ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI COĞRAFİK BÖLGELERE AİT ÇOK İLACA DİRENÇLİ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* İZOLATLARININ KARŞILAŞTIRMALI GENOM ANALİZİ

Serdar ULAŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2019

Her Hakkı Saklıdır.

TEZ ONAYI

Serdar ULAŞ tarafından hazırlanan **"Farklı coğrafik bölgelere ait çok ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının karşılaştırmalı genom analizi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Sezer OKAY

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğretim Üyesi Şinasi AŞKAR

Üye : Doç. Dr. Sezer OKAY

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Çiğdem AKIN PEKŞEN

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Tamer KEÇELİ
Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "Farklı coğrafik bölgelere ait çok ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* izolatlarının karşılaştırmalı genom analizi**"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim. (……/……/20…..).

Serdar ULAŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI COĞRAFİK BÖLGELERE AİT ÇOK İLACA DİRENÇLİ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* İZOLATLARININ KARŞILAŞTIRMALI GENOM ANALİZİ

Serdar ULAŞ

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sezer OKAY

Bu çalışmada, verem hastalığının etmeni olan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) bakterisinin çok ilaca dirençli suşlarının farklı coğrafik bölgelerden elde edilen izolatlarına ait genomlarının referans suş olan MTB H37rv genomu (Genbankası erişim numarası AL123456.3) ile karşılaştırıldı. Böylece, ilaç direncinde rol oynayan genomik değişimleri ve coğrafik bölgelere ait izolatlar arasındaki olası farklılıkları ortaya çıkarıldı. Arjantin izolatı olan MTB 410 (Genbankası erişim numarası CM007646) suşu ile Malezya izolatı olan PR10 suşunun (Genbankası erişim numarası CP010968) genomları üzerinde yapılan analizlerde, çoğunluğu lipit, karbonhidrat, protein ve nükleik asit ile enerji metabolizmalarına, oksidasyon-redüksiyon prosesine, transport (taşıma) işlevine ve membran yapılara ait olmakla birlikte fonksiyonu bilinmeyen proteinlerin de bulunduğu sırasıyla 435 ve 430 adet proteinde mutasyon tespit edildi. Her iki ÇİD suşta ortak olan mutasyona uğramış, lipit metabolizmasına ait 11, karbonhidrat metabolizmasına ait 6, protein metabolizmasına ait 8, nükleik asit metabolizmasına ait 16, oksidasyon-redüksiyon prosesine ait 6, enerji metabolizmasına ait 3, demir ve sülfür metabolizmasına ait 3, transport işlevi gören 10, ilaç ve ksenobiyotik metabolizmasına ait 1, virülansta görev alan 8, kofaktör metabolizmasına ait 2, sinyal iletiminde görev alan 4, membran yapılarda yer alan 3, hücre duvarıyla ilgili 1, sekonder metabolizmaya ait 4, metilasyon görevi olan 1 protein ve farklı yolaklarda görev alan 3 protein olmak üzere toplam 90 protein olduğu belirlendi. Sonuç olarak, muhtemel değişikliğe uğramış proteinlerin daha çok biyofilm oluşumu, DNA onarımı, replikasyon, transkripsiyon, translasyon mekanizmaları, oksijenli solunum, tip 7 sekresyon sistemi, iki bileşenli sinyal iletimi, poliketit sentezi, B vitamini biyosentezi, hücre duvarı, membran ve transport işlemleri ile ilgili olduğu belirlenmiştir.

2019, 82 Sayfa

ANAHTAR KELİMELER: İlaç direnci, karşılaştırmalı genomik, mikobakteri, verem

ABSTRACT

Master Thesis

COMPARATIVE GENOME ANALYSIS OF THE MULTIDRUG RESISTANT *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* ISOLATES FROM DIFFERENT GEOGRAPHIC REGIONS

Serdar ULAŞ

Çankırı Karatekin University
Institute of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sezer OKAY

The aim of this study is to find out genomic alterations playing role in drug resistance and possible differences between isolates belonging to different geographic regions. For this, comparative genome analyses of multidrug resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) isolates, causing the disease tuberculosis, from different geographical regions were performed using non-MDR H37Rv strain (Genbank accession number AL123456.3) as reference. The genome analyses of the strain 410 from Argentina (Genbank accession number CM007646) and the strain PR10 from Malaysia (Genbank accession number CP010968) revealed 435 and 430 proteins with putative mutations, respectively. Majority of the mutant proteins were included into lipid, carbohydrate, protein, nucleic acid, and energy metabolisms, oxidation-reduction process, transport and membrane structures as well as proteins with unknown function. The number of common proteins in both MDR strains was 90; 11 in lipid metabolism, 6 in carbohydrate metabolism, 8 in protein metabolism, 16 in nucleic acid metabolism, 6 in redox process, 3 in energy metabolism, 3 in iron and sulfur metabolism, 10 in transport function, 1 in drug and xenobiotic metabolism, 8 in virulence, 2 in cofactor metabolism, 4 in signal transduction, 3 in membrane and 1 in cell wall structures, and 3 in diverse pathways. Consequently, it was determined that the putative mutant proteins were mostly related with biofilm production, DNA repair, replication, transcription and translation mechanisms, aerobic respiration, type VII secretion system, two-component signal transduction, polyketide synthesis, vitamin B biosynthesis, cell wall, membrane and transport functions.

2019, 82 pages

KEYWORDS: Comparative genomics, drug resistance, Mycobacteria, tuberculosis

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın amacı, verem hastalığının etmeni olan *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) bakterisinin çok ilaca dirençli suşlarının farklı coğrafik bölgelerden elde edilen izolatlarına ait genomlarının referans suş olan MTB H37rv genomu ile karşılaştırarak ilaç direncinde rol oynayan genomik değişimleri ve coğrafik bölgelere ait izolatlar arasındaki olası farklılıkları ortaya çıkarmaktır.

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın hocam Doç. Dr. Sezer OKAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü maddi ve manevi desteğiyle eğitim öğretim hayatım boyunca yanımda olan, annem Neziha ULAŞ, ablam Serpil BAŞLARLI'ya, Dostum Hamdi KAYA'ya ve her an varlığının bana güç verdiğini hissettiğim eşim Turna ULAŞ'a çok teşekkür ederim. Çankırı'ya geldiğimden bu yana arkadaşlığı, dostluğu, yardımsever ve misafirperverliği için Fatih KARABULUT ve Rukiye ÇETİN'e ayrıca teşekkür ederim.

Serdar ULAŞ
Çankırı, Mayıs 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **v**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **vi**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vii**
1. GİRİŞ **8**
1.1 Tüberküloz Hastalığı **8**
1.2 *Mycobacterium tuberculosis* **9**
1.3 *M. tuberculosis*'in Hücre Yapısı **12**
1.4 *Mycobacterium tuberculosis*'in Genetik Özellikleri **14**
1.5 *Mycobacterium tuberculosis*'te Antibiyotik Direnci **15**
1.6 *Mycobacterium tuberculosis*'te Antibiyotik Direncinin Moleküler Temelleri **18**
2. MATERYAL VE YÖNTEM **23**
3. BULGULAR **24**
3.1. Karşılaştırmalı Genom Analizi **24**
3.2. Örnek Bir Mutant Proteinin Analizi **63**
4. TARTIŞMA VE SONUÇ **67**
KAYNAKLAR **73**
ÖZGEÇMİŞ **82**

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 MTB'nin elektron mikroskobu görüntüsü.....10

Şekil 1.2 MTB'nin koloni görüntüsü…….…….....11

Şekil 1.3 MTB'nin hücre duvarı tabakaları…...…….…….....13

Şekil 1.4 MTB'nin genom yapısı……15

Şekil 3.1 MTB 410 suşu ve diğer suşlara ait HNH endonükleaz dizilerinin karşılaştırılması……64

Şekil 3.2 MTB 410 suşu ve diğer suşlara ait HNH endonükleaz proteinlerinin filogenetik açıdan yakınlıkları……..……...65

Şekil 3.3 MTB 410 suşuna ait HNH endonükleazın üç boyutlu yapısı……..…66

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Arjantin izolatı olan MTB 410 suşu ile referans H37Rv suşunun genom karşılaştırması sonucu mutasyona uğrayan genom bölgeleri ve ilgili proteinler……25

Çizelge 2. Malezya izolatı olan MTB PR10 suşu ile referans H37Rv suşunun genom karşılaştırması sonucu mutasyona uğrayan genom bölgeleri ve ilgili proteinler……45

Çizelge 3. Arjantin izolatı MTB 410 suşu ile Malezya izolatı PR10 suşunda mutasyon bulunan ortak genlerin kodladığı proteinler……60

SİMGELER DİZİNİ

Aside dirençli bakteri	ARB
Çok ilaca dirençli	ÇİD
Dünya Sağlık Örgütü	DSÖ
Ehrlich-Ziehl-Neelsen	EZN
Etilendiamin tetraasetik asit	EDTA
Guanin	G
İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü	HIV
İzoniazid	INH
Kilobaz	kb
Kilodalton	kDa
Mikrometre	µm
Mycobacterium tuberculosis	MTB
Polimeraz zincirleme tepkimesi	PCR
Rifampisin	RIF
Tek nükleotit polimorfizmi	SNP
Sitozin	C
Tüberküloz	TB
Tüm genom dizisi	WGS
Yaygın ilaca dirençli	YİD

1. GİRİŞ

1.1 Tüberküloz Hastalığı

İnsanlarda tüberküloz (TB), etiyolojisinde *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) basilinin yer aldığı, çok farklı klinik görünümlere sahip verem olarak da bilinen kronik bir hastalıktır. İnsanda başlıca TB hastalığının etkeni olan MTB'dir. MTB, *M. tuberculosis* kompleksinin bir üyesidir. Bu kompleks içinde *M. pinnipedii, M. bovis, M. africanum, M. microti, M. tuberculosis* ve *M. caprae* bulunurlar.

TB, başta akciğer olmak üzere çeşitli organlarda granülomlar oluşturan bulaşıcı bir bakteriyel enfeksiyondur. Hastalık, TB hastası bir kişinin nefes vermesi, hapşırması veya öksürmesi ile havaya karışan basillerinin solunum yolu ile sağlıklı bir insanın akciğerlerine ulaşması ile bulaşır (Gutierrez et al. 2005).

TB, neredeyse insanlık tarihi kadar eski bir hastalıktır. Viral hastalıklara nazaran uzun inkübasyon dönemi olan dönemi olan bir hastalıktır (Koprowski and Michael 1996). TB sadece dünyanın gelişmiş, az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerinde değil, tüm dünyada; HIV ile enfekte olan yüksek riskli gruplar arasında veya tüberkülozun hala etkin olduğu ülkelerden göç eden kişilerde de önemli sağlık problemi olarak ciddiyetini korumaktadır. MTB, insanlık tarihinden beri tabiatın her yerinde varlığını sürdürmekte ve bulunmaktadır. Geçmişi insanlık öncesi çağlara kadar uzanan mikobakterilerin dünya üzerinde yaklaşık 300 milyon yıldan beri bulundukları ileri sürülmektedir. Bazı bilim adamları tarafından tüberküloz basilinin ilk atalarının Afrika'nın doğusunda 3 milyon yıl önce bulunduğu ve bulunduğu bölgede yaşamış olabilecek eski çağ insanlarını enfekte ettiği düşünülmektedir (Çetin vd. 2012).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Küresel TB Raporu'na göre (2018), 2017'de, TB tahmini 1,3 milyon ölüme neden oldu. Dünya nüfusunun %23'ü yaklaşık 1,7 milyar insanın MTB ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. TB olasılığı HIV ile enfekte olan bireylerde, HIV ile enfekte olmayan bireylere nazaran çok daha yüksektir (Gutierrez et al. 2005). TB hastalığının etiyolojisinde yer alan MTB kompleks üyelerince oluşturulan,

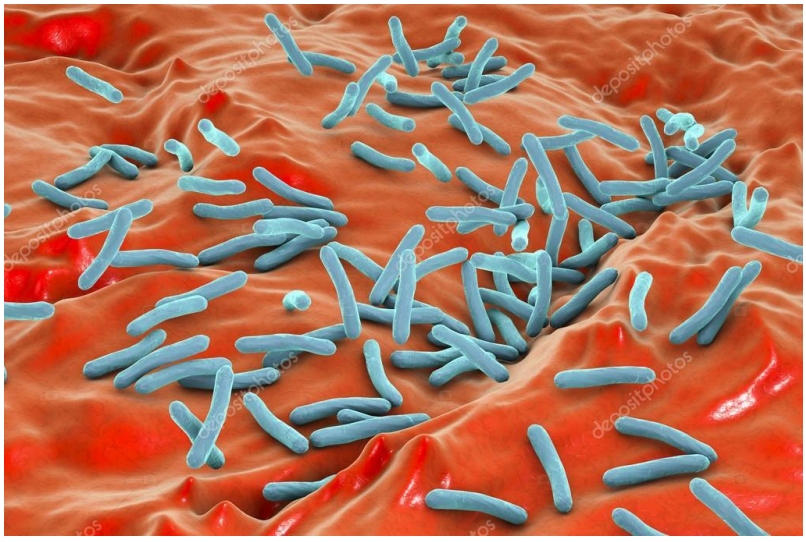
olguların çoğu pulmoner hastalıktır. Ekstrapulmoner hastalığa da neden olmakla birlikte, düşük insidanslı ülkelerde pulmoner/ekstrapulmoner TB oranı %15 civarındadır (DSÖ 2015). Üstelik ekstrapulmoner TB vakalarında numunelerin pek çoğunun invaziv girişimler yoluyla alınması ve ek olarak alınan numunedeki basil yükünün az olması tanıda zorluklara yol açmaktadır (Zignol et al. 2011).

Direkt sürüntü örneğinde Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boyası ile aside dirençli bakteri (ARB) varlığının mikroskopik olarak araştırılması ve kültür, hastalığın teşhisinde temel yöntemlerdir (Negi et al. 2005). Aside dirençli basillerin mikroskopi ile belirlenmesi, tüberkülozun laboratuvar tanısında ve bulaştırıcı olguları saptamada en önemli metotlardan biridir. Kültür ise altın standart olarak kabul edilmektedir. Tanımlamada mikroskobik inceleme ile kültürün birlikte değerlendirilmesi önemlidir. Kültür için, yumurta bazlı veya agar muhtevalı katı besiyerleri ve sıvı besiyerleri kullanılmaktadır. En hızlı tanıyı sağlayabilmek için, sıvı besiyerlerinin otomatize ve yarı otomatize cihazlarda kullanılabilen çeşitli sistemler geliştirilmiştir (DSÖ 1997). TB tanısı için kullanılan yayma mikroskopisi oldukça ucuz ve hızlı bir yöntem olmasına rağmen düşük duyarlılığı (%45-80) ve negatif prediktif değeri açısından sınırlı bir değeri vardır (Moure et al. 2011). Tanı için en önemli standart kültürdür ancak, sonuç raporunun çıkması için beklenen süre 2 ila 8 hafta aralığında değişmektedir (Zeka vd. 2011). Son yıllarda TB'nin tanısını ve ilaç direncini doğru ve hızlı bir şekilde belirliye bilmemizi sağlayan pek çok moleküler test yöntemi geliştirilmiştir (Bunsow 2013). Bunlardan biri olan GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, ABD) test sistemi, bakteriyel lizis, DNA ekstraksiyonu, heminested PCR yöntemi ile genomik amplifikasyonu ve semikantitatif MTB tespitinin tek kullanımlık plastik bir kartuş içinde sonuçlandırılması esasına dayanmaktadır. Aynı zamanda bu kartuş içinde rifampisin (RIF) direncine de bakılabilmektedir (Sicheritz-Ponten et al. 2009).

1.2 *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium kelimesi Yunanca kökenli olup 'fungus' (myces) ve 'küçük çubuk' (bakterion) kelimelerinden türemiştir (Iseman 2002). Bu bakteri sıvı besi ortamında küf şeklinde benzediği için isminde myces kullanılmıştır (Ozkara 2002). Eski Mısır ve İnka

dönemi insan kalıntılarında spinal tüberküloz hastalığına dair bulgulara rastlanmıştır (Kılıçarslan 2007). İnsanlık tarihinin ilk dönemlerinden beri varlığını sürdüren ve hastalık oluşturan mikobakterilerdir. Bu geniş bakteri ailesinin, günümüzün gelişmiş laboratuvar teknolojileriyle tanımlanmış 130'dan fazla üyesi bulunmaktadır (Gutierrez et al. 2005). Bu türler patojen olmayan (saprofit), patojen ve fırsatçı mikobakteriler olmak üzere üç gruba ayrılırlar. *Mycobacterium* cinsi, Prokaryot âleminin, Firmicutes bölümünün, Actinobacteria sınıfının, Actinomycetales takımının, Mycobacteriaceae ailesine dâhil olup bu ailedeki tek cinstir (Köksal vd. 2003). DNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda bu kompleksteki suşlar arasında yakın homoloji olduğu gösterilmiştir (Gutierrez et al. 2005). *M. tuberculosis*, aside dirençli, 1-4 µm uzunluğunda 0,3-0,6 µm eninde, ince ve bazen hafifçe kıvrık, hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz, çomak şeklinde ve aerobik bir bakteridir (Şekil 1.1). Biyolojik özelliklerinden en önemlilerinden birisi zorunlu aerob olmalarıdır. Bundan dolayı oksijen konsantrasyonunun yüksek olduğu dokularda yerleşmeye eğilimlidir ve akciğerlerde de oksijen konsantrasyonun yüksek olduğu apikal bölgede daha sık rastlanılır.



Şekil 1.1 MTB'nin elektron mikroskobu görüntüsü (www.microbiologybook.org)

Tüberküloz basilinin kendine has bazı karakteristik özelliklere sahiptir. Bunlar yavaş büyüme, dormansi, hücre duvarı, hücre içi yaşayabilmesi ve genetik homojenliktir. MTB'nin enfekte olan canlıda veya sentetik ortamlarda büyüme süreleri ortalama 24 saattir (Şekil 1.2) (Cole et al. 1998)



Şekil 1.2 MTB'nin koloni görüntüsü (www.microbiologybook.org)

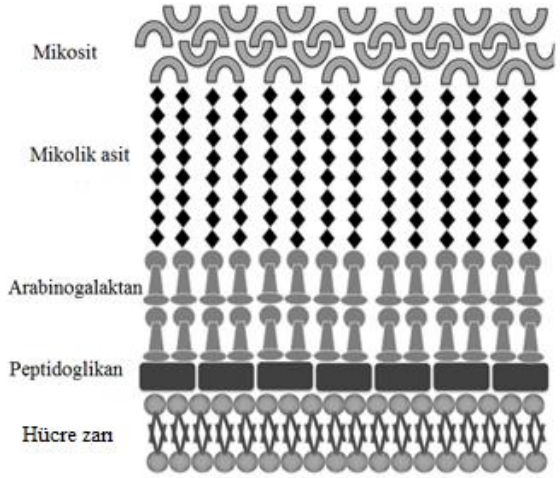
MTB, TB hastaları tarafından üretilen aerosoller yoluyla bulaşan, hücre içi yaşayabilen bakterilerdir (O'Garra 2013). TB enfeksiyonu ve hastalığının ortaya çıkma sebebi oldukça değişkendir: Geleneksel olarak, TB enfeksiyonu ve hastalığının farklı sonuçlarının sebebi konakçı ve çevresel değişkenlere atfedilmiştir. Farklı insan genetik tespitleyicilerinin TB'ye duyarlılığı etkilediği bilinmektedir (Casanova and Abel 2002). Aşırı kalabalık ortamlar ve havalandırma yetersizliği gibi çevresel etmenler bulaşıcı partiküllere maruz kalmayı arttırır (Clark et al. 2002). Çeşitli deneysel çalışmalar göstermektedir ki, MTB'nin klinik suşlarının virülansta farklılık gösterdiğine dair kanıt sağlamıştır (Coscollá et al. 2010). Son yıllarda yapılan arştırmalar MTB suşu varyasyonunun immünojeniklik ve virülans üzerindeki etkisini araştırmıştır (Gagneux 2013). MTB özellikle insanlara adapte olmuş, akciğer hastalığının insandan insana bulaşmasına neden olan, bir patojendir (Gehre et al. 2013). Başka bir deyişle, virülans, doğrudan bulaşma ile bağlantılıdır (Brites et al. 2012). TB'deki virulans, bakterilerin konakçı immün savunması karşısında canlılığını sağlayan, akciğer hasarına neden olan aerosol haline gelme kapasitelerini arttıran, içeren bir bileşik olarak kavramsallaştırılabilir. Böylece konakçı dışında, başarıyla yeni bir konakçıya bulaşır (Gagneux et al. 2012). Bazı çalışmalar, insanlarda MTB enfeksiyonları sırasında farklı bağışıklık tepkisini incelerken konakçı ve bakteri faktörlerini birleştirmiştir (Coussens et al. 2013). Etnik kökenliliğin virülans profilinde önemli yeri bulunmaktadır. Örneğin;

Avrupa'da ya da Londra'daki bir nüfustan, Afrikalı nüfusun immün savunmasının farklı ve önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir.

İnsan genetik varyasyonu TB'de önemli bir rol oynar (Gagneux et al. 2012). MTB ve konağı olan insan arasındaki uzun süreli ilişki yakından incelendiğinde belirli bir dereceye kadar eş evrim gerçekleşmiş olabilir (Fenner et al. 2013). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, TB'ye yatkınlığın hem patojede hem de konakçıdaki varyasyondan etkilendiğini göstermiştir (van Crevel et al. 2009). Bu nedenle, konakçı genomik ve patojen genomik çeşitlilikleri arasındaki etkileşimlerin araştırılması ve yeni yaklaşımlar kullanılarak daha iyi anlaşılması gerekir (Caws et al. 2008). Ayrıca, bu etkileşimleri çevresel değişkenlerle de modüle edildiği göz ardı edilmemelidir (Comas et al. 2009). Değişen çevrelerin içeriğindeki fenotipleri veya evrimsel tepkileri öngörmektir. MTB yaşam döngüsü boyunca birçok farklı çevresel koşullarla karşı karşıyadır. Bunlar, konakçı hücrelere nüfuz ederken, granülom ve boşluklarda hayatta kalırken, aerosol iletimi sırasında veya ilaç etkisine direnç gösterdiğindedir (Kwan et al. 2011).

1.3 *M. tuberculosis*'in Hücre Yapısı

Tüberküloz basilinin hücre duvarı yüksek oranda yağ içermesinden dolayı diğer bakterilere göre daha kalındır (Şekil 1.3). Hücre duvarının dış yüzeyi 60 ila 90 karbonlu, mikolik asitten, uzun ve dallı yağ asitlerinden oluşmuştur. Mikolik asitler iç kısımlardaki peptidoglikan tabakasına arabinogalaktan molekülleri ile bağlanır. Peptidoglikan tabakası hücre duvarının iç kısmını oluştur ve tüberküloz basilinin şeklini veren temel yapıdır (Alp 2010). Peptidoglikan tabakası yapısal bütünlüğün sağlanmasında da önemlidir. Mikobakteri hücresini içten dışa doğru Peptidoglikandan, arabinogalaktan ve mikolik asit olarak sıralaya biliriz. Bu sağlam yapı mikobakteri hücresi zırh gibi sarar. lipoarabinomannan, mannofosfoinositid, serbest lipid ve polipeptidlerin de yapıya katılımıyla sağlamlık daha da artar. Arabinogalaktan tabakası, mikolik asitlerle peptidoglikan arasında köprü görevi gören dallanmış bir polisakkarittir (Brennan 2003). Lipofilik özelliğinin fazla olması MTB'nin diğer bakterilere göre oldukça kalın bir hücre duvarına sahip olmasını sağlar.



Şekil 1.3 MTB'nin hücre duvarı tabakaları (Soulen et al. 1998)

MTB hücre duvarında üç tabaka bulunmaktadır. Hücre zarının üzerinde, en iç tabakada peptidoglikan (mürein) bulunur. Bu tabakada bulunan peptit zincirleri kısadır ve çapraz bağlarla sıkı bir şekilde bağlanmış uzun polisakkarit zincirleri vardır. Hücreye sert yapısını kazandırır. İkinci tabaka olan arabinogalaktan, hücre duvarı kalınlığının %35'ini oluşturur ve fosfodiester bağlarıyla peptidoglikan tabakasına bağlıdır. Arabinogalaktan moleküllerinin uç arabinaz birimlerine uzun zincirli bir yağ asidi olan mikolik asit bağlanır. Üçüncü tabaka olan mikozidler ise en dış tabakada bulunur (Ullrich 2009).

Hücre duvarının mumsu yapısı birçok ilaç molekülünün hücre içine girmesini engelleyen doğal bir koruma sağlar. MTB'ye ilaçların etkili olabilmesinin ilk şartı mumsu hücre duvarı yapısında geçebilme özelliğine sahip olmasıdır. Mikroskobik incelemelerde hücre duvarının kalın yağsı yapısı birçok boyanın hücre içine girmesini engellediği görülmüştür. Bu nedenle mikobakterilerin boyanabilmesi amacıyla diğer bakteriler için kullanılan boyama yöntemlerinden daha farklı boyama yöntemleri kullanılır (Ryll et al. 2001, Ullrich 2009). Hücre duvarının ihtiva ettiği yoğun lipit yapısı, asit ve alkole dirençli olmasını sağlar Konak hücreleri tarafından salınan eritici enzimlere ve bakterisidal ilaçlara karşı dirençlidir (Ullrich 2009).

1.4 *Mycobacterium tuberculosis*'in Genetik Özellikleri

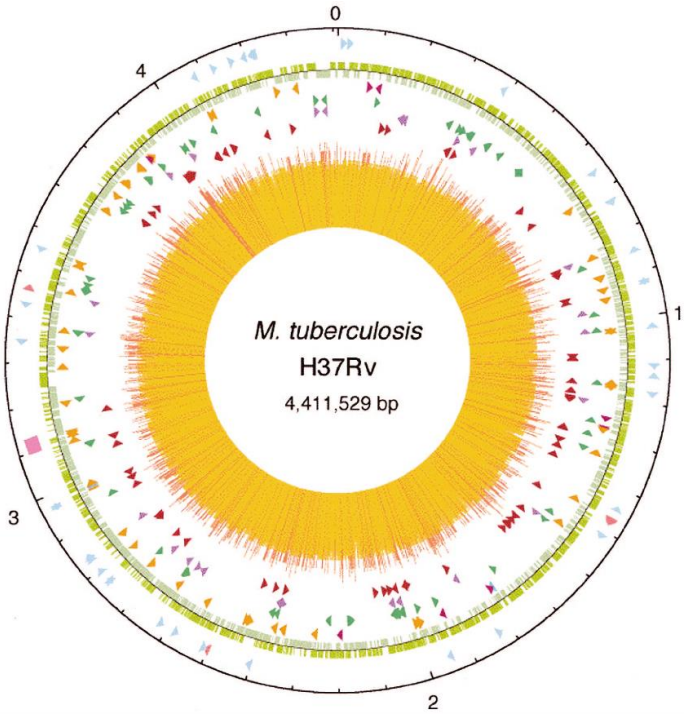
Günümüzde, yeni nesil dizilim teknolojilerinin geliştirilmesi ile maliyet ve zamandan kazanç sağlanmaktadır. Özellikle mikroorganizmaların sayısız genom projesinin uygulanmasının arka planına karşı, virülansın moleküler mekanizmalarının anlaşılmasındaki ana beklentiler ve patojenlerin direncinin yanı sıra kemoterapi için yeni hedeflerin keşfedilmesinde ana beklentiler tüm genom dizisi (WGS) verileridir (Metzker 2010).

MTB suşu H37Rv'nin tüm genom DNA'sının sekanslanması, tüberküloz araştırmalarında atılım sağlamış olup, bu patojenin biyolojisini, metabolizmasını ve evrimini anlama yolunu açtı. MTB genomunun tam nükleotit dizilerinin mevcudiyeti, karşılaştırmalı genomik analizler, MTB suşlarını incelenmesi, ilaç dirençlerinin belirlenmesini ve evrimsel geçmişlerindeki farklılıkları incelemek için bir araç olarak kullanılabilir (Cole et al. 1998).

MTB H37RV'nin genomu 4.411.529 baz çiftinden (bp) oluşmaktadır (Şekil 1.4). *Escherichia coli* genomuyla yaklaşık aynı büyüklükte ve kromozomu halkasal yapıdadır. *M. smegmatis* gibi hızlı üreyen mikobakteri türlerine göre MTB'nin genomu daha kısadır. Bu durum hücre içi ortamda gereksiz olan genlerin kaybına ve hücre içi ortamdaki genetik izolasyona bağlanmaktadır. MTB genomunun C+G içeriği % 65,6'dir. Yüksek C+G içeriği bakterinin aerobik yaşam şekliyle ilişkilidir (Çavuşoğlu 2010).

MTB'nin metabolizması anaerobik ortamlara da uyum sağlayabilecek potansiyeldedir. Psödogenler, MTB'nin genomunda çok az yer kaplamaktadır; genomda ortalama her 1,1 kb'da bir gen bulunur ve potansiyel kodlama kapasitesinin %91'i kullanılır. MTB genomunda 3.993'ü protein 50'si RNA kodladığı düşünülen 4.043 adet gen tanımlanmıştır. Bakteriler arasında genlerin horizontal transferi plazmidler, transpozonlarla ve fajlar yapılmaktadır. MTB'de patojeniteden veya virülanstan sorumlu olabilecek horizontal gen transferiyle alınmış genetik adalar bulunamamıştır. MTB'de bunların yanı sıra plazmit de bulunmamaktadır. Buna beraber MTB

genomunun yaklaşık %4'ü profajlardan ve hareketli genetik elemanlardan (IS) oluşmaktadır. IS kopya sayısı MTB H37Rv'de 16 iken farklı suşlarda 0 ile >25 arasında farklılık gösterir. Bu nedenle, moleküler epidemiyolojik çalışmalarda IS6110 temelli tiplendirme yöntemi başarıyla kullanılmaktadır (Çavuşoğlu 2010).



Şekil 1.4 MTB'nin genom yapısı (Cole et al. 1998)

1.5 *Mycobacterium tuberculosis*'te Antibiyotik Direnci

TB'a karşı antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması ve bakteri genomunda ortaya çıkan mutasyonlar nedeniyle antibiyotiklere dirençli suşların meydana gelmesi ve yayılması TB tedavisindeki en büyük sorunlardan biridir. TB tedavisi için 5 grup antibiyotik kullanılmaktadır:

Grup 1: birinci kuşak oral ajanlar (izoniazit, etambütanol, rifampisin, pirazinamit)

Grup 2: enjektabl ajanlar (amikasin, kanamisin, streptomisin, kapreomisin)

Grup 3: florokinolonlar (levofloksasin, ofloksasin, gatifloksasin, moksifloksasin)

Grup 4: ikinci kuşak oral bakteriyostatik ajanlar (sikloserin, p-aminosalisilik asit, terizidon, protionamit, etionamit)
Grup 5: etkinliği bilinmeyen ajanlar (linezolit, klofazimin, klaritromisin, amoksisilin, tioasetazon, imipenem) (Cui et al. 2016).

En az izoniazit (INH) ve rifampisin (RIF) direnci olan suşlar çok ilaca dirençli (ÇİD TB) olarak, bunlara ilaveten bir florokinolon ve ikinci kuşak enjektabl bir ajana direnci olan suşlar da yaygın ilaca dirençli (YİD TB) olarak isimlendirilmektedir (Lacoma et al. 2012). Pirazinamit ve dördüncü kuşak bir florokinolon kullanımı RIF içermeyen yeni TB tedavilerinde ve daha kısa süren ÇİD TB tedavilerinde önem arz etmektedir.

Dünyada YİD TB'nin ortaya çıkışı ve ilk olarak geçici tanımlanması Kasım 2005'te olmuştur (Özkara 2007, Jain et al. 2008). 24 Mart 2006 tarihinde ise DSÖ ile ABD'deki "Hastalık Kontrolü ve Önlenmesi Merkezleri (CDC)" tarafından yayınlanan raporda yaygın ilaç direnci, "INH ve RIF direncine ek olarak, ikinci-basamak altı ana sınıf anti-TB ilaçlardan (aminoglikozidler, florokinolonlar, tiyoamidler, polipeptidler, sikloserin ve para-aminosalisilik asit) en azından üçüne daha dirençli olma" şeklinde tanımlanmıştır (Palomino et al. 2007). Daha sonra, 9-11 Ekim 2006'da DSÖ'nün YİD-TB Görev Gücü tarafından Cenevre'de gerçekleştirilen Küresel Çalışma Kolu toplantısında YİD-TB, bugün de geçerliliği olan daha kabul edilebilir bir biçimde "MTB suşunun birinci-basamak anti-TB ilaçlardan en azından INH ve RIF'a ilaveten ikinci-basamak anti-TB ilaçlardan herhangi bir florokinolona (ofloksasin, levofloksasin ve siprofloksasin gibi) ve parenteral kullanılan anti-TB ilaçlardan (kanamisin, amikasin ve kapreomisin gibi) en azından birine karşı gelişen direnci" olarak tanımlanmıştır (Furin 2007). Son yapılan tanımlamadaki değişikliğin iki temel nedeni vardır:
1. Florokinolonlar ve ikinci basamak enjeksiyonla verilen anti-TB ilaçların duyarlılık testleri, diğer ikinci basamak anti-TB ilaçlara göre daha güvenilir ve tekrarlanabilir özelliktedir
2. Özellikle florokinolonlar ve ikinci basamak enjeksiyonla verilen anti-TB ilaçlara karşı tespit edilen direnç durumu ile hastaların tedavi başarısızlıkları arasında doğrudan ilişki bulunmaktadır (LoBue 2009).

RIF ve INH'e direnç düzeyi TB'un endemik olduğu birçok ülkede ilaç direnci belirlemelerinde kullanılsa da florokinolon ve pirazinamit sensitivite testleri rutin sürveyans programlarında yer almadığından, bu ilaçlara direnç düzeyi popülasyon seviyesinde bilinmemektedir. Direnç düzeylerine ait veriler arasında yüksek oranda değişkenlik bulunmaktadır (%3,1–42,1). Elde edilen verilerde pirazinamit direnci yüksek oranda RIF direnci ile ilişkili bulunmuştur (RIF duyarlı olgularda %0,5-4,2; RIF dirençli olgularda %36,7-81,3) (DSÖ 2016).

DSÖ, ÇİD TB'nin neden olduğu toplam 480.000 TB vakası tahmin etmiştir. Bu ÇİD TB vakaları arasında, ~%9,5'i florokinolonlara ve diğer ikinci sıra enjekte edilebilir anti-TB ilaçlarından birine karşı direnci olan yaygın ilaca dirençli (YİD) TB suşlarıdır (Dünya Sağlık Örgütü 2016). DSÖ'nün Avrupa verilerine göre TB'de ÇİD etken oranı ülkeden ülkeye farklılık göstermekle birlikte, bazı ülkelerde %28'lere kadar varmaktadır.

Sağlık Bakanlığı'nın yayınladığı "Türkiye'de Verem Savaşı 2017 Raporu"na göre, 2015 yılında ülkemizdeki direnç oranları RIF için %5,4, INH için %13,7'dir ki en yüksek direnç oranı INH için belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda yeni ve tedavi edilmiş vakalar birlikte değerlendirildiğinde, tek başına RIF direnci %0-10, INH direnci %2-24 arasındadır. Son yıllarda ilaç direncinde görülen artış, her yeni TB olgusunun anti-TB ilaçlarına dirençli olma ihtimalini ortaya çıkarmaktadır. Uygun olmayan tedavi planlaması (ilaç seçimi, tedaviye uyumsuzluk, erken ilaç kesme) nedeniyle nüks gelişen hastalarda yüksek oranda ilaç direnci gözlenmektedir (Özmen vd. 2017).

Son 10 yıl boyunca, neredeyse tüm birinci ve ikinci basamak ajanlara dirençli olan İtalya, İran, Hindistan ve Güney Afrika'da da daha şiddetli ilaca dirençli TB formları ortaya çıkmıştır (Migliori et al. 2007). Bu vakaların toplamı 30 olup, büyük olasılıkla tüberkülozun endemik olduğu kaynak kısıtlama ortamlarından dolayı bu vakaların düşük bir tahmindir. Pekin'de uzun zaman önce tespit edilen bu iki vaka genişletilmiş bir test edilmiş antibiyotik paneline karşı fenotipik ilaç direnci gösterdi (Li et al. 2015). Bu nedenle onlar geniş spektrumlu yaygın ilaca dirençli tüberküloz (XXDR) suşları olarak adlandırılmıştır.

1.6 *Mycobacterium tuberculosis*'te Antibiyotik Direncinin Moleküler Temelleri

Dünyadaki pek çok araştırmacının, MTB'nin ilaca dirençli suşların kökenine ve doğasına ilişkin fikir edinme çabalarına rağmen, hala araştırmalar ilaç direncinin doğasını tam olarak ortaya koyamamıştır. XXI. yüzyılın başlarında, klinisyenlerin ve bilim adamlarının dikkatini ÇİD TB'den sonra yaygın ilaç direnci çekmiştir. YİD TB tanımı Ekim 2006'da DSÖ tarafından kabul edilmesine rağmen, 1993'den 2006'ya kadar Amerika Birleşik Devletleri'nde 49 YİD TB vakası bildirilmiştir. Rutin olarak kullanılan anti-TB ilaçlarının çoğuna direnç gösteren bu suşlar başarılı bir TB kontrolünü ciddi şekilde engellemektedir. YİD/ÇİD fenotiplerinin moleküler temelini anlamak, bu hastalığın teşhisinde, tedavisinde ve kontrolünde yeni yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı olabilir (LoBue 2009).

TB konakçı-patojen etkileşimlerini ve kompleks çevresel koşulları bir arada bulunduran karmaşık bir enfeksiyondur (De Jong et al. 2010). MTB birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir bu yüzden de tedaviyi zor hale getirmektedir. Bu direnç esas olarak geçirgenlik bariyeri görevi olan son derece hidrofobik yapısı olan hücre zarından kaynaklanmaktadır. Fakat birçok potansiyel direnç belirleyiciler ise genomda kodlanmıştır. Bunlar ise; hidrolitik veya ilaç değiştirici enzimlerdir. Örneğin; birçok potansiyel dışa atım sistemleri ve β-laktamazlar, ATP bağlanma kaseti (ABC) taşıyıcılarıdır (Louw et al. 2009). MTB virülansının moleküler temelini anlamak ve bunların nasıl hastadaki enfeksiyon sonucuna katkıda bulunduğu, tüberkülozun daha iyi teşhisine ve kontrolüne yönelik stratejilerin tasarlanmasında önemlidir.

MTB'nin birçok kemoterapötik ajana karşı doğal direnç kazanmasının nedeni hücre duvar yapısının zengin mikolik asit içeriğinin bakteriye düşük permeabilite sağlamasıdır. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda eflüks mekanizmasının da aminoglikozidler, tetrasiklinler ve florokinolonlar gibi antibiyotiklere karşı doğal dirençte önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir (De Rossi et al. 2006). Son yıllarda gittikçe artan sayıda çalışma bizi YİD TB oluşumunun açıklamasına yaklaştırmaktadır (DSÖ 2018). Moleküler temeli iyi tanımlanmış olan ÇİD TB'nin aksine, YİD fenotipinin kökeni belirsizdir. İlaç direncinden sorumlu kanonik ve yeni moleküler

mekanizmaların keşfedilmesine ve ayrıntılı analizine, MTB büyümesi ve hayatta kalması için temel genlerin tanımlanmasına, morfolojik ve fizyolojik farklılıkların netleştirilmesine yönelik çeşitli girişimlerde bulunulmuştur (Lew et al. 2011). Duyarlı ilaç, ÇİD ve YİD MTB suşları arasındaki kuvvetler. Bir dizi MTB izolatının bütün genom dizilerinin (WGS) kapsamlı bir analizi, bu tür araştırmalar için çok faydalı görünmektedir (Copin et al. 2014).

Tedavi sürecinde dirençli suşların seleksiyonu meydana gelmekte ve enfeksiyon yeniden ortaya çıkmaktadır. (LoBue 2009). ÇİD TB fenotipinde ilaç direnci tek bir gen mutasyonuna bağlı olarak gösterilemese de, ilaç direncinin başlangıcında dirence neden olan bilinen mutasyonlar ve devamındaki diğer mutasyonların birikimi ÇİD TB fenotipini ortaya çıkarmaktadır (Furin 2007). MTB'de, suşa özgü varyasyonun hastalık ve enfeksiyon üzerindeki etkilerini belirlemek zordur. Genotip-fenotip ilişkilerinde bilinen kalıpları araştırma sınırlamalarının bazıları, MTBC klinik suşları için filo-genetik olarak sağlam sınıflandırma sistemlerinin eksikliği olmuştur (Comas et al. 2009). Ayrıca, virülansın genetik belirleyicilerinin tespitinde, sadece "genotipleme"nin aksine genomik çeşitliliği daha kapsamlı bir şekilde dizinleyen analitik yöntemleri gerektirir. Dünyanın dört bir yanından MTB klinik suşlarının birçok genom dizisini mümkün kılmıştır MTB'nin genel genomik çeşitliliğinin diğer bakterilere göre düşüktür fakat MTB'nin farklı filogenetik soylarında birikmiş olan mutasyonların büyük bir bölümünün fenotipik farklılıklara yol açabileceğini göstermektedir (Stucki et al. 2013).

Prokaryotlarda her replikasyon için mutasyon gelişme oranı 0,0033 gibi düşük bir seviyededir. Her baz çifti için mutasyon oranı genom büyüklüğü ile ters orantılıdır. Daha önceki çalışmalar mutasyon oranının seçilen ilaca tabi olduğunu öne sürmüşlerdir. Ancak anti-TB ilaçların çoğu için, dirence sebep olarak bilinen mutasyonları da karşılayacak biçimde, bir basilde kendiliğinde mutasyon görülme ihtimalleri hesaplandığında, hücrenin her bölünmesinde mutasyon görülme olasılığının 10^{-9} olduğu gösterilmiştir. İlaç direnci kazanmış bakterilerde genellikle transpozonlar, plazmitler, veya integronlar gibi mobil genetik elementlerle horizontal gen transferi yolu ile mümkün olmaktadır. Mikobakterilerde direnç gelişimi genellikle kromozomda kendiliğinden oluşan mutasyonların sonucu oluşmaktadır (Hughes and Levin 2009).

Mutasyonların fonksiyonel sonuçlarını tahmin etmenin diğer bir yolu, ilgili mutasyonların evrimleşmesine bağlı olarak karşılık gelen seçim basınçlarının ve genomik bölgelerin evrimsel korunumunu belirlemektir (Ryndak et al. 2008). MTB'de ilaç direnci ile ilgili genlerde ortaya çıkan mutasyonlar ilaç hedefini değiştirebildiği gibi ilacın hedeflediği genin ifadesini artırarak veya ilaç aktivasyonunu azaltarak bir ilaca yatkınlığı azaltabilir (Chesne-Seck et al. 2008). Örneğin, MTB'nin bir laboratuvar suşu olan H37Ra'da PhoP proteininin 219 pozisyonunda meydana gelen bir aminoasit değişikliği, bu proteinin kendi promotoruna bağlanma etkinliğini değiştirir (Gonzalo-Asensio et al. 2014). Bu nedenle, hastalık yapıcı H37Rv muadili ile karşılaştırıldığında H37Ra suşu oldukça zayıflatılmıştır. Genişlemiş gen kopyaları ve gen aileleri, evrimsel yenilikler açısından önemli genetik çeşitlilik kaynaklarıdır (Shell et al. 2013).

Günümüzde, geniş çaptaki polimorfizmden tek nükleotid polimorfizmlerine (SNP'ler) kadar genomlar arasındaki farklı çözünürlük seviyelerinde ortaya çıkan değişiklikleri belirleyebiliriz. Bu bilgiyi kullanarak, meydana gelen genetik değişikliklerin virülans üzerindeki olası etkileriyle ilgili test edilebilir hipotezler üretebiliriz (Coll et al. 2014). MTB'nin Doğu-Asya soyları, artan patojenlikleri, hiper virülansları ve yüksek geçirgenliklerinden dolayı, ilaç dirençleri ile ilişkili en başarılı türlerden biri olarak kabul edilir. Kolombiya'da yapılan son çalışmalar, Pekin benzeri genotipin, ülkenin güneybatısındaki vakaların ÇİD ve YİD ile bağlantılı olduğunu göstermiştir, ancak bakterinin yayılmadaki başarısının genetik temeli bilinmemektedir (Gagneux 2012).
Antimikrobiyallere dirençli genomlar, mutasyonların çoklu oluşu sürekli birikiminden ortaya çıkmış olabilir (Casali et al. 2012). Bu nedenle, WGS mikroorganizmaların antibiyotik direnç taraması için önemli bir araç haline gelmiştir ve bununla birlikte antibiyotik direnç mekanizmalarının hızlı bir şekilde tanımlanmasını mümkün olmaktadır. WGS ayrıca mutasyon geçirmiş genlerin mutasyon sayısının ve işlevlerinin incelenmesini de sağlar (Casali et al. 2014). WGS, tanı testleri, yeni antibiyotik geliştirme, mevcut antibiyotiklerin yönetimi ve patojenik bakterilerin ortaya çıkmasını ve direncini arttıran faktörleri ortaya koymak gibi birçok antimikrobiyal uygulamada yardımcı olmaktadır. Karşılaştırmalı genomik metodolojiler hedeflere ulaşmak için fırsatlar sunar, patojenin virülansının mekanizmalarını daha iyi anlamamıza ve bu

mikroorganizmaları nötralize etmek veya teşhis etmek için yeni yaklaşımlar önermemize izin vererek, organizmalar arasındaki genetik bilgiyi birkaç seviyede karşılaştırmamızı mümkün kılar (Joshi et al. 2014). Karşılaştırmalı genomik analiz, iki ÇİD TB klinik izolatı arasında polimorfizm tanımlamıştır. Bu polimorfizmlerin önemini araştırmak için, patojenik mikobakteriyel türlerin çoğunu kapsayan, kendi türlerinin farklı soylarını temsil eden çeşitli patojenik mikobakteri suşlarından ortologlar kullanılarak çoklu protein dizilimi yapıldı (Leung et al. 2017).

Protein işlevleri için gerekli olan kalıntının, farklı türler arasında yüksek oranda korunan bölgelerde kalması gerektiğini varsaydık. Protein fonksiyonu için elzem olmayan kalıntılar için, aynı mikobakteriyel türlerin farklı soyları arasında bile polimorfizmler ortaya çıkacaktır. Başka bir deyişle, eğer SMRT Dizilimi'nde tanımlanan polimorfizmler korunmuş bölgelerde bulunuyorsa, mutasyonun sonuçta ortaya çıkan protein fonksiyonu üzerinde önemli bir etkisi olması muhtemeldir (Leung et al. 2017). Öte yandan, aynı soyun suşları karşılaştırma için kullanılsa bile, yine de binlerce potansiyel mutasyonla sonuçlanacak ve daha kapsamlı deneysel onaylamalar gerekli olacaktır. suşun klonal ilişkisi, soy-spesifik mutasyonların karşılaştırmalı genomik analiz sırasında geniş ölçüde çıkarılabileceği ve fenotipik farklılıklardan sorumlu mutasyonların ortaya çıkarılabileceği anlamına gelir (Leung et al. 2017).

Çalışmalar, ÇİD TB klinik izolatlarının fenotipik direnç profillerinin, dirençle ilişkili genlerdeki iyi karakterize edilmiş genetik mutasyonlarla açıklanabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, yeni tanımlanan mutasyonlar ve MTB fizyolojisi arasındaki nedensel ilişkiyi tanımlamak için daha ileri deneysel doğrulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Mutasyona uğramış genler, elektroporasyonla hem muamele öncesi hem de muamele sonrası suşlara dönüştürülür. Bu durumda antibiyotik duyarlılık profilleri ve transforme edilmiş suşların büyüme uygunluğu, ÇİD TB'nin aşamalı gelişimi için mutasyonların rolünü kanıtlamak için kullanılabilecektir. ÇİD TB klinik izolatları arasındaki mutasyonları belirlemede SMRT dizilemesinin sağlamlığını tanımlamıştır. ÇİD TB suşları arasındaki fizyolojik özelliklerde potansiyel olarak önemli bir rol oynayabilecek yeni genler olabileceği görülmüştür (Leung et al. 2017). İlaç direncine neden olan moleküler mekanizmaları ve ÇİD TB'nin iletimini anlamak, hastalığa karşı yeni tedavi

edici ve önleyici yöntemlerin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir. MTB bakterisinin doğal direncinin en önemli nedenleri, sahip olduğu çok tabakalı hücre duvarı ve çok ilaca etkili dışa-atım (efluks) pompalarıdır (Jarlier et al. 1994). Aynı zamanda, fenotipik RIF direncinin% 95'inden fazlası, *rpoB*'nin 81 bç RIF direncini belirleme bölgesinde (RRDR) mutasyonlarla (McCammon et al. 2005), *katG* S315T eksiklik mutasyonu ve *inhA*'nın promotör bölgesindeki mutasyonlarla açıklanabilir. Bu mutasyonlar, fenotipik INH direncinin yalnızca %50-95 ve %8-43'ünü açıklar (Witney et al. 2016). Genotipik ve fenotipik ilaç direnç görünümü arasındaki uyumsuzluk, ÇİD TB suşları arasındaki genetik varyasyonların tam olarak açıklanamadığını göstermiştir. Kısa okuma dizileme platformunu kullanan bütün genom dizilimi, ek direnç ilişkili mutasyonların tanımlanmasına izin verir, fakat mevcut yöntemde hala sınırlamalar vardır. MTB genomunda tekrar bölgelerinin çokluğu ve GC içeriğinin yüksek olması nedeniyle genellikle genom kütüphanesi hazırlığı zordur ve amplifikasyon sırasında sorunlar ortaya çıkar. Bu da genom analizi sırasında güçlük ortaya çıkarır (Read et al. 2002).

Bu çalışmanın amacı, insanlarda tüberküloz hastalığının etiyolojisinde yer alan *M. tuberculosis* (MTB) bakterisinin Arjantin ve Malezya'da izole edilen ve çok ilaca dirençli genomlarının, referans suş olan MTB H37rv genomu ile karşılaştırılarak, ilaç direncinde rol oynayan genomik değişimlerin ve coğrafik bölgelere ait izolatlar arasındaki olası farklılıkların belirlenmesidir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Farklı coğrafik bölgelerden izole edilmiş ÇİD TB suşlarının genom dizileri NCBI Nükleotit veri bankasından (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore) alındı. Malezya'nın Kuala Lumpur şehrinde izole edilmiş PR10 suşunun erişim numarası CP010968 ve Arjantin'in Buenos Aires şehrinden izole edilmiş 410 suşunun erişim numarası CM007646'dır. Referans genom olarak ilaç direnci bulunmayan MTB H37rv suşu (erişim numarası AL123456.3) kullanıldı.

Mutasyonları tespit etmek amacıyla ÇİD TB suşlarının genom dizisiyle H37rv referans suşun genom dizisi, NCBI BLAST programında (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) "blastn" ve "align two or more sequences" seçenekleri kullanılarak karşılaştırıldı. Nükleotit değişimi olan dizilerde "blastx" seçeneği kullanılarak mutasyon tipi tespit edildi. Yanlış anlamlı mutasyonlardan peptit zincirinde radikal değişime neden olanlar, prematüre stop kodonuna neden olan anlamsız mutasyonlar ve çerçeve kaymasına neden olan insersiyon/delesyonlar (indel oluşumları) protein fonksiyonunda muhtemel değişimler meydana getireceği için önemli kabul edildi. Mutasyona uğramış proteinlerin metabolik işlevleri UniProt (http://www.uniprot.org) ve NCBI Gene (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ gene) web araçları kullanılarak tahmin edildi.

MTB 410 suşunda HNH endonükleaz proteinlerine ait çok sayıda mutasyon tespit edildiği için örnek olarak bu proteine ait diziler seçilerek farklı suşlara ait dizilerle ClustalW programı kullanılarak karşılaştırıldı (Hung and Weng 2016). MEGA7 programında (Kumar et al. 2016). Neighbour Joining metodu (Saitou and Nei, 1987) kullanılarak filogenetik ağaç çizildi. Daha sonra, Phyre2 sunucusu (Kelley et al. 2015; http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index) kullanılarak proteinin (erişim nuımarası OMH54996) 3 boyutlu yapısı belirlendi. Proteinin fiziksel ve kimyasal özellikleri ProtParam aracı (https://web.expasy.org/protparam) kullanılarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Karşılaştırmalı Genom Analizi

Arjantin'de izole edilen çoklu ilaç direncine sahip MTB 410 suşunun genom dizisi ile antibiyotik direnci olmayan referans suş H37Rv'nin genom dizisi karşılaştırıldı (Çizelge 1). Lipit metabolizmasına ait 25, karbonhidrat metabolizmasına ait 18, protein metabolizmasına ait 29, nükleik asit metabolizmasına ait 67, oksidasyon-redüksiyon prosesine ait 33, enerji metabolizmasına ait 6, demir ve sülfür metabolizmasına ait 11, transport (taşıma) işlevi gören 18, ilaç ve ksenobiyotik metabolizmasına ait 16, virülansta görev alan 67, kofaktör metabolizmasına ait 7, sinyal iletiminde görev alan 13, membran yapılarda yer alan 9, hücre duvarıyla ilgili 4, sekonder metabolizmaya ait 8, metilasyon görevi olan 3, farklı yolaklarda görev alan 10 protein ve fonksiyonu bilinmeyen 91 protein olmak üzere toplam 435 proteini kodlayan gende mutasyon tespit edildi.

Malezya'da izole edilen çoklu ilaç direncine sahip MTB PR10 suşunun genom dizisi ile antibiyotik direnci olmayan referans suş H37Rv'nin genom dizisi de karşılaştırıldı (Çizelge 2). Lipit metabolizmasına ait 29, karbonhidrat metabolizmasına ait 17, protein metabolizmasına ait 28, nükleik asit metabolizmasına ait 53, oksidasyon-redüksiyon prosesine ait 33, enerji metabolizmasına ait 17, demir ve sülfür metabolizmasına ait 4, transport (taşıma) işlevi gören 32, ilaç ve ksenobiyotik metabolizmasına ait 8, virülansta görev alan 32, kofaktör metabolizmasına ait 5, sinyal iletiminde görev alan 10, membran yapılarda yer alan 26, hücre duvarıyla ilgili 6, sekonder metabolizmaya ait 8, metilasyon görevi olan 7, hücre büyümesi/canlılığı/bölünmesi/hareketi ile ilgili 5, farklı yolaklarda görev alan 12, okzalat metabolizmasına ait 1, asetat metabolizmasına ait 1, asit-baz dengesiyle ilgili 1 protein ve fonksiyonu bilinmeyen 95 protein olmak üzere toplam 430 proteini kodlayan gende mutasyon tespit edildi.

Daha sonra, MTB 410 suşu ve PR10 suşundan elde dilen sonuçlar karşılaştırılarak mutasyona uğrayan ortak proteinler tespit edildi (Çizelge 3). Buna göre, lipit metabolizmasına ait 11, karbonhidrat metabolizmasına ait 6, protein metabolizmasına

ait 8, nükleik asit metabolizmasına ait 16, oksidasyon-redüksiyon prosesine ait 6, enerji metabolizmasına ait 3, demir ve sülfür metabolizmasına ait 3, transport işlevi gören 10, ilaç ve ksenobiyotik metabolizmasına ait 1, virülansta görev alan 8, kofaktör metabolizmasına ait 2, sinyal iletiminde görev alan 4, membran yapılarda yer alan 3, hücre duvarıyla ilgili 1, sekonder metabolizmaya ait 4, metilasyon görevi olan 1 protein ve farklı yolaklarda görev alan 3 protein olmak üzere mutasyona uğrayan toplam 90 proteinin her iki suşta da ortak olduğu belirlendi.

Çizelge 1. Arjantin izolatı olan MTB 410 suşu ile referans H37Rv suşunun genom karşılaştırması sonucu MTB 410 suşunda mutasyonla ilişkili genom bölgeleri ve proteinler.

Fonksiyon	**Genomda bulunduğu yer**	**Nükleotit değişimi**	**Aminoasit değişimi**	**Protein adı**
Lipit metabolizması				
	50638	T > C	R > G	inositol-3-phosphate synthase
	265245	G > T	A > S (+)	wax ester/triacylglycerol synthase family O-acyltransferase
	529396	C > A	G > V	CDP-diacylglycerol--serine O-phosphatidyltransferase
	530338	C > T	V > M (+)	phosphatidylserine decarboxylase proenzyme
	751782	A > G	Y > C	malonyl CoA-ACP transacylase
	885484	G > T	C > F	KsdD-like steroid dehydrogenase
	1713756	A > G	T > A	fatty-acid--CoA ligase FadD25
	1785824	T > C	I > V (+)	lipase
	1811023	A > T	H > L	acyl-CoA thioesterase II
	2185920	G > C	S > C	enoyl-CoA hydratase
	2247818	A > G	S > G	3-alpha-(or 20-beta)-hydroxysteroid dehydrogenase
	2517274	G > A	D > N (+)	Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase
	2534835	GA delesyon		Apolipoprotein N-acyltransferase
	2783358	C > T	R > Q (+)	glycerol-3-phosphate 1-O-acyltransferase
	2813622	G > A	P > L	CoA transferase subunit B
	2880437	C > A	A > E	esterase
	2906560	C > G	C > S	lipoprotein
	2923206	T > C	STOP > Q	polyprenol-phosphate-mannose-dependent alpha-(1,2)-phosphatidylinositol mannoside mannosyltransferase

Çizelge 1'in devamı

	2934640	G > C	S > C	phosphatidylinositol mannoside acyltransferase
	2934924	T > C	I > M (+)	
	3656672	GAAGTGAGTG ACGGGAACGA GACGAACAAT CCGGCCCCTG TGAGTCGAGT GAGCGGAACG AAC delesyon	EVSDGNET NNPAPVSR VSGTN delesyon	acyl-CoA carboxylase subunit epsilon
	3948265	C > G	A > P	acyl-CoA synthetase
	3949636	G > A	G > D	crotonase/enoyl-CoA hydratase family protein
	3956254	C > T	T > I	lipid-transfer protein
	3956793	C > A	Y > STOP	acetyl-CoA acetyltransferase
	4252777	A > G	I > T	acyl-CoA carboxylase subunit beta
Karbonhidrat metabolizması				
	154601	T > C	S > P	maltokinase
	387540	A > C	K > T	beta-1,3-glucanase
	393988	T > C	S > G	PIG-L family deacetylase
	496096	A > T	K > M	glucose-6-phosphate dehydrogenase (coenzyme-F420)
	580131	A > G	N > S (+)	D-inositol-3-phosphate glycosyltransferase
	631850	G > C	R > P	NAD-dependent dehydratase
	653444	G > C	R > P	glycosyltransferase family 1 protein
	717152	A > G	T > A	galactose-1-phosphate uridylyltransferase
	825584	G > T	A > D	fuculose phosphate aldolase
	1114940	A > G	Q > R (+)	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase
	1625447	C > G	R > P	glucose-6-phosphate dehydrogenase assembly protein OpcA
	2142604	G > C	V > L (+)	Sorbitol dehydrogenase
	2289890	C > A	V > F	L-arabinose transport system permease protein AraQ
	2695769	T > G	V > G	glycoside hydrolase family 15 protein
	2696191	G > A	V > M (+)	
	3234018	G > A	P > S	acylphosphatase
	3422093	C > G	H > D	carbon starvation protein A
	3422636	C > A	R > S	
	3813651	C > A	C > STOP	Alpha,alpha-trehalose phosphorylase TreP_1
	4275981	G > T	D > E (+)	Cof-type HAD-IIB family hydrolase
Protein metabolizması				
	57474	A > T	Y > F (+)	DJ-1/PfpI family protein
	146225	T > C	N > S (+)	elongation factor G-like protein

Çizelge 1'in devamı

	494840	C delesyon		MBL fold metallo-hydrolase
	759178	A > G	L > P	CPBP family intramembrane metalloprotease
	821623	C > T	P > L	signal peptide peptidase SppA
	879856	CG insersiyon		ptrB protease
	948677	G > A	G > S	PLP-dependent cysteine synthase family protein
	1105199	T > C	L > P	serine protease
	1131854	G > C	R > G	methionine--tRNA ligase
	1225854	T > C	V > A	serine hydroxymethyltransferase
	1350512	G > A	A > T	succinyl-diaminopimelate desuccinylase
	1670290	C > A	H > N (+)	MoxR family ATPase
	1743917	C > G	R > P	asparaginase
	1795428	T > C	V > A	imidazoleglycerol-phosphate dehydratase HisB
	1796312	G > A	S > N (+)	imidazole glycerol phosphate synthase subunit HisH
	1836686	CACTGCTCCTATGCCGGCTGCGCCGGCATCATCGTCGTTGGCGCGGGTCATATGCGC insersiyon	AHMTRANDDDAGAAGIGAV insersiyon	MBL fold metallo-hydrolase
	1854908	G > T	G > C	phenylalanine--tRNA ligase subunit beta
	1937108	A > G	S > G	cyclase family protein
	2202471	G > A	D > N (+)	SecB-like chaperone
	2733545	C > A	A > S (+)	glutamate 5-kinase
	2756125	A > G	Y > C	homocysteine S-methyltransferase
	2756214	G > A	E > K (+)	
	2856180	T > C	I > V (+)	type II 3-dehydroquinate dehydratase
	2883468	T > C	L > P	transglutaminase
	2947733	A > T	F > Y (+)	site-2 protease family protein
	2967567	T > G	Q > H	glutamine synthetase
	3155513	AA delesyon		peptide synthetase
	3467721	A insersiyon		protease
	3686716	G > A	H > Y (+)	M20 family peptidase
	4031663	C > T	A > V	serine hydrolase
Nükleik asit metabolizması				
	4114	T > C	I > T	DNA replication and repair protein RecF
	7463	G > C	E > Q (+)	DNA gyrase subunit A
	7686	G > C	S > T (+)	
	9405	G > A	G > D	
	62130	A > G	R > G	intein-containing replicat. DNA helicase

Çizelge 1'in devamı

	79676	CCGGTGGACC CGGTGGAC insersiyon	PVDPVD insersiyon	maturase
	103912	G > C	R > W	HNH endonuclease
	103914	G > A		
	104848	C > T	V > I (+)	
	187738	G > C	P > R	TetR/AcrR family transcriptional regulator
	279001	C > G	H > D	ribonucleoside-diphosphate reductase NrdB
	395013	A > G	N > S (+)	ArsR family transcriptional regulator
	459427	C > T	G > D	RNA methyltransferase
	766132	A > T	H > L	DNA-directed RNA polymerase subunit beta
	770142	G > A	G > E	DNA-directed RNA polymerase subunit beta
	837809	A > C	N > H (+)	transposase
	925285	C > G	A > G	transposase
	963627	GTCAGTCAA insersiyon	(M)TD insersiyon	helicase
	983281	G > C	G > R	rRNA methyltransferase
	993578	G > C	P > A	LuxR family transcriptional regulator
	1074280	T > C	S > P	magnesium chelatase
	1132613	C > A	T > N	YchF/TatD family DNA exonuclease
	1175371	C > A	Q > K (+)	IS256-like element IS1081 family transposase
	1239436	G > C	A > G	Exonuclease VII large subunit
	1239509	C > G	G > R	
	1281495	T > G	Q > P	HNH endonuclease
	1281496	T > G		
	1281514	G > T	A > E	
	1281561	T > G	P > A	
	1281563	G > C		
	1281588	G > T	H > K	
	1281590	G > T		
	1281968	T > C	I > V (+)	
	1281985	T > C	K > R (+)	
	1281986	T > G		
	1282027	G > C	A > G	
	1282035	A > T	F > L	
	1282038	C > A	A > G	
	1282039	G > C		
	1282047	A > G	N > H (+)	
	1282049	T > G		

Çizelge 1'in devamı

	1333863	G > C	A > P	PucR family transcriptional regulator
	1343348	G > C	F > L	PucR family transcriptional regulator
	1346800	G > T	Q > K (+)	IS256-like element IS1081 family transposase
	1346926	C > T	D > N (+)	
	1401213	G > A	P > L	TM0106 family RecB-like putative nuclease
	1401489	G > T	P > H	
	1553169	G > A	R > W	HNH endonuclease
	1640473	C > A	Q > K (+)	Purine catabolism regulatory protein
	1781617	G > T	N > K	HNH endonuclease
	1781660	C > T	G > D	
	1781677	C > G	E > D (+)	
	1847404	T > C	L > P	RNA methyltransferase
	1917485	C > T	A > V	CTP synthase
	2006871	G > A	H > Y (+)	IclR family transcriptional regulator
	2009765	G > C	R > G	TetR/AcrR family transcriptional regulator
	2073807	G > T	E > STOP	bifunctional nuclease family protein
	2162734-2162842	12 baz değişimi		repeat_region, rpt_family="CRISPR"
	2225095	A > T	L > H	ribonuclease VapC36
	2260164	C > T	A > V	IS110 family transposase
	2274419	T > C	D > G	type I restriction enzyme EcoKI subunit R
	2352135	ACCC delesyon		flap endonuclease
	2353078	C > G	F > L	DNA polymerase I
	2700838	AGCGACCATA TCGCCGAGCT C insersiyon	SDHIAEL insersiyon	ribonuclease Z
	2748671	C > A	G > C	helicase
	2823435	G > T	Q > K (+)	IS256-like element IS1081 family transposase
	2824392	T > C	T > A	
	2905728	G > T	A > E	adenine phosphoribosyltransferase
	2954016	G > A	G > D	RNA-splicing ligase RtcB
	3007851	C > G	V > L (+)	deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase
	3063234	A > G	L > P	type I restriction endonuclease subunit M
	3066634	C > A	G > V	restriction endonuclease subunit S
	3080275	G > T	P > H	MarR family transcriptional regulator
	3107939	A > T	E > V	transposase
	3112067	A > G	R > G	transposase
	3113659-3114060	26 delesyon, 26 insersiyon, 90 baz değişimi		repeat_region, rpt_family="CRISPR"
	3126979	CGGCGATGT insersiyon		type 3-A CRISPR-assoc. Cas10/Csm1

Çizelge 1'in devamı

	3185659	C delesyon		23S rRNA (adenine(2503)-C(2))-methyltransferase RlmN
	3332574	T > A	C > S	restriction system protein MRR
	3332607	A delesyon		
	3475415	NNNNNNN		IS256-like element IS1081 family transposase
	3476157	C > A	Q > K (+)	
	3574259	A > G	T > A	DNA methyltransferase
	3683844	A > C	Q > P	recombinase XerC
	3683846	G > A	A > T	
	3683854	CGGCGACGATGCACGCCGC GCAGCGGCGTGAGGAGGAG CCGAGCAGTCAAGCACAGC T insersiyon		
	3778201	T > G	I > L (+)	error-prone DNA polymerase
	3806523	A > C	L > V (+)	GMP synthase glutamine-hydrolyzing GuaA
	3820386	C > T	S > L	Ribonuclease VapC47
	3826981	G > A	S > L	ECF RNA polymerase sigma factor SigD
	4060185	G > T	L > M (+)	hypoxanthine phosphoribosyltransferase
	4072328	C > A	A > E	IS21 family transposase
	4091568	G delesyon		helicase
	4179550	G > A	R > H	ATP-dependent DNA ligase
	4298891	T > C	T > A	transposase
	4304034	G > A	V > I (+)	AraC family transcriptional regulator
Oksidasyon-redüksiyon prosesi				
	67487	C > G	P > A	FAD-binding oxidoreductase
	76058	G > C	V > L (+)	short chain dehydrogenase
	94480	G > A	V > I (+)	hydrogenase HycQ
	107621	T > C	I > T	TauD/TfdA family dioxygenase
	234795	T > G	Y > STOP	molybdopterin oxidoreductase family protein
	311294	G > A	A > V	sirohydrochlorin chelatase
	400435	G > C	A > P	NAD(P)/FAD-dependent oxidoreductase
	793251	G > T	G > V	NAD(P)/FAD-dependent oxidoreductase
	1297639	C > T	A > V	nitrate reductase subunit beta
	1312773	C > G	C > S	NADPH-dependent 2,4-dienoyl-CoA reductase
	1620633	A > G	H > R	molybdopterin guanine dinucleotide-containing S/N-oxide reductase
	1654963	T > C	Q > R (+)	acyl-CoA dehydrogenase
	1762198	C > T	S > L	succinate dehydrogenase iron-sulfur subunit
	2054634	A > G	L > P	NADH dehydrogenase

Çizelge 1'in devamı

	2094180	CGTCAG delesyon	DA delesyon	phosphogluconate dehydrogenase (NADP(+)-dependent, decarboxylating)
	2140600	C > T	A > T	nitronate monooxygenase
	2140833	GCGA delesyon		nitronate monooxygenase
	2180466	CTTGTTTGACCATCGCCTTG GC insersiyon		short-chain dehydrogenase
	2484540	G > C	W > S	Epimerase family protein
	2526051	G delesyon		putative FAD-linked oxidoreductase
	2775109	T > C	S > G	NAD-dependent glutamate dehydrogenase
	2804234	T > C	T > A	branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex dihydrolipoyllysine-residue acyltransferase
	2893604	C > T	P > S	oxidoreductase
	3031444	T > C	Q > R (+)	FAD-binding protein
	3074862	A > G	L > P	flavodoxin family protein
	3455865	GGCGC insersiyon		LLM class F420-dependent oxidoreductase
	3565936	C > A	V > F	NAD-binding protein of Kef-type K+ transporter
	3682306	G > T	C > STOP	NAD(P)H-quinone dehydrogenase
	3697437	G > C	V > L (+)	succinate dehydrogenase
	3989699	C > T	S > F	electron transfer flavoprotein
	4159194	A > G	T > A	FAD-binding oxidoreductase
	4175564	T > C	V > A	radical SAM protein
	4220027	T > C	V > A	oxidoreductase
Enerji metbolizması				
	958987	A > G	S > G	acetyl-CoA acetyltransferase
	1023210	A > G	Y > H (+)	acetyl-CoA acetyltransferase
	1628007	T > C	T > A	transaldolase
	1630804	A > C	Y > D	transketolase
	2160319	G > A	G > D	isocitrate lyase
	2160665	T insersiyon		
	2461707	T insersiyon	STOP kodon oluşumu	Cytochrome b6
Demir ve sülfür metabolizması				
	987062	T > G	S > A (+)	diiron oxygenase
	407140	G > A	A > V	(Fe-S)-binding protein
	407486	T > C	R > G	
	487798	A > T	I > N	transport acessory protein MmpS
	507094	C > G	S > C	thiazole synthase
	780631	T > C	I > V (+)	siderophore RND transporter MmpL5
	782785	C > T	A > T	

Çizelge 1'in devamı

	812957	C insersiyon		arylsulfatase AtsA (pseudo)
	1445647	C > G	P > R	adenylyl-sulfate kinase
	1649552	G > A	M > I (+)	Fe-S cluster assembly protein SufB
	1651004	A > G	N > D (+)	Fe-S cluster assembly protein SufD
	3658097	G > A	W > STOP	sulfurtransferase
	3963649	G > A	Q > STOP	sulfotransferase family protein
Transport				
	122245	A > G	K > E (+)	cation-transporting P-type ATPase B
	125967	A insersiyon	S > F	cation-transporting ATPase I
	641773	G > A	P > S	low-affinity inorganic phosphate transporter
	691113	C > T	T > I	ABC transporter permease
	882285	G > C	R > G	putative transport protein HsrA
	1158641	C > G	F > L	potassium-transporting ATPase subunit A
	1365386	T > C	S > G	ABC transporter permease
	1367183	T > C	Q > R (+)	ABC transporter ATP-binding protein
	1380292	G > A	P > L	magnesium transporter
	1380902	A > C	C > G	
	1387806	T > C	K > E (+)	magnesium and cobalt transporter CorA
	1887405	GTCTTGCCGC insersiyon		ABC transporter ATP-binding protein
	1923029	G > C	R > G	amino acid permease
	1924180	C > A	R > L	
	2583009	G > C	V > L (+)	sugar ABC transporter permease
	2691330	C > G	G > A	sulfate ABC transporter permease subunit CysW
	2709768	C > T	Q > STOP	metal ABC transporter ATPase
	2999252	G > T	P > T	multidrug ABC transporter ATP-binding protein
	3003759	A > G	T > A	TrkA family potassium uptake protein
	4201296	A > G	S > P	glycine/betaine ABC transporter substrate-binding protein
	4201975	A > G	L > P	
İlaç ve ksenobiyotik metabolizması				
	83978	G > A	R > Q (+)	amidohydrolase family protein
	84118	A > G	N > D (+)	
	164994	G > A	D > N (+)	cytochrome P450
	574328	GCCCGGCGACGAGCGCGCCGCACCGGCGCGCGCAGGAGCCGGGCAATCCAGCTTGC delesyon		amidohydrolase
	1116791	G > T	R > L	N-acetyltransferase
	1237211	C > A	P > T	carboxylesterase

Çizelge 1'in devamı

	1416388	T > G	S > A (+)	amidase
	1571188	C > A	R > L	cytochrome P450
	1645128	GGCGCGGTTC AC insersiyon	V(M)NRA insersiyon	Daunorubicin/doxorubicin resistance ATP-binding protein DrrA
	2293574	A > C	Y > D	Pyrazinamidase
	2543237	C delesyon		Cytochrome P450 107B1
	2562066	A > G	D > G	haloalkane dehalogenase
	2601910	C > A	D > Y	multidrug resistance protein Stp
	2685667	G > C	G > A	gamma-glutamyltransferase
	3480702	A > G	K > E (+)	cytochrome P450
	3969988	C > G	E > D (+)	4-hydroxy-2-oxovalerate aldolase
	3982275	A > C	W > G	cytochrome P450
Virülans				
	105935	C > T	T > M	PPE family protein
	150399-151208	53 insersiyon, 74 delesyon, 198 baz değişimi		PE family protein
	179264	C > T	A > T	PE family protein
	189118	T > C	T > A	PE family protein PE3
	206657	T > C	L > P	MCE-family protein
	336829-339427	188 insersiyon, 55 delesyon, 437 baz değişimi		PE family protein
	339851-339880	1 delesyon, 1 insersiyon, 11 baz değişimi		PE family protein
	341129	A > C	D > A	
	341507	ATCCGCCGG delesyon		
	341951	G > A	T > V	
	341952	T > C		
	343533	T > C	T > A	PPE family protein
	359689	A > G	N > D (+)	type VII secretion system ESX-3 subunit EccE3
	376445	A delesyon		PPE family protein
	470644	G insersiyon		PPE family protein
	470656	G insersiyon		
	470664	G > C		
	470674	C > G		
	470694	G > C		
	470705	A > C		
	470712	A > C		
	470733	G > C		
	470738	T > C		
	470769	T > G		
	470786	G > T		

Çizelge 1'in devamı

	627584-627741	22 insersiyon, 26 baz değişimi		PE family protein
	691430	T > C	F > S	MCE-family protein
	696346	C insersiyon		MCE-family protein Mce2D
	841373	A > G	E > G	PE family protein
	841555	A > G	T > A	
	841639	A > G	N > D (+)	
	841759	A > G	T > A	
	842134	A > G	T > A	
	843986-844423	50 amino asit değişimi, 17 insersiyon, 14 delesyon, 45 baz değişimi		PE family protein
	931647	GTCGCCGCC delesyon		PE family protein
	971996	GCCGGGTTG insersiyon		PE family protein
	980476	G delesyon		PPE family protein
	1098890	C > G	W > I	PE domain-containing protein
	1098891	C > A		
	1098892	A > T		
	1098900	T > G	N > A	
	1098901	T > C		
	1098924	T > G	D > P	
	1098925	C > G		
	1098926	G > C	I > A	
	1098927	A > G		
	1098928	T > C		
	1098934	T > G	N > H (+)	
	1098953	T > C	P > K	
	1098954	G > T		
	1098955	G > T		
	1098962	G > C	T > V	
	1098963	G > A		
	1098964	T > C		
	1098970	A > C	S > A (+)	
	1098973	G > C	Q > E (+)	
	1098975	A > G	V > T	
	1098976	C > T		
	1098980	T > C	A > T	
	1098982	C > T		
	1098990	G > A	A > V	
	1098992	A > C	D > G	
	1098993	T > C		

Çizelge 1'in devamı

	1099009	CAGGGCCTGC TC insersiyon	EQAL insersiyon	PE domain-containing protein (devam)
	1099010	C > G	V > I (+)	
	1099012	C > T		
	1099013	G > C	N > Q	
	1099015	T > G		
	1099063	C > T	G > S	
	1100997	C > G	W > I	PE domain-containing protein
	1100998	C > A		
	1100999	A > T		
	1101007	T > G	N > A	
	1101008	T > C		
	1101031	T > G	D > P	
	1101032	C > G		
	1101033	G > C	I > A	
	1101034	A > G		
	1101035	T > C		
	1101041	T > G	N > H (+)	
	1101060	T > C	P > K	
	1101061	G > T		
	1101062	G > T		
	1101069	G > C	T > V	
	1101070	G > A		
	1101071	T > C		
	1101077	A > C	S > A (+)	
	1101080	G > C	Q > E (+)	
	1101082	A > G	V > T	
	1101083	C > T		
	1101087	T > C	A > T	
	1101089	C > T		
	1101097	G > A	A > V	
	1101099	A > C	D > G	
	1101100	T > C		
	1101105	CAGGGCCTGC TC insersiyon	EQAL insersiyon	
	1101117	C > G	V > I (+)	
	1101119	C > T		
	1101120	G > C	N > Q	
	1101122	T > G		
	1101288	G > T	H > Q	
	1195060	A > C	L > W	PE family protein

Çizelge 1'in devamı

	1196327-1196675	21 insersiyon, 6 delesyon, 59 baz değişimi		PE family protein
	1304009	C > A	G > W	PPE family protein
	1346205	G > T	P > T	ESAT-6-like protein EsxL
	1574281	T > G	R > S	PE family protein
	1631614-1634873	Çok sayıda indel ve baz değişimi		PE family protein
	1637808-1638142	12 delesyon ve 49 baz değişimi		PE family protein
	1754854	T > C	D > G	PPE family protein
	1857915	T > C	T > A	PE family protein
	1926731	C > T	R > H	PPE family protein
	2025849	T > C	S > P	type VII secretion system ESX-5 target PE18
	2026709	CGGCCG delesyon		type VII secretion system ESX-5 target PPE26
	2048428	T > C	F > S	PPE family protein
	2048460	G > C	V > L (+)	
	2051398	G > T	V > L (+)	PPE family protein PPE33
	2060797	CCGCCGGCG insersiyon		PE family protein
	2168601	T > G	Q > T	PPE family protein
	2168602	G > T		
	2168623	C > G	V > L (+)	
	2168626	T > C	T > A	
	2168627	G > T	I > T	
	2168628	A > G		
	2168631	T > C	N > G	
	2168632	T > C		
	2168639	T > A	T > I	
	2168640	G > A		
	2168645	T > G	T > I	
	2168646	G > A		
	2168648	A > C	A > P	
	2168650	C > G		
	2168656	T > C	I > V (+)	
	2168662	A > C	L > V (+)	
	2168669	C > A	V > I (+)	
	2168671	C > T		
	2168672	C > A	T > S (+)	
	2168673	G > C		
	2168679	C > T	G > Q	
	2168680	C > G		

Çizelge 1'in devamı

	2168687	A > G	D > N (+)	PPE family protein (devam)
	2168689	C > T		
	2168721	A > G	M > T	
	2168723	C > T	A > T	
	2168725	C > T		
	2203528	G > A	Q > STOP	plasmid stabilization protein ParE
	2216082	C > A	A > E	MCE-family protein
	2652177	A > G	V > A	protein MbtH
	2656271	C > G	E > D (+)	non-ribosomal peptide synthetase
	2747777	C > T	R > Q (+)	Resuscitation-promoting factor RpfE
	2803119	G > C	R > P	type II toxin-antitoxin system VapC family toxin
	2968842	A > G	I > T	phage major capsid protein
	3048388	A > G	D > G	PE family protein
	3132573	G > A	A > V	type II toxin-antitoxin system Phd/YefM family antitoxin
	3158318	C > G	R > G	PE family protein
	3459536	G > A	P > L	PE domain-containing protein
	3583532	C insersiyon		4'-phosphopantetheinyl transferase
	3583909	T > C	K > E (+)	ParA family protein
	3727209	A > G	I > T	PPE family protein
	3727671	G > C	A > G	
	3727679	G > A	V > F	
	3727681	C > A		
	3727688	A > C	F > W	
	3727689	A > C		
	3731643	T > G	E > A	
	3733243	CGCGCCGCCGGTGGAGCCAGGGCCGACACCGTCGCCGCCCTTGCCGCC delesyon		PPE family protein
	3733502	TGCCGCCGCTGCCGCCGT insersiyon		
	3735576-3736335	Çok sayıda indel ve baz değişimi		
	3739849	G > A	A > V	
	3741789	A > G	T > N	
	3741790	G > T		
	3741797	C > T	G > S	
	3741853	A > T	F > Y (+)	
	3741893	A > T	S > T (+)	
	3746320	A > C	L > R	
	3774723	GGCAACGGT insersiyon		PE family protein

Çizelge 1'in devamı

	3835991-3836477	6 insersiyon, 89 baz değişimi		putative PPE family protein PPE36
	3946095-3946186	37 baz değişimi		PE family protein
	3946188	TCCGCC insersiyon		
	4052304	G > A	T > I	type VII secretion system ESX-1 target EspA
	4056704	G > A	S > L	ESAT-6-like protein EsxI
	4056713	T > A	Q > L	
	4090861-4091050	64 insersiyon, 1 delesyon, 30 baz değişimi		PE family protein
	4343018	A > G	M > V (+)	type VII secretion system ESX-1 subunit EccB1
	4348014	C > T	A > V	type VII secretion system ESX-1 target PPE68
	4349329	G > A	E > K (+)	type VII secretion system ESX-1 WXG100 family target CFP-10
	4353977	C > A	T > K	type VII secretion system ESX-1 associated protein EspJ
	4354451	C > G	A > G	type VII secretion system ESX-1 associated protein EspK
	4356019	G > C	P > A	
	4356028	GGTTCCCGGG GTGATCGGGG TTCCCGGCGT GATCGG insersiyon	PITPGTPIT PGT insersiyon	
	4356557	A > C	L > W	
	4359697	A > G	V > A	type VII secretion system ESX-1 subunit EccE1
	4362351	G > A	Q > STOP	type VII secretion AAA-ATPase EccA
	4363085	T > C	E > G	
	4369897	T delesyon		ESX-2 secretion-associated protein EspG
Kofaktör metabolizması				
	36558	C delesyon		8-amino-7-oxononanoate synthase
	1780724	T > C	M > T	ATP-dependent dethiobiotin synthetase BioD
	2334172	A > G	L > P	Precorrin-6Y C(5,15)-methyltransferase decarboxylating
	2509465	G > C	S > C	cobalamin biosynthesis protein
	3329008	C > T	A > T	thiamine-phosphate kinase
	3654186	C > T	V > I (+)	biotin--[acetyl-CoA-carboxylase] ligase
	4004030	A > C	D > A	pyridoxal phosphate-dependent aminotransferase
Sinyal iletimi				
	857831	C > T	P > L	sensor histidine kinase
	996923	A > C	F > V	adenylate/guanylate cyclase domain-containing protein

Çizelge 1'in devamı

	1155550	G > A	P > S	sensor protein KdpD
	1418326	C > T	A > V	adenylyl cyclase
	1419199	C > T	R > Q (+)	serine/threonine protein kinase
	1419706	G > A	A > V	
	1485979-1487553	379 baz değişimi, 4 insersiyon, 13 delesyon		Adenylate cyclase 2 CyaB_2
	1487560-1488205	39 baz değişimi, 11 insersiyon, 7 delesyon		Adenylate cyclase 2 CyaB_3
	1562236	G > A	A > T	cell motility protein
	1710364	C > T	L > F	GAP family protein
	1849881	G > C	A > P	adenylate/guanylate cyclase domain-containing protein
	3080855	T > C	M > V (+)	cell motility protein
	3617911	T > G	M > L (+)	two component sensory transduction histidine kinase
	4207129	A > G	C > R	sensor histidine kinase
Membran proteinleri				
	262189	T > C	C > R	membrane protein
	652456	T > G	L > R	membrane protein
	1140216	T > G	E > A	putative CONSERVED LIPOprotein LPQT
	1379243	T > C	S > G	membrane protein
	1646734	T > C	K > E (+)	membrane protein
	2053350	G > A	R > H	MgtC/SapB family protein
	2171978	T > C	I > T	membrane protein
	4092293	C > G	G > R	putative CONSERVED ALANINE RICH membrane protein
	4184672	A > G	D > G	membrane protein
Hücre duvarı				
	55634	C > T	A > V	penicillin-binding protein
	2868191	T > C	D > G	endolytic transglycosylase MltG
	3182603	G > A	A > T	cell surface protein
	4239658	G > C	V > L (+)	arabinosyltransferase
Sekonder metabolizma				
	492358	C > G	L > V (+)	polyketide synthase
	493579	C > G	L > V (+)	
	1111387	T > C	I > V (+)	polyprenyl synthetase family protein
	1320367	A > C	STOP > Y	polyketide synthase
	1724995	A > C	L > R	type I polyketide synthase
	2132724	TCGCATGCCGTCACC insersiyon	VTACE insersiyon	SRPBCC family protein
	2300681	G > C	P > A	Phenolphthiocerol synthesis polyketide synthase type I Pks15/1
	2305185	A > T	H > Q	
	2308707	C > A	E > D (+)	

Çizelge 1'in devamı

	3243244	C > G	D > E (+)	phthiocerol type I polyketide synthase PpsA
	3243779	G > A	A > T	
	3243781	C > T		
	3243794	C > A	Q > R (+)	
	3243795	A > G		
	3243796	A > G		
	3243797	A > G	N > D (+)	
	3244002	G > A	H > R	
	3244003	C > T		
	3292771	A > G	V > A	polyketide synthase
Metilasyon				
	1690281	C > T	R > H	class I SAM-dependent methyltransferase
	1791402	G > A	G > D	SAM-dependent methyltransferase
	3810815	C > A	A > E	putative S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase
Farklı işlevler				
	1696296	C > G	G > R	transferase
	2146343	A > C	I > M (+)	3-oxoadipate enol-lactonase 2
	2340133	A > G	Y > C	alpha/beta hydrolase fold protein
	2500051	G > A	D > N (+)	CHAD domain-containing protein
	2949706	T > C	R > G	alpha/beta hydrolase
	3103524	G > A	G > S	hydrolase
	3434187	G > C	G > R	hydrolase
	3434614	G > A	R > H	
	3444182	C > T	A > V	alpha/beta hydrolase
	3474199	G > A	G > E	HAD family hydrolase
	3573484	T delesyon		alpha/beta hydrolase
Fonksiyonu bilinmeyenler				
	11471	C > T	A > V	hypothetical protein
	24822	GTTGCTCGGG GTAACCGC delesyon	AVTPSN delesyon	DUF2662 domain-containing protein
	29568	A delesyon		hypothetical protein
	31025	C > T	P > S	DUF4226 domain-containing protein
	52030	A > G	V > A	DUF1707 domain-containing protein
	52035	T > A	E > D (+)	
	69952	C > T	L > F	hypothetical protein
	70070	G > A	G > D	
	70897	A > G	D > N (+)	
	71005	C > T	L > F	
	225641	T > C	K > E (+)	hypothetical protein

Çizelge 1'in devamı

	283571	T > G	T > P	DUF3367 domain-containing protein
	334837-336565	93 delesyon, 28 insersiyon, 281 baz değişimi		hypothetical protein
	382867	C > G	P > R	hypothetical protein
	427481	C insersiyon		hypothetical protein
	430471	TGCCGAGGTTTGCAC delesyon		
	431986	C > T	A > V	
	446423	A > C	D > E (+)	hypothetical protein
	457313	T > C	Y > C	hypothetical protein
	478326	T > C	V > A	hypothetical protein
	503062	C > A	D > Y	hypothetical protein
	557012	ACT insersiyon		hypothetical protein
	635176	G > C	R > P	hypothetical protein
	669747	A > G	F > L	hypothetical protein
	680403	C > T	A > V	hypothetical protein
	990040	G > C	G > R	hypothetical protein
	1013782	G insersiyon		DUF3471 domain-containing protein
	1056444	C > T	D > N (+)	DUF4873 domain-containing protein
	1078136	G > A	P > L	hypothetical protein
	1101532	A > G	C > R	hypothetical protein
	1101598	T > G	T > P	
	1153220	G > A	G > D	hypothetical protein
	1173682	T insersiyon		hypothetical protein
	1230583	G > A	R > C	hypothetical protein
	1286293	T > C	T > A	DUF1697 domain-containing protein
	1347896	T > C		hypothetical protein
	1347899	G insersiyon		
	1398872	C > A	A > S (+)	hypothetical protein
	1449380	C > G	L > F	DUF2254 domain-containing protein
	1491440	A > C	S > R	hypothetical protein
	1547747	T > C	T > A	hypothetical protein
	1590004	A > G	T > A	hypothetical protein
	1612900	CGTCGA insersiyon		hypothetical protein
	1613252	ATCGGTACCGGTGCGCCAGGG insersiyon		hypothetical protein
	1619269-1619325	22 baz değişimi, 7 baz insersiyon		hypothetical protein
	1623620	C > A	A > D	hypothetical protein
	1677222	C > A	K > N	hypothetical protein
	1694493	A > G	Y > C	hypothetical protein
	1781083	G > T	R > L	hypothetical protein

Çizelge 1'in devamı

	1841023	C > G	V > L (+)	hypothetical protein
	2039264	C > T	A > V	hypothetical protein
	2057137	A > T	I > F	hypothetical protein
	2136792	CTCCGATCAC insersiyon		hypothetical protein
	2145373	GCGACGGCGGGCAAGGCGG TCGCGGCGGGGCGGGCGGT AGAGGCG insersiyon		hypothetical protein
	2187014	G > A	P > L	hypothetical protein
	2207230	C insersiyon		hypothetical protein
	2218981	T > G	K > T	hypothetical protein
	2263399	C > T	P > L	hypothetical protein
	2264421	C > A	A > E	hypothetical protein
	2287426	C > T	C > Y	hypothetical protein
	2339714	A > G	F > S	hypothetical protein
	2342834	C insersiyon		hypothetical protein
	2343634	G > A	A > T	hypothetical protein
	2344249	GCAGCG delesyon		hypothetical protein
	2344583	C insersiyon		
	2345256	C > G	P > R	hypothetical protein
	2346271	C > G	L > V (+)	hypothetical protein
	2532376-2532385	53 baz delesyon		hypothetical protein
	2638335	C > T	A > T	hypothetical protein
	2676610	T > G	L > R	hypothetical protein
	2714825	T > G	I > S	hypothetical protein
	2771565	G > A	A > T	hypothetical protein
	2781400	TC delesyon		hypothetical protein
	2825138	C > A	T > K	hypothetical protein
	2860373	A > G	T > A	hypothetical protein
	2861820-2862375	66 baz değişimi		hypothetical protein
	2861737	G > T	V > L (+)	hypothetical protein
	2861758	T > C	S > P	
	2861847	C > A	H > Q	
	2861849	A > G	N > S (+)	
	2861876	G > A	G > D	
	2862013	G > A	D > T	
	2862014	A > C		
	2862018	C > A	D > E (+)	
	2862025	A > G	N > A	
	2862026	A > C		

Çizelge 1'in devamı

	2862028	A > G	I > G	hypothetical protein (devam)
	2862029	T > G		
	2862030	A > G		
	2862032	A > G	Q > R (+)	
	2862034	C > A	Q > K (+)	
	2862037	T > G	S > A (+)	
	2862039	T > C		
	2862046	A > G	N > E	
	2862048	C > A		
	2862052	G > T	A > L	
	2862053	C > T		
	2862054	A > G		
	2862055	C > T	L > S	
	2862056	T > C		
	2862061	G > A	D > K	
	2862063	C > G		
	2862064	A > G	K > E (+)	
	2862066	G > A		
	2862074	C > G	A > G	
	2862075	G > C		
	2862100	A > G	N > D (+)	
	2862103	A > G	S > A (+)	
	2862104	G > C		
	2862105	C > A		
	2862111	G > C	M > I (+)	
	2862118	G > A	A > T	
	2862120	C > T		
	2862121	A > G	T > A	
	2862145	A > G	I > V (+)	
	2862149	C > T	A > V	
	2862151	G > A	A > T	
	2862918	A > C	N > R	hypothetical protein
	2862919	A > G		
	2862920	C > A		
	2862924	G > C	G > L	
	2862925	G > T		
	2862926	C > G		
	2875971	G > C	V > L (+)	hypothetical protein
	2876858	T delesyon		hypothetical protein
	2876871	G delesyon		

Çizelge 1'in devamı

	2886995	A > G	Q > R (+)	hypothetical protein
	2964761	T > C	L > P	hypothetical protein
	2967372	A > T	I > F	hypothetical protein
	2976870	G insersiyon		hypothetical protein
	2978650	A > G	H > R	hypothetical protein
	2984495	AGCGGTGATCGCAAGCGCG GCGAGCCGGGCGCAGCGGG TCACCGCCATCGGGACT insersiyon		hypothetical protein
	2990184	GGCGACGATGCAGAGCGCA GCGATGAGGAGGAGCGGCG CTTGACCTCCGCC insersiyon		DUF3000 domain-containing protein
	3005759	A > C	L > V (+)	hypothetical protein
	3018644	G > C	A > G	DUF4192 domain-containing protein
	3035938	G > T	A > E	hypothetical protein
	3090874	G > T	S > I	hypothetical protein
	3228631	G > A	D > N (+)	hypothetical protein
	3484830	G > A	Q > STOP	hypothetical protein
	3549121	A > G	L > P	hypothetical protein
	3549453	G > T	S > R	
	3755833-3755891	9 insersiyon, 21 delesyon, 13 baz değişimi		hypothetical protein (pseudo, internal stop codon)
	3985971	C > T	R > H	hypothetical protein
	4065795	G > A	A > T	hypothetical protein
	4296579	G > T	C > STOP	hypothetical protein
	4321482	G > A	D > N (+)	hypothetical protein
	4336860	A > C	T > P	hypothetical protein

Çizelge 2. Malezya izolatı olan MTB PR10 suşu ile referans H37Rv suşunun genom karşılaştırması sonucu mutasyona uğrayan genom bölgeleri ve ilgili proteinler.

Fonksiyon	Genom bölgesi	Nükleotit değişimi	Aminoasit değişimi	Protein adı
Lipit metabolizması				
	2956	G > A	G > D	enoyl-CoA hydratase
	9574	C > T	T > I	lipid-transfer protein
	220116	G > T	A > S (+)	cutinase
	312561	C > T	G > S	fatty-acid--CoA ligase
	624281	T delesyon		epoxide hydrolase; disrupted
	686068	T > C	S > P	lipoprotein
	726258	G > A	H > Y (+)	diacylglycerol O-acyltransferase
	946392	G > T	R > L	acyl-CoA synthetase
	946983	C > T	P > L	
	987276	C > A	G > V	CDP-diacylglycerol--serine O-phosphatidyltransferase
	1236498	C > A	F > L	enoyl-CoA hydratase
	1476103	C > G	D > E (+)	enoyl-CoA hydratase
	1554840	G > C	N > K	acetyl-CoA carboxylase
	1669409	A > C	Q > P	esterase
	1817724	G > C	E > D (+)	long-chain-acyl-CoA synthetase
	2135776	T > C	S > G	aconitate hydratase
	2158013	A > G	M > V (+)	esterase
	2182807	G > C	M > I (+)	acyl-CoA synthetase
	2183669	C > T	R > C	
	2226307	G delesyon		glycerol-3-phosphate acyltransferase; disrupted
	2262984	T > C	I > V (+)	lipase
	2288183	A > T	H > L	acyl-CoA thioesterase
	2378573	G > A	V > I (+)	acyl-CoA synthetase
	2567130	C > T	R > W	esterase
	3419337	G > C	S > C	lipid A biosynthesis acyltransferase
	3419621	T > C	I > M (+)	
	3764588	A > G	T > A	acyl-CoA synthetase
	3781874	G delesyon		acyl-CoA synthetase; disrupted
	3818555	G > C	P > A	glycerol-3-phosphate dehydrogenase
	3934268	C > G	L > V (+)	diacylglycerol O-acyltransferase
	4093251	C insersiyon		diacylglycerol O-acyltransferase
	4093845	T > C	R > G	
	4136848	G > A	V > M (+)	acyl-CoA transferase

Çizelge 2'nin devamı

Karbonhidrat metabolizması				
	432483	G > T	Q > K (+)	transglycosylase
	600260	G > A	W > STOP	D,D-heptose 1,7-bisphosphate phosphatase; disrupted
	616408	T > C	S > P	maltokinase
	628689	A > G	I > V (+)	NAD-dependent dehydratase
	679627	C > T	P > S	beta-glucosidase
	846059	C > T	P > S	1,3-beta-glucanase
	846723	A > C	K > T	
	852135	C > T	T > M	UDP-glucose 6-dehydrogenase
	1175161	A > G	T > A	galactose-1-phosphate uridylyltransferase
	1175778	T > C	C > R	galactokinase
	1283562	G > T	A > D	fuculose phosphate aldolase
	1577759	A > G	Q > R (+)	UDP-glucose pyrophosphorylase
	1683531	C > A	Q > K (+)	glycosyl hydrolase family 12
	1960482	A > G	S > P	glycogen branching protein
	2161081	T > G	L > V (+)	glycosyl transferase
	3254519	T > C	V > A	alpha-amylase
	3811316	CG delesyon		dihydroxyacetone kinase
	4120953	G > A	S > L	phosphomannomutase
Protein metabolizması				
	91736	C > T	A > T	lysyl-tRNA synthetase
	162602	T > C	I > V (+)	serine protease
	205635-205747	17 baz değişimi 2 delesyon		2-isopropylmalate synthase; disrupted
	506877	A > G	R > G	leucyl-tRNA synthetase
	608050	T > C	N > S (+)	elongation factor G
	609225	G > T	D > E (+)	
	968360	G > A	A > T	peptidase
	1011748	C > G	R > P	peptidase
	1283708	A > G	L > P	3-phosphoglycerate dehydrogenase
	1283831	C > T	R > H	
	1337915	CG insersiyon		protease 2 (PtrBb)
	1594673	G > C	R > G	methionine--tRNA ligase
	1688468	T > C	V > A	serine hydroxymethyltransferase
	2026456	T > C	S > P	carbamoyl phosphate synthase small subunit
	2211300	C > T	G > S	asparaginase
	2273472	G > A	S > N	imidazole glycerol phosphate synthase
	2320141	A > G	I > T	lysine--tRNA ligase
	2329766	C > A	A > D	phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha

Çizelge 2'nin devamı

	2500403	10 nt N	MAEA > XXXX	peptidase M22
	2500434	T > C	STOP > Q	
	2542235	C > A	T > K	glycine cleavage system protein H
	2551919	A > G	C > R	serine esterase
	3140261	C > G	E > D (+)	peptide synthetase
	3153760	C > G	V > L (+)	peptide synthetase
	3507763	T > C	V > A	proteasome protein
	3816777	T > C	T > A	D-alanine--D-alanine ligase
	3832761	G > T	D > E (+)	3-isopropylmalate dehydrogenase
	3838187	A > T	M > L (+)	peptidase M23B
	3855117	A > C	F > C	methionine synthase
	3882768	C > T	G > E	phosphoserine phosphatase
	3908922	C > A	R > S	carbon starvation protein CstA
Nükleik asit metabolizması				
	78907	A > G	T > A	DNA integrity scanning protein DisA
	139214	T > C	L > P	DEAD/DEAH box helicase
	166783	G > A	D > N (+)	Crp/Fnr family transcriptional regulator
	206267	C > A	V > L (+)	DNA polymerase III subunit epsilon
	206671	C > T	G > D	
	210635	C > A	G > C	recombinase RecR
	232960	G > A	R > H	ATP-dependent DNA ligase
	450873	C delesyon		RNA polymerase sigma factor SigM
	458139	T > G	E > D (+)	16S rRNA methyltransferase
	524165	A > G	R > G	DNA helicase
	603741	A > T	H > L	LysR family transcriptional regulator
	656430	GG insersiyon		GntR family transcriptional regulator
	675273	C > A	D > Y	RNA polymerase factor sigma-70
	675407	C > T	G > D	
	740810	C > G	H > D	ribonucleotide-diphosphate reductase subunit beta
	827213	C > G	H > D	TetR family transcriptional regulator
	854196	A > G	T > A	ArsR family transcriptional regulator
	854604	T > C	STOP > Q	6-O-methylguanine DNA methyltransferase
	918970	T > C	M > V (+)	RNA methyltransferase
	995932	C > G	R > T	anti-sigma K factor
	1004899	C > G	H > D	transcriptional regulator
	1018376	A > G	C > R	Cro/Cl family transcriptional regulator
	1133015	G > A	R > H	ArsR family transcriptional regulator
	1183841	T > G	E > D (+)	exodeoxyribonuclease V subunit alpha
	1224142	C > G	H > Q	DNA-directed RNA polymerase subunit beta
	1224162	T > C	L > P	

Çizelge 2'nin devamı

	1447351	G > C	G > R	RNA methyltransferase
	1457649	G > C	P > A	LuxR family transcriptional regulator
	1459544	T > C	E > G	
	1495866	G > A	G > D	transposase
	1514812	T > C	C > R	ATP-dependent DNA ligase
	1538349	T > C	S > P	magnesium chelatase
	1595432	C > A	T > N	DNAase
	1616714	C > T	G > S	Fis family transcriptional regulator
	1698566	G > A	T > I	mRNA interferase MazF3
	1968528	G > T	T > K	ATP-dependent helicase
	1998710	CGA delesyon	E delesyon	transcriptional regulator
	2064589	G > A	V > I (+)	excinuclease ABC subunit C
	2065025	T > C	V > A	
	2301427	A > C	T > P	DNA polymerase I
	2301433	A > G	R > G	
	2324507	T > C	L > P	RNA methyltransferase
	2621153	T > G	L > W	anti-anti-sigma factor
	3184828	AGCGAC CATATC GCCGAG CTC insersiyon	SDHIAEL insersiyon	ribonuclease Z
	3390425	G > T	A > E	adenine phosphoribosyltransferase
	3528877	C > G	V > L (+)	recombinase RecX
	3549132	A > G	L > P	restriction endonuclease subunit M
	3796909	A > C	M > L (+)	formyltetrahydrofolate deformylase
	3814001	G > A	Q > K (+)	transposase
	3815660	G > C	P > R	resolvase
	3892563	T > C	Q > R (+)	ribonucleotide-diphosphate reductase subunit alpha
	3906863	T delesyon		ATP-dependent DNA ligase; disrupted
	4059090	T > C	Q > R (+)	ATP-dependent DNA helicase
	4060356	C > T	E > K (+)	ATP-dependent DNA helicase
	4064272	A > G	T > A	DNA methyltransferase
	4147182	C > A	A > D	septum formation inhibitor Maf
	4160974	A > C	K > T	ATP-dependent helicase
	4244993	G > C		transposase; disrupted
	4268495	G > A	R > H	RNA methyltransferase
	4268496	G > T		
Oksidasyon-redüksiyon prosesi				
	26751	G > T	R > S	3-ketosteroid-delta-1-dehydrogenase
	37905	C > T	A > T	short-chain dehydrogenase

Çizelge 2'nin devamı

	43213	G > A	G > E	electron transfer flavoprotein
	55269	G > C	W > S	acyl-CoA dehydrogenase
	58902	A > G	I > T	monooxygenase
	96162	C > T	V > M (+)	oxidoreductase
	221003	G > C	V > L (+)	oxidoreductase
	221229	A insersiyon		
	224396	G > C	G > R	oxidoreductase
	273433	T > C	V > A	NAD(P)H-quinone oxidoreductase
	353669	G insersiyon		dehydrogenase
	453058	C > T	P > S	thioredoxin
	530454	C insersiyon		oxidoreductase
	538094	G > C	V > L (+)	short-chain dehydrogenase
	646395	T > C	L > P	NAD(P) transhydrogenase subunit alpha
	729880	G > C	A > G	aldehyde dehydrogenase
	758442	C > T	S > F	oxidoreductase
	767053	A > G	V > L	nitrite reductase
	916709	T > G	T > P	XdhC/CoxI family protein
	916733	C > T	A > T	
	1119612	C > T	R > H	FAD-dependent oxidoreductase
	1261356	G > C	A > P	dehydrogenase
	1343643	G > T	C > F	FAD-binding dehydrogenase
	1501857	TGC delesyon	S delesyon	short-chain dehydrogenase
	1522431	C > G	R > G	oxidoreductase
	2089867	C > G	L > V (+)	molybdopterin oxidoreductase
	2094477	C > G	R > P	oxidoreductase
	2094842	A > T	D > E (+)	
	2095019	GGT insersiyon	T insersiyon	
	2525184	A > G	L > P	NADH dehydrogenase
	2624641	C > A	R > L	hydroperoxidase
	2625085	C > G	S > T (+)	
	2628026	T > C	D > G	oxidoreductase
	3378486	T > C	M > T	2-dehydropantoate 2-reductase
	3516791	C > T	V > M (+)	acyl-CoA dehydrogenase
	3560760	A > G	L > P	flavodoxin
	4156882	T > A	C > S	aldehyde dehydrogenase
	4172248	G > T	C > STOP	flavoprotein disulfide reductase
	4172741	A > G	L > S	
Enerji metabolizması				
	1345338	T > C	Y > H (+)	ATPase

Çizelge 2'nin devamı

	1612369	A > G	R > G	enolase
	1613632	A > C	K > Q (+)	
	1712567	C > T	P > S	glucose-6-phosphate dehydrogenase
	1718987	C > T	G > E	pyruvate phosphate dikinase
	2097040	T > C	H > R	transaldolase
	2098442	T > C	I > V (+)	transketolase
	2099837	A > C	Y > D	
	2230240	A > G	D > G	fumarate reductase
	2556538	C > T	G > S	malate synthase
	2564785	AGCGTC delesyon	DA delesyon	6-phosphogluconate dehydrogenase
	2592256	C > T	V > M (+)	lactate dehydrogenase
	2592837	C > G	A > G	
	2630915	G > A	G > D	isocitrate lyase
	2631261	T insersiyon		
	2941035	T insers.	S > STOP	menaquinol-cytochrome C reductase
	3005379	G delesyon		flavoprotein
	3214040	T > C	V > A	ribokinase
	4080108	C > G	G > R	ATPase
	4126845	A > C	E > A	lactate dehydrogenase
	4187495	A > G	T > A	succinate dehydrogenase
Demir ve sülfür metabolizması				
	866365	G > A	A > V	FeS-binding protein
	866711	T > C	R > G	
	1220140	C > A	R > S	arylsulfatase
	1220183	A > G	D > G	
	2016372	C > T	P > L	sulfotransferase
	4148478	G > A	E > K (+)	thiosulfate sulfurtransferase
Transport				
	157247	T > C	Q > R (+)	ABC transporter substrate-binding protein
	170563	G > C	G > A	anion transporter
	171099	A > G	N > D (+)	
	254717	C > T	G > S	glycine/betaine ABC transporter substrate-binding protein
	255385	A > G	L > P	
	255590	A > G	W > R	
	584070	A > G	L > S	cation-transporting ATPase
	685051	G > A	T > A	MFS transporter
	692296	C > T	P > L	multidrug transporter
	1099789	G > A	P > S	inorganic phosphate transporter
	1148728	G > A	A > T	ABC transporter permease
	1504658	T > C	M > T	phosphate ABC transporter permease

Çizelge 2'nin devamı

	1512458	T insersiyon		phosphate ABC transporter permease; disrupted
	1547839	G > A	D > N (+)	metal ABC transporter ATPase
	1548256	A > G	I > V (+)	
	1571440	C > T	A > V	ABC transporter substrate-binding protein
	1811309	G > A	G > D	major facilitator transporter
	1828463	G > A	P > S	ABC transporter permease
	1829276	C > T	A > T	
	1829997	T > C	Q > R (+)	ABC transporter ATP-binding protein
	1835477	T > G	W > G	preprotein translocase
	1843718	A > C	C > G	magnesium transporter
	1850622	T > C	K > E (+)	magnesium transporter CorA
	1874650	G insersiyon		transporter
	2309966	G > C	G > R	major facilitator transporter
	2364529	GTCTTGCCGC insersiyon		ABC transporter ATPase
	2401246	C > A	R > L	amino acid transporter
	2537606	G > A	V > M (+)	preprotein translocase subunit SecA
	2704467	G > A	C > Y	amino acid transporter
	2718843	G > T	L > M (+)	transporter
	3175320	C > G	G > A	sulfate ABC transporter
	3236961	A > G	M > T	MFS transporter
	3364032	A > C	M > L (+)	glutamine ABC transporter ATP-binding protein
	3489666	A > G	T > A	potassium transporter TrkA
	3489808	A > G	D > G	
	3490394	A > G	I > V (+)	potassium transporter TrkA
	4050327	T > C	S > P	ABC transporter ATP-binding protein
	4095673	T > C	T > A	potassium transporter
İlaç ve ksenobiyotik metbolizması				
	84982	C > T	A > V	beta-lactamase
	625829	C > T	P > F	cytochrome P450
	625830			
	873133	C > T	P > S	Isoniazid-inducible protein iniB
	979743	T > C	D > G	GCN5 family acetyltransferase
	1477855	G insersiyon		beta-lactamase
	1479160	A > C		
	1579462	G > A	G > S	GCN5 family acetyltransferase
	2040254	C > A	R > L	cytochrome P450
	3900763	A > G	D > G	cytochrome P450
Virülans				
	82373	G > A	A > V	PE-PGRS family protein
	83108	G > A	A > V	

Çizelge 2'nin devamı

	100713	A > T	S > T	GTP cyclohydrolase
	145176	G delesyon	S > STOP	pilus biosynthesis protein TadE
	403546	17 N		secretion protein EspI; disrupted
	409311	GGTTCC CGGGGT GATCGG GGTTCC CGGCGT GATCGG insersiyon	PITPGTPIT PGT insersiyon	secretion protein EspK
	409862	C > T	D > N (+)	
	416404	T > C	E > G	secretion protein EccA
	650924	T > C	T > A	PE family protein
	661596	T > G	S > A (+)	MCE-family protein MCE1A
	662369	G > C	G > R	mammalian cell entry protein
	808634	C > G	P > R	secretion protein EccC
	815668	G > A	S > N	secretion protein EccD
	815724	G > A	A > T	
	888882-889701	yüksek oranda indel+baz değişimi		PPE family protein; disrupted
	1135002	GGTGCCGCC delesyon		PE-PGRS family protein
	1135199	CCG insersiyon		
	1149436	T > C	F > S	MCE-family protein MCE1A
	1151261	G insersiyon		mammalian cell entry protein
	1154744	AGC insersiyon	S insersiyon	mammalian cell entry protein
	1156999	A > G	N > S (+)	mammalian cell entry protein
	1436078	GTTGGC CGG insersiyon	GQP insersiyon	PE-PGRS family protein
	1628545	G > A	S > L	type VII secretion protein EsxI
	1628554	T > A	Q > L	
	1657878	A > C		PE-PGRS family protein; disrupted
	1679991	CTCGGCGTAGCGCCCG GCGTGCCCGGCGGCG CCGGCGGTGCCGGCG GC delesyon		PE-PGRS family protein
	1680406	ACGGCGGCGCCGGCG GGGCCGGTGGCGCCG GTGGCG delesyon		
	1681431	GGCGGCGCCGGTGGC GGCGGCGGGGCCGGC GGCATCGGCGGCGAC insersiyon		
	1682895	T delesyon		PE family protein

Çizelge 2'nin devamı

	1684945	A > C	D > A	PE-PGRS family protein
	1686684	G > A	G > S	
	1853074-1853580	Çok sayıda indel ve baz değişimi		PE-PGRS family protein
	2335132	CCGCCGGCCCCGCCGTCGGGT insersiyon		PE-PGRS family protein
	3136167	A > G	S > P	protein mbtH
	3534689	A > G	S > G	PE-PGRS family protein
	3558143	C > T	V > M (+)	PE family protein
	3806508	A > C	N > H (+)	2,5-diketo-D-gluconic acid reductase
	3821489	G > T	A > S (+)	polyphosphate kinase
	3946924	C > G	G > A	PE-PGRS family protein
	4270162	GGTGGCAAC insersiyon	GGN insersiyon	PE-PGRS family protein
Kofaktör metabolizması				
	964975	C > G	S > C	thiazole synthase
	1968851	C > G	G > A	nicotinate phosphoribosyltransferase
	2248378	T > C	M > T	dethiobiotin synthetase
	2988793	G > C	S > C	cobalamin biosynthesis protein CobD
	4193107	T > A	S > C	pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase
Sinyal iletimi				
	260539	A > G	C > R	histidine kinase
	1038292	C > T	A > V	diguanylate cyclase
	1315990	C > T	P > L	ATP-binding protein
	1618369	G > A	P > S	histidine kinase
	1619088	C > A	R > L	
	1881910	C > T	R > Q (+)	serine/threonine protein kinase
	2414174	A > G	S > G	cyclase
	2414469	T > C	V > A	
	2603329	TTCGCATGCCGTCAC insersiyon	VTACE insersiyon	cyclase
	2616953	A > C	I > M (+)	cyclase
	4107925	T > G	M > L (+)	histidine kinase
	4109422	G > A	P > S	
	4265893	T > C	Q > R (+)	histidine kinase
	4265925	A > C	S > R	
	4267511	T > C	I > V (+)	
Membran proteinleri				
	183486	A > T	T > S	membrane protein

Çizelge 2'nin devamı

	238082	A > G	D > G	membrane protein
	317821	T > C	D > G	membrane protein
	360099	T > G	L > R	membrane protein
	429253	G delesyon		membrane protein
	429888	C > G	R > P	
	732559	G > C	P > A	membrane protein
	745739	G > A	A > V	membrane protein
	745743	T > C	S > G	
	848775	C > G	G > A	membrane protein
	960943	C > A	D > Y	membrane protein
	1093192	G > C	R > P	membrane protein
	1217187	A > G	L > P	membrane protein
	1238640	T > C	I > V (+)	membrane protein
	1239101	G > A	T > I	
	1239183	C > T	D > N (+)	
	1336243	G > C	I > M (+)	membrane protein
	1443215	C > A	M > I (+)	membrane protein
	1842059	T > C	S > G	membrane protein
	2077959	A > C	N > T	membrane protein
	2179380	C > T	L > F	membrane protein
	2279840	C > A	T > N	membrane protein
	2607399	TCCGATCACC insersiyon		membrane protein
	3127847	G > A	R > C	membrane protein
	3407903	T > C	STOP > Q	membrane protein
	3490967	C > T	G > R	membrane protein
	3501867	TTCGAC GAC delesyon	FDD delesyon	membrane protein
	3511133	A > G	Y > H (+)	membrane protein
	3521836	G > T	A > E	membrane protein
	3536732	G > T	P > T	membrane protein
Hücre duvarı				
	173942	G > A	A > T	penicillin-binding protein
	279428	T > C	V > A	galactofuranosyl transferase
	517663	CCGCCG TCG insersiyon	PPS insersiyon	penicillin-binding protein
	2203273	C > G	A > P	thioesterase
	2274616	C > A	P > Q	inositol monophosphatase
	3001081	A > G	D > G	propionyl-CoA carboxylase subunit beta

Çizelge 2'nin devamı

Sekonder metabolizma				
	306383	G > T	A > D	polyketide synthase
	308279	G > A	T > M	
	1574206	T > C	I > V (+)	polyprenyl synthetase
	1679197	A > C	S > R	farnesyl-diphosphate synthase
	2192176	A > C	L > R	polyketide synthase
	2356000	G > A	A > T	polyketide synthase
	3729027	T > G		polyketide synthase; disrupted
	3738355	CCCCCCCAGACTCCCC ACCCCCCCGAACCCCA CCCCGTGCTGCCCACC ACCCCAT delesyon		polyketide synthase
	3776320	CCGCGGC insersiyon		polyketide synthase
	3776798	A > G	V > A	
Metilasyon				
	1200990	T > G	E > D (+)	SAM-dependent methyltransferase
	1463853	T > C	K > E (+)	SAM-dependent methyltransferase
	2268562	G > A	G > D	methyltransferase type 11
	2608322	A > G		SAM-dependent methyltransferase; disrupted
	2608339	C > T		
	2696006	G > C	S > T (+)	methyltransferase type 11
	3240116	A > G	Y > C	homocysteine methyltransferase
	3784920	G > A	G > R	SAM-dependent methlyltransferase
Hücre büyümesi/canlılığı/bölünmesi/hareketi				
	1557836	G insersiyon		exopolyphosphatase
	1575724	A > C	S > A (+)	flagellar basal body P-ring biosynthesis protein FlgA
	3218239	A > C	S > R	GTPase ObgE
	3231768	C > T	R > Q (+)	Resuscitation-promoting factor RpfE
	3232086	G > C	T > R	
	4073922	T > C	K > E (+)	chromosome partitioning protein
Farklı işlevler				
	83732	A > G	F > L	alpha/beta hydrolase
	230097	G > C	Q > H	transferase
	334599	G > A	P > L	acyltransferase
	341453	A > C	L > V (+)	transporter
	511801	CC delesyon		hydrolase; disrupted
	587792	A insersiyon		HAD family hydrolase
	1169802	T > C	T > A	tetratricopeptide repeat family protein
	1329130	G > A	R > C	acylase
	2165745	C > T	A > T	transferase

Çizelge 2'nin devamı

	2376145	A > G	T > A	radical SAM protein
	3960480	G > A	G > E	phosphatase
	4063497	T delesyon		alpha/beta hydrolase
Okzalat metabolizması				
	605170	T > C	S > G	oxalyl-CoA decarboxylase
Asetat metabolizması				
	954536	G > C	G > A	phosphate acetyltransferase
Asit-baz dengesi				
	2715456	G delesyon		carbonate dehydratase; disrupted
Fonksiyonu bilinmeyenler				
	18162	A > C	F > L	hypothetical protein
	119448	G > A	A > T	hypothetical protein
	144503	CGGCGCCGGCGGCGC CGG insersiyon		hypothetical protein
	263098	ACC delesyon	T delesyon	hypothetical protein
	265695	C > T	A > T	hypothetical protein
	265746	G > C	P > A	
	271332	C delesyon		hypothetical protein
	328139	TCCT delesyon		hypothetical protein; disrupted
	356304	T > C	F > L	hypothetical protein
	425837	G > T	T > K	hypothetical protein
	428713	T > C	D > G	hypothetical protein
	433353	CGGGG insersiyon		hypothetical protein
	433868	A > G	STOP > Q	
	514056	A > G	V > A	hypothetical protein
	527266	C > T	P > S	hypothetical protein
	532106	G > A	T > I	hypothetical protein
	532384	G > T	V > F	
	532933	A > G	N > D (+)	
	533453	G > C	R > P	
	541712	G > C	A > P	hypothetical protein
	541714	C > G		
	566897-567006	10 baz değişimi		hypothetical protein; disrupted
	567697	T > C	V > A	hypothetical protein
	585415	C > T	Q > STOP	hypothetical protein
	594380	C > G	R > G	hypothetical protein
	612218-613019	yüksek oranda indel+baz değişimi		hypothetical protein
	678103	C > T	A > V	hypothetical protein
	687449	T > C	K > E (+)	hypothetical protein

Çizelge 2'nin devamı

	711651	T > C	V > A	hypothetical protein
	712502	C > A	A > E	hypothetical protein
	800069-800956	yüksek oranda indel+baz değişimi		hypothetical protein
	802088	GGCGACGAACTTCTTCGGCAT insersiyon		hypothetical protein
	830446	GCTGCCGGTGTTGAT delesyon		hypothetical protein
	835627	A delesyon		
	841871	G > T	E > D (+)	hypothetical protein
	864026	GGCCCACCACCGGATCCCCAC insersiyon	GPPPDPH insersiyon	hypothetical protein
	929874-930016	2 insersiyon 9 baz değişimi		hypothetical protein
	937565	T > C	V > A	hypothetical protein
	939621	T > G	E > D (+)	hypothetical protein
	1085600-1086046	31 insersiyon, 10 delesyon, 27 baz değişimi		hypothetical protein
	1127763	A > G	F > L	hypothetical protein
	1131503	T > A	D > V	hypothetical protein
	1262667	A > G	D > G	hypothetical protein
	1332562	T > C	E > G	hypothetical protein
	1440626	C > T	G > S	hypothetical protein
	1444553	G insersiyon		hypothetical protein
	1455239	G insersiyon		hypothetical protein; disrupted
	1460994	A > C	V > G	hypothetical protein
	1491995	A > G	S > G	hypothetical protein
	1539613	A > G	N > D (+)	hypothetical protein
	1542205	G > A	P > L	hypothetical protein
	1543956	G > T	P > T	hypothetical protein
	1544959	A > G	V > A	hypothetical protein
	1573470	C > G	L > A	hypothetical protein
	1573471	T > C		
	1659141-1659569	Çok sayıda indel ve baz değişimi		hypothetical protein; disrupted
	1716170	A > G	S > G	hypothetical protein
	1719650-1719950	2 delesyon, 18 baz değişimi		hypothetical protein; disrupted
	1730753-1731311	Çok sayıda indel ve baz değişimi		hypothetical protein; disrupted
	1959080	C insersiyon		hypothetical protein
	2016793	T > C	T > A	hypothetical protein

Çizelge 2'nin devamı

	2031608	G > C	E > D (+)	hypothetical protein
	2043348	T > G	R > S	hypothetical protein
	2063624	CGACC delesyon		hypothetical protein; disrupted
	2082290	GGTACCGGTGCGCCC GGTATC insersiyon		hypothetical protein
	2088804	CCGGCTCCACCGGCGC CG delesyon		hypothetical protein
	2146239	C > A	K > N	hypothetical protein
	2148655	A > C	L > V (+)	hypothetical protein
	2159298	C > T	R > H	hypothetical protein
	2163510	A > G	Y > C	hypothetical protein
	2176633	C > A	G > V	hypothetical protein
	2181618	C > T	R > C	hypothetical protein
	2206152	C > T	Q > STOP	hypothetical protein
	2222509	T > C	D > G	hypothetical protein
	2259857	C > T	A > T	hypothetical protein
	2259878			
	2514369	T > G	L > R	hypothetical protein
	2520735	G > C	G > A	hypothetical protein
	2521948	G > T	V > L (+)	hypothetical protein
	2527687	A > T	I > F	hypothetical protein
	2531347	CCGCCGGCG insersiyon		hypothetical protein
	2539693	C > A	Q > K (+)	hypothetical protein
	2544357	G > T	E > STOP	hypothetical protein
	2614893	C > T	G > D	hypothetical protein
	2623656	TCATCCCCGTCTCG delesyon		hypothetical protein
	2720286	C > A	Q > P	hypothetical protein
	2737042	T > A	E > D (+)	hypothetical protein
	3122325	C > T	A > T	hypothetical protein
	3198716	T > G	I > L	hypothetical protein
	3214448	A delesyon		hypothetical protein
	3360667	G > C	V > L (+)	hypothetical protein
	3361567	G delesyon		hypothetical protein
	3371692	A > G	Q > R (+)	hypothetical protein
	3391257	C > G	C > S	hypothetical protein
	3504308	G > A	T > I	hypothetical protein
	3559842	A > G	F > S	hypothetical protein
	3790580	T > C	Y > C	hypothetical protein
	3888102	T > C	T > A	hypothetical protein
	3926704	C > G	F > L	hypothetical protein

Çizelge 2'nin devamı

	3947470	C > G	N > K	hypothetical protein
	4039134	A > G	L > P	hypothetical protein
	4105301	A > C	F > C	hypothetical protein
	4146650-4146677	AATCCGGCA delesyon, 11 baz değişimi		hypothetical protein
	4251507	C delesyon		hypothetical protein; disrupted

Çizelge 3. Arjantin izolatı MTB 410 suşu ile Malezya izolatı PR10 suşunda mutasyon bulunan ortak genlerin kodladığı proteinler.

Lipit metabolizması
Enoyl-CoA hydratase
Lipid-transfer protein (C > T; T > I)
Fatty-acid--CoA ligase
Lipoprotein
Acyl-CoA synthetase
CDP-diacylglycerol--serine O-phosphatidyltransferase (C > A; G > V)
Esterase
Glycerol-3-phosphate acyltransferase
Lipase (T > C; I > V (+))
Acyl-CoA thioesterase (A > T; H > L)
Karbonhidrat metabolizması
Maltokinase (T > C; S > P)
NAD-dependent dehydratase
1,3-beta-glucanase (A > C; K > T)
Galactose-1-phosphate uridylyltransferase (A > G; T > A)
Fuculose phosphate aldolase (G > T; A > D)
Glycosyl transferase
Protein metabolizması
Serine protease
Elongation factor G (T > C; N > S (+))
Protease 2 (PtrBb) (CG insersiyon)
Methionine--tRNA ligase (G > C; R > G)
Serine hydroxymethyltransferase (T > C; V > A)
Asparaginase
İmidazole glycerol phosphate synthase (G > A; S > N (+))
Peptide synthetase
Nükleik asit metabolizması
ATP-dependent DNA ligase (G > A; R > H)
DNA helicase (A > G; R > G)
TetR family transcriptional regulator
ArsR family transcriptional regulator
RNA methyltransferase
DNA-directed RNA polymerase subunit beta

Çizelge 3'ün devamı

rRNA methyltransferase (G > C; G > R)
LuxR family transcriptional regulator (G > C; P > A)
Transposase
ATP-dependent DNA ligase
Magnesium chelatase (T > C; S > P)
DNA polymerase I
Ribonuclease Z (AGCGACCATATCGCCGAGCTC insersiyon; SDHIAEL insersiyon)
Adenine phosphoribosyltransferase (G > T; A > E)
Restriction endonuclease subunit M (A > G; L > P)
DNA methyltransferase (A > G; T > A)
Oksidasyon redüksiyon prosesi
Acyl-CoA dehydrogenase
Oxidoreductase
Short-chain dehydrogenase (G > C; V > L (+))
Molybdopterin oxidoreductase
NADH dehydrogenase (A > G; L > P)
Flavodoxin (A > G; L > P)
Enerji metabolizması
Transaldolase
Transketolase
İsocitrate lyase (G > A; G > D + T insersiyon)
Demir ve sülfür metabolizması
FeS-binding protein (G > A; A > V + T > C; R > G)
Arylsulfatase
Sulfotransferase
Transport
Cation-transporting ATPase
Multidrug transporter
ABC transporter permease
ABC transporter ATP-binding protein (T > C; Q > R (+))
Magnesium transporter (A > C; C > G)
Magnesium transporter CorA (T > C; K > E (+))
Amino acid transporter (C > A; R > L)
Sulfate ABC transporter (C > G; G > A)
Potassium transporter TrkA (A > G; T > A)

Çizelge 3'ün devamı

ABC transporter ATP-binding protein
İlaç ve ksenobiyotik metbolizması
Cytochrome P450 (C > A; R > L)
Virülans
Secretion protein EspK (GGTTCCCGGGGTGATCGGGGTTCCCGGCGTGATCGG insersiyon; PITPGTPITPGT insersiyon)
Secretion protein EccA (T > C; E > G)
PE family protein
PPE family protein
MCE-family protein (T > C; F > S)
Type VII secretion protein EsxI (G > A; S > L + T > A; Q > L)
Protein mbtH
Resuscitation-promoting factor RpfE (C > T; R > Q (+))
Kofaktör metabolizması
Cobalamin biosynthesis protein CobD (G > C; S > C)
Dethiobiotin synthetase (T > C; M > T)
Sinyal iletimi
Histidine kinase (A > G; C > R)
Serine/threonine protein kinase (C > T; R > Q (+))
Cyclase
Histidine kinase (T > G; M > L (+))
Membran proteinleri
Membrane protein (A > G; D > G)
Membrane protein (T > G; L > R)
Membrane protein (T > C; S > G)
Hücre duvarı
Penicillin-binding protein
Sekonder metabolizma
Polyprenyl synthetase (T > C; I > V (+))
Polyketide synthase (A > C; L > R)
Polyketide synthase (G > A; A > T)
Polyketide synthase (A > G; V > A)
Metilasyon
SAM-dependent methyltransferase
Farklı işlevler
Transferase

Çizelge 3'ün devamı

HAD family hydrolase
Alpha/beta hydrolase (T delesyon)

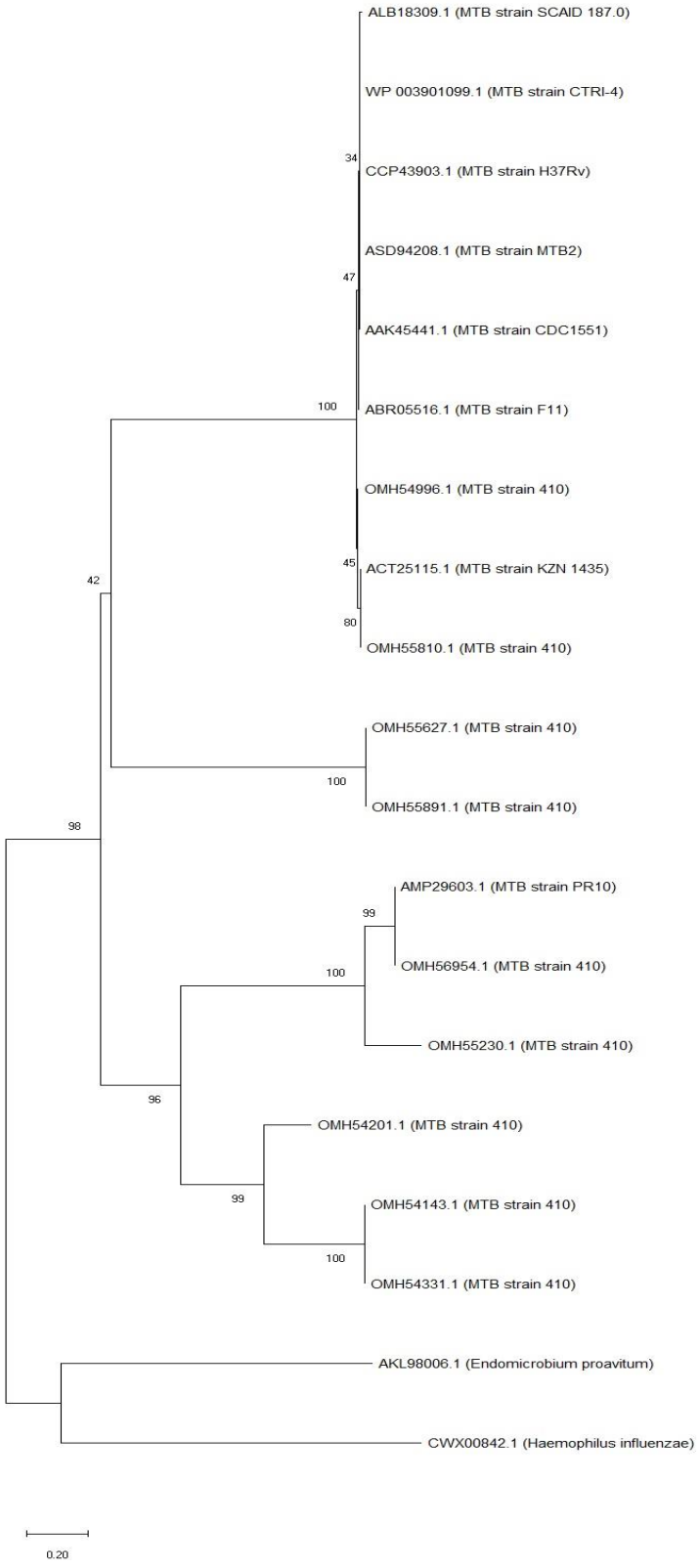
3.2. Örnek Bir Mutant Proteinin Analizi

Genomda yer alan mutasyona uğramış genlere örnek olarak MTB 410 suşunda çok sayıda mutasyon tespit edilen HNH endonükleaz incelendi. Referans suş H37Rv'de olduğu gibi pek çok suşta sadece bir HNH endonükleaz geni olmasına rağmen, MTB 410 suşunun genomunda dokuz adet HNH endonükleaz geni belirlendi. Bu genlerden bazılarının duplikasyon olayıyla çoğaldığı düşünüldü çünkü OMH54143 ve OMH54331 dizileri 100% eşleniktir. Bunun yanında, büyük delesyonlar da bulunmaktadır. Örneğin OMH54201 dizisi OMH54143 ve OMH54331 aminoasit dizilerine yüksek oranda benzemektedir ancak proteinin amino terminal ucunda büyük bir delesyon bulunmaktadır (Şekil 3.1). MTB 410 suşunda bulunan dokuz HNH endonükleazdan beşi filogenetik ağaçta iki farklı dala ayrılmıştır (Şekil 3.2). MTB 410 suşuna ait iki HNH endonükleaz PR10'a ait olan bir HNH endonükleaza, diğer iki tanesi de başka bir ÇİD suş olan KZN 1435'e ait HNH endonükleaza yakın bulundu. MTB 410 suşuna ait HNH endonükleazın (OMH54996) üç boyutlu yapısı birkaç beta plaka içeren alfa helikslerden meydana geldiğini gösterdi (Şekil 3.3). In silico analizler sonucunda bu proteinin 496 aminoasitten (aa) meydana geldiği, 51,44 kDa moleküler ağırlığa ve 6,63 pI değerine sahip olduğu hesaplandı.

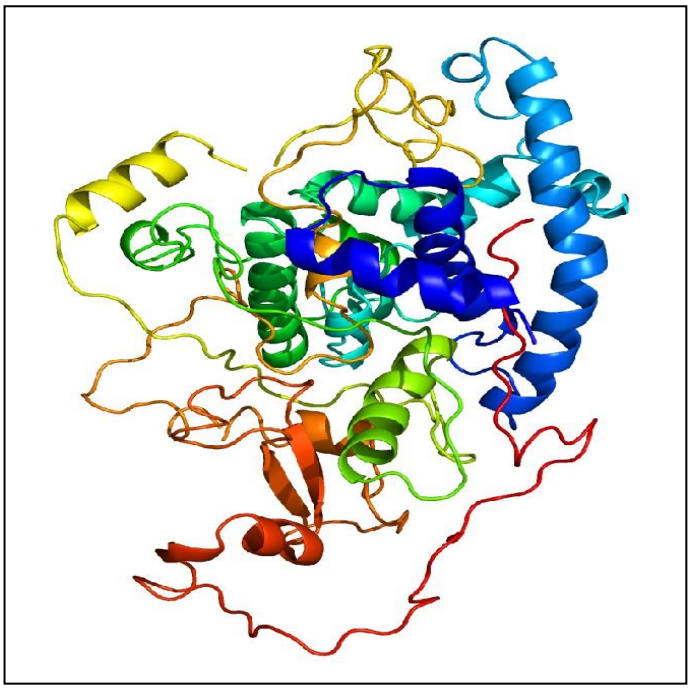
OMH54143 için bu değerler 480 aa, 51,5 kDa, pI 7,90;
OMH54201 için 328 aa, 34,71 kDa, pI 6,78;
OMH5433 için 480 aa, 51,53 kDa, pI 7,90;
OMH55230 için 429 aa, 46,17 kDa, pI 8,80;
OMH55627 için 418 aa, 45,71 kDa, pI 6,66;
OMH55810 ve OMH55891 için 482 aa, 52,92 kDa, pI 6,37;
OMH56954 için 424 aa, 44,95 kDa, pI 7,65 olarak hesaplandı.



Şekil 3.1 MTB 410 suşu ve diğer suşlara ait HNH endonükleaz Proteinin aminoasit dizilerinin karşılaştırılması.



Şekil 3.2 MTB 410 suşu ve diğer suşlara ait HNH endonükleaz proteinlerinin filogenetik açıdan yakınlıkları.



Şekil 3.3 MTB 410 suşuna ait HNH endonükleazın (OMH54996) üç boyutlu yapısı.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

MTB'de ilaç (antibiyotik) direncinin anlaşılabilmesi için genom çapında yapılan analizler vardır ancak bu çalışma ile ilk defa farklı coğrafik bölgelere ait çoklu ilaç direncine sahip (ÇİD) MTB suşların, antibiyotik direncinde rol alabilecek muhtemel genler araştırılmıştır. Bu amaçla, Arjantin izolatı olan 410 suşu ve Malezya izolatı olan PR10 suşunun genomları öncelikle ilaç direnci bulunmayan referans suş H37Rv ile karşılaştırıldı ve mutasyona uğrayan genler belirlendi. Daha sonra iki ÇİD suşunda tespit edilen ortak mutant genler saptandı.

Biyofilm oluşumu, patojenlerde çoklu ilaç direncine neden olan faktörlerden biridir (Dias et al. 2018). MTB de biyofilm oluşturabilen bir bakteridir (Brennan 2017). Lipit metabolizmasında rol alan proteinlerden enoil-CoA hidratazın biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Cameron et al. 2019). Bu enzimin, ilaç direnci bulunan bir MTB izolatında mutasyona uğradığı gösterilmiştir (İlina et al. 2013). Yine lipit metabolizmasında yer alan fatty açil-CoA ligaz enziminin MTB'de pirazinamit ve rifampin direnciyle bağlantısı gösterilmiştir (Rosen et al. 2017). Lipit metabolizmasında yer alan, fosfolipaz ve tiyoesteraz aktiviteleri bulunan *lipG* geninin *M. smegmatis*'te delesyonunun birçok antibiyotiğe duyarlılığı azalttığı bildirilmiştir (Santucci et al. 2018). Aynı zamanda, esterazların antimikrobiyal ilaçları modifiye eden enzimlerden olduğu ifade edilmiştir (Egorov et al. 2018).

MTB'nin antibiyotik direncinde, karbonhidrat metabolizmasında yer alan bazı proteinlerdeki muhtemel değişikliklerinde etkili olduğu belirlenmiştir. β-1,3-glukan biyofilm oluşumunda rol alan bir polisakkarit olup, β-1,3-glukanaz enzimi de biyofilm oluşumunu engelleyen bir proteindir (Tan et al 2018). β-1,3-glukanın biyofilm içerisinde *E. coli*'nin ofloksasin direncini artırdığı rapor edilmiştir (De Brucker et al. 2015). Benzer şekilde, galaktoz metabolizmasında yer alan, galaktoz-1-fosfat uridililtransferaz (GalT) dâhil *gal* genlerinin de biyofilm oluşumunda etkili olduğu gösterilmiştir (Chai et al. 2012). Diğer yandan, hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabaka birçok antibiyotik için hedef bölgedir ve glikoziltransferazlar bu tabakanın

sentezinde görev alır (Sauvage and Terrak 2016). Bu çalışmada, antibiyotik dirençli MTB'de glikoziltransferazın mutasyona uğradığı görülmüştür.

Protein metabolizmasıyla ilgili genlerde meydana gelen mutasyonlar da MTB'de ilaç direncinde etkilidir. Proteazların MTB'nin konak hücre içerisinde canlılığını devam ettirmesinde önemli görevleri vardır. Bu nedenle, proteazlar potansiyel ilaç hedefleri arasındadır (Roberts et al. 2013). Bu çalışmada yapılan analizlerde çeşitli proteaz ve peptidaz enzimlerini kodlayan genlerde mutasyon tespit edilmiştir. Protein sentezinin inhibisyonu da antibakteriyel ilaç geliştirmede başarılı bir stratejidir (Faghih et al. 2017). ÇİD MTB suşlarında, bu mekanizmada yer alan metiyonin--tRNA ligaz, fenilalanin--tRNA ligaz, lösil-tRNA sentetaz, peptit sentetaz gibi enzimleri kodlayan genlerde mutasyon olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan, azot metabolizmasına dâhil olan histidin biyosentez yolağının biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Zhou et al. 2018). Bu yolakta rol alan HisB ve HisH proteinlerini kodlayan genler de mutasyon olduğu ortaya çıkarılmıştır.

MTB'nin antibiyotik direncinde etkisi olan önemli metabolizmalardan biri de nükleik asit metabolizmasıdır. RNA polimerazın beta alt ünitesinin (RpoB) MTB'de rifampisin direncinde rol oynadığı uzun zamandır bilinmektedir (Donnabella et al. 1994). Yapılan analizlerde, ilaç direnci bulunan MTB suşlarında transkripsiyon düzenleyicilerinde de mutasyon tespit edildi. TetR ailesi transkripsiyon düzenleyicisinin *M. smegmatis*'te transportla ilgili genlerin anlatımını düzenlediği ve rifampisin direncinde rol oynadığı gösterilmiştir (Liu et al. 2016). Arsenik direncinde görev alan ArsR ailesi transkripsiyon düzenleyicisinde (Antonucci et al. 2017) de mutasyon tespit edilmiştir. DNA replikasyon mekanizmalarında yer alan DNA ligaz, DNA helikaz, DNA giraz, DNA polimeraz gibi proteinlerde de mutasyon tespit edilmiştir. Aynı zamanda DNA tamir mekanizmasında görev alan DNA ligazın MTB'de potansiyel ilaç hedefi olduğu belirtilmiştir (Korycka-Machala et al. 2007). DNA replikasyon ve tamir mekanizmalarının MTB'de potansiyel ilaç hedefleri arasında olduğu bildirilmiştir (Reiche et al. 2017). Bu çalışmada yapılan analizlerde, MTB 410 suşunda DNA replikasyon ve tamir proteini (RecF) kodlayan gende mutasyon tespit edilmiştir. Nükleik asit metabolizmasında mutasyon tespit edilen diğer bir grup protein de

nükleazlardır. MTB 410'a ait HNH endonükleaz enzimlerinde yoğun mutasyon olduğu belirlenmiştir. Ronayne vd. (2016)'nın çalışmasında, HNH endonükleaz ailesinden Ref endonükleazın antibiyotik tarafından hasara uğratılmış DNA'ya bağlanan RecA'ya bağlanarak genomu degrede ettiği, böylelikle antibiyotiğin toksik etkisini artırdığı rapor edilmiştir. MTB'nin antibiyotik direncinde rol oynayan faktörlerden biri de metiltransferazlar tarafından gerçekleştirilen RNA modifikasyonudur. Bu enzimler, ilaç hedefini modifiye ederek veya ribozomu koruyarak dirence katkıda bulunabilir (Nguyen 2016). Epigenetik değişikliğe neden olan DNA metilasyonunun da MTB'nin RIF ve INH direncinde rol oynadığı gösterilmiştir (Chen et al. 2018). Bu çalışmada, her iki dirençli suşta RNA metiltransferaz ve DNA metiltransferaz enzimlerinin mutasyona uğradığı belirlenmiştir.

Anti-TB ilaçlarının bir kısmının etki mekanizması, solunum zinciri reaksiyonlarında yer alan oksidasyon-redüksiyon enzimlerinin inhibisyonu yoluyladır (Maitra et al. 2015, Bald et al. 2017). Bu çalışma ile solunum zincirinde yer alan süksinat dehidrogenaz, fumarat redüktaz ve sitokrom C redüktaz enzimlerinin mutasyona uğradığı belirlenmiştir. Abrahams et al. (2012)'nin çalışmasında, anti-TB ilacı olarak değerlendirilebilecek imidazo[1,2-a]piridin bileşiklerinin MTB'de sitokrom C redüktaz enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Diğer önemli enzimlerden olan oksidoredüktazlar, INH-NAD(P) kompleksine yüksek bağlanma affinitesi gösteren proteinler arasındadır (Jena et al. 2015). Bu çalışmada yapılan analizlerle, NAD(P)H-kuinon oksidoredüktaz dâhil birçok oksidoredüktaz enziminin mutasyona uğradığı gösterilmiştir. Yine bu çalışma ile mutasyona uğradığı belirlenen oksidasyon-redüksiyon enzimlerinden açil-CoA dehidrogenaz ve NADH dehidrogenaz, INH ile etkileşime giren proteinler arasındadır (Jena et al. 2016). Iqbal et al. (2018), anti-mikobakteriyel ilaçların NADH dehidrogenazı hedeflediğini bildirmiştir. Molibdopterin oksidoredüktaz ailesi protein ve molibdopterin guanin dinükleotit-içeren S/N-oksit redüktaz gibi molibdenum kofaktör (MoCo) içeren proteinlerde de mutasyon tespit edilmiştir. Anti-TB etkiye sahip TCA1 molekülünün MoCo biyosentezini bloke ettiği gösterilmiştir (Wang et al. 2013).

Enerji metabolizmasının oksidatif olmayan enzimlerinden transketolazın (Fullam et al. 2012) ve malat sentazın (Quartararo et al. 2011). TB tedavisinde yeni ilaç hedefleri

arasında olduğu belirtilmiştir. İzositrat liyazın da MTB'de geniş bir antibiyotik çeşidine tolerans sağladığı bildirilmiştir (Nandakumar et al. 2014). İzositrat liyaz ve malat sentaz enzimleri aynı zamanda yağ asidi metabolizmasında da işlev görür (Puckett et al. 2017). Bu çalışmada, her iki ÇİD MTB suşunda transketolaz ve izositrat liyaz enzimlerinin, PR10 suşunda da malat sentazın mutasyona uğradığı tespit edilmiştir.

ÇİD MTB genomları ile yapılan analizlerde, demir ve sülfür metabolizmasında yer alan proteinlerde de mutasyon tespit edildi. FeS-bağlanma proteininde meydana gelen mutasyonun INH direnciyle bağlantısı bildirilmiştir (Jena et al. 2016). Ayrıca, RND (direnç, nodülasyon ve hücre bölünmesi) proteinlerinden olan MmpL ailesinin MTB'de ilaç direnciyle bağlantılı olduğu ifade edilmiştir (Domenech et al. 2005). Bu çalışmada, MTB 410 suşunda siderofor RND transporter MmpL5 ve transport aksesuar protein MmpS proteinlerinde mutasyon tespit edilmiştir. Tiazol sentaz enzimi potansiyel ilaç hedefleri arasında bahsedilmekte olup (Zhang et al. 2018). MTB 410 suşunda belirlenen mutant proteinlerden biridir.

ATP bağlanma kasedi (ABC) transport sistemleri, MTB'nin antibiyotik direncinde rol oynayan önemli mekanizmalardan biridir (Braibant et al. 2000). Hücre zarından katyon transportunda görev alan P-tipi ATPazlar da birçok antibiyotiğin hedefidir (Novoa-Aponte and Soto Ospina 2014). Bu çalışmada yapılan karşılaştırmalı genom analizlerinde, birçok ABC transporterda, çoklu ilaç transport proteininde, MFS transporter, potasyum transporter TrkA ve katyon transport eden ATPazda mutasyon bulundu. ABC ve MFS transporter proteinlerinin INH direnciyle bağlantısı bildirilmiştir (Jena et al. 2016). Potasyum transporter TrkA'nın membran potansiyelini ve pH homeostazisini kontrol ettiği ve mutant TrkA'nın RIF direnciyle sonuçlandığı rapor edilmiştir (Castañeda-García et al. 2011).

İlaç ve ksenobiyotik metabolizmasında yer alan bazı proteinler MTB'nin antibiyotik direncinde etkilidir. İlaç biyotransformasyonunda rol oynayan sitokrom P450 enzimi RIF tarafından indükenir (Manika et al. 2012) ve bu enzim anti-TB ilaç hedeflerindendir (Hudson et al. 2012). Çoklu ilaç direnç proteini Stp mutasyona uğrayan başka bir protein olup dışa atım pompası olarak iş görmektedir (Ramón-García

et al. 2007). ABC transport kompleksinin bir parçası olan DrrA proteini de mutasyona uğramıştır ve daunorubisin ve doksorubisin direncinde görev alır (Choudhuri et al. 2002). Pirazinamidaz enziminde meydana gelen mutasyonlar MTB'de pirazinamit direnciyle ilişkilidir (Ramirez-Busby and Valafar 2015) ve bu çalışmada 410 suşunun pirazinamidaz enziminde mutasyon tespit edilmiştir. MTB PR10 suşunda ise INH direncinde rol oynayan IniB proteininde (Alland et al. 2000) mutasyon bulunmuştur.

MTB'de tip VII sekresyon sistemi (T7SS) bakterinin virülansında önemli bir yer teşkil etmektedir ve T7SS'de yer alan proteinler, yeni anti-TB ilaçların geliştirilmesinde potansiyel hedefler olarak gösterilmiştir (Bottai et al. 2014). Bu çalışmada, T7SS içerisindeki ESX-I, ESX-I ilişkili proteinler EspK ve EspJ, ESX-3, ESAT-6 benzeri protein EsxL, ESX-5 hedefi PE18 ve PPE26, ESX-2 ilişkili protein EspG, ESX-1 hedefi EspA ve PPE68 ile ESX-I alt üniteleri EccB1 ve EccE1'de mutasyon tespit edilmiştir. Aynı zamanda T7SS ilişkili birçok PE, PPE ve PE_PGRS ailesi proteinde de yüksek oranda mutasyon belirlendi. Bunların dışında MTB'nin virülansında görev alan ve lipit ABC transporter bileşenlerinden olan MCE (*mammalian cell entry*, memeli hücresine giriş) proteinlerinde de mutasyonlar tespit edildi. Bainomugisa et al. (2018)'in bir YİD MTB suş üzerinde yapılan çalışmasında, PE, PPE, PE_PGRS ve MCE ailelerine ait proteinlerde mutasyon olduğu bildirilmiştir. ESAT 6 benzeri EsxG ve EsxI proteinleri de çoklu ilaç direnciyle bağlantılı bulunmuştur (Penuelas Urquides et al. 2013).

Esansiyel kofaktörlerin biyosentezi, bu yolaklar insanda bulunmadığı için, MTB'ye karşı ilaç geliştirmede özellikle dikkat çekmektedir (Dick et al. 2010). Bu çalışmada incelenen her iki ÇİD MTB suşunda biyotin (B_7 vitamini) biyosentezinde rol alan detiyobiyotin sentetaz ve kobalamin (B_{12} vitamini) biyosentez proteini (CobD)'de mutasyon tespit edilmiştir. MTB 410 suşunda diğer bir kobalamin biyosentez proteini prekorrin-6Y C(5,15)-metiltransferaz, tiyamin (B_1 vitamini) biyosentezinde yer alan tiyamin-fosfat kinaz ve biyotin biyosentezinde görevi olan 8-amino-7-oksononanoat sentaz proteinlerinde mutasyon bulunmuştur. Diğer taraftan MTB PR10 suşunda tiyamin biyosentezinde görevi olan tiyazol sentaz proteininde mutasyon tespit edilmiştir. MTB'de sinyal iletiminde etkili olan iki bileşenli (*two-component*) sinyal iletim sistemi ilaç direncine katkıda bulunur (Wang et al. 2015). Bu iki bileşenden biri

olan histidin kinazların, incelenen her iki ÇİD MTB suşunda mutasyona uğradığı görülmüştür. Diğer bileşen olan cevap düzenleyicilerden (*response regulator*) olan LuxR ailesi transkripsiyonel düzenleyici de mutasyona uğramıştır. Histidin kinazları hedefleyen moleküllerin yeni antibiyotiklerin geliştirilmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Matsushita and Janda 2002). Diğer yandan, sinyal iletiminde görevli siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) moleküllerinin biyosentezinde görev alan siklaz enzimlerinde de mutasyon olduğu belirlenmiştir. Siklik di-GMP'nin MTB'de etionamit direncinde etkili olduğu gösterilmiştir (Zhang et al. 2017).

Birçok patojende olduğu gibi MTB'de de membran proteinleri özellikle ilaç dışa atımı yoluyla antibiyotik direncinde önemli rol oynamaktadır (Smith et al. 2013, Nguyen 2016). Bu çalışmada yapılan analizlerde her iki ÇİD suşta çok sayıda membran proteininin mutasyona uğradığı görülmüştür. Aynı zamanda, hücre duvarı biyosenteziyle ilgili penisilin bağlanma proteininde de mutasyon tespit edilmiştir. MTB'de penisilin bağlanma proteini PonA1'in transpeptidaz bölümünün antibiyotik direnciyle ilişkisi rapor edilmiştir (Filippova et al. 2016).

Poliketit sentazlar (Pks), MTB'nin hücre duvarında yer alan mikolik asitlerin sentezi (Pks13) (Aggarwal et al. 2017), biyofilm oluşumu (Pang et al. 2012) veya virülansı (Rousseau et al. 2003) gibi birçok mekanizmada görev alır. Pks13'ü inhibe eden beta laktonlar (Lehmann et al. 2017) veya kurşun bileşikleri (Aggarwal et al. 2017) gibi bazı moleküller MTB üzerine antibakteriyel etkiye sahiptir. Bu çalışmada da birçok Pks enziminin mutasyona uğradığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak, MTB'de antibiyotik direnci hakkında daha fazla bilgi elde etmek için iki ÇİD-TB suş üzerinde yapılan analizlerde, farklı metabolik yolaklar üzerinde yer alan proteinlerde çok sayıda mutasyon meydana geldiği tespit edilmiştir. Muhtemel değişikliğe uğramış proteinlerin daha çok biyofilm oluşumu, DNA onarımı, replikasyon, transkripsiyon, translasyon mekanizmaları, oksijenli solunum, T7SS, iki bileşenli sinyal iletimi, poliketit sentezi, B vitamini biyosentezi, hücre duvarı, membran ve transport işlemleri ile ilgili olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Abrahams, K.A., Cox, J.A., Spivey, V.L., Loman, N.J., Pallen, M.J., Constantinidou, C., et al. 2012. Identification of novel imidazo[1,2-a]pyridine inhibitors targeting *M. tuberculosis* QcrB. PloS one, 7(12); e52951.

Aggarwal, A., Parai, M. K., Shetty, N., Wallis, D., Woolhiser, L., Hastings, C., et al. 2017. Development of a novel lead that targets *M. tuberculosis* polyketide synthase 13. Cell, 170(2); 249–259.

Alland, D., Steyn, A.J., Weisbrod, T., Aldrich, K., Jacobs, W.R. Jr. 2000. Characterization of the *Mycobacterium tuberculosis* iniBAC promoter, a promoter that responds to cell wall biosynthesis inhibition. J Bacteriol, 182(7); 1802-1811.

Alp, A. 2010. Tüberküloz basili ve özellikleri. Toraks Kitapları, 11; 48-51.

Antonucci, I., Gallo, G., Limauro, D., Contursi, P., Ribeiro, A. L., Blesa, A., et al. 2017. An ArsR/SmtB family member regulates arsenic resistance genes unusually arranged in *Thermus thermophilus* HB27. Microb Biotechnol, 10(6); 1690–1701.

Bainomugisa, A., Duarte, T., Lavu, E., Pandey, S., Coulter, C., Marais, B.J., Coin, L.M. 2018. A complete high-quality MinION nanopore assembly of an extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage strain identifies novel variation in repetitive PE/PPE gene regions. Microb Genom, 4(7); doi: 10.1099/mgen.0.000188.

Bald, D., Villellas, C., Lu, P., Koul, A. 2017. Targeting energy metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*, a new paradigm in antimycobacterial drug discovery. MBio, 8(2); pii: e00272-17.

Bottai, D., Serafini, A., Cascioferro, A., Brosch, R., Manganelli, R. 2014. Targeting type VII/ESX secretion systems for development of novel antimycobacterial drugs. Curr Pharm Des, 20(27); 4346-4356.

Braibant, M., Gilot, P., Content, J. 2000. The ATP binding cassette (ABC) transport systems of *Mycobacterium tuberculosis*, FEMS Microbiol Rev, 24(4); 449–467.

Brennan, P. 2003. Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis* (Edinb), 83; 91-7.

Brennan, M.J. 2017. Biofilms and *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Immun, 85(10); e00411-17

Brites, D., Gagneux, S. 2012. Old and new selective pressures on *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Genet Evol, 12; 678–685.

Bunsow, E., Ruiz-Serrano, M.J., LópezRoa, P., Kestler, M., Viedma, D.G., Bouza, E. 2013. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in clinical specimens. J Infect, 68; 338-343.

Cameron, L.C., Bonis, B., Phan, C.Q., Kent, L.A., Lee, A.K., Hunter, R.C. 2019. A putative enoyl-CoA hydratase contributes to biofilm formation and the antibiotic tolerance of *Achromobacter xylosoxidans*. bioRxiv 620559; doi: 10.1101/620559

Casali, N., Nikolayevskyy, V., Balabanova, Y., Ignatyeva, O., Kontsevaya, I., Harris, S.R., et al. 2012. Microevolution of extensively drug-resistant tuberculosis in Russia. Genome Res, 22; 735–745.

Casali, N., Nikolayevskyy, V., Balabanova, Y., Harris, S.R., Ignatyeva O., Kontsevaya, I., et al. 2014. Evolution and transmission of drug-resistant tuberculosis in a Russian population. Nat Genet, 46; 279–286.

Casanova, J.L., Abel, L. 2002. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. Annu Rev Immunol, 20; 581–620.

Castañeda-García, A., Do, T.T., Blázquez, J. 2011. The K+ uptake regulator TrkA controls membrane potential, pH homeostasis and multidrug susceptibility in *Mycobacterium smegmatis*. J Antimicrob Chemother, 66(7); 1489-1498.

Caws, M., Thwaites, G., Dunstan, S., Hawn, T.R., Thi Ngoc Lan, N., Thuong, et al. 2008. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog, 4; e1000034.

Chai, Y., Beauregard, P. B., Vlamakis, H., Losick, R., Kolter, R. 2012. Galactose metabolism plays a crucial role in biofilm formation by *Bacillus subtilis*. mBio, 3(4); e00184-12.

Chen, L., Li, H., Chen, T., Yu, L., Guo, H., Chen, Y., et al. 2018. Genome-wide DNA methylation and transcriptome changes in *Mycobacterium tuberculosis* with rifampicin and isoniazid resistance. Int J Clin Exp Pathol, 11(6); 3036-3045.

Chesne-Seck ML., Barilone N., Boudou F., Gonzalo Asensio J., Kolattukudy PE., et al. 2008. A point mutation in the two-component regulator PhoP-PhoR accounts for the absence of polyketide-derived acyltrehaloses but not that of phthiocerol dimycocerosates in *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. J Bacteriol,190(4) ;1329-1334.

Choudhuri, B.S., Bhakta, S., Barik, R., Basu, J., Kundu, M., Chakrabarti, P. 2002. Overexpression and functional characterization of an ABC (ATP-binding cassette) transporter encoded by the genes drrA and drrB of *Mycobacterium tuberculosis*. Biochem J, 367(Pt 1); 279-285.

Clark, M., Riben, P., Nowgesic, E. 2002. The association of housing density, isolation and tuberculosis in Canadian First Nations communities. Int J Epidemiol, 31; 940–945.

Cole, ST., Brosch, R., Parkhill, J., Garnier, T., Churcher, C., et al. 1998. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. Nature, 393; 537–544.

Coll, F., Preston, M., Guerra-Assunção, J.A., Hill-Cawthorn, G., Harris, D., et al. 2014. PolyTB, a genomic variation map for *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis (Edinb.); http://dx.doi.org/10.1016/j.tube. 2014.02.005.

Comas, I., Gagneux, S. 2009. The past and future of tuberculosis research. PLoS Pathog, 5(10); e1000600.

Comas, I., Homolka, S., Niemann, S., Gagneux, S. 2009. Genotyping of genetically monomorphic bacteria: DNA sequencing in *Mycobacterium tuberculosis* highlights the limitations of current methodologies. PLoS ONE, 4; e7815.

Copin R., Coscollá M., Seiffert SN., Bothamley G., Sutherland J., Mbayo G., Gagneux S., Ernst JD., 2014. Sequence diversity in the pe_pgrs genes of *Mycobacterium tuberculosis* is independent of human T cell recognition. mBio 5(1);e00960-13. doi:10.1128/mBio.00960-13.

Coscollá, M., Gagneux, S. 2010. Does *M. tuberculosis* genomic diversity explain disease diversity? Drug Discov Today: Dis Mech, 7; e43–59.

Coussens, A.K., Wilkinson, R.J., Nikolayevskyy, V., Elkington, PT., Hanifa, Y., Islam, K., et al. 2013. Ethnic variation in inflammatory profile in tuberculosis. PLoS Pathog, 9; e1003468.

Cui, Z.J., Yang, Q. Y., Zhang, H. Y., Zhu, Q., Zhang, Q. Y. 2016. Bioinformatics identification of drug resistance-associated gene pairs in *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Mol Sci, 17(9), pii; E1417

Çavuşoğlu, C. 2010. *Mycobacterium tuberculosis* genomu ve genetik özellikleri. Toraks Kitapları, 11; 56-57.

Çetin E., Aynali A., Öztürk T., Özseven A., Kaya S. 2012. Mikobakterilerin klinik örneklerden izolasyonunda Löwenstein-Jensen besiyeri kültürü ve Bactec *Mycobacterium* Growth Indicator Tube 960 sisteminin değerlendirilmesi. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg, 19(1)/12-16.

De Brucker, K., Tan, Y., Vints, K., De Cremer, K., Braem, A., Verstraeten, N., et al. 2015. Fungal β-1,3-glucan increases ofloxacin tolerance of *Escherichia coli* in a polymicrobial *E. coli*/*Candida albicans* biofilm. Antimicrob Agents Chemother, 59; 3052–3058.

De Jong, B.C., Adetifa, I., Walther, B., Hill, P.C., Antonio, M., Ota, M., et al. 2010. Differences between tuberculosis cases infected with *Mycobacterium africanum*, West African type 2, relative to Euro-American *Mycobacterium tuberculosis*: an update. FEMS Immunol Med Microbiol, 58; 102–105.

Dias, C., Borges, A., Oliveira, D., Martinez-Murcia, A., Saavedra, M. J., Simões, M. 2018. Biofilms and antibiotic susceptibility of multidrug-resistant bacteria from wild animals. PeerJ, 6; e4974.

De Rossi, E., Ainsa JA., Riccardi G. (2006). Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: An unresolved question. FEMS Microbiol Rev, 30: 36-52.

Dick, T., Manjunatha, U., Kappes, B., Gengenbacher, M. 2010. Vitamin B6 biosynthesis is essential for survival and virulence of *Mycobacterium tuberculosis.* Mol Microbiol, 78(4); 980-988.

Domenech, P., Reed, M.B., Barry, C.E., 3rd. 2005. Contribution of the *Mycobacterium tuberculosis* MmpL protein family to virulence and drug resistance. Infect Immun, 73(6); 3492–3501.

Donnabella, V., Martiniuk, F., Kinney, D., Bacerdo, M., Bonk, S., Hanna, B., Rom, W.N. (1994) Isolation of the gene for the beta subunit of RNA polymerase from rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and identification of new mutations. Am J Respir Cell Mol Biol, 11(6); 639-643.

Egorov, A.M., Ulyashova, M.M., Rubtsova M.Y. 2018. Bacterial enzymes and antibiotic resistance. Acta Naturae, 10(39); 33-48

Faghih, O., Zhang, Z., Ranade, R. M., Gillespie, J. R., Creason, S. A., Huang, W., et al. 2017. Development of methionyl-tRNA synthetase inhibitors as antibiotics for gram-positive bacterial infections. Antimicrob Agents Chemother, 61(11); e00999-17.

Fenner, L., Egger, M., Bodmer, T., Furrer, H., Ballif, M., Battegay, M., et al. 2013. HIV infection disrupts the sympatric host–pathogen relationship in human tuberculosis. PLoS Genet, 9; e1003318.

Filippova, E.V., Kieser K.J., Luan, C.H., Wawrzak, Z., Kiryukhina, O., Rubin, E.J., Anderson, W.F. 2016. Crystal structures of the transpeptidase domain of the *Mycobacterium tuberculosis* penicillin-binding protein PonA1 reveal potential mechanisms of antibiotic resistance. FEBS J, 283(12); 2206-2218.

Fullam, E., Pojer, F., Bergfors, T., Jones, T.A., Cole, S.T. 2012. Structure and function of the transketolase from *Mycobacterium tuberculosis* and comparison with the human enzyme. Open biology, 2(1); 110026.

Furin, J. 2007. The clinical management of drug-resistant tuberculosis. Curr Opin Pulm Med, 13(3); 212-217.

Gagneux, S. 2012. Host–pathogen coevolution in human tuberculosis. Philos Trans R Soc B: Biol Sci, 367; 850–859.

Gagneux, S., Brites, D. 2012. Old and new selective pressures on *Mycobacterium tuberculosis*. Infect Genet Evol, 12; 678–685.

Gagneux, S. 2013. Genetic diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. Curr Top Microbiol Immunol, 374; 1–25.

Gehre, F., Otu, J., De Riemer, K., de Sessions, P.F., Hibberd, M.L., Mulders, W., et al. 2013. Deciphering the growth behaviour of *Mycobacterium africanum*. PLoS Negl Trop Dis, 7; e2220.

Gonzalo-Asensio J., Malaga W., Pawlik A., Astarie-Dequeker C., Passemar C., et al. 2014. Evolutionary history of tuberculosis shaped by conserved mutations in the PhoPR virulence regulator. Proc Natl Acad Sci U S A, 111(31):11491-11496.

Gutierrez, M., Brisse, S. and Brosch, R. 2005. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. PloS Pathogens; 1: 55-61.

Hudson, S.A., McLean, K.J., Munro, A.W., Abell, C. 2012. *Mycobacterium tuberculosis* cytochrome P450 enzymes: a cohort of novel TB drug targets. Biochem Soc Trans, 40(3); 573-579.

Hughes A., Levine M., Chanock S., 2004.Comparison of the genomic structure and variation in the two human sodium-dependent vitamin C transporters, SLC23A1 andSLC23A2. Hum Genet 115:285–294. doi:10.1007/s00439-004-1167-x.

Hung JH., Weng Z. 2016. Sequence alignment and homology search with BLAST and ClustalW. Cold Spring Harb Protoc, 2016(11).

Ilina, E.N., Shitikov, E.A., Ikryannikova, L.N., Alekseev, D.G., Kamashev, D.E., et al. 2013. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* drug resistant strains from Russia. PLoS ONE, 8(2); e56577.

Iseman MD. 2002. Klinisyenler İcin Tuberkuloz Klavuzu. Ceviren: Ş. Ozkara. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. Bölüm 2:21–49.

Iqbal, I.K., Bajeli, S., Akela, A.K., Kumar, A. 2018. Bioenergetics of *Mycobacterium*: an emerging landscape for drug discovery. Pathogens, 7(1); pii: E24.

Jain, A., Dixit P. 2008. Multidrug-resistant to extensively drug resistant tuberculosis: what is next? J Biosci, 33(4); 605-616.

Jarlier, V., Nikaido, H. 1994. Mycobacterial cell wall: structure and role in natural resistance to antibiotics. FEMS Microbiol Lett, 123(1-2); 11-18.

Jena, L., Deshmukh, S., Waghmare, P., Kumar, S., Harinath, B.C. 2015. Study of mechanism of interaction of truncated isoniazid-nicotinamide adenine dinucleotide adduct against multiple enzymes of *Mycobacterium tuberculosis* by a computational approach. Int J Mycobacteriol, 4(4); 276-283.

Jena, L., Nayak, T., Deshmukh, S., Wankhade, G., Waghmare, P., et al. 2016. Isoniazid with multiple mode of action on various mycobacterial enzymes resulting in drug resistance. J Infect Dis Ther, 4; 297

Joshi, K.R., Dhiman, H., Scaria. 2014. tbvar: A comprehensive genome variation resource for *Mycobacterium tuberculosis*. Database, 2014; bat083.

Kelley LA., Mezulis S., Yates CM., Wass MN., Sternberg MJ. 2015. The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. Nat Protoc,10(6):845-858.

Kılıcarslan, Z. 2007. Dünyada ve Türkiye'de tuberküloz. Ankem Dergisi; 21 (Ek 2); 76-80.

Korycka-Machala, M., Rychta, E., Brzostek, A., Sayer, H. R., Rumijowska-Galewicz, A., Bowater, R.P., Dziadek, J. 2007. Evaluation of NAD+-dependent DNA ligase of mycobacteria as a potential target for antibiotics. Antimicrob Agents Chemother, 51(8); 2888–2897.

Kwan, C.K., Ernst, J.D. 2011. HIV and tuberculosis: a deadly human syndemic. Clin Microbiol Rev, 24; 351–376.

Koprowski, E. H. and Michael, B. 1996. Microbe Hunters-Then and Now. BMJ, 313; 1340.

Köksal, F. ve Yaman, A. 2003. Farklı bir bakteri topluluğu mikobakterilerde hücre duvar yapısı. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu, Samsun, Sempozyum Kitabı: 34-47.

Kumar S., Stecher G., Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol.;33(7):1870-1874.

Lacoma, A., García-Sierra, N., Prat, C., Maldonado, J., Ruiz-Manzano, J., et al. 2012. GenoType MTBDRsl for molecular detection of second-line-drug and ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical samples, J Clin Microbiol, 50(1); 30-36.

Lehmann, J., Cheng, T. Y., Aggarwal, A., Park, A. S., Zeiler, E., Raju, R. M., et al. 2017. An antibacterial β-lactone kills *Mycobacterium tuberculosis* by disrupting mycolic acid biosynthesis. Angewandte Chemie, 57(1); 348–353.

Leung, KS-S., Siu, GK-H., Tam, KK-G., To, SW-C., Rajwani, R., Ho, P-L., Wong, SS-Y., Zhao, W.W., Ma, OC-K., Yam, W-C. 2017. Comparative genomic analysis of two clonally related multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* by single molecule real time sequencing. Front Cell Infect Microbiol, 7; 478.

Li, H., Kayani, M. U., Gu, Y., Wang, X., Zhu, T., Duan, H., et al. 2015. Transmitted extended-spectrum extensively drug-resistant tuberculosis in Beijing, China, with discordant whole-genome sequencing analysis results. J Clin Microbiol, 53; 2781–2784.

Liu, H., Yang, M., He, Z.G. 2016. Novel TetR family transcriptional factor regulates expression of multiple transport-related genes and affects rifampicin resistance in *Mycobacterium smegmatis*. Sci Rep, 6; 27489.

LoBue, P. 2009. Extensively drug-resistant tuberculosis. Curr Opin Infect Dis, 22(2); 167-173

Louw, G.E.,Warren, R.M., Gey van Pittius, N.C., McEvoy, C.R.E., Van Helden, P.D., Victor, T.C. 2009. A balancing act: Efflux/influx in mycobacterial drug resistance. Antimicrob Agent Chemother, 53(8): 3181-9.

Maitra, A., Bates, S., Kolvekar, T., Devarajan, P.V., Guzman, J.D., Bhakta, S. 2015. Repurposing-a ray of hope in tackling extensively drug resistance in tuberculosis. Int J Infect Dis, 32; 50-55.

Manika, K., Chatzika, K., Zarogoulidis, K., Kioumis, I. 2012. Moxifloxacin in multidrug-resistant tuberculosis: is there any indication for therapeutic drug monitoring? Eur Respir J, 40(4); 1051-1053.

Matsushita, M., Janda, K.D. 2002. Histidine kinases as targets for new antimicrobial agents. Bioorg Med Chem, 10(4); 855-867.

Metzker, M.L. 2010. Sequencing technologies - the next generation. Nat Rev Genet, 11; 31–46.

McCammon, M. T., Gillette, J. S., Thomas, D. P., Ramaswamy, S. V., Graviss, E. A., et al. (2005). Detection of rpoB mutations associated with rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using denaturing gradient gel electrophoresis. Antimicrob Agents Chemother. 49, 2200–2209.

Migliori, G.B., De Iaco, G., Besozzi, G., Centis, R., Cirillo, D.M. 2007. First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs. Weekly Releases, 12; 3194.

Moure, R., Muñoz, L., Torres, M., Santin, M., Martín, R., Alcaide, F. 2011. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and rifampin resistance in smear-negative clinical samples by use of an integrated real-time PCR method. J Clin Microbiol, 49; 1137–1139.

Nandakumar, M., Nathan, C., Rhee, K.Y. 2014. Isocitrate lyase mediates broad antibiotic tolerance in *Mycobacterium tuberculosis*. Nat Commun, 5; 4306.

Negi, S.S., Khan, S.F., Gupta, S., Pasha, S.T., Khare, S., Lal S. 2005. Comparison of conventional diagnostic modalities, BACTEC culture and PCR test for diagnosis of tuberculosis. Indian J Med Microbiol, 23; 29-33.

Nguyen L. 2016. Antibiotic resistance mechanisms in *M. tuberculosis*: an update. Arch Toxicol, 90(7); 1585–1604.

Novoa-Aponte, L., Soto Ospina, C.Y. 2014. *Mycobacterium tuberculosis* P-type ATPases: possible targets for drug or vaccine development. BioMed Res Int, 2014; 296986.

O'Garra, A., Redford, P.S., McNab, F.W., Bloom, C.I., Wilkinson, R.J., Berry, M.P.R. 2013. The immune response in tuberculosis. Annu Rev Immunol, 31; 475–527.

Özkara, Ş. 2002. Klinisyenler için tuberküloz kılavuzu. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. Bölüm 2; 21–49.

Özkara, Ş. 2007. Yaygın ilaç dirençli tüberküloz (YİD-TB). Solunum Hastalıkları, 18(2); 88-92.

Özmen, E., Aslan, A., Uçar, M., Aydın, H., Yılmaz, A. 2017. Erzurum Bölge Tüberküloz Laboratuvarında izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi suşlarının primer anti-tüberküloz ilaçlara direnç oranları. ANKEM Derg, 31(2); 53-58. doi: 10.5222/ankem.2017.053

Palomino, J.C., Leao, S.C., Ritacco, V. (eds). 2007. Tuberculosis from basic science to patient care. 1st ed. Available from: www.TuberculosisTextbook.com

Pang, J. M., Layre, E., Sweet, L., Sherrid, A., Moody, D.B., Ojha, A., Sherman, D.R. 2012. The polyketide Pks1 contributes to biofilm formation in *Mycobacterium tuberculosis*. J Bacteriol, 194(3); 715–721.

Penuelas Urquides, K., Gonzalez Escalante, L., Villarreal Trevino, L., Silva Ramirez, B., Gutierrez Fuentes, D.J., Mojica Espinosa, R., et al. 2013. Comparison of gene expression profiles between pansensitive and multidrug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. Current Microbiology, 3; 362-371.

Puckett, S., Trujillo, C., Wang, Z., Eoh, H., Ioerger, T. R., Krieger, I., et al. 2017. Glyoxylate detoxification is an essential function of malate synthase required for carbon assimilation in *Mycobacterium tuberculosis*. Proc Nat Acad Scie U S A, 114(11); E2225–E2232.

Quartararo, C.E., Blanchard, J.S. 2011. Kinetic and chemical mechanism of malate synthase from *Mycobacterium tuberculosis*. Biochemistry, 50(32); 6879–6887.

Ramirez-Busby, S.M., Valafar, F. 2015. Systematic review of mutations in pyrazinamidase associated with pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. Antimicr Agent Chemother, 59(9); 5267–5277.

Ramón-García, S., Martín, C., De Rossi, E., Aínsa, J. A. 2007. Contribution of the Rv2333c efflux pump (the Stp protein) from *Mycobacterium tuberculosis* to intrinsic antibiotic resistance in *Mycobacterium bovis* BCG. J Antimicr Chemother, 59(3); 544–547.

Read, T.D., S.L. Salzberg., M. Pop., M. Shumway., L. Umayam, L. Jiang., et al. 2002. Comparative genome sequencing for discovery of novel polymorphisms in *Bacillus anthracis*. Science, 296; 2028–2033.

Reiche, M.A., Warner, D.F., & Mizrahi, V. 2017. Targeting DNA replication and repair for the development of novel therapeutics against tuberculosis. Front Mol Biosci, 4; 75.

Ryll, R., Kumazawa, Y. and Yano, I. 2001. Immunological properties of trehalose dimycolate (cord factor) and other mycolic acid-containing glycolipids – a review. Microbiol Immunol; 45: 801-11.

Ryndak M, Wang S, Smith I. 2008. PhoP, a key player in *Mycobacterium tuberculosis* virulence. Trends Microbiol, 16:528–34.

Roberts, D.M., Personne, Y., Ollinger, J., Parish, T. 2013. Proteases in *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis: potential as drug targets. Future Microbiol, 8(5); 621-631.

Ronayne, E.A., Wan, Y.C.S., Boudreau, B.A., Landick, R., Cox, M.M. 2016. P1 Ref endonuclease: a molecular mechanism for phage-enhanced antibiotic lethality. PLoS Genet 12(1): e1005797.

Rosen, B.C., Dillon, N.A., Peterson, N.D., Minato, Y., Baughn, A.D. 2017. Long-chain fatty acyl coenzyme A ligase FadD2 mediates intrinsic pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother, 61; e02130-16.

Rousseau, C., Sirakova, T.D., Dubey, V.S., Bordat, Y., Kolattukudy, P.E., Gicquel, B., Jackson, M. 2003. Virulence attenuation of two Mas-like polyketide synthase mutants of *Mycobacterium tuberculosis*. Microbiology, 149(Pt 7); 1837-1847.

Saitou N., Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol.;4(4):406-425.

Santucci, P., Point, V., Poncin, I., Guy, A., Crauste, C., Serveau-Avesque, C., et al. 2018. LipG a bifunctional phospholipase/thioesterase involved in mycobacterial envelope remodeling. Biosci Rep, 38(6); BSR20181953.

Sauvage, E.; Terrak, M. 2016. Glycosyltransferases and transpeptidases/penicillin-binding proteins: valuable targets for new antibacterials. Antibiotics, 5; 12.

Sicheritz-Ponten T., K. Turner, H. Zhu, C. Yu, M. Jian, Y. et al**.** 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464**:**59-65.

Shell SS., Prestwich EG., Baek SH., Shah RR., Sassetti CM., Dedon PC., et al. 2013. DNA methylation impacts gene expression and ensures hypoxic survival of *Mycobacterium tuberculosis*. PLoS Pathog;9:e1003419.

Smith, T., Wolff, K. A., Nguyen, L. 2013. Molecular biology of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Curr Top Microbiol Immunol, 374; 53–80.

Soulen, R., Byers, J., Osofsky, M., Nadgorny, B., Ambrose, T., et al. 1998. Measuring the spin polarization of a metal with a superconducting point contact. Science, 282(5386); 85-88.

Stucki D., Gagneux S. 2013. Single nucleotide polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* and the need for a curated database. Tuberculosis, 93; 30–39.

Tan, Y., Ma, S., Leonhard, M., Moser, D., Schneider-Stickler, B. 2018. β-1,3-glucanase disrupts biofilm formation and increases antifungal susceptibility of *Candida albicans* DAY185. Int J Biol Macromol, 108; 942-946.

Ullrich, M. 2009. Bacterial polysaccharides: current innovations and future trends, Horizon Scientific Press.

van Crevel, R., Parwati, I., Sahiratmadja, E., Marzuki, S., Ottenhoff, T., Netea, M., et al. 2009. Infection with *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains is associated with polymorphisms in SLC11A1/NRAMP1 in Indonesian patients with *tuberculosis*. J Infect Dis, 200; 1671–1674.

Wang, F., Sambandan, D., Halder, R., Wang, J., Batt, S.M., Weinrick, B., et al. 2013. Identification of a small molecule with activity against drug-resistant and persistent tuberculosis. Proc Natl Acad Sci U S A, 110(27); E2510-7.

Wang, S., Feng, Y., Zhang, Z. 2015. Signal transduction and drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*--A review. Wei Sheng Wu Xue Bao, 55(8); 971-976.

Witney, A.A., Cosgrove, C.A., Arnold, A., Hinds, J., Stoker, N.G., Butcher, P.D. 2016. Clinical use of whole genome sequencing for *Mycobacterium tuberculosis*. BMC Med, 14; 46.

Zeka, A., Taşbakan, S., Çavuşoğu, C. 2011. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. J Clin Microbiol, 49; 4138–4141

Zhang, H.N., Xu, Z.W., Jiang, H.W., Wu, F.L., He, X., Liu, Y., et al. 2017. Cyclic di-GMP regulates *Mycobacterium tuberculosis* resistance to ethionamide. Sci Rep, 7(1); 5860.

Zhang, J., Zhang, B., Zhao, Y., Yang, X., Huang, M., et al. 2018. Snapshots of catalysis: Structure of covalently bound substrate trapped in *Mycobacterium*

tuberculosis thiazole synthase (ThiG). Biochem Biophys Res Commun, 497(1); 214-219.

Zhou, Y.H., Xu, C.G., Yang, Y.B., Xing, X.X., Liu, X., et al. 2018. Histidine metabolism and IGPD play a key role in cefquinome inhibiting biofilm formation of *Staphylococcus xylosus*. Front Microbiol, 9; 665.

Zignol M., Hosseini MS., Wright A. et al. 2006. Global incidence of multidrug-resistant tuberculosis. J Infect Disease, 194:479-485.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi ve Yeri: 01.12.1982 İzmir/Torbalı
Uyruğu: T.C
Mesleği: Biyolog
Medeni Hali: Evli
Askerlik Durumu: Yapıldı
Sürücü Belgesi: B
Telefon:+90 554 562 58 18
E-mail: serdarulas@hotmail.com
Eğitim: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi
Yüksek Lisans: Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji A.B.D
Yüksek Lisans Tezi: *Mycobacterium tuberculosis* İzolatlarının Karşılaştırmalı Genom Analizi
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Sezer OKAY
Lisans: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 2006
Yabancı Diller: İngilizce
Bilgisayar Deneyimi: Microsoft Office, Windows 7-vista-xp, Excel, Word PowerPoint, İnternet
Çalıştığım Kurumlar:
İç işleri bakanlığı Emniyet Genel Müdürlüğü 2007
TBMM Milletvekili Danışmanlığı 2018, ANKARA
Poster/Sunum: İnternational Eurasian Conference On Biologial And Chemical Science 2018
The Ankara Otel
Faaliyetler:
Referanslarım:
Referans-1: Doç. Dr. Sezer Okay
Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Tel: 0 531 573 39 96 | E-Posta: sezerokay@gmail.com
Referans-2: Doç. Dr. Hasan GENÇ Burdur
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü Biyoloji Bölümü
Tel: 0 532 761 02 98 | E-Posta : hgenc@mehmetakif.edu.tr