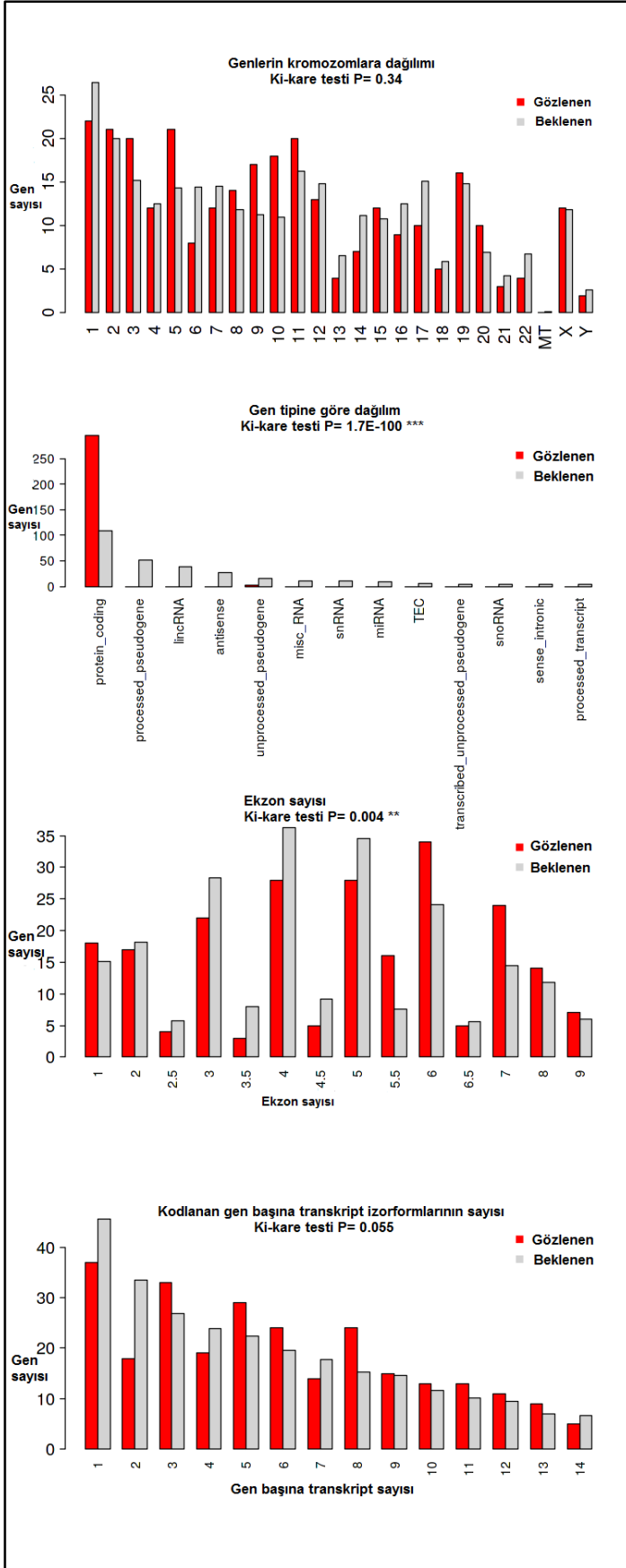
4.4.3. Elde Edilen Genetik Varyantların Kromozomlardaki Dağılımı

GWAS sonucunda, yüksek anlamlılık derecesine sahip ($p < 10^{-5}$) 52 genetik varyant elde edilmiştir. *D. melanogaster* aday genlerinin kromozomlar üzerinde dağılımları incelendiğinde 2. kromozomun sağ ve sol koluna, 3. kromozomun sağ koluna beklenenden daha yüksek, X kromozomuna ise beklenenden daha az sayıda gen isabet ettiği görülmektedir. Gen tipi açısından ise beklenene uygun şekilde genlerin büyük çoğunluğunun protein kodlayıcı gen olduğu görülmektedir (Şekil 4.4.3.1.). Kodlayıcı genlerde bulunan ekzon sayısı açısından ise bulunan aday genlerin çok sayıda ekzon bulunduran genler açısından beklenenden oldukça yüksek olduğu görülmektedir. GWAS sonucunda elde edilen genetik varyantların aynı şekilde insan ortologları Şekil 4.4.3.2.'de verilmiştir. Şekil 4.4.3.2.'de, özellikle 5. 9. ve 10.

Kromozomlara beklenenden daha çok gen isabet ettiği gör÷lmektedir. Gen tipi olarak beklenenden çok daha yüksek sayıda protein kodlayan gen bulunmaktadır.



Şekil 4.4.3.1. Drosophila'da bulunan genetik varyantların kromozom, gen tipi, ekzon sayısı dağılımı.



Şekil 4.4.3.2. İnsanda bulunan genetik varyantların kromozom, gen tipi, ekzon sayısı dağılımı.

4.4.4. Aday Genlerin Görev Aldığı Biyolojik Süreçler ve Moleküler Fonksiyonları

Tez kapsamında GWAS sonucunda elde edilen aday genler, moleküler fonksiyonları ve katıldıkları biyolojik süreçlere göre de ayrılmışlardır. Çizelge 4.4.4.1 incelendiğinde genlerin büyük bir çoğunluğunun hücresel ve metabolik süreçlere katıldığı görülmektedir. Özellikle bağlanma ve aktivasyon süreçlerinde rol alan genler aynı zamanda gelişimde de etkilidir. *raw*, *Pvf3*, *Taf2*, *pyd*, *sgg*, *ush* genleri ise bağışıklık sistemiyle ilgili süreçlerde rol alırlar. Aynı zamanda sinir sistemiyle ilişkili yolaklarda da görev alırlar.

Çizelge 4.4.4.1. GWAS sonucunda elde edilen aday genlerin görev aldığı biyolojik süreçleri ve moleküler fonksiyonlarını gösteren çizelge.

Genler	Tür	Genlerin Görev Aldığı Biyolojik Süreçler ve Moleküler Fonksiyonları
<i>5-HT7</i>	<i>D.melanogaster</i>	serotonin reseptör sinyal yolu, kimyasal sinaptik iletim, kur davranışı, kanat damarı oryantasyonu, beslenme, dopamin nörotransmitter reseptör aktivitesi
<i>Atet</i>	<i>D.melanogaster</i>	nörogenez, transmembran taşıma, ATP bağlama, ATPaz aktivitesi,
<i>Ahcy89E</i>	<i>D.melanogaster</i>	tek karbonlu metabolik süreç, S-adenosilhomosistein katabolik süreci, hidrolaz aktivitesi, NAD bağlanması,
<i>AnxB11</i>	<i>D.melanogaster</i>	Hücre adezyonu, hücre şeklinin düzenlenmesi, aktin bağlanma, kalsiyum iyonu bağlanma, kalsiyum bağımlı fosfolipid bağlanması,
<i>CG12325</i>	<i>D.melanogaster</i>	açlığa hücresel tepki, nörogenez , snoRNA bağlayıcı,
<i>raw</i>	<i>D.melanogaster</i>	epitel morfogenezi, dorsal kapatma, merkezi sinir sistemi gelişimi, periferik sinir sistemi gelişimi, tükürük bezi morfogenezi, protein lokalizasyonu, hücre şeklinin düzenlenmesi, JNK kaskad regülasyonu, otofaji

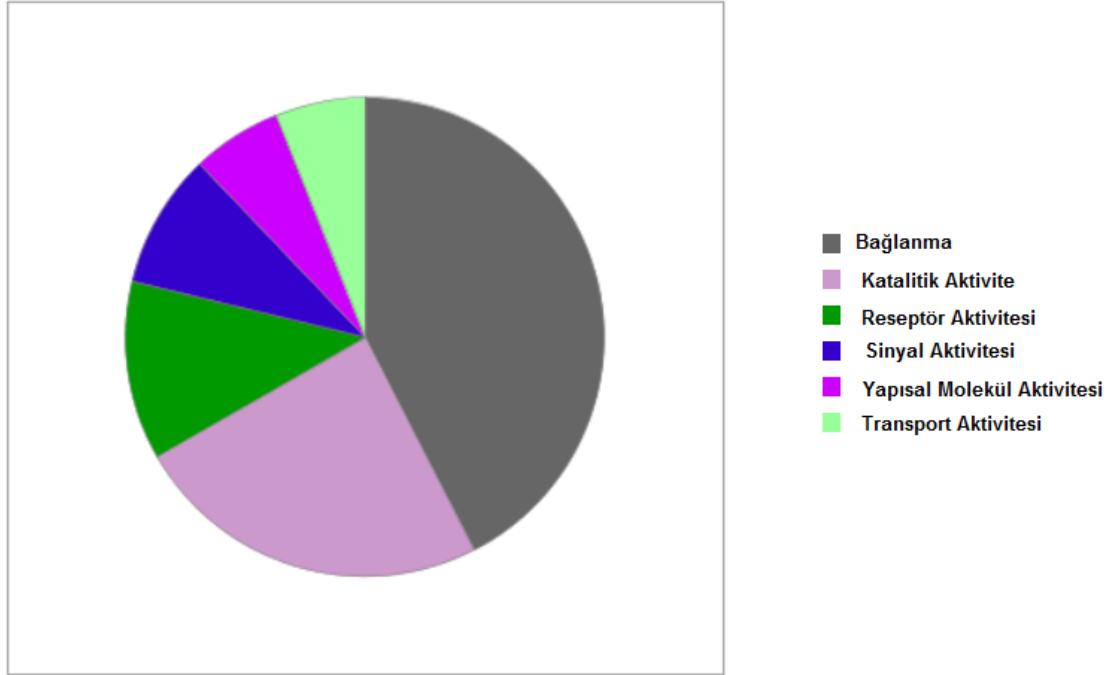
CG13579	<i>D.melanogaster</i>	G-protein bağlı reseptör sinyalizasyon yolu, nöropeptid sinyal yolu
CG14330	<i>D.melanogaster</i>	-
CG14982	<i>D.melanogaster</i>	-
CG15145	<i>D.melanogaster</i>	-
CG15651	<i>D.melanogaster</i>	-
CG15803	<i>D.melanogaster</i>	protein C-terminali bağlanması
CG1942	<i>D.melanogaster</i>	mezoderm gelişimi, transferaz aktivitesi,
CG30089	<i>D.melanogaster</i>	-
CG30463	<i>D.melanogaster</i>	polipeptit N-asetilgalaktosaminiltransferaz aktivitesi, karbonhidrat bağlanması, metal iyon bağlanması,
CG32103	<i>D.melanogaster</i>	Translasyon, transmembran taşıma, ribozom yapısal bileşeni, kalsiyum iyonu bağlanması,
CG33057	<i>D.melanogaster</i>	tRNA'nın endonükleolitik bölünme ve ligasyon yoluyla birleştirilmesi, transferaz aktivitesi, fosfor içeren grupların aktarılması,
CG3328	<i>D.melanogaster</i>	transkripsiyonun düzenlenmesi, DNA bağlanması, transkripsiyon faktörü aktivitesi, sekansa spesifik DNA bağlanması,
CG34347	<i>D.melanogaster</i>	Ağrı algısı, aktomisin yapı organizasyonu, hücre iskeleti yapısal bileşen, hücre iskelet proteini bağlanması,
CG34382	<i>D.melanogaster</i>	-
CG42732	<i>D.melanogaster</i>	potasyum iyon taşıma, nörogenез, kalsiyum ile aktive edilmiş potasyum kanalı aktivitesi,
CG43401	<i>D.melanogaster</i>	-
CG43729	<i>D.melanogaster</i>	hücre içi sinyal iletimi, hücre boyutunun pozitif regülasyonu, metal iyonu bağlanması,
CG43760	<i>D.melanogaster</i>	-
CG8420	<i>D.melanogaster</i>	Hücre çoğalması
Dop1R1	<i>D.melanogaster</i>	sinaptik iletim, dopamin reseptör sinyal yolu, öğrenme, hafıza, olfactory öğrenme, görsel öğrenme, açlık, dopamin nörotransmitter reseptör aktivitesi, dopamin bağlanması,

<i>Fs</i>	<i>D.melanogaster</i>	aktivin reseptör sinyalizasyon yolağının regülasyonu,
<i>Nlg4</i>	<i>D.melanogaster</i>	uyku, sinaptik iletim, karboksilik ester hidrolaz aktivitesi,
<i>Pvf3</i>	<i>D.melanogaster</i>	tükürük bezi morfogenezi, hemosit göçü, büyüme faktörü aktivasyonu,
<i>Taf2</i>	<i>D.melanogaster</i>	DNA transkripsiyonu başlatma, RNA polimeraz II promotöründen transkripsiyon, JAK-STAT kaskadının pozitif regülasyonu, transkripsiyon faktörü aktivitesi, kromatin bağlanması, çinko iyonu bağlanması,
<i>alpha-Est10</i>	<i>D.melanogaster</i>	Nöron/hücre adezyonu, sinaps düzenlenmesi, kanat morfojenezi, sinaptik iletim, reseptör aktivitesi, hidrolaz aktivitesi, neurexin ailesi protein bağlanması, karboksilik ester hidrolaz aktivitesi,
<i>aly</i>	<i>D.melanogaster</i>	kromatin organizasyonu, transkripsiyon, hücre döngüsü, spermatogenez, gen ekspresyonunun regülasyonu, protein bağlama,
<i>blw</i>	<i>D.melanogaster</i>	fagositoz, spermatid gelişimi, protein transportu, ağrı algısı, lipid depolama, elektron transport zinciri, büyüme, ATP bağlama,
<i>bun</i>	<i>D.melanogaster</i>	bileşik göz fotoreseptör hücre farklılaşması, transkripsiyon, koryon içeren yumurta kabuğu oluşumu, periferik sinir sistemi gelişimi, hücre çoğalması pozitif regülasyonu, yetişkin yaşam süresinin belirlenmesi, uyku, tükürük bezi otofajisi, segmentasyon, doku rejenerasyonu, apoptotik sürecin negatif düzenlenmesi,
<i>dpy</i>	<i>D.melanogaster</i>	epitelyal hücre gelişimi, transkripsiyon, kitin düzenlenmesi transkripsiyon faktörü aktivitesi, diziye özgü DNA bağlanması, kalsiyum iyonu bağlanması, çinko iyonu bağlanması,
<i>ed</i>	<i>D.melanogaster</i>	epitel morfogenezi, erkek-agresif davranış, epidermal büyüme faktörü reseptör sinyal yolu, dorsal kapanma, duyu organ gelişimi, imajinal disk gelişimi, hücre şeklinin düzenlenmesi, yara iyileşmesi, yanıl inhibisyon, organ büyümesinin negatif düzenlenmesi,

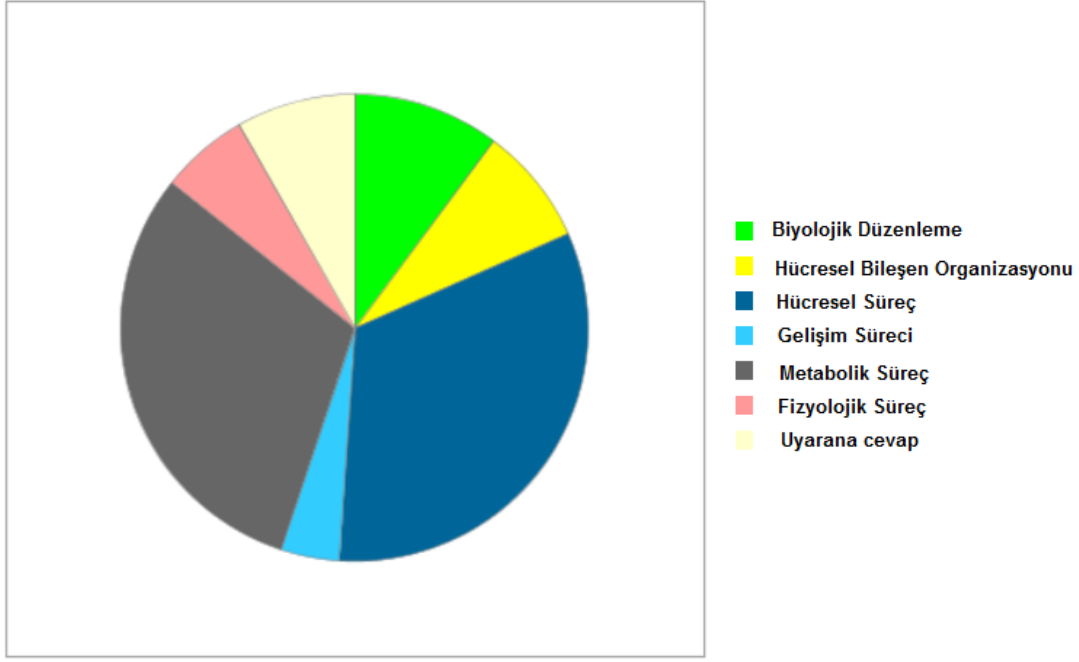
		nörojenezin negatif regülasyonu, protein bağlanması,
<i>frac</i>	<i>D.melanogaster</i>	Akson hedef tanıma, kalsiyum iyon bağlanması
<i>hth</i>	<i>D.melanogaster</i>	göz gelişimi, RNA polimeraz II promotöründen transkripsiyonun düzenlenmesi, kafa gelişimi, beyin gelişimi, periferik sinir sistemi gelişimi, imajinal disk morfogenezi, kas gelişimi, segmentasyon, nöron farklılaşmasının düzenlenmesi, bileşik göz gelişimi, DNA bağlanması, transkripsiyon faktörü aktivitesi , protein bağlanması,
<i>klar</i>	<i>D.melanogaster</i>	bileşik göz morfojenezi, lipid taşıma, nükleus organizasyonu, larval visseral kas gelişimi, intraselüler transport düzenleme, hareket, uçuş, protein bağlanması, kinezin bağlanması,
<i>l(2)37Cd</i>	<i>D.melanogaster</i>	Fagositoz, mitokondriyal elektron taşıma, NADH dehidrogenaz aktivitesi
<i>mbc</i>	<i>D.melanogaster</i>	hücre morfogenezi, iskelet organizasyonu, dorsal kapanma, merkezi sinir sistemi gelişimi, myoblast füzyonu, larval viseral kas gelişimi, aktin hücre iskelet organizasyonu, GTPaz aktivasyonu, protein bağlanması,
<i>nAChRalph a7</i>	<i>D.melanogaster</i>	katyon taşıma, kimyasal sinaptik iletim, görsel davranış, asetilkolin ile aktive edilmiş katyon seçici kanal aktivitesi, asetilkolin bağlanması,
<i>pyd</i>	<i>D.melanogaster</i>	bileşik göz morfojenezi, hücre polaritesinin kurulması, Notch sinyal yolağı, JNK kaskadı, dorsal kapanma, açık trakeal sistem geliştirme, embriyonik hücre şeklinin düzenlenmesi, trake morfogenezi, ubiquitin protein ligaz bağlanması,
<i>Sgg</i>	<i>D.melanogaster</i>	epitel hücre morfojenezi, protein fosforilasyonu, Notch sinyal yolağı, duyu organı gelişimi, kalp gelişimi, sirkadiyen ritim, koku öğrenme, Wnt sinyal yolu, hemosit farklılaşmasının düzenlenmesi, oogenez, anesteziye yanıt, protein kinaz aktivitesi , protein bağlanması, ATP bağlanması,

<i>Ths</i>	<i>D.melanogaster</i>	mezoderm gelişimi, larval visseral kas gelişimi, fibroblast büyüme faktörü reseptör sinyal yolağı, glial hücre farklılaşması, myoblast göçü, büyüme faktörü aktivitesi,
<i>ush</i>	<i>D.melanogaster</i>	RNA polimeraz II promotöründen transkripsiyonun negatif regülasyonu, AMP biyosentez regülasyonu, kalp gelişimi, hücre kaderi negatif düzenlemesi, lenf bezi gelişimi, bileşik göz gelişimi, nükleik asit bağlanması, DNA bağlanması, protein bağlanması, transkripsiyon faktörü bağlanması, metal iyonu bağlanması,

Aday genlerin görev aldığı biyolojik süreçler ve moleküler fonksiyonları Şekil 4.4.4.1. ve 4.4.4.2.'deki grafiklerde gösterilmiştir. Genlerin büyük bir kısmı bağlanma fonksiyonuna sahiptir. Bağlanmayı katalitik aktivite takip etmektedir (Şekil 4.4.4.1.). Katıldıkları biyolojik süreçlerde ise genlerin, en fazla hücresel ve metabolik süreçlerde görev aldığı görülmektedir (Şekil 4.4.4.2.).



Şekil 4.4.4.1. GWAS sonucunda elde edilen genetik varyantların moleküler fonksiyonlarını gösteren grafik.



Şekil 4.4.4.2. GWAS sonucunda elde edilen genetik varyantların görev aldığı biyolojik süreçler.

4.5. GWAS Sonucunda Elde Edilen Aday Genlerine Ait Gen Ontoloji Analizleri

82 DGRP soyu aday gen listesi üzerinden gerçekleştirilen *Drosophila melanogaster* gen ontoloji zenginleştirme testi sonuçları, aday gen listesinde bulunan genlerin büyük bir çoğunluğunun gelişim süreci, hücresel seviyede düzenleyici süreçler, organizmal seviyede düzenleyici süreçler ve sinyal süreçleri altında toplandığı görülmektedir (Çizelge 4.5.1.). Bununla birlikte bağışıklık sistemiyle doğrudan ya da dolaylı ilişkili çok sayıda sürecin yer aldığı da görülmektedir. Bağışıklık sistemiyle bir tanesi doğrudan 19 tanesi dolaylı ilişkili 20 gen ontoloji grubunda 28 farklı *D. melanogaster* geni (52 aday gen arasından) yer almaktadır. Yani ömür uzunluğu ortalamaları açısından elde edilen aday genlerin yaklaşık %54'ü bağışıklık sistemiyle ilişkilidir ve DGRP soyu genomlarına sokulan bağışıklık düzenleyici gen *PGRP-LF* ile etkileşim içerisinde ömür uzunluğunu etkilemektedir. Bağışıklık sistemiyle ilişkili olduğu gösterilen bu genler aynı zamanda yukarıda bahsedilen gelişim süreci, hücresel seviyede düzenleyici süreçler, organizmal seviyede düzenleyici süreçler ve sinyal süreçleri içerisinde farklı düzeylerde yer almaktadır. Etkileşimsel GWAS modeli, *D. melanogaster* açısından ömür uzunluğuna etki eden çok sayıda gene işaret etmektedir.

Çizelge 4.5.1. GWAS sonucunda elde edilen *D. melanogaster* aday genlerinin gen kuvvetlendirme analizi sonucunda ortaya çıkan gen ontoloji yüksek seviye gruplandırılmalarına ilişkin çizelge (Koyu pembe: bağışıklık sistemiyle doğrudan ilişkili gen ontoloji terimleri, açık pembe: bağışıklık sistemiyle dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri, açık mavi: hem yaşlanma hem de bağışıklık sistemiyle dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri, sarı: yaşlanma ile dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri).

N	Gen Ontoloji Kategorisi	Genler
23	Biyolojik düzenleme	<i>5-HT7, CG13579, CG34139, hth, sgg, ush, blw, DopR, Taf2, Fs, mbc, ths, CG3328, dp, Pvf3, gfA, bun, CG43729, ed, raw, pyd, klar, aly</i>
22	Çoklu organizmal süreç	<i>CG34139, hth, sgg, bun, aly, CG8420, CG30463, Pvf3, ed, ush, mbc, ths, klar, raw, 5-HT7, blw, DopR, frac, dp, gfA, CG42732, pyd</i>
22	Biyolojik düzenlenmesi sürecin	<i>5-HT7, CG13579, CG34139, hth, sgg, ush, DopR, Taf2, Fs, mbc, ths, CG3328, dp, Pvf3, gfA, bun, CG43729, ed, raw, pyd, klar, aly</i>
22	Hücreyel düzenlenmesi sürecin	<i>5-HT7, CG13579, CG34139, hth, sgg, ush, DopR, Taf2, Fs, mbc, ths, CG3328, dp, Pvf3, gfA, bun, CG43729, ed, raw, klar, aly, pyd</i>
19	Sinyalizasyon	<i>5-HT7, CG13579, CG34139, sgg, DopR, Fs, mbc, ths, Pvf3, gfA, CG43729, ed, raw, ush, bun, hth, Taf2, dp, pyd</i>
19	Gelişim süreci	<i>CG34139, hth, sgg, bun, Pvf3, ed, ush, mbc, ths, klar, raw, aly, blw, frac, dp, CG42732, pyd, CG43729, CG1942</i>
19	Uyarana tepki	<i>5-HT7, CG13579, sgg, DopR, Fs, mbc, ths, CG32103, Pvf3, gfA, CG43729, CG12325, ed, raw, ush, bun, hth, Taf2, pyd</i>
18	Anatomik yapı gelişimi	<i>CG34139, hth, sgg, bun, Pvf3, ed, ush, mbc, ths, klar, raw, blw, frac, dp, CG42732, pyd, CG1942, aly</i>

18	Uyaranlara hücrenel cevap	<i>5-HT7, CG13579, sgg, DopR, Fs, mbc, ths, Pvf3, gfA, CG43729, CG12325, ed, raw, ush, bun, hth, Taf2, pyd</i>
16	Lokalizasyon	<i>CG32103, CG34139, Atet, gfA, CG42732, pyd, blw, Pvf3, klar, hth, raw, mbc, ths, l(2)37Cd, bun, sgg</i>
15	Hücrenel organizasyonu bileşen	<i>CG12325, CG34139, CG34347, Taf2, klar, sgg, CG43729, ed, raw, aly, mbc, frac, bun, CG42732, pyd</i>
13	Anatomik yapı morfogenezi	<i>ed, sgg, hth, klar, raw, ush, mbc, frac, dp, Pvf3, bun, CG42732, pyd</i>
12	Uyaranlara yanıtın düzenlenmesi	<i>sgg, Fs, ths, Pvf3, ed, raw, hth, ush, DopR, Taf2, bun, pyd</i>
12	Biyolojik düzenlenmesi özelliğın	<i>gfA, CG43729, ed, klar, raw, sgg, ush, blw, DopR, dp, bun, pyd</i>
11	Üreme	<i>sgg, bun, aly, CG8420, CG30463, ed, klar, raw, 5-HT7, blw, mbc</i>
11	Sinyalizasyonunu düzenlenmesi	<i>CG34139, sgg, Fs, ths, Pvf3, ed, raw, hth, Taf2, bun, pyd</i>
10	Biyosentetik süreç	<i>hth, ush, Taf2, aly, blw, CG3328, CG30463, dp, bun, CG15651</i>
10	Metabolik sürecın düzenlenmesi	<i>hth, sgg, ush, Taf2, CG3328, dp, bun, raw, aly, pyd</i>
10	Çok hücreli organizma üremesi	<i>bun, aly, CG8420, CG30463, ed, klar, sgg, 5-HT7, blw, mbc</i>
10	Lokalizasyonun kurulması	<i>CG32103, CG34139, Atet, gfA, CG42732, blw, hth, klar, l(2)37Cd, sgg</i>
9	Üreme süreci	<i>sgg, bun, aly, ed, klar, raw, 5-HT7, blw, mbc</i>
9	Çok hücreli organizma sürecının düzenlenmesi	<i>ed, hth, klar, sgg, DopR, bun, pyd, raw, ush</i>
8	Üreme ile ilgili gelişim süreci	<i>bun, ed, klar, raw, sgg, aly, blw, mbc</i>
8	Eşeyli üreme	<i>bun, aly, ed, klar, sgg, 5-HT7, blw, mbc</i>

8	Hücrenel bileşen biyogenezi	CG12325, CG34139, Taf2, ed, klar, sgg, bun, pyd
8	Gelişim sürecinin düzenlenmesi	ed, hth, klar, raw, sgg, bun, pyd, ush
7	Strese yanıt	CG12325, raw, ed, sgg, DopR, bun, pyd
7	Makromolekül lokalizasyonu	pyd, Atet, hth, klar, raw, blw, sgg
7	Biyolojik sürecin negatif düzenlenmesi	sgg, ush, Fs, ed, raw, klar, bun
6	Büyüme	ed, sgg, blw, mbc, bun, raw
6	Lokomosyon	Pvf3, klar, DopR, mbc, ths, bun
6	Biyolojik sürecin pozitif düzenlenmesi	hth, sgg, Taf2, Fs, aly, bun
6	Moleküler fonksiyonun düzenlenmesi	ush, blw, mbc, ths, Pvf3, sgg
5	Davranış	ed, sgg, 5-HT7, DopR, gfA
5	Morfogenezde anatomik yapı oluşumu	ed, klar, mbc, bun, hth
5	Hücrenel lokalizasyon	CG34139, pyd, klar, hth, sgg
4	Dış uyaranlara cevap	CG12325, sgg, ush, DopR
4	Büyümenin düzenlenmesi	ed, sgg, mbc, bun
4	Kimyasallara cevap	DopR, CG32103, sgg, ths
4	Gelişimsel büyüme	ed, sgg, bun, raw
4	Hücre hareketliliği	Pvf3, mbc, ths, bun
4	Hücrenin lokalizasyonu	Pvf3, mbc, ths, bun
3	Bağışıklık sistemi süreci	Pvf3, sgg, ush
3	Hücre adezyonu	CG34139, ed, pyd
3	Biyolojik adezyon	CG34139, ed, pyd
3	Hücrenel bileşen biyogenezinin düzenlenmesi	Taf2, klar, sgg
2	Bağışıklık sistemi gelişimi	Pvf3, ush

2	Bağışıklık sistemi sürecinin düzenlenmesi	<i>sgg, ush</i>
2	Lokomotor davranış	<i>gfA, sgg</i>
2	Hücre çoğalması	<i>hth, bun</i>
2	Abiyotik uyarana cevap	<i>DopR, gfA</i>
2	Hücre büyümesi	<i>bun, raw</i>
2	Hücre döngüsü süreci	<i>sgg, aly</i>
2	Lokalizasyon düzenlenmesi	<i>klar, sgg</i>
2	Hemosit farklılaşması	<i>sgg, ush</i>

82 DGRP soyu *D.melanogaster* aday gen listesi üzerinden elde edilen *Homo sapiens* ortologları ile de gen ontolojisi zenginleştirme testleri gerçekleştirilmiş ve aynı sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen gen ontoloji gruplarının 19'u dolaylı olarak ve 2 tanesi doğrudan olmak üzere 21 tanesi bağışıklık sistemiyle ilişkilidir (Çizelge 4.5.2).

Çizelge 4.5.2. GWAS sonucunda elde edilen *H. sapiens* aday genlerinin gen kuvvetlendirme analizi sonucunda ortaya çıkan gen ontoloji yüksek seviye gruplandırılmalarına ilişkin çizelge (Koyu pembe: bağışıklık sistemiyle doğrudan ilişkili gen ontoloji terimleri, açık pembe: bağışıklık sistemiyle dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri, açık mavi: hem yaşlanma hem de bağışıklık sistemiyle dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri, sarı: yaşlanma ile dolaylı ilişkili gen ontoloji terimleri).

N	Gen Ontoloji Kategorileri	Genler
92	Kimyasallara cevap	<i>CHRNE CHRNB4 CHRNA2 CHRND ABCG5 CHRNA1 FBN2 FBN3 CHRNB3 CHRNA6 FBN1 CHRNG DRD1 FSTL3 CHRNA4 ANXA11 DLL4 F12 ANXA1 HTR1B NOTCH1 ABCG1 CHRNB2 STXBP4 AHCYL1 DRD5 CHRNA7 SLC25A42 ZACN GPR52 TDGF1 DGAT2 TAF2 LTBP4 JAG1 E2F1 AHCY TJP1 GSK3A SPARC BCHE ABCG2 ADRA1A SPINK4 SLC25A23 MATN2 MEIS2 DOCK2 RNASEL ANXA7 ANXA3 FBLN5 CRB2 SLC25A25 ANXA5 HTR3A NPNT ADRB2 CHRNA5 NLGN1 MALT1 IL16 ABCG4 CYSLTR1</i>

		TGIF1 THBD HTR1D SLC25A41 UTS2R ANXA2 OR52L1 GPR21 ADRB3 APOM ABCG8 ADRA2A CHRNA3 SLC25A24 DOCK4 VWA2 GALR1 CHRN1B1 GSK3B GRIP1 LTBP1 GALNT3 LTBP2 CES3 CES2 KIRREL1 LTB4R2 CES1
92	Biyolojik özelliklerin düzenlenmesi	ADRB1 ADRA1A TSC22D3 TSC22D4 ADRB2 ADRA1B ADRA1D ADRB3 F12 DRD1 APOM DLG1 FBLN1 E2F1 VWF ANXA1 NLGN4X ABCG1 STXBP4 CHRFAM7A NLGN1 ZFPM1 DGAT2 LTBP4 CHRNA4 TJP1 GSK3A CHRNE BCHE CHRN1B4 CHRNA2 SLC25A23 CHRNA10 DLG4 HTR1B RNASEL CHRND ANXA7 CHRNA1 FBN2 AWAT2 CHRN1B3 CHRNA6 HTR7 HABP2 ADRA2A DLG5 PKNOX1 CHRN1B2 ANXA5 HTR4 FBN1 GALR1 HTR3A DRD5 CHRNA5 NLGN2 CHRN1B1 CHRNA9 CHRNA7 IRX5 HTR1A THBD HTR1D UTS2R GALR2 ANXA2 KIRREL1 GPR21 NLGN3 CHRNG ANXA6 E2F4 GRID2IP ANXA8 USH1C TJP2 DOCK4 ABCG5 ABCG8 DOCK5 CHRNA3 GSK3B SCUBE1 LTBP1 TFDP2 ABCG2 DOCK1 MUC17 ZFPM2 CYSLTR1 TFDP1
73	Uyarana cevap	MALT1 FBN2 FBN3 FBN1 GSK3B DRD1 ADRB1 MYLK FSTL3 FBLN1 ADRA1A F12 NOTCH2 FST ANXA1 NLGN4X NOTCH1 ADRA2A HTR6 STXBP4 CHRFAM7A ADRB2 ADRA1B DLK2 CHRNA7 DLK1 ADRB3 TDGF1 DLG1 CHRNA4 JAG1 MEIS3 GSK3A DLL4 HTR1B RNASEL FBLN5 SCUBE3 CHRNA6 CRB2 DLG5 CYSLTR2 OBSCN SCUBE1 CHRN1B2 SPINK1 NPNT NLGN1 NLGN2 IL16 THBD ANXA2 JAG2 GPR21 NLGN3 VWA2 GALR1 EGFL7 FAM110C CHRNA3 DLG4 GALNT11 LTBP1 TAF2 NOTCH3 LTBP4 E2F1 TFDP2 MUC5B DOCK1 MUC17 MUC16 TFDP1
69	Sinyalizasyonunu düzenlenmesi	MALT1 NLGN4Y NLGN2 NLGN3 GSK3B DRD1 ADRB1 FSTL3 FBLN1 ADRA1A NOTCH2 FST NLGN4X NOTCH1 ADRA2A HTR6 STXBP4 CHRFAM7A ADRB2 ADRA1B DLK2 CHRNA7 ANXA2 DLK1 ADRB3 TDGF1 DLG1 JAG1 MEIS3 GSK3A BCHE CHRN1B4 DLL4 DLG4 HTR1B

		<i>FBN2 SCUBE3 CRB2 DLG5 CYSLTR2 OBSCN SCUBE1 CHRNB2 SPINK1 FBN1 NPNT DRD5 NLGN1 IL16 HTR1A JAG2 GPR21 GRID2IP ANXA1 VWA2 GALR1 EGFL7 FAM110C CHRNA3 GALNT11 LTBP1 TAF2 NOTCH3 LTBP4 E2F1 TFDP2 RNASEL AHCYL1 TFDP1</i>
65	Sistem süreci	<i>ADRB1 MYLK ADRA1A ADRB2 DRD5 ADRA1B ADRA1D CYSLTR1 DRD1 ADRB3 ABCG5 ABCG8 USH1C DLG1 CHRNA4 TJP1 GSK3A BCHE CHRNB4 MYRF DLL4 CHRNA10 DLG4 MEIS2 HTR1B CHRND CHRNA1 STAC HTR7 ADRA2A DLG2 CHRNB2 MOGAT2 NPNT NLGN1 NLGN2 CHRNB1 CHRNA9 CHRNA7 IRX5 HTR1A HTR1D UTS2R OR52L1 KIRREL1 JAG2 EYS OTOG NLGN3 ANXA6 E2F4 CHRNA3 TJP2 DOCK4 NLGN4X DOCK5 NLGN4Y GALR1 STAC3 CHRNE GALR3 AHCYL1 GALR2 CHRNG LTB4R</i>
64	Anatomik morfogenezi	yapı <i>FBN3 FBLN1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 NOTCH3 DLG1 DLG3 DLL3 JAG1 TJP1 GSK3A IRX4 TGIF2 RECK CHRNA10 DLG4 MATN2 E2F5 CRB1 CFC1 ANXA7 FBN2 CELA1 MEIS1 CRB2 KIRREL3 DLG5 CFC1B CYSLTR2 PKNOX1 CHRNB2 NPNT NLGN1 ZFPM2 IRX1 IRX2 EGFL7 CHRNA9 CD248 CHRNA7 IRX5 IRX3 ZFPM1 UTS2R ANXA2 JAG2 NLGN3 NOTCH4 E2F4 NOTCH2 FBN1 E2F2 MYLK DOCK5 DOCK1 TDGF1 USH1C CHRNA3 GRIP1 OBSCN KIRREL1</i>
58	Lokalizasyonunu düzenlenmesi	<i>ADRA2A DRD1 MYLK DLG1 FBLN1 GSK3B JAG1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 STXBP4 CHRFAM7A NLGN2 IL16 ANXA2 TDGF1 CHRNA4 GSK3A SLC25A23 GALNT8 DOCK2 HTR1B RNASEL STAC CHRNA6 ABCG1 CHRNB2 SPINK1 HTR3A AHCYL1 ADRB2 NLGN1 CHRNA7 HTR1A UTS2R STAC3 NLGN3 ATP5F1A RECK DOCK4 ABCG5 ABCG8 DOCK5 DOCK1 DLG5 GALR1 FRMD5 GALR2 FAM110C ANXA4 CHRNA3 DLG4 CHRNB4 E2F1 TFDP2 TFDP1</i>

58	Moleküler fonksiyon düzenlenmesi	SPINK7 SPINK1 SPINK13 ADRB1 DLG3 GSK3B E2F1 ANXA3 ADRA2A DLG2 CHRFBAM7A ADRB2 DRD5 CHRNA7 ANXA2 DRD1 ADRB3 ANXA4 TDGF1 ANXA8 DLG1 FBLN1 DOCK3 JAG1 GSK3A ADRA1A RECK SPINK4 GALR3 DOCK4 DOCK2 ANXA1 STAC DOCK5 NOTCH1 TRPT1 DOCK1 OBSCN ANXA5 FBN1 GALR1 HTR3A AHCYL1 NPNT NLGN1 NLGN2 MALT1 IL16 SPINK6 ZFPM1 GALR2 JAG2 STAC3 NLGN3 CRB2 CHRNA3 DLG4 LTB4R2
56	Strese cevap	F12 MYLK FBLN1 GSK3B CHRNA4 VWF ANXA1 RNASEL ANXA3 CHRNB2 STXBP4 CHRNA7 TFDP3 TDGF1 ADRB1 E2F1 AHCY SPARC MATN2 ANXA7 CELA1 FBLN5 STAC NOTCH1 HABP2 ADRA2A TSC22D3 ANXA5 ADRB2 DRD5 MALT1 CYSLTR1 HTR1A THBD VWA1 ANXA2 DRD1 ADRB3 TSC22D2 NOTCH4 LTB4R ANXA8 DLG1 SLC25A24 EYS SCUBE1 GSK3A TFDP2 MUC5B DOCK1 MUC17 ZFPM2 ZFPM1 MUC16 TFDP1 E2F4
54	Gelişim sürecinin düzenlenmesi	FSTL3 FBLN1 SPARC DLL4 FST ANXA1 ANXA3 NOTCH1 FBN1 NLGN1 ZFPM1 ADRB1 NOTCH3 DLG1 DLL3 JAG1 E2F1 GSK3A TGIF2 MYRF MEIS2 NOTCH2 ANXA7 FBN2 CELA1 MEIS1 CRB2 DLG5 CYSLTR2 TSC22D3 CHRNB2 NPNT ADRB2 ZFPM2 DLK2 IRX3 UTS2R GPR21 ADRB3 NLGN3 NOTCH4 E2F2 DOCK5 DOCK1 LTBP3 CHRNA7 ANXA2 CHRNA3 DLG4 GRIP1 NLGN2 GSK3B LTBP4 ABCG1
47	Bağışıklık sistemi süreci	TSC22D3 TSC22D4 ZFPM1 FSTL3 FST ANXA1 RNASEL ANXA3 GALNT2 FBN1 MALT1 ANXA2 JAG2 TDGF1 DLG1 CHRNA4 JAG1 AHCY DLL4 MEIS2 DOCK2 MEIS1 NOTCH1 KIRREL3 DOCK1 PKNOX1 CHRNB2 STXBP4 IL16 CYSLTR1 CD248 ADGRE1 CHRNA7 NOTCH2 DLG5 CD93 CYSLTR2 CHRNB4 MUC5B F12 GPR84 MUC17 THBD MUC16 KIRREL1 NOTCH4 LTB4R
43	Hücre adezyonu	NLGN2 NLGN3 FSTL3 DLG1 FBLN1 JAG1 VWF CD93 ANXA1 ANXA9 NOTCH1 FBN1 MPDZ

		<i>KIRREL2 PDZD2 FBLN5 FBLN7 NLGN4X KIRREL3 SNED1 FBLN2 SVEP1 NLGN4Y VWA2 NPNT NLGN1 MALT1 COL6A5 EGFL7 ANXA2 KIRREL1 JAG2 COL14A1 EGFL6 MUC4 GSK3B DOCK5 DOCK1 DLG5 FRMD5 MUC16 HABP2 ADGRE1</i>
43	Biyolojik adezyon	<i>NLGN2 NLGN3 FSTL3 DLG1 FBLN1 JAG1 VWF CD93 ANXA1 ANXA9 NOTCH1 FBN1 MPDZ KIRREL2 PDZD2 FBLN5 FBLN7 NLGN4X KIRREL3 SNED1 FBLN2 SVEP1 NLGN4Y VWA2 NPNT NLGN1 MALT1 COL6A5 EGFL7 ANXA2 KIRREL1 JAG2 COL14A1 EGFL6 MUC4 GSK3B DOCK5 DOCK1 DLG5 FRMD5 MUC16 HABP2 ADGRE1</i>
43	Makromolekül lokalizasyonu	<i>DLG1 DLG3 ABCG2 DLG2 CRB1 ABCG5 ABCG8 GSK3B POLDIP3 DLG4 ABCG1 STXBP4 NLGN2 ANXA2 APOM DGAT2 ANXA1 FBN2 FBLN5 STAC NOTCH1 DLG5 GRIP1 GRASP FBN1 AHCYL1 NPNT NLGN1 DRD1 STAC3 USH1C GSK3A ADRA2A GALR1 ANXA4 OBSCN LTBP1 E2F1 TFDP2 LTBP2 ABCG4 TFDP1 CES1</i>
43	Hücresel biyogenezi	bileşen <i>NLGN4X NLGN4Y NLGN1 NLGN2 NLGN3 PWP2 USH1C DLG1 GSK3B VWF DLG4 SCUBE3 VWA2 MALT1 ANXA2 TAF2 LNX1 CHRNB4 CHRNA2 GALNT8 RNASEL LNX2 FBLN5 NOTCH1 KIRREL3 DLG5 CHRNB2 FRMPD2 KIRREL1 E2F4 MYLK NDUFB6 FAM110C ANXA6 SCUBE1 CHRNA3 GALNT11 DRD1 APOM TJP1 PATJ OBSCN ADRB2</i>
41	Hücre çoğalması	<i>DLG1 FBLN1 SPARC DLL4 MEIS2 ANXA1 NOTCH1 JAG2 TDGF1 NOTCH3 JAG1 E2F1 E2F3 BCHE ECD DOCK2 ANXA7 CELA1 MEIS1 CHRNB2 ZFPM2 MALT1 CD248 HTR1A UTS2R ANXA2 E2F4 HTR1B DLG5 ATP5F1A STXBP4 LTBP3 EGFL7 CHRNA7 TFDP1 DLG3 ADRA1A CHRNA10 ADRA2A ADRA1B ADRA1D</i>
37	Endojen uyarılara cevap	<i>FSTL3 DLL4 ANXA1 HTR1B NOTCH1 AHCYL1 DRD5 CHRNA7 DRD1 TDGF1 LTBP4 CHRNA4 E2F1 GSK3A SPARC BCHE ADRA1A RNASEL</i>

		ANXA3 FBN2 CRB2 CHRNB2 FBN1 STXBP4 NPNT ADRB2 ANXA2 GPR21 ADRA2A VWA2 CHRNA3 GSK3B GRIP1 ABCG1 LTBP1 GALNT3 LTBP2
36	Hücresel lokalizasyon	DLG1 DLG3 DLG4 NLGN4X DLG2 NLGN4Y NLGN1 NLGN2 NLGN3 CRB1 ATP5F1A DRD1 GSK3B POLDIP3 STXBP4 MALT1 ANXA2 ADRA1A DOCK2 FBLN5 STAC ABCG1 AHCYL1 STAC3 GSK3A ADRA2A ANXA8 CHRNA3 OBSCN CHRNB4 E2F1 TFDP2 LTBP2 ADRB2 TFDP1 CES1
35	Dış uyaranlar cevap	F12 ANXA1 RNASEL ANXA3 NOTCH1 ADRB1 AHCY TJP1 SPARC BCHE ADRA1A CHRNA10 MATN2 MEIS2 DOCK2 ABCG5 SLC25A25 HTR4 NPNT ADRB2 MALT1 IL16 CYSLTR1 CHRNA9 CHRNA7 THBD ANXA2 ADRB3 ABCG8 VWCE DOCK4 EYS DRD1 KIRREL1 LTB4R2
33	Lokomasyon	MYLK FBLN1 JAG1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 TDGF1 GSK3A MATN2 DOCK2 CRB2 KIRREL3 DOCK1 HTR6 IL16 CYSLTR1 CD248 CHRNA7 HTR1D DRD1 LTB4R2 ATP5F1A RECK DOCK4 DOCK5 ADRA2A DLG5 FRMD5 FAM110C THBD KIRREL1
32	Davranış	DRD5 DRD1 CHRNA4 AHCY BCHE CHRNB4 DLG4 MEIS2 HTR1B MEIS1 KIRREL3 CHRNB2 NLGN1 NLGN2 RXFP4 CHRNA7 HTR1A VWA1 HTR1D UTS2R OTOG ADRB3 NLGN3 ANXA7 CHRNA3 NLGN4X NLGN4Y CHRNA5 CHRNB1 GPR52 GALR3 GALR2
32	Çoklu organizma süreci	SPINK7 SPINK1 SPINK13 RNASEL ANXA3 FSTL3 DLG1 FBLN1 E2F1 TJP1 GALNTL5 MPDZ SPARC RECK CD93 DLG4 NOTCH1 KIRREL3 CHRNB2 DRD5 MALT1 IL16 THBD DRD1 NLGN3 ANXA7 VWCE JAG2 NLGN4X NLGN4Y ANXA2 DOCK2
29	Hücre hareketi	MYLK FBLN1 JAG1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 TDGF1 GSK3A MATN2 CRB2 KIRREL3 DOCK1 HTR6 IL16 CD248 CHRNA7

		DRD1 LTB4R2 ATP5F1A RECK DOCK4 DOCK5 ADRA2A DLG5 FRMD5 FAM110C THBD
29	Hücre lokalizasyonu	MYLK FBLN1 JAG1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 TDGF1 GSK3A MATN2 CRB2 KIRREL3 DOCK1 HTR6 IL16 CD248 CHRNA7 DRD1 LTB4R2 ATP5F1A RECK DOCK4 DOCK5 ADRA2A DLG5 FRMD5 FAM110C THBD
27	Bağışıklık yanıtı	ZFPM1 ANXA1 ANXA3 MALT1 TDGF1 DLG1 AHCY DOCK2 NOTCH1 STXBP4 CYSLTR1 ADGRE1 JAG1 NOTCH2 CYSLTR2 CHRNB4 MUC5B CD93 F12 RNASEL GPR84 DOCK1 MUC17 IL16 MUC16 ANXA2 LTB4R
27	Abiyotik uyarılara cevap	MYLK CHRNA4 CHRNB2 CHRNA7 ADRB1 E2F1 AHCY TJP1 SPARC CHRNA10 MEIS2 ANXA1 HTR1B ABCG5 ANXA7 STAC NOTCH1 TSC22D3 ADRB2 CHRNA9 THBD DRD1 ADRB3 NLGN3 TSC22D2 EYS GSK3B
27	Morfogenezde anatomik yapı oluşumu	SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 NOTCH3 DLL3 TJP1 FBN2 CELA1 MEIS1 CRB2 CYSLTR2 PKNOX1 IRX1 IRX2 EGFL7 IRX3 ZFPM1 UTS2R ANXA2 E2F2 CHRNA7 TDGF1 NOTCH4 JAG1 OBSCN
21	Bağışıklık sisteminin düzenlenmesi	TSC22D3 TSC22D4 FSTL3 ANXA1 FBN1 MALT1 ZFPM1 DLG1 JAG1 MEIS2 MEIS1 NOTCH1 CHRNB2 NOTCH2 DLG5 MUC5B RNASEL DOCK1 MUC17 MUC16 KIRREL1
21	Büyüme	NOTCH2 NOTCH1 ADRB1 GSK3A ADRA1A ANXA1 CELA1 FBLN5 MEIS1 SLC25A25 ADRB2 ZFPM2 UTS2R GPR21 ADRB3 CHRND CHRNA1 EYS NLGN4X NLGN3 LTBP4
21	Lokomasyon düzenlenmesi	MYLK FBLN1 JAG1 SPARC DLL4 ANXA1 ANXA3 NOTCH1 TDGF1 IL16 HTR1D DRD1 ATP5F1A RECK DOCK4 DOCK5 ADRA2A DOCK1 DLG5 FRMD5 FAM110C
20	Bağışıklık sistemi gelişimi	ZFPM1 FSTL3 FST ANXA1 FBN1 ANXA2 JAG2 JAG1 DLL4 MEIS2 DOCK2 MEIS1 NOTCH1

		KIRREL3 DOCK1 PKNOX1 MALT1 CD248 NOTCH2 NOTCH4
19	Lökosit aktivasyonu	ZFPM1 ANXA1 ANXA3 JAG2 DLG1 CHRNA4 DLL4 DOCK2 PKNOX1 CHRNB2 MALT1 CHRNA7 DLG5 NOTCH2 CD93 CHRNB4 GPR84 ANXA2 KIRREL1
18	Üreme	SPINK7 SPINK1 SPINK13 FSTL3 DLG1 FBLN1 E2F1 GALNTL5 RECK ANXA1 NOTCH1 DRD5 ZFPM2 CHRNA7 THBD DRD1 JAG2 IRX5
18	Üreme süreci	SPINK7 SPINK1 SPINK13 FSTL3 DLG1 FBLN1 E2F1 GALNTL5 RECK ANXA1 NOTCH1 DRD5 ZFPM2 CHRNA7 THBD DRD1 JAG2 IRX5
17	Hücre adezyonu düzenlenmesi	FSTL3 FBLN1 JAG1 ANXA1 NOTCH1 DLG1 FBLN2 NPNT MALT1 JAG2 EGFL6 GSK3B DOCK5 DOCK1 DLG5 FRMD5 KIRREL1
17	Gelişimsel büyüme	ADRB1 GSK3A ADRA1A ANXA1 CELA1 MEIS1 SLC25A25 NOTCH1 ADRB2 ZFPM2 GPR21 ADRB3 CHRND CHRNA1 EYS NLGN4X NLGN3
16	Katabolik süreç	GSK3B GSK3A E2F1 ADRA2A ADRB2 ANXA2 LNX1 AHCY ADRA1A RNASEL CELA1 CEL ANXA7 ECD COL6A5 CES2
16	Hücre döngüsü süreci	NOTCH2 NOTCH1 TFDP3 ECD ANXA1 E2F6 E2F4 USH1C TAF2 DLG1 E2F1 ANXA11 STXBP4 RXFP3 TFDP2 TFDP1
14	İmmün efektör süreç	ZFPM1 ANXA1 RNASEL ANXA3 DLG1 DOCK2 JAG1 MALT1 NOTCH2 CHRNB4 CD93 GPR84 DOCK1 ANXA2
13	Çoklu organizma üreme süreci	SPINK7 SPINK1 SPINK13 FSTL3 FBLN1 E2F1 GALNTL5 RECK NOTCH1 DRD5 THBD DRD1 JAG2
12	Büyümenin düzenlenmesi	NOTCH2 NOTCH1 ADRB1 GSK3A FBLN5 MEIS1 ADRB2 ZFPM2 UTS2R GPR21 ADRB3 LTBP4
11	Hücresel bileşen biyogenez düzenlenmesi	GSK3B NLGN1 DLG1 NOTCH1 DLG5 CHRNB2 KIRREL1 NLGN3 FAM110C NLGN2 TJP1

10	Lokomotor davranış	CHRNA4 CHRNB4 DLG4 MEIS1 CHRNB2 NLGN2 DRD1 OTOG CHRNA3 GPR52
10	Eşeyli üreme	SPINK7 SPINK1 SPINK13 FSTL3 E2F1 GALNTL5 NOTCH1 DRD5 DRD1 JAG2
9	Biyotik uyarılara cevap	GSK3B RNASEL ANXA3 TJP1 SPARC NOTCH1 MALT1 THBD VWCE
9	Refleks	ANXA1 NOTCH1 MATN2 DOCK2 IL16 CYSLTR1 DOCK4 KIRREL1 LTB4R2
8	Üremenin gelişimsel süreci	FSTL3 DLG1 GALNTL5 ANXA1 NOTCH1 SPINK1 ZFPM2 IRX5
8	Ritmik süreç	GSK3B AHY ANXA1 HTR7 CHRNB2 NLGN1 CHRNA7 UTS2R
8	Davranışın düzenlenmesi	DLG4 HTR1B CHRNB2 NLGN1 RXFP4 HTR1A HTR1D UTS2R
8	Diğer organizmalara yanıt	RNASEL ANXA3 TJP1 SPARC NOTCH1 MALT1 THBD VWCE
7	Beslenme davranışı	HTR1B CHRNB2 RXFP4 DRD1 ADRB3 GALR3 GALR2
7	Çoklu organizma davranışı	DLG4 KIRREL3 CHRNB2 NLGN3 ANXA7 NLGN4X NLGN4Y
6	Sirkadyan ritim	AHY HTR7 CHRNB2 NLGN1 UTS2R GSK3B
6	Organizmalar arasındaki etkileşim	DLG4 CHRNB2 NLGN3 ANXA7 NLGN4X NLGN4Y
5	Bağışıklık yanıtının aktivasyonu	MALT1 MUC5B DOCK1 MUC17 MUC16
5	Hücre büyümesi	GSK3A FBLN5 UTS2R NLGN3 LTBP4
5	Uyarının tespiti	CHRNA10 CHRNA9 OR52L1 EYS ABCG1
5	Üreme sürecinin düzenlenmesi	SPINK7 SPINK1 SPINK13 NOTCH1 ZFPM2
4	Otofaji	ADRB2 ADRA1A GSK3A ANXA7
4	Ritmik davranış	AHY CHRNB2 NLGN1 UTS2R

4	Hücre sayısı		<i>JAG1 NOTCH1 NOTCH2 TDGF1</i>
3	Lökosit homeostazı		<i>TSC22D3 TSC22D4 ANXA1</i>
3	Miyeloid homeostazı	hücre	<i>ZFPM1 ANXA1 PKNOX1</i>
3	Bağışıklık moleküler üretimi	yanıtının mediyatör	<i>GALNT2 DLG1 MALT1</i>
3	Nörotransmitter üretimi		<i>NLGN1 CHRNA3 CHRNB4</i>
3	Akrozom reaksiyonu		<i>SPINK7 SPINK1 SPINK13</i>
3	Sirkadyan düzenlenmesi	ritim	<i>CHRNB2 NLGN1 UTS2R</i>
3	T cell selection		<i>ZFPM1 JAG2 DOCK2</i>
3	Lökosit göçü		<i>ANXA1 IL16 THBD</i>
3	Davranış düzenlenmesi	potansiyeli	<i>DLG1 ADRA1A CHRNB2</i>
3	Hemostazın düzenlenmesi		<i>F12 THBD ANXA2</i>
2	Davranışsal cevabı	savunma	<i>HTR1A DRD1</i>
2	Gelişim metabolik süreci		<i>AWAT2 AWAT1</i>
2	Üreme davranışı		<i>DRD5 DRD1</i>
2	Metilasyon		<i>GSK3A AHCY</i>
2	Hormon süreci	metabolizması	<i>DGAT2 AWAT2</i>
2	Ovülasyon döngüsü		<i>ANXA1 CHRNA7</i>
2	Kas adaptasyonu		<i>GSK3A ADRA1A</i>
2	Hüresel detoksifikasyon		<i>FBLN5 APOM</i>

4.6. Aday Genlerin *Homo sapiens* Ortologlarıyla İlgili Hastalıklar ve Özellikler

Drosophila'da *PGRP-LF* ile etkileşen genlerin insan ortologlarının, ilişkilendirildiği hastalıklar ve özellikler, Harvard Medical School'a ait olan DRCS Disease Gene Query Tool (<http://www.flyrnai.org/diopt-dist>) sistemi aracılığıyla değerlendirilmiştir. Bu hastalıklar ve özellikler Çizelge 4.6.1'de belirtilmiştir. Bağışıklık sistemi açısından incelendiğinde özellikle çiçek hastalığına karşı bağışıklık yanıtı birçok genle ilişkili gözükmektedir. Aynı şekilde inflamatuvar bağırsak hastalıkları, bağışıklık yetmezliği, hastalıklara karşı gösterilen inflamasyon yanıtlarıyla da ilişkili olan genlerin sıklığı dikkat çekmektedir. Bağışıklık sistemi dışında ilişkilenen özelliklerden en dikkat çekenler arasında obezite, obezite bağlantılı özellikler, şizofreni/bipolar bozukluk, demans/Alzheimer ve kardiyovasküler problemler vardır.

Çizelge 4.6.1. Aday genlerin insan ortologları ve ilgili hastalıklar/özellikleri gösteren çizelge.

Genler (<i>D.mel.</i>)	İnsan Ortologları	Hastalıklar/Özellikler
<i>Klar</i>	-	-
<i>ths</i>	-	-
<i>CG30463</i>	<i>GALNT1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18</i>	Kemik mineral yoğunluğu/pediyatrik Tümoral kalsinoz/ailesel Yaşlanma özellikleri Blood trace element Vücut kitle indeksi Karaciğer enzim seviyeleri Obezite bağlantılı özellikler Post bronchodilator FEV1 Böbrek fonksiyonu gerileme özellikleri Nörotik plak Uyku fenotipleri Menopoz Şizofreni Yaşa bağlı işitme bozukluğu Major depresyon bozukluğu HIV-1 viral başlangıcı Tip2 diyabet Karotid kalınlığı Demans ve Alzheimer hastalığındaki nöro- Patolojik değişiklikler

		HDL kolesterol Hematoloji özellikleri Metabolik sendrom Metabolit seviyeleri
<i>Fs</i>	<i>FST, FST3, SPINK4, RECK, SPINK6, SPARC, SPINK13, SPINK7, SPINK1, SPARCL1</i>	Akne Nikel seviyeleri Influenza A (H1N1) enfeksiyonu Bipolar bozukluk (inflamasyon ve enfeksiyon yanıtı) IgG glikolizasyonu Osteogenesis imperfecta Obezite bağlantılı özellikler Kalıtsal pankreatit
<i>Atet</i>	<i>ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5, ABCG8</i>	Amyotrofik lateral skleroz (sporadik) Demans ve Alzheimer hastalığındaki nöropatolojik değişiklikler Bipolar bozuklukta yeme bozukluğu Gut Nörotik plak Kolesterol LDL kolesterol Lipit metabolizma fenotipleri Metabolit seviyeleri Sitosterolemi Safrataşı Kardiyovasküler hastalıkların risk faktörleri Kahve tüketimi Diş çürüğü Ürik asit konsantrasyonu
<i>CG43729</i>	<i>STAC, STAC2, STAC3</i>	Kızılderili miyopatisi Şizofreni Ülseratif kolit Çölyak hastalığı
<i>CR43420</i>	<i>CES1, CES2, CES3, CES4A, CES5A, CEL, NLGN1, NLGN2, NLGN3, NLGN4X, NLGN4Y, BCHE</i>	Bakır seviyeleri Karboksilsteraz 1 eksikliği Olgun başlangıçlı genç tipi diyabet Majör depresyon bozukluğu Periodontitis Asperger sendromu – X kromozom bağlantılı Prostat kanseri Otizm duyarlılığı – X kromozom bağlantılı Mental retardasyon – X kromozom bağlantılı Şizofreni Alzheimer biyobelirteçleri Apne Kalp yetmezliği
<i>Hth</i>	<i>MEIS1, MEIS2, MEIS3, PKN0X1,</i>	Kolorektal kanser Huzursuz bacak sendromu

	<i>PKNOX2, TGIF1, TGIF2, TGIF2LY, IRX1, 2, 3, 4, 5, 6</i>	Uzun zincirli doymuş yağ asidi Göz içi basıncı Post bronchodilator FEV1 Antipsikotik tedaviye cevap Alkol ve nikotin bağımlılığı Alzheimer hastalığı Meme kanseri Obezite bağlantılı özellikler Şizofreni Uyku süresi Madde bağımlılığı Holoprosensefali Periodontitis Bilişsel performans Visceral yağ Kardiyovasküler hastalık risk faktörleri Prostat kanseri Çiçek hastalığına karşı bağışıklık yanıtı Diyaliz bağımlı mortalite Sosyal iletişim bozuklukları
<i>CR16735</i>	<i>CELA1</i>	Obezite bağlantılı özellikler
<i>sgg</i>	<i>GSK3B, GSK3A, MYLK</i>	HDL kolesterol Ailesel aortik anevrizma
<i>blw</i>	<i>ATP5F1A</i>	Mitokondriyal kompleks eksikliği Oksitadif fosforilasyon eksikliği
<i>raw</i>	<i>RNASEL</i>	Multiple skleroz Prostat kanseri
<i>CG32103</i>	<i>SLC25A16, 23, 24, 25, 41, 42, CALN1</i>	Eozinofilik özofajit Nefes tıkanıklığı Amyotrofik lateral skleroz
<i>DopR</i>	<i>DRD1, DRD5, ADRB1, ADRB2, ADRB3, HTR4, HTR6, ADRA1A</i>	Primer servikal distoni Manganez seviyeleri Dikkat eksikliği ve hiperaktiviteye yatkınlık Kadmiyum seviyeleri Uyku fenotipleri Obezite bağlantılı özellikler Sepsis tedavisine yanıt Obezite duyarlılığı Doğum ağırlığı Kan basıncı Gaucher hastalığı şiddeti Kalp atış hızı Astım duyarlılığı Periodontal mikrobiyota Pulmoner fonksiyon

		Kan metabolit seviyeleri Amfetaminlere cevap
CG15651	FKRP	Müsküler distrofi - Konjenital beyin ve göz anomalileri
CG15803	PATJ, MPDZ, IL16, PDZD2, LNX1, LNX2, FRMPD2, DGL5, GRASP, USH1C, GRID2IP, PARD3B, GRIP1, FRMPD2B, STXBP4	Kornea yapısı Hidrocefali Kolonorektal kanser Miyokardiyal enfarktüs Obezite bağlantılı özellikler Renal hücre karsinomu Majör depresif bozuklukta serotonin geri alım inhibitörlerine yanıt Sakal kalınlığı Servikal arter diseksiyonu DNA metilasyonu Uyku fenotipleri Karaciğer enzim düzeyleri Yaşa bağımlı işitme bozukluğu Sağırılık Usher sendromu Irritable bağırsak sendromu AIDS ilerlemesi Alüminyum seviyeleri Otizm Astım Hipokampal hacim Diz osteoartriti Post bronchodilatör FEV1/FVC ratio B hücreli lenfoma Fraser sendromu Menopoz Çinko seviyeleri
ush	ZFPM1, ZFPM2, ZNF445, RXFP3, CYSLTR1, CTSLTR2, LTB4R, HTR1D, OR52L1, KISS1R, MCHR2, UTS2R, LTB4R2, RXFP4, GALR1, GALR2, GALR3, GPR21, GPR52, GPR84	Astımda kemik mineral birikimi Saç rengi Testiküle germ hücre tümörü Vasküler endotelial büyüme faktörü düzeyleri Kombine otizm, dikkat eksikliği, bipolar bozukluk, majör depresyon Koroner arter kalsifikasyonu Glokom Ani kalp durması Tuberkuloz Post bronchodilatör FEV1/FVC ratio Boy Menopoz Obezite bağlantılı özellikler

CG34382	-	-
Pvf3	-	-
CG30089	-	-
Anxb11	ANXA1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13	Bakır seviyeleri Kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile ilişkili biyobelirteçler Diyabetik böbrek hastalığı Sarkoidoz Konuşma belleği Romatoid artrit İnflamatuvar cilt hastalığı Sedef hastalığı Tekrarlayan gebelik kaybı LDL kolesterol Melanom Uyku fenotipleri Tip 2 diyabet Parkinson hastalığı Kombine şizofreni, bipolar bozukluk ve depresyon Obez bireylerde ürat seviyesi
dpy	TFDP1, 2, 3, E2F1, 2, 3, 4, 5, 6, LTBP1, 2, 3, 4, FBN1, 2, 3, SSPO, MUC17, DLL4, MUC4, MUC2, MUC19, MUC6, MUC16, DLK2, CFC1B, SCUBE2, SCUBE3, JAG2, COL14A1, COL22A1, CFC1, EYS, JAG1, MATN3, SNED1, TDGF1, DLK1, VWCE, CRB2, VWA1, F12, HABP2, ADGRE1, NOTCH2NL, DLL3, VWF, MUC5B, EGFL7,	Kronik böbrek hastalığı Glomerüler filtrasyon oranı influenza (H1N1) enfeksiyonu Obezite bağlantılı özellikler Astım Ani kalp durması Boy Çiçek hastalığına karşı bağışıklık yanıtı Sakal kalınlığı Emzirme süresi Obezite - aşırı Şiddetli akne Diş anomalileri Ürat seviyeleri Aort anevrizması Meme kanseri Marfan sendromu MASS endromu Adams-Oliver sendromu Gastrit Melanom Sağırılık Konjenital kalp problemleri Alagill sendromu Kan basıncı

	<i>OTOG, FBLN7, HGFAC, SVEP1</i>	Kemik mineral yoğunluğu Kardiyak hipertrofisi Kistik fibrozis şiddeti Crohn hastalığı İnflamatuvar bağırsak hastalığı Epifiz displazi Ön beyin defektleri Menopoz Tip 1 diyabet Vücut kitle indeksi İnterstisyel akciğer hastalığı Kan metabolit oranları Ömür uzunluğu Tip 2 diyabet
<i>CG12325</i>	<i>PWP2, APOM, DOCK1, 2, 3, 4, 5</i>	Akciğer adenokarsinomu Romatoid artrit Vücut kitle indeksi Sosyal iletişim problemleri Akne Bağışıklık yetmezliği Post bronchodilator FEV1 Boy Melanom Amyotrofik lateral skleroz (sporadik) Fenofibrat yanıtı
<i>CG8420</i>	-	-
<i>Ed</i>	<i>ECD, OBSCN, KIRREL1, 2, 3, MALT1</i>	Hiperaktivitede dikkat eksikliği Meme büyüklüğü Hipokampal skleroz Menopoz Mental retardasyon Antipsikotik tedaviye cevap Obezite bağlantılı özellikler Bağışıklık yetmezliği Multiple skleroz
<i>CG33057</i>	<i>TRPT1, ERI3</i>	Hiperaktivitede dikkat eksikliği İnflamatuvar bağırsak hastalığı
<i>CG15145</i>	<i>MAATS1</i>	-
<i>I(2)35Di</i>	<i>NDUFB6</i>	Çiçek hastalığına karşı bağışıklık yanıtı
<i>CG43760</i>	-	-
<i>Taf2</i>	<i>TAF2</i>	Mental retardasyon
<i>CG3328</i>	<i>MYRF, MYRFL</i>	Kolorektal kanser Gliserofosfolipid seviyeleri İnflamatuvar bağırsak hastalığı Fosfolipit seviyeleri

		Kırmızı kan hücresi yağ asidi seviyeleri Hiperaktivitede dikkat eksikliği
CG13579	RFXP3, RFXP4, CYSLTR1, CYSLTR2, KISS1R, HTR1D, OR52L1, GPR21, GPR52, GPR84, MCHR2, UTS2R, LTB4R2, RXFP4, GALR1, 2, 3	Post bronchodilator FEV1 Boy Menopoz Obezite bağlantılı özellikler
CG14330	-	-
pyd	TJP1, 2, 3, DLG1, 2, 3, 4	Kolestaz Sağırılık Uyku fenotipleri Kornea yapısı Antipsikotik tedaviye cevap Kolesterol Karaciğer enzim seviyeleri Hiperaktivitede dikkat eksikliği Kronik obstrüktif akciğer hastalığı Kronik periodontitis İnfluenza A (H1N1) enfeksiyonu Obezite bağlantılı özellikler Parkinson hastalığı Fosfolipit seviyeleri Post bronchodilator FEV1 Mental retardasyon – X kromozom bağlantılı Alerjik rinit
Ahcy89E	AHCYL1, AHCYL2, AHCY	İnflamatuvar biyobelirteçler
5-HT7	HTR7, HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR1F, HTR1E, ADRA1B, ADRA1D, ADRA2A	Fenofibrat yanıtı Alzheimer hastalığı Boy Alkol ve nikotin bağımlılığı Vücut kitle indeksi Psoriatik artrit Bilişsel bozukluk Koku duyusu Kan metabolit seviyeleri Amfetaminlere cevap
aly	LIN9, ALYREF, POLDIP3, CSTF2T	Sistemik lupus eritematozusda interferon alfa düzeyleri Mamografik yoğunluk

<i>bun</i>	<i>TSC22D1, 2, 3, 4</i>	Vücut kitle indeksi Adiponektin seviyeleri Bilişsel bozukluk
<i>CG42732</i>	<i>KCNT1, 2</i>	Epilepsi Yaşa bağlı makula dejenerasyonu Post bronchodilator FEV1 Toplam ventrikül hacmi
<i>frac</i>	<i>FBN1, 2, 3, LTBP1, 2, 3, 4, CD93, MATN2, CRB1, NOTCH1, FBLN5, FBLN2, VWCE, CRB2, NOTCH4, COL6A5, CD248, SCUBE2, FBLN1, EYSİ NPNT, SCUBE1, NOTCH3, VWA2, EGFL6, THBD</i>	Emzirme süresi Boy Erken başlangıçlı makula dejenerasyonu Uyku fenotipleri Obezite Fenofibrat yanıtı Aort anevrizması Meme kanseri Marfan sendromu MASS sendromu Weill-Marchesani sendromu Williams-Beuren sendromu Glokom Boy Karaciğer enzim seviyeleri Obezite bağlantılı özellikler Venöz tromboembolizm Çiçek hastalığına karşı bağışıklık yanıtı Akne Diş anomalileri Astım Lupus Pediatrik otoimmün hastalıklar Adams-Oliver sendromu Aort kapak hastalığı Regl döngüsü uzunluğu Makula dejenerasyonu Kalıtsal nöropati / yaşa bağlı Bipolar bozukluk Kronik hepatit-B enfeksiyonu Prostat kanseri Şizofreni Ülseratif kolit Tip 1-2 diyabet Melanom Bakır seviyesi Post bronchodilator FEV1
<i>CG34347</i>	<i>EPB41L4A, FRMD3, FRMD4A,</i>	Uyku fenotipleri Majör depresyonda intihar eğilimi Crohn hastalığı Mutiple skleroz

	<i>FRMD4B,</i> <i>FRMD5,</i>	Ülseratif kolit Adiponektin seviyeleri Alzheimer Serum albümin seviyesi Çölyak hastalığı
<i>CG1942</i>	<i>MOGAT1,</i> <i>MOGAT2,</i> <i>MOGAT3,</i> <i>DGAT2,</i> <i>DGAT2L6,</i> <i>AWAT1, AWAT2,</i> <i>DGAT2L7P</i>	HDL kolesterol Şizofreni – inflamasyon yanıtı Williams-Beuren sendromu
<i>CG14982</i>	<i>FAM110A,</i> <i>FAM110B,</i> <i>FAM110C,</i> <i>FAM110D</i>	Obezite bağlantılı özellikler Bipolar bozukluk ve şizofreni Kan basıncı
<i>GfA</i>	<i>CHRFA</i> <i>CHRNA7</i> <i>CHRNA9</i> <i>CHRNA10</i> <i>ZACN</i> <i>CHRND</i> <i>CHRN2</i> <i>CHRNA6</i> <i>CHRNA2</i> <i>CHRN1</i> <i>HTR3B</i> <i>HTR3D</i> <i>HTR3E</i> <i>CHRNA4</i> <i>CHRNA5</i> <i>CHRN3</i> <i>HTR3A</i> <i>CHRNE</i> <i>CHRNA3</i> <i>CHRN4</i>	Şizofreni – nörofizyolojik defektler Vücut kitle indeksi Graves hastalığı Multiple pterygium sendromu - letal Epilepsi Nikotin bağımlılığı Tükürük bezi karsinomu Kronik böbrek hastalığı Prostat kanseri Majör depresyon Major depressive disorder Akciğer kanseri duyarlılığı Post bronchodilator FEV1 Serum albumin seviyesi
<i>CG34139</i>	<i>CES1, CES2,</i> <i>CES3, CES4A,</i> <i>CES5A, CEL,</i> <i>NLGN1, NLGN2,</i> <i>NLGN3,</i> <i>NLGN4X,</i> <i>NLGN4Y, BCHE</i>	Asperger sendromu duyarlılığı – X kromozom bağımlı Prostat kanseri Otizm yatkınlığı – X kromozom bağımlı Mental retardasyon – X kromozom bağımlı Şizofreni Majör depresyon Periodontitis Olgun başlangıçlı genç tipi diyabet

		Bakır seviyeleri Karboksilesteraz 1 eksikliği Alzheimer Apne Aspirin hidrolizi Butirilkolinesteraz düzeyleri Kardiyovasküler hastalık risk faktörleri Kalp yetmezliği
<i>I(2)37Cd</i>	<i>GTF3C5</i>	-

5. TARTIŞMA

Yaşlanma, organizma işlevlerinin tedrici kaybı ve çevreye uyumun azalması ile karakterize olan karmaşık ve evrensel bir süreçtir. Yaşlanma süreci hücreden hücreye, dokudan dokuya ve organizmadan organizmaya farklı şekilde işlediği için açıklaması zor, karmaşık bir süreçtir [6]. Yaşlanmayla birlikte ortaya çıkan sorunlar arasında bağışıklık sistemi mekanizmalarının bozulması da yer almaktadır ve organizmanın yaşı ilerledikçe savunma sisteminin gerilediği, bunun yanı sıra bağışıklık sisteminde yer alan düzenleyici mekanizmalarda ortaya çıkan bozuklukların arttığı bugüne kadar yapılan çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. [72, 75, 92-95]. Burada madalyonun diğer yüzüne de bakmak gerekir: bağışıklık sistemi mekanizmalarında, özellikle bağışıklık sistemini düzenleyici işlevleri yerine getiren mekanizmalarda meydana gelen bir problem organizmanın ömür uzunluğunu etkiler mi ve bu süreçte hangi genler yer almaktadır ? Yapılan tez çalışmasında *Drosophila melanogaster* modeli kullanılarak bu soruya odaklanılmıştır. GENEL BİLGİLER bölümünde anlatıldığı üzere, bağışıklık sistemi regülasyonunda meydana gelen bozuklukların yaşlanma sürecini hızlandırdığı düşünülmekle birlikte, mekanizmalar tam olarak bilinmediği için artan mortaliteyle ilişkili genler de tam olarak bilinmemektedir [73, 74]. Bu ilişkiyi aydınlatmak için, bu tez çalışmasında yapılan deneylerde fenotipik skor olarak ömür uzunluğu ölçümü yapılmıştır. *Drosophila*'da IMD yolağının negatif düzenleyicisi olan *PGRP-LF* geni, CRISPR/Cas9 yöntemiyle delesyona uğratıldığında, organizmanın bağışıklık sisteminin kontrolsüz bir şekilde çalışması beklenir. Kontrolsüz çalışan bağışıklık sistemi yaşlanma süreci üzerinde negatif etkili olduğunda, yaşlanma ve bağışıklık sistemi ilişkisi üzerine gerçekleştirilmiş olan çalışmalarında Petersen, DeVeale ve Libert tarafından da gösterildiği gibi organizmanın ortalama ömür uzunluğunda ağırlıklı olarak kısalma yönünde bir değişim olması beklenmektedir [76-79].

PGRP-LF geni CRISPR/Cas9 yöntemiyle delesyona uğratılan bir soy ve aynı genetik arka plana sahip kontrol soyu, her biri homojen-kendileştirilmiş olan 82 *Drosophila* Genetik Referans Paneli (DGRP) soyu ile eşleştirilmiştir. Eşleşmeler sonucunda elde edilen F1 döllерinin ömür uzunlukları ölçülmüş, bu veriler fenotipik skor olarak kullanılmıştır. Elde edilen skorlar, kontrol soyunun ve mutant soyun farkı şeklinde hesaplanarak genom çaplı ilişkilendirme analizi (GWAS) için kullanılmıştır.

Tez çalışmasında *PGRP-LF* mutantının kullanılma sebebi bu genin az çalıştığı ya da işlevsiz olduğu durumlarda *Drosophila*'da kontrolsüz bir bağışıklık yanıtına sebep olmasıdır [70, 96]. *PGRP-LF*, enfeksiyon yokluğunda hem JNK hem de IMD yolağının sürekli aktif kalmasını engellemektedir. Yani IMD yolağının negatif düzenleyicisi olarak rol almaktadır. *PGRP-LF* eksikliği, aşırı antimikrobiyal peptit (AMP) sentezine ve gelişimsel bozukluklara neden olan, kontrolsüz bağışıklık cevabıyla sonuçlanır [70]. *PGRP-LF* seviyelerinin in vivo azaltılmasının IMD yolağının enfeksiyondan bağımsız bir şekilde aktive olmasına neden olduğu gösterilmiştir [66]. Kontrolsüz bağışıklık yanıtlarıyla ortaya çıkan problemlerin başında otoinflamatuar hastalıklar gelir. Bu sebeple yapılan çalışmada hem otoinflamatuar hastalıkların genetik altyapısını hem de bağışıklık sisteminin yaşlanmaya olan ilişkisini genom çaplı ilişkilendirme çalışmalarıyla aydınlatmak hedeflenmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı olan yaşlanma ve bağışıklık sistemi ilişkisini aydınlatma açısından ilginç sonuçlar elde edilmiştir. Deneyle ilk olarak, mutant (*PGRP-LF/PGRP-LF*; *w1118/w1118*) ve kontrol (*PGRP-LF⁺/PGRP-LF⁺*; *w1118/w1118*) soyunun DGRP genomuna sokulmadan önceki ömür uzunlukları ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda *PGRP-LF* null mutasyonuna sahip soyun, aynı genetik arka plana sahip kontrol soyundan çok daha az yaşadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra, ömür uzunluğu açısından ortaya çıkan bu kısalma aynı zamanda eşeye özgü bir etkiyi de göstermektedir. Erkeklerde görülen ortalama ömür uzunluğundaki kısalma dişilere göre oldukça belirgindir. Mutant ve kontrol soyu DGRP genomlarına sokulduktan sonra ise soylar ve eşeyler arasında istatistiksel olarak yüksek anlamlılık seviyesinde farklar olduğu gösterilmiştir. Yine eşeye özgü bir örüntünün gözlemlendiği bu durum, *PGRP-LF* geninin ömür uzunluğu fenotipi üzerine olan etkisinin gen etkileşimleri çerçevesinde genomdan genoma değiştiğini göstermektedir. Yaptığımız deneyler sonucunda görüldüğü gibi *PGRP-LF* null mutasyonuna sahip genotipin sokulduğu soylara ait erkek bireylerin ömür uzunluklarının kontrol soylarıyla karşılaştırıldığında önemli derecede kısaldığına işaret etmektedir (Çizelge 4.3.1). 82 DGRP soyu ile yapılan bu çalışmada mutant gende oluşturulan delesyon, 62 soyda erkek bireylerin ömür uzunluğunu kontrol soyuna göre kısaltmıştır. Mutant *PGRP-LF* geni erkek bireyler açısından girdiği soyların %76'sında ömür uzunluğunu kısaltmış, bu kısalmanın görüldüğü soyların

ise %82,2'sinde en az %5 düzeyinde ömür uzunluğu azalmıştır, %48,4'ünde ise en az %10 oranında bir kısalma yol açmıştır. Ömür uzunluğundaki kısalma %31,92'ye kadar çıkabilmektedir ki ömür uzunluğu ortalamaları açısından çok önemli bir farktır. Dişilerde ise erkeklerde olduğu kadar çarpıcı bir sonuç oluşmamıştır. *PGRP-LF* null mutanti 82 soydan 41 soyda ömür uzunluğunu kısaltmıştır (%50). Bununla birlikte kullanılan soyların %50'sinde görülen ömür uzunluğundaki kısalma, soyun sahip olduğu genetik arka plana bağlı olarak etkisini diş bireylerde de gösterebileceğine işaret etmektedir ki bu etki bazı soylarda %25'lik bir ömür uzunluğu farkına neden olabilmektedir. Ömür uzunluklarıyla ilgili tüm bu bulgular, bağışıklık sisteminde meydana gelen bozulmaların *Drosophila*'da yaşlanmayı önemli derecede etkilediğine işaret etmektedir. Sonuçlarımız, *PGRP-LE* ile çalışan Libert ve arkadaşlarının sonuçlarını destekler niteliktedir [79].

Yapılan çok yönlü varyans analizi sonucunda, genom çaplı ilişkilendirme analizleri için önem arz eden GENOTİP X SOY ve GENOTİP X SOY X EŞEY bileşenleri istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) çıkmıştır. GENOTİP X SOY ve GENOTİP X SOY X EŞEY bileşenlerinin anlamlı çıkması, elde edilen ömür uzunluğu verilerinin GWA çalışması yapılmasına uygun olduğu anlamına gelmektedir. Bu sonuç, *PGRP-LF* geninin DGRP genomlarında bulunan ve soydan soya farklılık gösteren genetik varyantlarla etkileşim içerisinde olduğunu da işaret etmektedir. Tüm bu veriler ışığında tez çalışmasının ilk hedefi olan, ve bağışıklık sisteminde düzenleyici bir görevi olan *PGRP-LF* geninin ömür uzunluğu fenotipi üzerinde önemli etkilerinin olduğu ve bu etkinin epistatik gen etkileşimleri çerçevesinde gerçekleştiği gösterilmiştir. Daha sonra tezin asıl hedefi olan *PGRP-LF* genini etkileyen diğer genleri bulmak amacıyla, GWA analizlerine odaklanılmıştır.

GWA analiz sonuçlarını almak için, 82 DGRP soyuna ait girdiler, eşey bazında “w1118 ömür uzunluğu ortalaması – *PGRP-LF* ömür uzunluğu ortalaması” şeklinde farklarla oluşturulmuştur. Elde edilen bu girdi dgrp2 veritabanına girilmiştir. Analiz sonrası elde edilen sonuç sayfasında, ilgili gen ile ilişkilenen tüm genetik varyantlar, bu varyantların isabet sayısı, eşey bazlı p değerleri, elde edilen SNP'lerin kimliği, minör alel frekansı (MAF), genetik varyantın kimliği ve tüm SNP'lerin isabet noktası bulunmaktadır. Burada akla bir soru gelmektedir. Elde edilen GWAS sonuçları gerçekten güvenilir midir? Her iki eşey bazında da (dişi,erkek) p değeri 10^{-5} ve daha

küçük ($p < 10^{-5}$) olan genetik varyantlara odaklanılmıştır. Bu durum elde edilen sonuçları istatistiksel olarak güvenilir kılmaktadır.

GWAS sonucunda elde edilen aday genlerin büyük çoğunluğunun 2. ve 3. kromozomlara dağıldığı görülmektedir (Şekil 4.4.3.1). *PGRP-LF* geninin de 3. kromozomda bulunduğu göz önünde bulundurulduğunda (<http://flybase.org/reports/FBgn0035977>), GWAS kapsamında elde edilen genlerin fiziksel olarak *PGRP-LF* ile trans etkileşimleriyle bağışıklık sistemiyle ilişkilendikleri düşünülebilir [97]. Elde edilen sonuçlara bakıldığında, *PGRP-LF* null mutasyonuna sahip erkek *Drosophila*'ların kontrol soyuna göre çok daha az yaşadığı görülmektedir. GWAS analizli sonucunda elde edilen aday genlerden *Drosophila melanogaster*'de *Fs*, *hth*, *Anxb11*, *CG12325*, *ed*, *CG33057*, *CG3328*, *Ahcy89E* ve *frac* genlerinin bağışıklık sistemiyle ilişkisine işaret edecek çalışmalar mevcut olmasa da bu genlerin insan ortologlarının bağışıklık sisteminde görev yaptıkları bilinmektedir (<https://geneticassociationdb.nih.gov/>). Hem *Drosophila*'da hem insan ortologlarında bağışıklık sistemi ile ilişkilendirilen genler ise *dpy* ve *pyd* genleridir.

GWAS sonucunda *sgg*, *Anxb11* ve *GfA X* kromozomunda bulunduğu görülen genlerdir. Bu genlerden *sgg*, yapılan gen ontoloji analizlerinde bağışıklık sistemiyle doğrudan ilişkili çıkmıştır. *Anxb11*'in ise literatürde *Drosophila*'da bağışıklık sistemiyle herhangi bir ilişkisi bulunmamasına rağmen bu genin insan ortoloğu olan *ANXA11*, otoimmün hastalıklar çerçevesinde bağışıklık sistemiyle ilişkilendirilmiştir [98]. Bu durum, GWAS sonucunda elde ettiğimiz aday genlerden *Drosophila* modelinde ilgilendiğimiz bağışıklık sistemi ve yaşlanma ilişkisi ile henüz ilişkilendirilmeyenlerin, ileri çalışmalarla bu biyolojik süreçlerle ilişkilendirilebileceğini düşündürmektedir.

Aday genlerden *raw*, *Pvf3*, *Taf2*, *dpy*, *pyd*, *sgg* ve *ush* daha önceden bağışıklık sistemiyle ilişkilendirilmiş genlerdir. Bu genlerden *Pvf3* hariç hepsinin insan ortoloğu mevcuttur. Özellikle *Pvf3*, *sgg* ve *ush* genlerinin, gerçekleştirilen gen ontoloji analizlerinde bağışıklık sistemiyle doğrudan ilişkili yollarda görev aldığı SONUÇLAR kısmında Çizelge 4.5.1'de gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada bu genlerden *sgg* geni tarafından kodlanan Shaggy (*sgg*) 46 proteininin kaspaz aktivasyonunda görev aldığı gösterilmiştir [99]. Kaspazlar spesifik hedef proteinleri parçalayarak, hücrelerin yok edilmesi ve sitokin olgunlaşması gibi rolleriyle iyi

bilinmektedirler [99]. Kaspazların aktivasyonu, apoptozisin yürütülmesinde merkezi bir rol oynar [100]. En genel tanımıyla apoptoz, organizmalarda yaygın olarak görülen programlanan bir hücre ölüm şeklidir [101]. Bu durumda elde edilen aday genlerden *sgg* geninin bağışıklık sisteminin yanı sıra hücre ölümü, dolayısıyla yaşlanma ile ilişkili olduğu da düşünülebilir. *Pvf3* ise *Pvf2* ile birlikte IMD yolağının aktivasyonunda rol alır [102]. GENEL BİLGİLER kısmında da belirtildiği üzere IMD yolağı *Drosophila* savunması için hayati önem taşır ve tez kapsamında çalışılan *PGRP-LF* geni bu yolda kilit moleküllerden biridir. Canlılarda Notch sinyal yolağının birçok görevi vardır. Bunlardan bizim tez kapsamında ilgilendiklerimiz arasında yaşlanma ve bağışıklık sistemi bulunmaktadır [103]. *Taf2* ve *pyd* genleri Notch sinyal yolağının pozitif regülasyonunda görev alır [104, 105]. Bu genlerin, şimdiye kadar yapılan çalışmalarla hem bağışıklık sistemi hem yaşlanma ile ilişkisi görülmesine de, her ikisinin de Notch sinyal yolağında görev alması sebebiyle yapılacak başka deneyler sonucunda bu biyolojik özelliklerle ilişkilendirilebileceği düşünülebilir. *Dpy* geninin insan ortoloğu olan *SVEP1*, *LTBP1*, *MUC19* ve *HGFAC* genlerinin etkili olduğu özellikler arasında ömür uzunluğunu ve inflamatuvar hastalıklar vardır (<http://www.flyrnai.org/diopt-dist>). İlgilendiğimiz fenotip açısından, *dpy* geninin insan ortologlarının hem ömür uzunluğu hem bağışıklık sistemiyle ilişkili olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6.1).

GWAS sonucunda saptanan genlerin moleküler fonksiyonları ve görev aldıkları biyolojik süreçler incelendiğinde, bağışıklık sistemiyle ilişkilendirilmiş genler olduğu gibi, şimdiye kadar bağışıklık sistemiyle ilişkilendirilmemiş genler de mevcuttur. Yine de, saptanan genlerin ortak özellikleri vardır. Bağışıklık yanıtı, protein bağlama, iyon bağlama, metabolik aktivite, sinir sistemi gelişimi gibi ortak işlevleri olan bu genler, gen gen etkileşimi varlığını göstermektedir.

Tez kapsamında yapılan GWA analizlerinden elde edilen sonuçlara bakıldığında aday genler arasında metabolik genler olduğu da görülmektedir: *5-HT7*, *Ahcy89E*, *CG12325*, *Dop1R1*, *blw*, *klar*, *I(2)37Cd* (Çizelge 4.4.4.1). Bu genlerin insan ortologları da birtakım metabolik hastalıklar ve özelliklerle aynı şekilde ilişkili çıkmıştır (Çizelge 4.6.1). Yapılan analizler metabolizma, yaşlanma ve bağışıklık sistemi çerçevesinde değerlendirildiğinde ilginç sonuçlar çıkmaktadır. Bağışıklık sistemi organizmanın yaşamı için hayati bir önem taşır, bu yüzden olası bir bağışıklık sistemi cevabı metabolik olarak maliyetlidir [106]. Bu maliyetli süreç, yaşlanmaya katkıda bulunan

bağışıklık sisteminde hasar meydana getirme potansiyeline sahiptir [107, 108]. *Drosophila*'da bulunan yağ cisimciği (fat body) bağışıklık cevabını da içeren birçok fizyolojik dengeye aracılık etmede merkezi bir rol oynar, çünkü büyüme, üreme ve hayatta kalma için hayati olan bağışıklık (AMP'lerin ifadesi), metabolik ve endokrin fonksiyonların (besin algılama, depolama, kullanım ve endokrin sinyalizasyonu) ana bölgesini temsil eder [109]. Bağışıklık sistemi ve metabolizma arasındaki bağlantıyı gösteren başka bulgular da vardır. Örneğin Rera ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Drosomisin adlı AMP'yi aşırı ekprese eden sineklerin, bozulmuş glikojen ve trigliserit depolanması gibi, oldukça değiştirilmiş bir metabolik profil sergilediğini buldu [110]. Bu bulguların yanı sıra, yaşa bağlı olarak ortaya çıkan metabolizma bozuklukları, bağırsak fonksiyon bozukluğu ve bağışıklık sisteminin kronik hale gelen kontrolsüz işleyişinin sıkı bir şekilde bağlantılı olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır [94, 111]. Yapılan başka bir çalışmada *PGRP-SC2*'nin aşırı ifadesinin, *Drosophila*'da bağırsaktaki mikrobiyal dengeye ve epitelyal homeostazına katkıda bulunarak ömür uzunluğunu artırdığı görülmüştür [112]. Biz de tez kapsamında *PGRP-SC* ile aynı gen ailesinden olan *PGRP-LF* geninin mutasyonla işlevsiz hale getirildiğinde *Drosophila*'da bağışıklık sisteminin kontrolsüz çalışmasına sebep olarak organizmanın ömrünü azalttığını gösterdik. Tüm bu bilgiler ve bizim bulduğumuz genetik varyantlar ışığında metabolizma, bağışıklık sistemi ve yaşlanma süreçlerinin birbirleriyle bağlantılı olduğunu düşündürmektedir.

Elde ettiğimiz bulgularda sinir sistemi gelişimine katkıda bulunan genler de mevcuttur: *5-HT7*, *Atet*, *CG12325*, *raw*, *CG13579*, *CG42732*, *Dop1R1*, *Nlg4*, *alpha-Est10*, *bun*, *ed*, *hth*, *mbc* (Çizelge 4.4.4.1). Genlerin insan ortologlarının ilişkilendirildiği hastalıklar ve özellikler incelendiğinde de nörolojik hastalıklar ve özellikler dikkat çekecek kadar fazladır (Çizelge 4.6.1). Yapılan çalışmalarda kronik NF-κB sinyalizasyonunun etkileri, *Drosophila*'da beyindeki ve sinir sistemindeki yaşa bağlı nörodejenerasyon ile de ilişkilendirilmiştir [77, 113]. Başka bir çalışmada, AMP'lerin (*Drosomycin*, *AttacinC* ve *CecropinA1*) ekspresyonunun sinek beyindeki yaşla birlikte arttığını, bununla birlikte bu durumun nörodejenerasyona sebep olduğunu ve ömür uzunluğunu azalttığı gösterilmiştir [114]. Öte yandan, glia hücrelerinde IMD sinyalizasyonunun baskılanması, artan lokomasyona, değiştirilmiş bir metabolik profilin ortaya çıkmasına ve artan ömür uzunluğuna yol açmıştır [75].

Literatürdeki bu bilgiler ve tez kapsamında ilgilenilen fenotip açısından, bağışıklık sistemi, yaşlanma ve sinir sistemi gelişiminin ilişkisi oldukça ilgi çekicidir.

Drosophila bağışıklık sistemi yaşlanmaya eşlik eden dejeneratif süreçlerden güçlü bir şekilde etkilenir. Yaygın olarak gözlenen kronik inflamasyon durumu, hücresel bağışıklık kaybı ve koruyucu epitelyal bariyerlerin kademeli olarak bozulması, organizmanın yaşlanmasına ve artan patojen duyarlılığına sebep olur [115, 116]. Ek olarak, bağışıklık sisteminin kendisi, kollateral doku hasarını etkileyerek yaşlanmayı hızlandırabilir [117] ve metabolizmayı etkiler [74]. NF-κB sinyalizasyonunun yaşa bağlı düzensizliğini azaltan müdahaleler, bağışıklık sisteminin organizmal yaşlanma ve yaşam süresi üzerinde güçlü bir etkisi olabileceğini ortaya koymuştur [79, 118, 119]. Tüm bu etkileyici ilerlemeye rağmen, bağışıklık ile yaşlanma ve uzun ömürlülük arasındaki bağlantılar tam olarak anlaşılmamıştır, bu tez çalışmasının doğrulamaları ve yapılacak başka çalışmalar, bu alana yapacağı katkılar açısından oldukça heyecan vericidir. Tez çalışması kapsamında saptanan ve daha önceki çalışmalarda bağışıklık sistemiyle ilişkisi kurulmayan aday genlerin, bağışıklık sistemiyle ilişkisinin daha gerçekçi ve güvenilir kurulması için her bir aday gen için ilgili fenotipler açısından doğrulama deneyleri yapılmalı ve analizleri gerçekleştirilmelidir. Yine de, tez kapsamında kullanılan epistatik GWAS modeli yüksek etkileşimli ve güvenilir sonuçlar verdiği için ileri çalışmalarda yapılacak validasyon analizlerinde de benzer sonuçlar beklenmektedir. *Drosophila melanogaster* modelinin insanla olan genetik benzerlikleri (insan hastalıklarına neden olan genlerin yaklaşık % 75'inin *Drosophila*'da homoloğu bulunmaktadır [120]) göz önünde bulundurulduğunda, tez çalışmasından elde edilen sonuçların, otoinflamatuvar hastalıkların temelini oluşturan genetik bileşenlerin ve bunların yaşlanma süreciyle bir arada oluşturdukları mekanizmalara ışık tutacağı söylenebilir. Elde edilen sonuçlardaki genlerin büyük çoğunluğu, daha önceden yaşlanma ve bağışıklık sistemiyle ilişkilendirilmemiş genlerdir. Bu durumda yapılan tez çalışması, daha sonra yapılacak doğrulama çalışmalarıyla birlikte yaşlanma ve bağışıklık sistemi ilişkisinin genetik temeline katkıda bulunma potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

- [1] S. Akira, S. Uematsu, ve O. Takeuchi, "Pathogen recognition and innate immunity," *Cell*, vol. 124, no. 4, 783-801, **2006**.
- [2] P. L. Minciullo ve ark., "Inflammaging and anti-inflammaging: the role of cytokines in extreme longevity," *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, vol. 64, no. 2, 111-126, **2016**.
- [3] M. Mangel, "Complex adaptive systems, aging and longevity," *J Theor Biol*, vol. 213, no. 4, 559-71, **2001**.
- [4] T. B. Kirkwood, "Understanding the odd science of aging," *Cell*, vol. 120, no. 4, 437-47, **2005**.
- [5] B. T. Weinert ve P. S. Timiras, "Invited review: Theories of aging," *J Appl Physiol* (1985), vol. 95, no. 4, 1706-16, **2003**.
- [6] B. R. Troen, "The biology of aging," *Mount Sinai Journal of Medicine*, vol. 70, no. 1, 3-22, **2003**.
- [7] L. Ferrucci, "The Baltimore Longitudinal Study of Aging (BLSA): a 50-year-long journey and plans for the future," ed: Oxford University Press, **2008**.
- [8] M. Yılmaz, "Drosophila melanogaster'de Anasal Yaşın Yavrudöl Ömür Uzunluğu Üzerine Etkileri," *Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe University*, **2006**.
- [9] M. Rose ve B. Charlesworth, "A test of evolutionary theories of senescence," *Science's SAGE KE*, vol. 2002, no. 37, 17, **2002**.
- [10] T. Iouk ve V. I. Titorenko, "A laboratory test of evolutionary aging theories," *Aging (Albany NY)*, vol. 9, no. 3, 600-601, **2017**.
- [11] L. Partridge, N. Prowse, ve P. J. P. o. t. R. S. o. L. B. B. S. Pignatelli, "Another set of responses and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*," *The Royal Society*, vol. 266, no. 1416, 255-261, **1999**.
- [12] D. C. Wallace, "Mitochondrial diseases in man and mouse," *Science*, vol. 283, no. 5407, 1482-8, **1999**.
- [13] D. Harman, "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry," *J Gerontol*, vol. 11, no. 3, 298-300, **1956**.
- [14] K. B. Beckman ve B. N. Ames, "The free radical theory of aging matures," *Physiol Rev*, vol. 78, no. 2, 547-81, **1998**.
- [15] B. J. Beutler, "Innate immunity: an overview," *Molecular immunology*, vol. 40, no. 12, 845-859, **2004**.
- [16] R. Medzhitov ve C. A. J. Janeway Jr, "Innate immunity: impact on the adaptive immune response," *Current opinion in immunology*, vol. 9, no. 1, 4-9, **1997**.
- [17] K. Hoebe, E. Janssen, ve B. J. Beutler, "The interface between innate and adaptive immunity," *Nature immunology*, vol. 5, no. 10, 971, **2004**.

- [18] D. A. Kimbrell ve B. Beutler, "The evolution and genetics of innate immunity," *Nat Rev Genet*, vol. 2, no. 4, 256-67, **2001**.
- [19] S. Govind, "Innate immunity in *Drosophila*: Pathogens and pathways," *Insect Sci*, vol. 15, no. 1, 29-43, **2008**.
- [20] R. Medzhitov ve C. Janeway, Jr., "Innate immunity," *N Engl J Med*, vol. 343, no. 5, 338-44, **2000**.
- [21] D. L. Kastner, I. Aksentijevich, ve R. Goldbach-Mansky, "Autoinflammatory disease reloaded: a clinical perspective," *Cell*, vol. 140, no. 6, 784-90, **2010**.
- [22] A. Livneh ve ark., "Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever," *Arthritis Rheum*, vol. 40, no. 10, 1879-85, **1997**.
- [23] J. Samuels ve S. Ozen, "Familial Mediterranean fever and the other autoinflammatory syndromes: evaluation of the patient with recurrent fever," *Curr Opin Rheumatol*, vol. 18, no. 1, 108-17, **2006**.
- [24] F. M. F. C. French, "A candidate gene for familial Mediterranean fever," *Nat Genet*, vol. 17, no. 1, 25-31, **1997**.
- [25] J. J. Chae ve ark., "Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis," *Mol Cell*, vol. 11, no. 3, 591-604, **2003**.
- [26] J. J. Chae ve ark., "The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 103, no. 26, 9982-7, **2006**.
- [27] D. Holzinger, C. Kessel, A. Omenetti, ve M. Gattorno, "From bench to bedside and back again: translational research in autoinflammation," *Nat Rev Rheumatol*, vol. 11, no. 10, 573-85, **2015**.
- [28] D. Holzinger, C. Kessel, A. Omenetti, ve M. J. Gattorno, "From bench to bedside and back again: translational research in autoinflammation," *Nature Reviews Rheumatology*, vol. 11, no. 10, 573, **2015**.
- [29] H. M. Hoffman, J. L. Mueller, D. H. Broide, A. A. Wanderer, ve R. D. Kolodner, "Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome," *Nat Genet*, vol. 29, no. 3, 301-5, **2001**.
- [30] K. M. Hull, N. Shoham, J. J. Chae, I. Aksentijevich, ve D. L. Kastner, "The expanding spectrum of systemic autoinflammatory disorders and their rheumatic manifestations," *Curr Opin Rheumatol*, vol. 15, no. 1, 61-9, **2003**.
- [31] T. Miyamae, "Cryopyrin-associated periodic syndromes: diagnosis and management," *Paediatr Drugs*, vol. 14, no. 2, 109-17, **2012**.
- [32] J. R. Yu ve K. S. Leslie, "Cryopyrin-associated periodic syndrome: an update on diagnosis and treatment response," *Curr Allergy Asthma Rep*, vol. 11, no. 1, 12-20, **2011**.
- [33] R. Goldbach-Mansky, "Current status of understanding the pathogenesis and management of patients with NOMID/CINCA," *Curr Rheumatol Rep*, vol. 13, no. 2, 123-31, **2011**.

- [34] L. Cantarini ve ark., "Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): state of the art and future perspectives," *Autoimmun Rev*, vol. 12, no. 1, 38-43, **2012**.
- [35] T. Pettersson, J. Kantonen, S. Matikainen, ve H. Repo, "Setting up TRAPS," *Ann Med*, vol. 44, no. 2, 109-18, **2012**.
- [36] F. Porteu ve C. Nathan, "Shedding of tumor necrosis factor receptors by activated human neutrophils," *J Exp Med*, vol. 172, no. 2, 599-607, **1990**.
- [37] A. A. Lobito ve ark., "Abnormal disulfide-linked oligomerization results in ER retention and altered signaling by TNFR1 mutants in TNFR1-associated periodic fever syndrome (TRAPS)," *Blood*, vol. 108, no. 4, 1320-7, **2006**.
- [38] S. M. Houten ve ark., "Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome," *Nat Genet*, vol. 22, no. 2, 175-7, **1999**.
- [39] S. M. Houten, R. J. Wanders, ve H. R. Waterham, "Biochemical and genetic aspects of mevalonate kinase and its deficiency," *Biochim Biophys Acta*, vol. 1529, no. 1-3, 19-32, **2000**.
- [40] M. Korppi, M. E. Van Gijn, ve K. Antila, "Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome in children. Review on therapy with biological drugs and case report," *Acta Paediatr*, vol. 100, no. 1, 21-5, **2011**.
- [41] P. J. Ferguson ve ark., "Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome)," *J Med Genet*, vol. 42, no. 7, 551-7, **2005**.
- [42] I. Aksentijevich ve ark., "An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist," *N Engl J Med*, vol. 360, no. 23, 2426-37, **2009**.
- [43] P. Navon Elkan ve ark., "Mutant adenosine deaminase 2 in a polyarteritis nodosa vasculopathy," *N Engl J Med*, vol. 370, no. 10, 921-31, **2014**.
- [44] Q. Zhou ve ark., "Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2," *N Engl J Med*, vol. 370, no. 10, 911-20, **2014**.
- [45] I. Aksentijevich, "Update on genetics and pathogenesis of autoinflammatory diseases: the last 2 years," *Semin Immunopathol*, vol. 37, no. 4, 395-401, **2015**.
- [46] A. V. Zavialov, E. Gracia, N. Glaichenhaus, R. Franco, A. V. Zavialov, ve G. Lauvau, "Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages," *J Leukoc Biol*, vol. 88, no. 2, 279-90, **2010**.
- [47] I. Aksentijevich ve D. L. Kastner, "Genetics of monogenic autoinflammatory diseases: past successes, future challenges," *Nat Rev Rheumatol*, vol. 7, no. 8, 469-78, **2011**.
- [48] D. Ferrandon, J. L. Imler, C. Hetru, ve J. A. Hoffmann, "The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections," *Nat Rev Immunol*, vol. 7, no. 11, 862-74, **2007**.

- [49] C. Scherfer ve ark., "Isolation and characterization of hemolymph clotting factors in *Drosophila melanogaster* by a pullout method," *Curr Biol*, vol. 14, no. 7, 625-9, **2004**.
- [50] J. A. Hoffmann, "The immune response of *Drosophila*," *Nature*, vol. 426, no. 6962, 33-8, **2003**.
- [51] H. Myllymaki, S. Valanne, ve M. Ramet, "The *Drosophila* imd signaling pathway," *J Immunol*, vol. 192, no. 8, 3455-62, **2014**.
- [52] T. Werner, G. Liu, D. Kang, S. Ekengren, H. Steiner, ve D. Hultmark, "A family of peptidoglycan recognition proteins in the fruit fly *Drosophila melanogaster*," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 97, no. 25, 13772-7, **2000**.
- [53] J. Royet, D. Gupta, ve R. Dziarski, "Peptidoglycan recognition proteins: modulators of the microbiome and inflammation," *Nat Rev Immunol*, vol. 11, no. 12, 837-51, **2011**.
- [54] C. Liu, E. Gelius, G. Liu, H. Steiner, ve R. J. Dziarski, "Mammalian peptidoglycan recognition protein binds peptidoglycan with high affinity, is expressed in neutrophils, and inhibits bacterial growth," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 275, no. 32, 24490-24499, **2000**.
- [55] R. Dziarski ve D. Gupta, "The peptidoglycan recognition proteins (PGRPs)," *Genome Biol*, vol. 7, no. 8, 232, **2006**.
- [56] T. Michel, J.-M. Reichhart, J. A. Hoffmann, ve J. Royet, "*Drosophila* Toll is activated by Gram-positive bacteria through a circulating peptidoglycan recognition protein," *Nature*, vol. 414, no. 6865, 756, **2001**.
- [57] V. Bischoff, C. Vignal, I. G. Boneca, T. Michel, J. A. Hoffmann, ve J. Royet, "Function of the *drosophila* pattern-recognition receptor PGRP-SD in the detection of Gram-positive bacteria," *Nat Immunol*, vol. 5, no. 11, 1175-80, **2004**.
- [58] S. Kurata, "Peptidoglycan recognition proteins in *Drosophila* immunity," *Dev Comp Immunol*, vol. 42, no. 1, 36-41, **2014**.
- [59] K. M. Choe, T. Werner, S. Stoven, D. Hultmark, ve K. V. Anderson, "Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PGRP) in Relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila*," *Science*, vol. 296, no. 5566, 359-62, **2002**.
- [60] V. Gobert ve ark., "Dual activation of the *Drosophila* toll pathway by two pattern recognition receptors," *Science*, vol. 302, no. 5653, 2126-30, **2003**.
- [61] M. Gottar ve ark., "The *Drosophila* immune response against Gram-negative bacteria is mediated by a peptidoglycan recognition protein," *Nature*, vol. 416, no. 6881, 640, **2002**.
- [62] M. Ramet, P. Manfrulli, A. Pearson, B. Mathey-Prevot, ve R. A. Ezekowitz, "Functional genomic analysis of phagocytosis and identification of a *Drosophila* receptor for *E. coli*," *Nature*, vol. 416, no. 6881, 644-8, **2002**.
- [63] A. Takehana ve ark., "Overexpression of a pattern-recognition receptor, peptidoglycan-recognition protein-LE, activates imd/relish-mediated antibacterial defense and the prophenoloxidase cascade in *Drosophila* larvae," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 99, no. 21, 13705-10, **2002**.

- [64] T. Kaneko ve ark., "PGRP-LC and PGRP-LE have essential yet distinct functions in the drosophila immune response to monomeric DAP-type peptidoglycan," *Nature immunology*, vol. 7, no. 7, 715, **2006**.
- [65] T. Yano ve ark., "Autophagic control of listeria through intracellular innate immune recognition in drosophila," *Nature immunology*, vol. 9, no. 8, 908, **2008**.
- [66] F. Maillet, V. Bischoff, C. Vignal, J. Hoffmann, ve J. Royet, "The Drosophila peptidoglycan recognition protein PGRP-LF blocks PGRP-LC and IMD/JNK pathway activation," (in English), *Cell Host & Microbe*, vol. 3, no. 5, 293-303, **2008**.
- [67] V. Bischoff, C. Vignal, B. Duvic, I. G. Boneca, J. A. Hoffmann, ve J. Royet, "Downregulation of the Drosophila immune response by peptidoglycan-recognition proteins SC1 and SC2," (in English), *Plos Pathogens*, vol. 2, no. 2, 139-147, **2006**.
- [68] A. Zaidman-Remy ve ark., "The Drosophila amidase PGRP-LB modulates the immune response to bacterial infection," *Immunity*, vol. 24, no. 4, 463-73, **2006**.
- [69] C. Persson, S. Oldenvi, ve H. Steiner, "Peptidoglycan recognition protein LF: a negative regulator of Drosophila immunity," *Insect biochemistry molecular biology*, vol. 37, no. 12, 1309-1316, **2007**.
- [70] D. Gupta, "Peptidoglycan Recognition Proteins—Maintaining Immune Homeostasis and Normal Development," *Cell Host & Microbe*, vol. 3, no. 5, 273-274, **2008**.
- [71] P. Georgel ve ark., "Drosophila immune deficiency (IMD) is a death domain protein that activates antibacterial defense and can promote apoptosis," (in English), *Developmental Cell*, vol. 1, no. 4, 503-514, **2001**.
- [72] D. K. Mackenzie, L. F. Bussi ere, ve M. C. Tinsley, "Senescence of the cellular immune response in Drosophila melanogaster," *Experimental gerontology*, vol. 46, no. 11, 853-859, **2011**.
- [73] K. Garschall ve T. Flatt, "The interplay between immunity and aging in Drosophila," *FResearch*, vol. 7, **2018**.
- [74] J. R. DiAngelo, M. L. Bland, S. Bambina, S. Cherry, ve M. J. Birnbaum, "The immune response attenuates growth and nutrient storage in Drosophila by reducing insulin signaling," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 106, no. 49, 20853-8, **2009**.
- [75] I. Kounatidis ve ark., "NF-κB immunity in the brain determines fly lifespan in healthy aging and age-related neurodegeneration," *Cell reports*, vol. 19, no. 4, 836-848, **2017**.
- [76] G. N. Landis ve ark., "Similar gene expression patterns characterize aging and oxidative stress in Drosophila melanogaster," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 101, no. 20, 7663-8, **2004**.
- [77] A. J. Petersen, R. J. Katzenberger, ve D. A. Wassarman, "The innate immune response transcription factor relish is necessary for neurodegeneration in a Drosophila model of ataxia-telangiectasia," *Genetics*, p. genetics. 113.150854, **2013**.

- [78] B. DeVeale, T. Brummel, ve L. Seroude, "Immunity and aging: the enemy within?," *Aging cell*, vol. 3, no. 4, 195-208, **2004**.
- [79] S. Libert, Y. Chao, X. Chu, ve S. D. Pletcher, "Trade-offs between longevity and pathogen resistance in *Drosophila melanogaster* are mediated by NFκB signaling," *Aging cell*, vol. 5, no. 6, 533-543, **2006**.
- [80] J. N. Hirschhorn ve M. J. Daly, "Genome-wide association studies for common diseases and complex traits," *Nat Rev Genet*, vol. 6, no. 2, 95-108, **2005**.
- [81] T. A. Manolio ve ark., "Finding the missing heritability of complex diseases," *Nature*, vol. 461, no. 7265, 747-53, **2009**.
- [82] P. Cooley, N. Gaddis, R. Folsom, ve D. Wagener, "Conducting Genome-Wide Association Studies: Epistasis Scenarios," *Proteomics Bioinform*, vol. 5, 245-251, **2012**.
- [83] Ö. Düzgün, "Drosophila melanogaster'DE parkin GENİ İLE ETKİLEŞEN GENOMİK ELEMENTLERİN NEGATİF JEOTAKSİS İFADESİ İLE SAPTANMASI ", *Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi*, **2016**.
- [84] D. AYGÜN, "Drosophila melanogaster'de parkin geniyle etkileşen ve lokomotor davranışı etkileyen genlerin genomik ilişkilendirme modeliyle saptanması," *Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi*, **2017**.
- [85] O. Zuk, E. Hechter, S. R. Sunyaev, ve E. S. Lander, "The mystery of missing heritability: Genetic interactions create phantom heritability," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, no. 4, 1193-1198, **2012**.
- [86] T. F. Mackay ve J. H. Moore, "Why epistasis is important for tackling complex human disease genetics," *Genome medicine*, vol. 6, no. 6, 42, **2014**.
- [87] H. J. Cordell, "Detecting gene–gene interactions that underlie human diseases," *Nature Reviews Genetics*, vol. 10, no. 6, 392, **2009**.
- [88] T. F. Mackay ve ark., "The *Drosophila melanogaster* genetic reference panel," *Nature*, vol. 482, no. 7384, 173, **2012**.
- [89] W. Huang ve ark., "Epistasis dominates the genetic architecture of *Drosophila* quantitative traits," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, no. 39, 15553-15559, **2012**.
- [90] T. A. Markow ve P. O'Grady, *Drosophila: a guide to species identification and use*. Elsevier, **2005**.
- [91] W. Huang ve ark., "Natural variation in genome architecture among 205 *Drosophila melanogaster* Genetic Reference Panel lines," *Genome research*, 171546.113, **2014**.
- [92] M. Zerofsky, E. Harel, N. Silverman, ve M. Tatar, "Aging of the innate immune response in *Drosophila melanogaster*," *Aging cell*, vol. 4, no. 2, 103-108, **2005**.
- [93] L. Horn, J. Leips, ve M. Starz-Gaiano, "Phagocytic ability declines with age in adult *Drosophila* hemocytes," *Aging cell*, vol. 13, no. 4, 719-728, **2014**.

- [94] H. Li, Y. Qi, ve H. Jasper, "Preventing age-related decline of gut compartmentalization limits microbiota dysbiosis and extends lifespan," *Cell host microbe*, vol. 19, no. 2, 240-253, **2016**.
- [95] R. I. Clark ve ark., "Distinct shifts in microbiota composition during *Drosophila* aging impair intestinal function and drive mortality," *Cell reports*, vol. 12, no. 10, 1656-1667, **2015**.
- [96] F. Maillet, V. Bischoff, C. Vignal, J. Hoffmann, ve J. Royet, "The *Drosophila* peptidoglycan recognition protein PGRP-LF blocks PGRP-LC and IMD/JNK pathway activation," *Cell Host Microbe*, vol. 3, no. 5, 293-303, **2008**.
- [97] J. Bryois ve ark., "Cis and trans effects of human genomic variants on gene expression," *PLoS genetics*, vol. 10, no. 7, **2014**.
- [98] S. Hofmann ve ark., "Genome-wide association study identifies ANXA11 as a new susceptibility locus for sarcoidosis," *Nature genetics*, vol. 40, no. 9, 1103, **2008**.
- [99] H. Kanuka, E. Kuranaga, K. Takemoto, T. Hiratou, H. Okano, ve M. Miura, "*Drosophila* caspase transduces Shaggy/GSK-3 β kinase activity in neural precursor development," *The EMBO journal*, vol. 24, no. 21, 3793-3806, **2005**.
- [100] I. Budihardjo, H. Oliver, M. Lutter, X. Luo, ve X. Wang, "Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis," *Annual review of cell developmental biology*, vol. 15, no. 1, 269-290, **1999**.
- [101] P. G. Ekert ve D. L. Vaux, "Apoptosis and the immune system," *British medical bulletin*, vol. 53, no. 3, 591-603, **1997**.
- [102] D. Bond ve E. Foley, "A quantitative RNAi screen for JNK modifiers identifies Pvr as a novel regulator of *Drosophila* immune signaling," *PLoS pathogens*, vol. 5, no. 11, **2009**.
- [103] C. R. Balistreri, R. Madonna, G. Melino, ve C. Caruso, "The emerging role of Notch pathway in ageing: focus on the related mechanisms in age-related diseases," *Ageing research reviews*, vol. 29, 50-65, **2016**.
- [104] G. Xie, Z. Yu, D. Jia, R. Jiao, ve W. M. Deng, "E(y)1/TAF9 mediates the transcriptional output of Notch signaling in *Drosophila*," *J Cell Sci*, vol. 127, no. Pt 17, 3830-9, **2014**.
- [105] M. D. Jennings, R. T. Blankley, M. Baron, A. P. Golovanov, ve J. M. Avis, "Specificity and autoregulation of Notch binding by tandem WW domains in suppressor of Deltex," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 282, no. 39, 29032-29042, **2007**.
- [106] P. Schmid-Hempel, "Evolutionary ecology of insect immune defenses," *Annu. Rev. Entomol.*, vol. 50, 529-551, **2005**.
- [107] B. M. Sadd ve M. T. Siva-Jothy, "Self-harm caused by an insect's innate immunity," *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, vol. 273, no. 1600, 2571-2574, **2006**.
- [108] E. R. Pursall ve J. Rolff, "Immune responses accelerate ageing: proof-of-principle in an insect model," *PLoS One*, vol. 6, no. 5, **2011**.

- [109] E. L. Arrese ve J. L. Soulages, "Insect fat body: energy, metabolism, and regulation," *Annual review of entomology*, vol. 55, 207-225, **2010**.
- [110] M. Rera, R. I. Clark, ve D. W. Walker, "Intestinal barrier dysfunction links metabolic and inflammatory markers of aging to death in *Drosophila*," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, no. 52, 21528-21533, **2012**.
- [111] N. Buchon, N. A. Broderick, ve B. Lemaitre, "Gut homeostasis in a microbial world: insights from *Drosophila melanogaster*," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 11, no. 9, 615, **2013**.
- [112] L. Guo, J. Karpac, S. L. Tran, ve H. Jasper, "PGRP-SC2 promotes gut immune homeostasis to limit commensal dysbiosis and extend lifespan," *Cell*, vol. 156, no. 1-2, 109-122, **2014**.
- [113] L. Tan, P. Schedl, H.-J. Song, D. Garza, ve M. Konsolaki, "The Toll→NFκB signaling pathway mediates the neuropathological effects of the human Alzheimer's Aβ42 polypeptide in *Drosophila*," *PloS one*, vol. 3, no. 12, **2008**.
- [114] I. Kounatidis ve P. Ligoxygakis, "*Drosophila* as a model system to unravel the layers of innate immunity to infection," *Open biology*, vol. 2, no. 5, 120075, **2012**.
- [115] L. Müller, T. Fülöp, ve G. Pawelec, "Immunosenescence in vertebrates and invertebrates," *Immunity ageing*, vol. 10, no. 1, 12, **2013**.
- [116] I. Eleftherianos ve J. C. Castillo, "Molecular mechanisms of aging and immune system regulation in *Drosophila*," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 8, 9826-9844, **2012**.
- [117] S. Panayidou ve Y. Apidianakis, "Regenerative inflammation: lessons from *Drosophila* intestinal epithelium in health and disease," *Pathogens*, vol. 2, no. 2, 209-31, **2013**.
- [118] J. C. Paredes, D. P. Welchman, M. Poidevin, ve B. Lemaitre, "Negative regulation by amidase PGRPs shapes the *Drosophila* antibacterial response and protects the fly from innocuous infection," *Immunity*, vol. 35, no. 5, 770-9, **2011**.
- [119] D. Ferrandon, J.-L. Imler, C. Hetru, ve J. A. Hoffmann, "The *Drosophila* systemic immune response: sensing and signalling during bacterial and fungal infections," *Nature Reviews Immunology*, vol. 7, no. 11, 862, **2007**.
- [120] U. B. Pandey ve C. D. Nichols, "Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery," *Pharmacological reviews*, vol. 63, no. 2, 411-436, **2011**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Hazal ÇALIŞKAN

Doğum Yeri: AKSARAY

Medeni Hali: Bekar

E-posta: hazalcaliskanhu@gmail.com

Adresi: Atayurt Mah. 4458. Cad. 4C/15 Etimesgut/ANKARA

Eğitim

Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2012-2016)

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

Doktora: -

İş Deneyimi

Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Staj Programı, Türkiye, 2015

Deneyim Alanı

Hastalık genetiği, kantitatif genetik, popülasyon genetiği

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi: -

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: .../.../.....

Tez Başlığı / Konusu: *Drosophila melanogaster*' DE PGRP-LF GENİNİN OTOİNFLAMASYON BAKIMINDAN ETKİLEŞTİĞİ
DİĞER GENLERİN GENOM ÇAPLI İLİŞKİLENDİRME MODELİYLE SAPTANMASI

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 108 sayfalık kısmına ilişkin, 15.01.2019 tarihinde ~~çalışmam~~ tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 '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 Orijinallik 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

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Hazal ÇALIŞKAN

Öğrenci No: N16226675

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Tezli Yüksek Lisans

Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Ergi Deniz ÖZSOY
(Unvan, Ad Soyad, İmza)